



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**EVALUACIÓN DE BACTERIAS Y HONGOS
POTENCIALMENTE UTILIZABLES PARA LA
BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR
HIDROCARBUROS
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO**

Trabajo de titulación presentado como requisito para la
obtención del título de
INGENIERIA AMBIENTAL

**AUTOR
JIMÉNEZ VÉLEZ VILMA CECIBEL**

**TUTOR
ING. XAVIER VÉLEZ GAVILANES**

GUAYAQUIL – ECUADOR

2020



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, **XAVIER VÉLEZ GAVILANES**, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE BACTERIAS Y HONGOS POTENCIALMENTE UTILIZABLES PARA LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS”**, realizado por la Srta. **JIMÉNEZ VÉLEZ VILMA CECIBEL**; con cédula de identidad N° 0956904650 de la carrera **INGENIERIA AMBIENTAL** Unidad Académica **Guayaquil**, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Ing. Xavier Vélez Gavilanes
Tutor

Guayaquil, 13 de noviembre del 2020



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE BACTERIAS Y HONGOS POTENCIALMENTE UTILIZABLES PARA LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS”** realizado por la Srta. **JIMÉNEZ VÉLEZ VILMA CECIBEL**, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Dra. Tamara Borodulina
PRESIDENTE

Ing. Diego Muñoz Naranjo
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Luis Morocho Rosero
EXAMINADOR PRINCIPAL

Guayaquil, 13 de noviembre del 2020

Dedicatoria

El presente trabajo se los dedico principalmente a mis padres Wilma Rosa Vélez y Wilson Colon Jiménez Salazar, por haberme forjado a ser la persona que soy actualmente; muchos de mis logros se los debo a ellos, y gracias a que siempre me motivaron constantemente para culminar mi carrera universitaria.

A mi hermana Cynthia Jiménez, quien me ha acompañado en toda mi carrera universitaria, afrontando siempre obstáculos, pero saliendo siempre adelante.

A mi tía Melania Vélez, por brindarme su apoyo y ayuda cuando siempre lo necesité, a mis amigas y amigos de la universidad, en especial a mis amigas Karla Tello, Melissa Sangurima, Shirley Zurita y mi amigo Kevin García, gracias siempre por los buenos momentos, por echarme una mano cuando siempre la necesité, por su amistad y apoyo incondicional.

Agradecimiento

Agradezco a Dios y a la Virgen del Cisne por haberme iluminado durante todo este trayecto y haberme permitido culminarlo con éxito.

A la Universidad Agraria del Ecuador, que ha permitido que me forme profesionalmente alcanzando enriquecer mis conocimientos.

Agradecida infinitamente con todos mis docentes de la Universidad Agraria del Ecuador.

Agradeciéndole también al Ing. Xavier Vélez, por ser mi tutor en este gran desafío y por enseñarme que puedo lograr lo que me proponga. Sus conocimientos supieron guiarme a lo largo del desarrollo de este proyecto.

Autorización De Autoría Intelectual

Yo, **JIMÉNEZ VÉLEZ VILMA CECIBEL**, en calidad de autor del proyecto realizado, sobre **“EVALUACIÓN DE BACTERIAS Y HONGOS POTENCIALMENTE UTILIZABLES PARA LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS”** para optar el título de **INGENIERA AMBIENTAL**, por la presente autorizo a la **UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR**, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contiene esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me correspondan, con excepción de la presente autorización seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, 13 de noviembre de 2020

JIMÉNEZ VÉLEZ VILMA CECIBEL

C.I.: 0956904650

Índice general

PORTADA.....	1
APROBACIÓN DEL TUTOR	2
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	3
Dedicatoria.....	4
Agradecimiento	5
Autorización de Autoría Intelectual	6
Índice de tablas	12
Índice de figuras.....	13
Resumen	14
Abstract.....	15
1. Introducción.....	16
1.1 Antecedentes del problema.....	16
1.2 Planteamiento y formulación del problema	19
1.2.1 Planteamiento del problema	19
1.2.2 Formulación del problema	22
1.3 Justificación de la investigación	22
1.4 Delimitación de la investigación	23
1.5 Objetivo general	24
1.6 Objetivos específicos.....	24
1.7 Hipótesis	24
2. Marco teórico.....	25
2.1 Estado del arte.....	25
2.2 Bases teóricas	29
2.2.1 Petróleo.....	29

2.2.2 Hidrocarburos	29
2.2.2.1 Hidrocarburos alifáticos	29
2.2.2.1.1 Hidrocarburos saturados	30
2.2.2.1.2 Hidrocarburos no saturados	30
2.2.2.2 Hidrocarburos aromáticos	30
2.2.2.2.1 Hidrocarburos aromáticos monocíclicos.....	31
2.2.2.2.2 Hidrocarburos aromáticos policíclicos	31
2.2.2.3 Hidrocarburos totales del petróleo	31
2.2.3 Efectos de los hidrocarburos en el suelo	32
2.2.4 Biorremediación	33
2.2.4.1 Micorremediación	33
2.2.4.2 Fitorremediación	34
2.2.4.3 Bioventilación	34
2.2.4.4 Biolixiviación	34
2.2.4.5 Landfarming	35
2.2.4.6 Rizofiltración	35
2.2.5 Evaluación de impactos ambientales mediante matrices de causa y efecto.....	35
2.2.5.1 Matriz de aspectos e impactos ambientales	35
2.2.5.2 Matriz de importancia de impactos	37
2.3 Marco legal.....	40
2.3.1 Constitución de la república del Ecuador	40
2.3.2 Código orgánico integral penal	41
2.3.3 Código orgánico ambiental (COA).....	41
2.3.4 Acuerdo ministerial 028.....	42

2.3.5 Acuerdo Ministerial 100	44
2.3.6 Acuerdo ministerial 142.....	45
2.3.7 Decreto ejecutivo 1215	46
3. Materiales y métodos	48
3.1 Enfoque de la investigación	48
3.1.1 Tipo de investigación.....	48
3.1.2 Diseño de investigación	48
3.2 Metodología	48
3.2.1 Variables	48
3.2.1.1 <i>Variable independiente</i>	48
3.2.1.2 <i>Variable dependiente</i>	49
3.2.2 Tratamientos.....	49
3.2.3 Diseño experimental	50
3.2.4 Recolección de datos	50
3.2.4.1 <i>Recursos</i>	50
3.2.4.2 <i>Métodos y técnicas</i>	50
3.2.4.2.1 Etapa 1	50
3.2.4.2.2 Etapa 2	51
3.2.4.2.3 Etapa 3	51
3.2.5 Análisis estadístico.....	51
3.2.5.1 <i>Tablas de datos</i>	52
3.2.5.2 <i>Gráficos</i>	52
4. Resultados	53
4.1 Caracterización de los impactos ambientales mediante la matriz de aspectos-impactos	53

4.1.1 Valorización de los impactos ambientales mediante la matriz de importancia.....	59
4.2 Identificación de las bacterias y hongos utilizables en la degradación de hidrocarburos.....	62
4.2.1 Bacterias degradadoras de hidrocarburos.....	62
4.2.1.1 Frecuencia de utilización de las bacterias.....	68
4.2.2 Hongos degradadores de hidrocarburos.....	74
4.2.1.1 Frecuencia de utilización de hongos.....	79
4.3 Determinación del porcentaje de degradación de hidrocarburos mediante el uso de bacterias y hongos.....	83
4.3.1 Porcentaje de degradación de hidrocarburos mediante el uso de bacterias y hongos.....	83
4.3.1.1 Degradación de hidrocarburos por bacterias en relación a la concentración inicial.....	85
4.3.1.2 Degradación de hidrocarburos por hongos en relación a la concentración inicial.....	86
4.3.1.3 Degradación de hidrocarburos por medio de consorcios microbianos.....	87
4.3.1.4 Degradación de hidrocarburos por medio de consorcios microbianos en relación a su concentración inicial.....	89
4.3.1.5 Comparación del porcentaje de degradación obtenido por la bacteria <i>Exiguobacterium profundum</i> , el hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> y el consorcio microbiano.....	90
5. Discusión.....	92
6. Conclusiones.....	95

7. Recomendaciones.....	96
8. Bibliografía.....	97
9. Anexos	123

Índice de tablas

Tabla 1. Modelo de matriz de aspectos e impactos.....	37
Tabla 2. Modelo de importancia de impactos	38
Tabla 3. Rangos establecidos para la valorización de impactos	40
Tabla 4. Industrias petroleras presentes en la provincia de Orellana	53
Tabla 5. Relevancia de los impactos ambientales	61
Tabla 6. Géneros de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos	66
Tabla 7. Bacterias Gram positivas.....	72
Tabla 8. Bacterias Gram negativas	73
Tabla 9. Géneros de hongos con capacidad degradadora de hidrocarburos	76
Tabla 10. Porcentaje de remoción de hidrocarburos en el suelo mediante bacterias y hongos.....	85
Tabla 11. Porcentaje de degradación de hidrocarburos por microorganismos en consorcios	89
Tabla 12. Criterios de calidad del suelo.....	123
Tabla 13. Criterios de remediación (valores máximos permisibles).....	123
Tabla 14. Desechos peligrosos por fuente específica	123
Tabla 15. Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios	124

Índice de figuras

Figura 1. Clasificación de los hidrocarburos derivados del petróleo.....	32
Figura 2. Industrias petroleras presentes en la provincia de Orellana	54
Figura 3. Matriz de impactos ambientales ocasionados en la industria petrolera. 58	
Figura 4. Matriz de importancia de impactos ambientales en cada fase petrolera 60	
Figura 5. Frecuencia de utilización de las primeras 25 bacterias identificadas como degradadoras de hidrocarburos.....	70
Figura 6. Frecuencia de utilización de las 25 bacterias restantes identificadas como degradadoras de hidrocarburos.....	72
Figura 7. Porcentaje de utilización de bacterias según su tinción de Gram	74
Figura 8. Frecuencia de utilización de los primeros 18 hongos identificados como degradadores de hidrocarburos.....	81
Figura 9. Frecuencia de utilización de los 16 hongos restantes identificados como degradadores de hidrocarburos.....	83
Figura 10. Degradación de hidrocarburos por bacterias.....	86
Figura 11. Degradación de hidrocarburos por hongos	87
Figura 12. Degradación de hidrocarburos por consorcios microbianos	90
Figura 13. Degradación de HTP por medio de la bacteria, hongo y consorcio microbianos	91
Figura 14. Matriz aspecto e impacto.....	125
Figura 15. Matriz de importancia	126

Resumen

En el Ecuador, el derrame de hidrocarburos y las distintas actividades de la industria petrolera ha generado impactos ambientales en el aire, agua y suelo, sobre todo en las regiones amazónicas que se ven mayormente afectadas por las actividades petroleras. La contaminación por hidrocarburos ha ido incrementando producto del aumento de la actividad de exploración y producción de las distintas industrias petroleras ubicadas en la provincia de Orellana, ocasionando la contaminación de los suelos que muchas de las veces no son remediadas. Por este motivo, en la presente investigación, se realizó una revisión bibliográfica de la eficiencia de la biorremediación de las bacterias y hongos eficaces en la degradación de hidrocarburos. Por otra parte, se calculó el porcentaje de degradación de los hidrocarburos mediante bacterias y hongos de 5 estudios experimentales ya realizados de diversos autores, tomando como variables la concentración inicial y la concentración final obteniendo el % de degradación. Obteniendo como resultado que el hongo *Pleurotus ostreatus*, es eficiente en la degradación de hidrocarburos con un 98%, en un lapso de 2 meses, teniendo en cuenta que la concentración inicial fue de 107239,48 mg/kg-1 de hidrocarburos, obteniendo una concentración final de 2729,22 mg/kg-1, en comparación con la bacteria *Exiguobacterium profundum* que obtuvo un porcentaje de degradación del 88% y el consorcio microbiano conformado por las bacterias *Bacillus* y *Pseudomonas* obteniendo una degradación del 95%. Por lo tanto, se concluye que los hongos obtienen un mayor porcentaje de degradación a concentraciones elevadas, resultando ser eficientes en la recuperación de los suelos contaminados por hidrocarburos.

Palabras clave: Bacterias, Contaminación, Hidrocarburos, Hongos, Petróleo.

Abstract

In Ecuador, the hydrocarbon spill and the different activities of the oil industry have generated environmental impacts on the air, water and soil, especially in the Amazon regions that are mostly affected by oil activities. The contamination by hydrocarbons has been increasing due to the increase in the exploration and production activity of the different oil industries located in the province of Orellana, causing the contamination of the soils that many of the times are not remedied. For this reason, in the present investigation, a bibliographic review of the efficiency of bioremediation of bacteria and fungi effective in the degradation of hydrocarbons was carried out. On the other hand, the percentage of degradation of hydrocarbons by bacteria and fungi was calculated from 5 experimental studies already carried out by various authors, taking as variables the initial concentration and the final concentration, obtaining the % degradation. Obtaining as a result that the *Pleurotus ostreatus* fungus is efficient in the degradation of hydrocarbons with 98%, in a period of 2 months, taking into account that the initial concentration was 107 239.48 mg / kg of hydrocarbons, obtaining a final concentration of 2729.22 mg / kg, in comparison with the bacterium *Exiguobacterium profundum* that obtained a degradation percentage of 88% and the microbial consortium made up of *Bacillus* and *Pseudomonas* bacteria, obtaining a degradation of 95%. Therefore, it is concluded that fungi obtain a higher percentage of degradation at high concentrations, resulting in being efficient in the recovery of soils contaminated by hydrocarbons.

Keywords: Bacteria, Pollution, Hydrocarbons, Fungi, Oil.

1. Introducción

1.1 Antecedentes del problema

El crecimiento demográfico exponencial, la explotación desmedida de los recursos naturales (renovables y no renovables) y la expansión de distintas industrias, ha ocasionado una degradación progresiva del entorno y sus componentes (MAE, 2020). El descubrimiento del petróleo significó en gran parte el desarrollo en la forma de vida de la humanidad (Díaz J. , 2019). Sin embargo, durante los procesos de exploración, perforación, extracción, transformación, almacenamiento y uso, ocasionan la contaminación del aire, agua y suelo (Silva y Ortiz, 2019).

A nivel mundial, la contaminación del suelo ha sido identificada como la tercera amenaza más importante a las funciones del suelo en Europa y Euroasía; 4ta en África de Norte, 5ta en Asia, 7ta en Pacífico del Noroeste, 8va en Norteamérica y 9na en el África Sub-Sahariana y Latinoamérica (Rodríguez, McLaughlin y Pennock, 2019). Cabe recalcar que una de las principales fuentes de contaminación del suelo, se debe mayormente a acciones antropogénicas; un ejemplo son los derrames de hidrocarburos de petróleo (Velazquez, 2017). Esto es ocasionado por derrames accidentales, roturas de oleoductos, derrames de aguas residuales producto de los procesos de separación y muchas de las veces por labores de mantenimiento de los pozos petroleros (Arias, Rivera y Trujillo, 2017).

En Venezuela, en donde la industria petrolera es la principal fuente de ingresos, las actividades y extracción del mismo, ha provocado graves contaminaciones de aire, agua y suelos. Un ejemplo de contaminación del suelo por derrames de petróleo, fue la ocasionada por la empresa PDVSA en el 2014, donde se contabilizó 8.814 derrames con un total de 79.153 barriles vertidos a suelos y aguas. Por otra parte en el 2015, PDVSA reportó 8.796 derrames con un total de 123.846 barriles

de hidrocarburos derramados, y en el 2016 registro 8.250 derrames con un volumen total de hidrocarburos derramados de 182.317 barriles, ocasionando un daño en el equilibrio de la flora y fauna, y afectando la salud de la población (PROVEA, 2018).

En México, desde hace más de 40 años la industria petrolera es considerada fuente principal de la contaminación del suelo. Existen extensas áreas contaminadas con hidrocarburos producto de los derrames, y de las actividades propias de la industria petrolera, solo en el año 2016 se registro 192 eventos de fugas y derrames de hidrocarburos (Briceño, 2018).

Sin embargo, en Colombia cada año se presentan derrames accidentales o provocados que afecta tanto a los ecosistemas terrestres como acuáticos, un ejemplo es el derrame de más de 3 millones de barriles de petróleo crudo debido a una rotura en el Oleoducto Caño Limón Coveñas, que provoco impactos negativos a las cuencas y ecosistemas tropicales (Velazquez, 2017).

En Ecuador, la industria petrolera ha impulsado la economía del país, pero también ha provocado grandes desastres al medio ambiente (Varela, 2017). La mayoría de los reservorios de petróleo están ubicados en la región de la selva amazónica, y han sido explotados desde 1967 (Tansey, Balzter y Tellkamp, 2017).

Actualmente el país cuenta con tres refinerías: Esmeraldas ubicada en la provincia del mismo nombre, La Libertad ubicada en la provincia costera de Santa Elena y la Refinería Shushfindi, localizada en la provincia amazónica de Sucumbíos. La capacidad de operación de cada refinería varía siendo la de Esmeraldas la más productiva con 110 mil barriles de crudo por día, seguida por la Libertad con 20 mil barriles diarios de crudo por día y finalmente refinería Shushfindi con 45 mil barriles diarios (El Telégrafo, 2019).

Los derrames de crudo son hechos que se presentan con frecuencia, en una investigación realizada por la empresa pública Petro-Ecuador titulada "Derrames de petróleo en Ecuador", indica que durante los años 2000-2014 se han registrado un total de 539 derrames de petróleo en el oriente ecuatoriano (Vizueté, Lascano y Moreno, 2019).

Uno de los mayores desastres de contaminación ambiental en la región Amazónica, fue la realizada por la empresa petrolera Texaco. En los años que Texaco estuvo en Ecuador, perforó y operó 356 pozos de petróleo (Ministerio de relaciones externas y movilidad humana, 2015). Derramó más de 19 millones de galones de residuos tóxicos, además de 17 millones de galones de crudo sobre una extensión de más de 2 millones de hectáreas de suelo, afectando a poblaciones indígenas que vivían en las zonas donde operó la petrolera (Sánchez C. , 2015).

Amazon Frontline (2019), menciona que entre el año 2005 al 2015, se han reportado más de 1.169 derrames de petróleo, de los cuales el 81% (952) tuvieron lugar en la región Amazónica, la cantidad de petróleo derramada excede los 350.000 barriles, el equivalente a más de 400 galones por día, sin embargo, del petróleo derramado, 2/3 nunca han sido limpiados.

Se estima que existen alrededor de 2.500 sitios contaminados en la Amazonía, de los cuales 1.211 corresponde a las afectaciones causadas por Chevron-Texaco (El Comercio, 2017).

Por otra parte, existen más de 80.000 análisis que reflejan la presencia de productos tóxicos, ya sea en el suelo y agua. Entre los años 1972 y 1990, se vertieron aproximadamente un total de 15.834 millones de galones de agua tóxica producto de la extracción del petróleo (INREDH, 2016). Según el MAE, los derrames de petróleo son ocasionados por diversos factores: corrosión (28%),

atentados (26%), fallas mecánicas (17,8%), fallas humanas (11.8%) y por último por desastres naturales (1.5%) (Vizúete, Lascano y Moreno, 2019).

Es importante mencionar que las provincias de la Amazonía Ecuatoriana de donde se extraen los recursos petroleros que sostienen al país, son las que presentan una mayor tasa de pobreza con un 66,8% en comparación con la Sierra con un 43.6% y la Costa con un 52,4% (Quiroga y Becerra, 2017).

Ante la problemática expuesta, el presente trabajo se tomará como referencia para la realización de futuras remediaciones de suelos contaminados por hidrocarburos, empleando el uso de microorganismos (hongos y bacterias) como alternativa de biorremediación.

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

La contaminación por derrames de petróleo es una problemática de carácter mundial. A nivel mundial, se calcula que 65 millones de barriles de petróleo son utilizados, en la cual existe una pérdida de 2'381.000 barriles anuales por derrames desde la fase de explotación hasta el refinado del crudo (Gavilanez, 2014).

En el Ecuador, los hidrocarburos son considerados de gran relevancia para la economía nacional, por los altos ingresos que proporciona al Estado (Medina M. , 2017). Sin embargo, la explotación de hidrocarburos provoca una alta contaminación ambiental, en donde las provincias amazónicas son las más afectadas (González, 2017).

La región amazónica contiene diversos depósitos subterráneos de petróleo, que se han extraído en grandes cantidades en las últimas décadas (Tansey, Balzter y Tellkamp, 2017). Producto de la explotación petrolera en el norte de la región Amazónica, ha ocasionado la deforestación de aproximadamente 2.000.000

millones de hectáreas de bosques (Burgos, 2016). Por otra parte, en el proceso de explotación de petróleo se genera más de 4.3 millones diarios de desechos tóxicos, en la cual la mayoría son eliminados al ambiente sin ningún tipo de tratamiento (Gavilanez, 2014).

Principalmente en el norte de la región Amazónica, la explotación del petróleo, provoca afectaciones a la calidad de vida de la población, producto de los derrames accidentales o deliberados, la mala disposición y un mal manejo del tratamiento de los suelos contaminados (Simbaña, 2016). Sin embargo, los derrames también son ocasionados por el rompimiento de tuberías o válvula de manera accidental o provocada, y muchas veces por un mal mantenimiento de las instalaciones (Pérez, Viguera, Gómez y Calva, 2015).

Hoy en día los derrames de hidrocarburos, se consideran como emergencias ambientales, ya que representan un peligro a la salud humana y recursos naturales (Flores, Torras y Téllez, 2004). Los suelos y sedimentos contaminados con petróleo comúnmente presentan una mezcla de hidrocarburos aromáticos policíclicos, de la cual se han descrito como cancerígenos para animales y humanos, entre ellos el benzopireno, antraceno y fluoranteno. Sin embargo, estos contaminantes provocan un impacto negativo en el medio ambiente, ocasionando cambios ecológicos, toxicidad química en los animales y pérdida del hábitat de flora y fauna (Suazo, 2017). Además, provoca impactos negativos sobre las plantas indirectamente, ya que genera minerales tóxicos en el suelo disponible para ser absorbidos, también conducen a un deterioro en la estructura del suelo, pérdida de materia orgánica y la pérdida de nutrientes minerales del suelo. Repercuten en la productividad de los suelos, lo que ocasiona pérdida a los agricultores, debido a que afectan a sus cultivos ocasionando que obtengan productos de mala calidad (Velazquez, 2017).

Además, impiden el intercambio gaseoso con la atmósfera, iniciando una serie de procesos físico-químicos simultáneos (Saaudon, 2015).

Otro problema que se presenta debido a los derrames de hidrocarburos, es la afectación en la forma de vida de la población cercana a las industrias petroleras (Cavazos, Pérez y Gutiérrez, 2014). Algunos estudios han demostrado que las personas que viven cerca de pozos petroleros, o que participan en actividades de limpieza de derrames de petróleo han presentado irritación de piel, garganta, hígado, infertilidad, abortos, y daño renal (Arévalo, Sotomayor, Moscoso y Ramírez, 2017). Cabe recalcar, que la Amazonía norte del Ecuador es una de las regiones con mayor tasas de cáncer en el mundo, en especial de aquellos cánceres con posible origen petrogénico, como el cancer de utero provocado por la presencia de HAPs y benceno producto de la quema de gas de mecheros petroleros (El Salto Extremadura, 2020).

Por lo expuesto, es importante la remediación de los suelos debido a que afecta gravemente al ecosistema y al impacto que ocasiona en la salud de la población cercana que es expuesta a la contaminación. En la actualidad existen diversos tratamientos ya sean físicos, químicos y biológicos. Sin embargo, los tratamientos biológicos son considerados menos invasivos y económicamente accesible a la hora de realizar tratamientos de biorremediación de suelos, ya que hacen uso de microorganismos (hongos y bacterias) los cuales transforman los contaminantes presentes en el suelo en una matriz sólida o líquida, logrando recuperar la matriz original del suelo (Contreras, 2014). Por lo tanto, se plantea como solución para la recuperación de los suelos contaminados la aplicación de la biorremediación mediante la utilización de microorganismos (bacterias y hongos), ya que ha demostrado ser una tecnica efectiva y menos invasiva al suelo, debido a que los

microorganismos utilizan a los hidrocarburos como fuente de carbono y energía logrando así la degradación de estos compuestos.

1.2.2 Formulación del problema

¿Cuál es la eficiencia de utilizar bacterias y hongos como alternativa de biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en la provincia de Orellana?

1.3 Justificación de la investigación

Los derrames accidentales de petróleo y sus derivados representan un gran problema ambiental a nivel mundial. En el Ecuador las provincias amazónicas son amenazadas en gran medida por la industria petrolera.

La provincia de Orellana, es considerada una de las provincias más amenazada del país debido a la actividad petrolera existente que ha ocasionado deterioros en el equilibrio ecológico y afectando a los habitantes de la zona, biodiversidad presente y al medio ambiente en general. La problemática de la actividad hidrocarburífera comienza por el alto impacto que presenta en cada fase petrolera, afectando principalmente al aire, agua, suelo y a la población cercana a los pozos petroleros. Ante esta realidad que enfrenta la provincia de Orellana y sus diversos cantones, es necesario buscar alternativas efectivas, innovadoras y de un menor costo a las técnicas tradicionales ya establecidas para contrarrestar la contaminación de hidrocarburos en el suelo. Por lo tanto, esta investigación se centrará en recomendar y que tan factible es el uso de microorganismos para la degradación y eliminación de estos compuestos.

El presente trabajo constituye un aporte de investigación para estudiantes, profesores, profesionales interesados en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Además de identificar las diferentes bacterias y

hongos que pueden degradar hidrocarburos, proveyendo así de más información en el campo del bio-tratamiento de suelos contaminados. Contribuyendo así al desarrollo de futuros trabajos experimentales para la recuperación de los suelos principalmente en la provincia de Orellana.

Es por eso, que la biorremediación ha demostrado ser una tecnología de bajo costo, además de que no requiere técnicas sofisticadas para su funcionamiento y ha demostrado su eficiencia en el tratamiento de contaminación por hidrocarburos, ya que esta técnica utiliza diferentes tipos de bacterias y hongos que son capaces de sobrevivir y degradar compuestos tóxicos (hidrocarburos).

El desarrollo de este trabajo investigativo se llevará a cabo mediante información recopilada de: artículos científicos, libros, trabajos de titulación, sitios webs, informes, con el fin de identificar primeramente los impactos generados por la industria petrolera en todas sus fases de exploración, perforación, extracción, transporte y almacenamiento, esto mediante el uso de la matriz de evaluación de impactos ambientales que permite saber la causa y efecto de los mismos.

Por último, se identificarán los microorganismos potencialmente utilizados en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante revisión bibliográfica, así mismo identificar el porcentaje de remoción de hidrocarburos presentes en el suelo, todo esto con el fin de que en la actualidad se la utilice como una técnica alternativa para la solución ante esta problemática ambiental expuesta.

Finalmente, la investigación contribuirá con información útil para el desarrollo de futuros trabajos experimentales para la recuperación de los suelos.

1.4 Delimitación de la investigación

Espacio: Provincia de Orellana

Tiempo: 2 meses

Población: El presente trabajo investigativo va dirigido a la población del cantón Joya de los Sachas, Orellana

1.5 Objetivo general

Evaluar las bacterias y hongos potencialmente utilizables para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos.

1.6 Objetivos específicos

- Caracterizar los impactos ambientales ocasionados por la actividad hidrocarburífera en la provincia de Orellana mediante la matriz de impacto ambiental.
- Identificar los tipos de bacterias y hongos más utilizados para la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos y comparar los dos microorganismos en cuanto a su efectividad mediante revisión bibliográfica.
- Calcular la frecuencia de utilización de bacterias y hongos, y el porcentaje de remoción de hidrocarburos mediante la fórmula de frecuencia y el cálculo de porcentaje de remoción de contaminantes.

1.7 Hipótesis

¿Son las bacterias más eficientes que los hongos para la biorremediación de los suelos contaminados por hidrocarburos?

2. Marco teórico

2.1 Estado del arte

Muñoz (2016) determinó en su trabajo de investigación titulado: Evaluación de la eficacia de *Trichoderma sp* y *Pseudomonas* para biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, realizada en la ciudad de Quito, la eficiencia de usar estos hongos para la disminución de TPH en el suelo, en la cual realizo 3 tratamientos, determinando que el tratamiento 3 resulto el más efectivo ya que logro una degradación del hidrocarburo de 379.2 mg/kg-1, teniendo en cuenta que la contaminación inicial de THP en el suelo fue de 42070.3 mg/kg-1, por lo que concluyó que los consorcios microbianos son efectivos cuando hay compatibilidad entre microorganismos para la degradación de hidrocarburos.

En el artículo desarrollado por Contreras y Carreño (2018) titulado: Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de un suelo contaminado, realizado en el distrito de Puerto Eten, determinaron que el hongo *Aspergillus sp*, es el más eficiente en la degradación de hidrocarburos en un suelo contaminado que presentaba una concentración inicial de 25.987 mg kg - 1, obteniendo un porcentaje de degradación de un 73%, por lo que concluyeron que la utilización de hongos filamentosos es viable para la remoción de hidrocarburos en suelos contaminados.

Por otra parte, Purisaca y Quevedo (2015) en el trabajo titulado "Eficiencia de la biorremediación de suelos contaminados con petroleo por Actinobacterias nativas de la provincia de Talara, región Piura", en la cual aislaron 20 actinobacterias de suelos contaminados con hidrocarburos de petroleo del Lote III y del Lote IV de la empresa Interoil Perú S.A, determinarán que la bacteria *Streptomyces* es eficiente en la degradación de los hidrocarburos totales del petróleo, obtuyendo una remediación del 55%, teniendo en cuenta las concentraciones de TPH eran de

22900 mg/kg-1 y 21200 mg/kg-1 respectivamente, obteniendo una concentración final de hidrocarburos totales de 9922,5 mg/kg-1, por lo cual concluyeron que los hongos hidrocarbonoclasticos son eficientes en la biodegradación de HP.

Sin embargo los hongos tambien resultan ser prometedores en la degradación de hidrocarburos, tal es el caso del trabajo desarrollado por Cerna (2018) titulado "Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos usando el hongo *Penicillium janthinellum* en los servicios generales de la UNALM-La Molina", realizado en Perú, en la cual determinó que el hongo *Penicillium janthinellun* es un microorganismos eficiente en la degradación de hidrocarburos, debido a que logro una reducción de la concentración de hidrocarburos del 25% (2512.23 mg/kg), 23% (2355.56 mg/kg), y 19% (1900 mg/kg) respectivamente, teniendo en cuenta que la concentración inicial de hidrocarburos fue de 10000 mg/kg, por lo que concluye que la utilización del hongo es efectivo para la degradación de hidrocarburos.

El trabajo realizado por Obispo y Ramos (2019) titulado "Biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelo agrícola contaminado por petroleo analizando la fracción 2 y 3 de hidrocarburo desarrollado en la Universidad Nacional del Callao", se centró en la realización de 4 tratamientos, en la cual las concentraciones iniciales de contaminación de suelos por hidrocarburos de fracción 2 fueron: T1: 2255,0 mg/kg, T2: 2255,0 mg/kg, T3: 3386,0 mg/kg, T4:3386,0 mg/kg, mientras que la concentración de contaminación de suelos por hidrocarburos de fracción 3 fueron: T1: 2447,0 mg/kg, T2: 2447,0 mg/kg, T3: 2774,o mg/kg, T4: 2774,0 mg/kg, cabe recalcar que en la que el T1 y el T3 contenían la cepa del hongo *Auricularia sp*, los resultados que obtuvo fueron favorables, ya que el T1 obtuvo una degradación del hidrocarburo F2 y F3 en un 64,2% y 51,2% respectivamente, mientras que el T3, presento una degradación del hidrocarburo F2 y F3 en un 47,3%

y 36,7%, por lo que concluyo que el hongo *Auricularia sp.* tiene una mayor efectividad de remediación de suelos contaminados por petróleo, en comparación a la atenuación natural o el landfarming.

Según Guzmán, Cerrato, Rivera, Torres y Garibay (2017) en su artículo titulado: Degradación de diesel por bacterias emulsionantes aisladas de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo degradados, realizado en México, evaluaron la capacidad de degradación de HP por bacterias, en la cual aislaron 13 cepas bacterianas, donde identificaron que la bacteria *S. marcescens* C7S3A es efectiva en la degradación del diesel con un 96% y una emulsión de 74.2%, teniendo en cuenta que la concentración inicial en el suelo fue de 150,000 mg/kg - 1, con los resultados obtenidos concluyeron que las bacterias emulsionantes pueden ser utilizados en la biorremediación de suelos contaminados por HP.

Sin embargo, en el proyecto de Pérez (2018) titulado: Evaluación de la biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos utilizando *Pseudomonas fluorescens*, realizado en la provincia de Orellana, el objetivo de su trabajo experimental fue reducir la cantidad de TPHs y HAPs en los suelos, los resultados obtenidos fueron positivos, obteniendo un porcentaje de degradación de TPHs del 97,50%, es decir 2649 mg/kg, teniendo en cuenta que la concentración inicial de hidrocarburos en el suelo fue de 104231mg/kg, por lo que concluyo que las bacterias *Pseudomonas fluorescens* demuestran ser excelentes degradadoras de TPHs y HAPs.

Como indica Marín (2018) en el trabajo experimental titulado: Biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo por hongos endófitos de la Amazonia Ecuatoriana, realizado en la provincia de Napo, evaluó la capacidad de biodegradación de hidrocarburos mediante el aislamiento de 133 fúngicos endófitos, en la cual

identifico que los hongos del género *Verticillium sp.* y *Aspergillus sp.* fueron las que obtuvieron mayor tasa de remoción de hidrocarburos totales de petróleo, con un porcentaje del 99,6% y 99,8%, por lo que concluyó que los hongos endófitos son potenciales degradadores de hidrocarburos que pueden ser utilizados en procesos de biorremediación.

Como indica Cardenas (2019) en su trabajo titulado: Evaluación del potencial de biorremediación de tres tipos de bacterias en suelos contaminados con hidrocarburos, realizado en la ciudad de Guayaquil, evaluó el potencial de biorremediación mediante la utilización de tres consorcios bacterianos: BRH-100P, SPARTA y COCTEL BACTERIANO, los resultados obtenidos fueron positivos porque se degradó gran parte de los hidrocarburos, donde el consorcio bacteriano BRH-100P redujo (2711.6 mg/kg) es decir un 62% de degradación, SPARTA (982.0 mg/kg) 77% de degradación y COCTEL BACTERIANO (2407,0 mg/kg) 70% de degradación, teniendo en cuenta que la concentración inicial del contaminante fue de 53008.4 mg/kg ppm de THP, por lo que concluyo que los consorcios bacterianos son efectivos para la remoción de THP en el suelo.

Por otra parte, en el artículo desarrollado por Castro (2016) titulado: Potencial de cepas de *Trichoderma spp.* para la biorremediación de suelos contaminados con petróleo, realizado en la provincia de Esmeraldas, empleo 3 cepas de *Trichoderma*: *Trichoderma harzianum* CCECH-Te1, *Trichoderma viride* CCECH-Te2, y *Trichoderma psedokoningii* CCECH-Te3 aisladas del suelo contaminado con petróleo. Después de 96 días realizada la inoculación, recogio muestras de suelo a 10 y 15 cm de profundidad, en la cual determinó el contenido de hidrocarburos totales, HAP, y metales pesados (Cd, Pb, Ni), con los datos que obtuvo calculó el % de remoción de cada cepa de bacteria *Trichoderma*, obteniendo los siguientes

resultados: disminución del 47% de la concentración de hidrocarburos totales en el suelos, y una disminución del 50% de HAP, concluyendo que el uso de cepas autóctonas de *Trichoderma*, son factibles para la biorremediación de suelos contaminados por petróleo.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Petróleo

Repsol (2002) define al petróleo como un líquido viscoso, de color verde marrón o negro, densidad comprendida entre 0,66 g/ml y 0,9785 g/ml, constituido por diferentes hidrocarburos (parafinas, aromáticos y naftalenos).

Sin embargo, Pozo (2018) menciona que el petróleo es uno de los recursos naturales más utilizados como fuente de energía no renovable, se forma por la degradación anaerobia de la materia orgánica a lo largo del tiempo y en distintas condiciones ambientales.

La composición elemental del petróleo crudo es: 80-88% de carbono, 10-15% de hidrógeno, 0-3% de nitrógeno, 0.2-5% de azufre y 0-1% de oxígeno, sin embargo, los porcentajes pueden variar de acuerdo al yacimiento (Gavilanez, 2014).

2.2.2 Hidrocarburos

Los hidrocarburos se definen como sustancias orgánicas, principalmente constituidas por carbono e hidrógeno (Alcaraz, 1991). Se pueden presentar de manera líquida, sólida o gaseosa, se definen en dos grupos: alifáticos y aromáticos (Cortés y Villamizar, 2000).

2.2.2.1 Hidrocarburos alifáticos

Los hidrocarburos alifáticos son compuestos de cadena abierta, entre las que pertenecen los alcanos (parafinas), alquenos (oleofinas), alquinos (acetilenos) y ciclo-alcanos (Smith, 2006).

2.2.2.1.1 Hidrocarburos saturados

Los hidrocarburos saturados son aquellos hidrocarburos en los que todos sus carbonos tienen 4 enlaces simples, entre ellos el metano (CH₄) (Eadic, 2016).

Sin embargo, los hidrocarburos saturados poseen poca afinidad química, de ahí el nombre de parafinas, su estructura presenta enlaces σ , lo que indica que son muy estables, sus reacciones las realizan por sustitución y la mayoría es de tipo radical, la mayoría de los hidrocarburos proceden del carbón, petróleo y gas natural (Teijón y García, 2018).

2.2.2.1.2 Hidrocarburos no saturados

Los hidrocarburos no saturados que presentan uno o más dobles enlaces se los denomina alquenos u olefinas, y los que presentan doble o triples enlaces se los denomina alquinos o acetiluros (Smith, 2006).

Los alquenos y alquinos se los denomina no saturados, debido a que no presentan el máximo número de átomos de H, es decir, no están saturadas de H, a causa de su insaturación los alquenos y alquinos son más reactivos que los alcanos, se integran fácilmente con otros compuestos o consigo mismos dando como resultados muchos productos útiles (Linstromberg, 1977).

2.2.2.2 Hidrocarburos aromáticos

Los hidrocarburos aromáticos son hidrocarburos cíclicos relacionados estructuralmente con el benceno, son compuestos que tienen por lo menos un anillo de 6 átomos de Carbono, se clasifican en monocíclicos y policíclicos (Vásquez, 2005).

Los hidrocarburos aromáticos tienen importancia industrial, ya que son materia prima para más del 60% del tonelaje de plásticos, elastómeros y fibras sintéticas,

por otra parte, la hulla y el petróleo son considerados fuentes de Hidrocarburos aromáticos (Yúfera, 1993).

2.2.2.2.1 Hidrocarburos aromáticos monocíclicos

Los hidrocarburos aromáticos monocíclicos tienen como base un solo anillo bencénico, se consideran 2 tipos de hidrocarburos monocíclicos, los saturados y los no saturados (Hernández, Laporte y Vispo, 1987).

Los hidrocarburos aromáticos monocíclicos se encuentran en concentraciones altas en aguas superficiales como subterráneas, esto debido a que no se evaporan, sin embargo, estos compuestos se han detectado en acuíferos y en agua potable (Jiménez, 2002).

2.2.2.2.2 Hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los HAP están compuestos por 2 o más anillos de benceno con anillos adyacentes que comparten entre sí 2 átomos de carbono, estos hidrocarburos se encuentran mayormente en el medio ambiente y se ha presenciado en agua potable (Jiménez, 2002).

Por otra parte, los HAP son generados por la combustión incompleta de la materia orgánica, ya sea de manera natural o antropogénica, por ejemplo, por incendios forestales, automóviles e incineración de residuos (Pozo, 2018).

2.2.2.3 Hidrocarburos totales del petróleo

El término hidrocarburos totales del petróleo (HTP), se utiliza para describir una gran cantidad de compuestos químicos que son originados del petróleo crudo (Campilla, 2006).

El petróleo crudo se utiliza para manufacturar productos del petróleo, que pueden contaminar el ambiente, por lo cual es importante medir la cantidad total de TPH en un sitio contaminado, ya que no se puede medir en forma separada debido a que

hay diferentes productos químicos en el petróleo crudo y en otros productos de petróleo (ATSDR, 2016).

Bautista (2016) clasifica a los HTP en 4 grupos diferentes como se observa en la siguiente Figura 1.

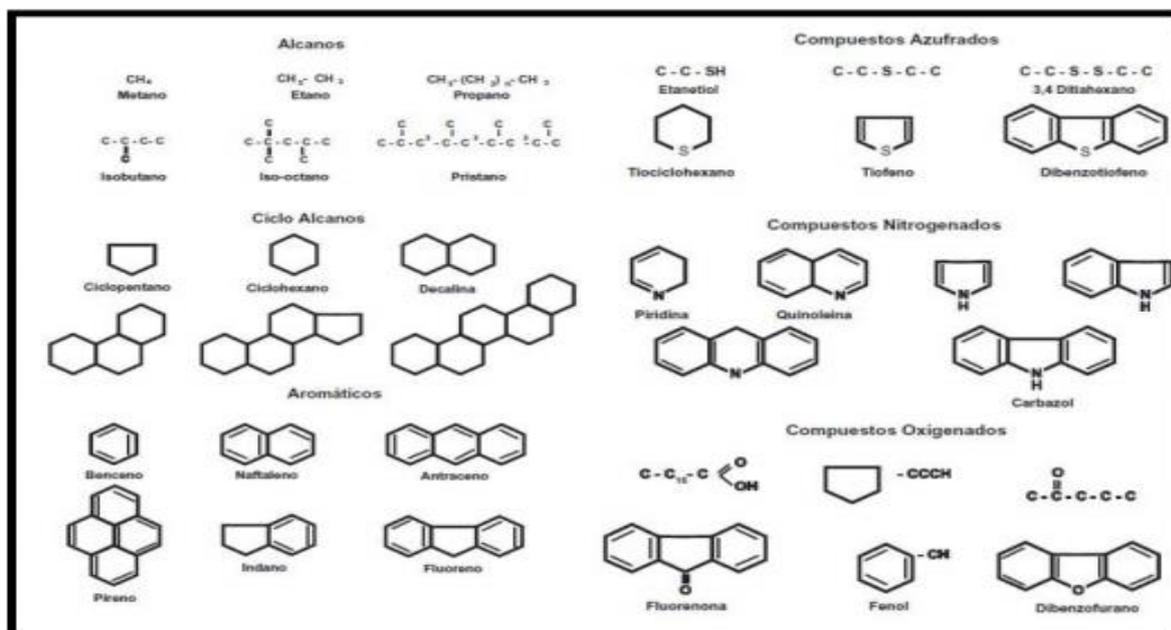


Figura 1. Clasificación de los hidrocarburos derivados del petróleo

2.2.3 Efectos de los hidrocarburos en el suelo

Las principales consecuencias ambientales producidas por un evento de contaminación de hidrocarburos en el suelo, es la reducción o contención del desarrollo de la cobertura vegetal, la contaminación por infiltración de cuerpos de agua subterráneos, y también ocasiona cambios en la dinámica poblacional de la fauna y la biota microbiana (Pardo, Perdomo y Benavides, 2004).

Sin embargo, Contreras (2014) menciona que otro de los efectos que ocasiona los hidrocarburos en el suelo es la disminución del rendimiento de los cultivos, también impide el intercambio gaseoso con la atmósfera provocando una serie de procesos físico-químicos simultáneos, y envenenamiento a través de la cadena alimentaria.

2.2.3.1 Efectos de los hidrocarburos en la salud humana

Las repercusiones de los hidrocarburos derramados se determinan por medio de las características físicas y químicas, con mayor énfasis en la densidad, viscosidad y composición química de los hidrocarburos (ITOPF, 2011).

Los compuestos en diferentes fracciones de los hidrocarburos totales del petróleo afectan en gran parte a la salud humana, especialmente los compuestos como el benceno, tolueno y xileno afectan el sistema nervioso. Por otra parte, estar expuesto a altas cantidades puede ser fatal, ya que la inhalación de benceno (100 ppm) durante varias horas provoca fatiga, dolor de cabeza, adormecimiento y náusea, sin embargo, estar expuestos durante un tiempo prolongado provoca daños permanentes en el sistema nervioso central (ATSDR, 2015).

Por otra parte, los hidrocarburos aromáticos pueden causar efectos agudos y crónicos en el organismo produciendo cefalea, mareo, náuseas, desorientación, confusión e inquietud. La exposición a dosis altas provoca pérdida de consciencia y afectaciones al sistema respiratorio, la exposición crónica contribuye al desarrollo de una neuropatía distal, así mismo provoca sequedad, irritación y agrietamiento de la piel (Solá, Menéndez, Rivas, Iglesias y Borrás, 2018).

2.2.4 Biorremediación

La biorremediación es una técnica para la recuperación de suelos contaminados, de una forma muy práctica, ya que hace uso de los mismos microorganismos que viven en el suelo y el subsuelo (Arguelles, 2010).

Por otra parte, la biorremediación es más amigable con el medio ambiente, económica, y menos invasiva en comparación con las técnicas físico-químicas (Guzmán, 2007).

2.2.4.1 Micorremediación

La micorremediación es una técnica que hace uso de la capacidad bio-transformadora de los hongos, basándose en su propio funcionamiento en la naturaleza, degradando los residuos tóxicos hasta liberar sus componentes ya inocuos a la naturaleza (Biomar, 2019).

Sin embargo, la micorremediación no solo se aplica a los suelos altamente contaminados, sino que permite restablecer el contenido en materia orgánica y el equilibrio biológico de los suelos (ALMADIUS, 2017).

2.2.4.2 Fitorremediación

La fitorremediación es un proceso en la cual se utiliza plantas para remover, transferir, estabilizar, concentrar y/o destruir contaminantes orgánicos e inorgánicos en suelos, lodos y sedimentos (Velasco y Volke, 2002).

Una de las ventajas de la fitorremediación es que es una técnica menos destructiva para el ambiente, de bajo costo, se requiere de un bajo mantenimiento y es versátil para el tratamiento de una gama de compuestos peligrosos (Rosa, Velasco y Volke, 2005).

2.2.4.3 Bioventilación

La bioventilación es una técnica de saneamiento que se aplica *in situ*, a la recuperación de la zona no saturada del suelo (Bureau Veritas, 2008).

Según Benavides (2014) la bioventilación se sirve de microorganismos para descomponer sustancias tóxicas que han sido absorbidas por el agua, el objetivo de esta práctica es estimular a las bacterias ya presentes en el área degradada, para así acelerar la biodegradación de los hidrocarburos.

2.2.4.4 Biolixiviación

La biolixiviación consiste en la extracción de metales ya sea desde minerales o menas, a través de microorganismos (CAMIPER, 2019).

Sin embargo, CONICYT (2014) menciona que los microorganismos utilizados en el proceso de biolixiviación, disuelven el hierro y el azufre para liberar el cobre desde minerales de baja ley, convirtiéndolo en un método más eficiente y de bajo costo.

2.2.4.5 Landfarming

El landfarming consiste en la bioestimulación microbiana que son capaces de utilizar los hidrocarburos como fuente de energía, consiguiendo de este modo su degradación (Alhama, 2013).

Cabe recalcar que la efectividad de la técnica landfarming depende de las características del suelo, los constituyentes y las condiciones climáticas (Rodríguez, 2008).

2.2.4.6 Rizofiltración

La rizofiltración consiste en la utilización de las raíces de las plantas para lograr descontaminar aguas o efluentes líquidos y para el tratamiento de soluciones contaminadas con metales pesados (Guevara, De la Torre, Villegas y Criollo, 2009).

Ballesta (2017) menciona que la rizofiltración se puede aplicar ya sea *in situ* o *ex situ*, teniendo en cuenta los siguientes factores: concentración del efluente, y las especies vegetales.

2.2.5 Evaluación de impactos ambientales mediante matrices de causa y efecto

Las matrices de causa y efecto son métodos de valoración cualitativa, consisten en un listado de acciones y de indicadores de impacto ambiental generados por cada actividad del proyecto (Navarro, 2015). Por lo tanto, se valorarán los impactos ambientales ocasionados por los derrames de petróleo.

2.2.5.1 Matriz de aspectos e impactos ambientales

El modelo de matriz de aspectos e impacto ambiental es un mecanismo utilizado para la identificación de los impactos del proyecto sobre el ambiente y a su vez propone las acciones requeridas para su atención y manejo (Villamar, 2017).

González (2017) indica que, para identificar los aspectos ambientales, es necesario tener en cuenta las distintas actividades, productos y servicios que desarrolla la entidad, definiendo entradas y salida de materiales, los distintos procesos que realizan, los métodos de transporte y factores humanos.

Por otra parte, IDIGER (2015) menciona que es necesario comprender los impactos ambientales teniendo la capacidad de reconocer:

- Los impactos ambientales positivos y negativos / reales y potenciales
- La parte del ambiente que se pueden ver afectadas, por ejemplo, el aire, el agua, el suelo, la flora, la fauna.
- Las características del lugar que pueden afectar al impacto, entre ellas las condiciones climáticas locales, la altura sobre el nivel del mar, los tipos de suelo, entre otros.

En resumen, la matriz de aspectos e impactos ambientales permite de una manera simple, identificar y valorar la significancia total de cada uno de los aspectos ambientales ya identificados.

Según Quinchía, Irwin y Uribe (2007) indica que para la identificación de los impactos ambientales se debe tener en cuenta los siguientes aspectos:

FARI: área afectada por las obras o actividades del proyecto (ubicado en las filas).

ASPI: acciones del proyecto que puede producir impacto (ubicado en las columnas).

Relación causa/efecto: acciones que se dan entre el FARI y ASPI, si existe relación se colocara una x.

Tabla 1. Modelo de matriz de aspectos e impactos

FARI \ ASPI		Actividades de proyecto			
		1	2	3	4
Factores ambientales	Factores Abióticos			x	
	Factores Bióticos	x			
	Socio - Económico		x		x

Autora, 2020

2.2.5.2 Matriz de importancia de impactos

La matriz de importancia es una metodología que pertenece a Vicente Conesa, en la cual permite identificar el impacto ambiental que se genera por la acción de una actividad sobre un factor ambiental considerado (Ortiz, 2016). Se le puede asignar la importancia a cada impacto ambiental que es generado por la ejecución de un proyecto en cada una de sus etapas (Hidroar, 2015).

La importancia del impacto ambiental se valorará según el grado de incidencia o intensidad, como esta explicado en la siguiente Tabla 2.

Tabla 2. Modelo de importancia de impactos

Signo		Intensidad (i)	
Beneficioso	+	Baja	1
Perjudicial	-	Total	12
Extensión (EX)		Momento (MO)	
Puntual	1	Largo plazo	1
Parcial	2	Medio plazo	2
Extenso	4	Inmediato	4
Total	8	Critico	8
Critica	12		
Persistencia (PE)		Reversibilidad (RV)	
Fugaz	1	Corto plazo	1
Temporal	2	Medio plazo	2
Permanente	4	Irreversible	4
Sinergia (SI)		Acumulación (AC)	
Sin sinergismo	1	Simple	1
Sinérgico	2	Acumulativo	4
Muy sinérgico	4		
Efecto (EF)		Periodicidad (PR)	
Indirecto	1	Irregular	1
Directo	4	Periódico	2
Recuperabilidad (MC)		Continuo	
Recup. Inmediata	1	Importancia (I)	
Recuperable	2		
Mitigable	4	$I = +/- (3i + 2EX + MO + PE + RV + SI + AC + EF + PR + MC)$	
Irrecuperable	8		

Hidroar, 2015

Según lo indicado en la Tabla 2, Hidroar (2015) detalla cada una de las variables expuestas:

- **Signo (+/-):** el signo del impacto indica si el impacto ocasionado por las distintas actividades es de carácter beneficioso (+) o negativo (-) sobre los factores considerados.

- **Intensidad (i):** este término hace referencia al grado de repercusión de la acción sobre el factor, la valorización está comprendido entre 1 y 12, en donde el 12 expresa destrucción total y la 1 afección mínima.
- **Extensión (EX):** es el área afectada tanto directa como indirectamente por las distintas acciones de las actividades realizadas en un proyecto.
- **Momento (MO):** indica el tiempo que transcurre entre la aparición de la acción y el inicio del efecto, sobre el factor del medio considerado.
- **Persistencia (PE):** este término hace referencia al tiempo en que permanecerá el impacto desde el comienzo, en la cual el factor afectado retornará a las condiciones iniciales mediante la implementación de medidas correctivas.
- **Reversibilidad (RV):** recuperación del factor afectado a las condiciones iniciales previas a las actividades del proyecto.
- **Recuperabilidad (MC):** Posibilidad de reconstrucción del factor afectado ya sea total o parcial.
- **Sinergia (SI):** reforzamiento de 2 o más efectos simples.
- **Acumulación (AC):** Cuando el efecto va aumentando progresivamente, puede ser simple (no produce impactos acumulativos) o acumulativo (el impacto se acumula).
- **Efecto (EF):** se refiere a la manifestación del efecto de manera directa o indirecta sobre un factor como consecuencia de una acción.
- **Periodicidad (PR):** regularidad en la que se manifiesta el efecto, puede llegar a ser irregular, periódica o continúa.

A continuación, en la Tabla 3 se indica los rangos establecidos para la valorización de los impactos:

Tabla 3. Rangos establecidos para la valorización de impactos

Valor I (13 y 100)	Calificación	Significado
<25	BAJO	La afectación es irrelevante en comparación con los fines y objetivos del proyecto en cuestión.
25≥<50	MODERADO	La afectación del mismo, no precisa prácticas correctoras o protectoras intensivas.
50≥<75	SEVERO	La afectación de este, exige la recuperación de las condiciones del medio a través de medidas correctoras o protectoras. El tiempo de recuperación necesario es en un periodo prolongado
≥75	CRITICO	La afectación del mismo, es superior al umbral aceptable. Se produce una pérdida permanente de la calidad en las condiciones ambientales. NO hay posibilidad de recuperación alguna.

Hidroar, 2015

2.3 Marco legal

2.3.1 Constitución de la república del Ecuador

En el Capítulo Segundo: Derechos del buen vivir; Sección segunda: Ambiente sano, establece que:

Art. 14.- Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, Sumak kawsay.

Se declara interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados (OEA, 2008, pág. 13).

Art. 72.- La naturaleza tiene derecho a la restauración. Esta restauración será independiente de la obligación que tienen el Estado y las personas naturales o jurídicas de Indemnizar a los individuos y colectivos que dependan de los sistemas naturales afectados

En el Capítulo segundo: Biodiversidad y recursos naturales; Sección primera: naturaleza y ambiente, se destaca:

Art. 395.- La Constitución reconoce los siguientes principios principales ambientales:

1. El Estado garantizará un modelo sustentable de desarrollo, ambientalmente equilibrado y respetuoso de la diversidad cultural, que conserve la biodiversidad y la capacidad de regeneración natural de los ecosistemas, y asegure la satisfacción de las necesidades de las generaciones presentes y futuras

En la Sección séptima: Biosfera, ecología urbana y energías alternativas, del capítulo anteriormente mencionado, indica:

Art. 409.- Es de interés público y prioridad nacional la conservación del suelo, en especial su capa fértil. Se establecerá un marco normativo para su protección

y uso sustentable que prevenga su degradación, en particular la provocada por la contaminación, la desertificación y la erosión.

Art. 413.- El Estado promoverá la eficiencia energética, el desarrollo y uso de prácticas y tecnologías ambientalmente limpias y sanas, así como de energías renovables, diversificadas, de bajo impacto y que no ponga en riesgo la soberanía alimentaria, e equilibrio ecológico de los ecosistemas ni el derecho al agua.

2.3.2 Código orgánico integral penal

En el Capítulo 4 de delitos contra el ambiente y la naturaleza o Pacha Mama, Sección primera: delitos contra la biodiversidad, establece que:

Art. 245.- Invasión de áreas de importancia ecológica. - La persona que invada las áreas del Sistema Nacional de Áreas Protegidas o ecosistemas frágiles, será sancionada con pena privativa de libertad de uno a tres años. Se aplicará el máximo de la pena prevista cuando:

1. Como consecuencia de la invasión, se causen daños graves a la biodiversidad y recursos naturales.
2. Se promueva, financie o dirija la invasión aprovechándose de la gente con engaño o falsas promesas (Defensoría del pueblo, 2018, pág. 84).

Art. 252.- Delitos contra suelo. - La persona que, contraviniendo la normativa vigente, en relación con los planes de ordenamiento territorial y ambiental cambie el uso del suelo forestal o el suelo destinado al mantenimiento y conservación de ecosistemas nativos y sus funciones ecológicas, afecte o dañe su capa fértil, cause erosión o desertificación, provocando daños graves, será sancionada con pena privativa de libertad de tres a cinco años.

Se impondrá el máximo de la pena si la infracción es perpetrada en un espacio del Sistema Nacional de Áreas Protegidas o si la infracción es perpetrada con ánimo de lucro o con métodos, instrumentos medios que resulten en daños extensos y permanentes.

2.3.3 Código orgánico ambiental (COA)

Art. 5.- Derecho de la población a vivir en un ambiente sano. El derecho a vivir en un ambiente sano ecológicamente equilibrado comprende:

1. La conservación, manejo sostenible y recuperación del patrimonio natural, la biodiversidad y todos sus componentes, con respeto a los derechos de la naturaleza y a los derechos colectivos de las comunas, comunidades, pueblos y nacionalidades;
2. El manejo sostenible de los ecosistemas, con especial atención a los ecosistemas frágiles y amenazados tales como páramos, humedales, bosques nublados, bosques tropicales secos y húmedos, manglares y ecosistemas marinos y marinos-costeros;
3. La intangibilidad del Sistema Nacional de Áreas Protegidas, en los términos establecidos en la Constitución y la ley;
4. La conservación, preservación y recuperación de los recursos hídricos, cuencas hidrográficas y caudales ecológicos asociados al ciclo hidrológico;
5. La conservación y uso sostenible del suelo que prevenga la erosión, la degradación, la desertificación y permita su restauración;
6. La prevención, control y reparación integral de los daños ambientales;

7. La obligación de toda obra, proyecto o actividad, en todas sus fases, de sujetarse al procedimiento de evaluación de impacto ambiental;
8. El desarrollo y uso de prácticas y tecnologías ambientalmente limpias y sanas, así como de energías alternativas no contaminantes, renovables, diversificadas y de bajo impacto ambiental;
9. El uso, experimentación y el desarrollo de la biotecnología y la comercialización de sus productos, bajo estrictas normas de bioseguridad, con sujeción a las prohibiciones establecidas en la Constitución y demás normativa vigente;
10. La participación en el marco de la ley de las personas, comunas, comunidades, pueblos, nacionalidades y colectivos, en toda actividad o decisión que pueda producir o que produzca impactos o daños ambientales;
11. La adopción de políticas públicas, medidas administrativas, normativas y jurisdiccionales que garanticen el ejercicio de este derecho; y,
12. La implementación de planes, programas, acciones y medidas de adaptación para aumentar resiliencia y reducir la vulnerabilidad ambiental, social y económica frente a la variabilidad climática ya los impactos del cambio climático, así como la implementación de los mismos para mitigar sus causas.

Art. 6.- Derechos de la naturaleza. Son derechos de la naturaleza los reconocidos en la Constitución, los cuales abarcan el respeto integral de su existencia y el mantenimiento y regeneración de sus ciclos vitales, estructura, funciones y procesos evolutivos, así como la restauración.

Para la garantía del ejercicio de sus derechos, en la planificación y el ordenamiento territorial reincorporarán criterios ambientales territoriales en virtud de los ecosistemas. La Autoridad Ambiental Nacional definirá los criterios ambientales territoriales y desarrollará los lineamientos técnicos sobre los ciclos vitales, estructura, funciones y procesos evolutivos de la naturaleza.

2.3.4 Acuerdo ministerial 028

Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente. En el Anexo 2 de la norma de calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados, establece que:

Art. 217 Calidad de Suelos. - Para realizar una adecuada caracterización de este componente en los estudios ambientales, así como un adecuado control, se deberán realizar muestreos y monitoreo siguiendo las metodologías establecidas en el Anexo II del presente Libro y demás normativa correspondiente (MAE, 2015, pág. 56).

Art. 218 Tratamiento de Suelos Contaminados. - Se lo ejecuta por medio de procedimientos validados por la Autoridad Ambiental Competente y acorde a la norma técnica de suelos, de desechos peligrosos y demás normativa aplicable. Los sitios de disposición temporal de suelos contaminados deberán tener medidas preventivas eficientes para evitar la dispersión de los contaminantes al ambiente.

Art. 219 Restricción. - Se restringe toda actividad que afecte la estabilidad del suelo y pueda provocar su erosión.

4.2.5 De la prohibición de descargas, infiltración o inyección de efluentes en el suelo y subsuelo. - La Autoridad Ambiental Competente vigilará que no se realice la descarga, infiltración o inyección en el suelo o en el subsuelo de efluentes, tratados o no, que alteren la calidad del recurso. Se exceptúa de esta

disposición a las actividades de inyección asociadas a la exploración y explotación de hidrocarburos, las cuales deben adoptar los procedimientos ambientales señalados en la normativa ambiental hidrocarburífera vigente en el país y disposiciones emitidas por la Autoridad Ambiental Competente.

4.3 De las actividades que degradan la calidad del suelo

Las personas naturales o jurídicas públicas o privadas dedicadas a la comercialización, almacenamiento y/o producción de químicos, hidroelectricidad, exploración y explotación hidrocarburífera, minera, florícola, pecuaria, agrícola y otras, tomarán todas las medidas pertinentes a fin de que el uso de su materia prima, insumos y/o descargas provenientes de sus sistemas de producción, comercialización y/o tratamiento, no causen daños físicos, químicos o biológicos a los suelos. Los talleres mecánicos y lubricadoras, así como estaciones de servicio o cualquier otra actividad industrial, comercial o de servicio que dentro de sus operaciones maneje y utilice hidrocarburos o sus derivados, deberá realizar sus actividades en áreas pavimentadas e impermeabilizadas y por ningún motivo deberán verter los residuos aceitosos o disponer sobre el suelo los recipientes, piezas o partes que hayan estado en contacto con estas sustancias y deberán ser eliminados mediante los métodos establecidos en las Normas Técnicas y Reglamentos Ambientales aplicables y vigentes en el país. Los aceites minerales usados y los hidrocarburos desechados serán considerados sustancias peligrosas y nunca podrán ser dispuestos directamente sobre el recurso suelo, tal como lo establece la normativa ambiental vigente.

4.3.1 Suelos contaminados

4.3.1.1 Los causantes y/o responsables por acción u omisión de contaminación al recurso suelo, por derrames, vertidos, fugas, almacenamiento o abandono de materiales peligrosos, deben proceder a la remediación de la zona afectada, considerando para el efecto los criterios de remediación de suelos contaminados que se encuentran en la presente norma (MAE, 2015, pág. 115).

4.3.1.2 La Autoridad Ambiental Competente debe exigir al causante y/o responsable, la remediación integral y/o restauración del sitio contaminado, y el seguimiento de las acciones de remediación, hasta alcanzar los objetivos o valores establecidos en la presente norma.

4.3.1.3 No serán consideradas como áreas degradadas o contaminadas aquellas en las que sus suelos presenten, por causas naturales y en forma habitual, alto contenido de sales solubles de sodio, de elementos tóxicos para la flora, fauna, ecosistemas y sus interrelaciones, de baja fertilidad química nativa, capa de agua alta suspendida que anule o disminuya muy notoriamente el crecimiento radicular de las plantas, que requieran riego constante o suplementario, de desmonte o desmalezado.

4.3.1.4 Cuando por cualquier causa se produzcan derrames, infiltraciones, descargas o vertidos de residuos o materiales peligrosos de forma accidental sobre el suelo, áreas protegidas o ecosistemas sensibles, se debe aplicar inmediatamente medidas de seguridad y contingencia para limitar la afectación a la menor área posible, y paralelamente poner en conocimiento de los hechos a la Autoridad Ambiental Competente, aviso que debe ser ratificado por escrito dentro de las 24 horas siguientes al día en que ocurrieron los hechos.

4.4 CRITERIOS DE CALIDAD DE SUELO Y CRITERIOS DE REMEDIACIÓN

4.4.1 Caracterización inicial del suelo.-La calidad inicial del suelo presentado por el proponente, comparte del Estudio de Impacto Ambiental, constituirá el

valor referencial respecto al cual se evaluará una posible contaminación del suelo, en función de los parámetros señalados en la Tabla 1 (**Ver en Anexos, Tabla 12**) (MAE, 2015, pág. 116).

En caso de evidenciar valores superiores a los establecidos en la Tabla 1, de origen natural, estos se considerarán como línea base inicial antes de la implementación del proyecto.

Si por origen antropogénica los valores son superiores a los establecidos en la Tabla 1, la Autoridad Ambiental exigirá al causante y/o responsable aplicar un plan de remediación, sin perjuicio de las acciones administrativas y legales que esto implique. Los valores de los parámetros deberán cumplir con los criterios de remediación de la Tabla 2, según el uso de suelo que corresponde.

4.4.2 Criterios de calidad del suelo. -Los criterios de calidad del suelo son valores de fondo aproximados o límites analíticos de detección para un contaminante presente en el suelo. Los valores de fondo se refieren a los niveles ambientales representativos para un contaminante en el suelo. Estos valores pueden ser el resultado de la evolución natural del área, a partir de sus características geológicas, sin influencia de actividades antropogénicas. Los criterios de calidad del suelo constan en la Tabla 1.

4.7 REMEDIACIÓN DE SUELOS

4.7.1.2 La remediación del suelo se ejecutará utilizando la mejor tecnología disponible, atendiendo a las características propias de cada caso, buscando soluciones que garanticen la recuperación y el mantenimiento permanente de la calidad del suelo (MAE, 2015, pág. 118).

4.7.1.4 Se utilizará la Tabla 2 para establecer los límites para la remediación de suelos contaminados de la presente norma y/o de la normativa sectorial correspondiente (**Ver en Anexos, Tabla 13**).

2.3.5 Acuerdo Ministerial 100

En el Título VI de mecanismos de control y seguimiento ambiental, capítulo III seguimiento a emergencias ambientales establece que:

Art. 75.- Comunicación de situaciones de emergencia. - El Operador está obligado a informar, a la Autoridad Ambiental Competente en un plazo no mayor a veinte cuatro (24) horas de conocido el evento, en el formato establecido en la norma técnica expedida para el efecto, cuando se presenten las siguientes situaciones de emergencia:

1. Fuga o derrame no controlado de sustancias, productos o desechos que afecten los componentes ambientales.
2. Cuando las emisiones, descargas y vertidos contengan cantidades o concentraciones de sustancias o materiales que pongan en riesgo la vida o los recursos.

La comunicación no exime al Operador de su responsabilidad legal frente a la situación de emergencia y se considerará atenuante si es inmediata o agravante si no se ejecuta dentro del plazo establecido, en los regímenes sancionatorios administrativos que correspondan a cada caso (RAOHE, 2020, pág. 27).

Art. 76.- Seguimiento y control de emergencias ambientales. - Cuando suceda una emergencia ambiental el operador responsable de la instalación donde esta se origina, cumplirá con el proceso de comunicación y la Autoridad Ambiental Competente, realizará la inspección respectiva y conforme los

hallazgos detectados se establecerá el proceso de seguimiento y control, conforme los siguientes niveles:

1. Nivel 1: Emergencias generadas dentro de una área operativa o facilidad petrolera sin afectación a componentes ambientales.-Todo accidente o incidente que se origine dentro de las facilidades del Operador, y donde las sustancias que pudieran producir contaminación de componentes ambientales y/o afectación a terceros; haya sido contenido en cunetas perimetrales, cubetos de retención, trampas de grasa, piscinas de recolección y otras barreras de contención secundaria y por ende no genera impactos ambientales; el Operador deberá informar su gestión a la Autoridad Ambiental Competente en el informe de gestión ambiental anual conforme el formato que se encuentra en la norma técnica expedida para el efecto.

2. Nivel 2: Emergencias generadas dentro del derecho de vía de ductos principales o secundarios para transporte de hidrocarburos o dentro de las instalaciones del operador.- Toda emergencia ambiental en ductos principales o secundarios de transporte de hidrocarburos e instalaciones administradas por el Operador, en el cual las sustancias que pudieran producir contaminación no migren fuera del perímetro de la instalación o del derecho de vía (DDV) de los ductos antes mencionados, y que pudieran afectar a los componentes físicos y bióticos; el Operador presentará a la Autoridad Ambiental Competente el informe de ejecución de actividades de contingencia, mitigación, corrección y los muestreos de los componentes afectados. El informe de ejecución de actividades para el nivel 2 conforme la Norma Técnica que se emita para el efecto deberá ser remitido por el Operador a la Autoridad Ambiental Competente máximo 20 días posteriores a la finalización de las actividades de limpieza.

3. Nivel 3: Emergencias ambientales que impacten a los componentes físicos, bióticos o sociales.-Toda emergencia ambiental que se origine dentro de una instalación o facilidad petrolera o durante el transporte bajo la responsabilidad del Operador, en el cual las sustancias que pudieran generar contaminación, migren fuera de dichas instalaciones impactando a los componentes ambientales o generando afectaciones a terceros o ambas; el Operador deberá remitir en el término de dos días el plan emergente que incluya actividades de contingencia, mitigación y corrección conforme el formato que se encuentra en la norma técnica expedida para el efecto. El plan emergente será observado o aprobado por la Autoridad Ambiental Competente en el término máximo de diez días. En todos los casos el operador deberá adoptar las medidas de contingencia, mitigación y corrección de manera inmediata de producida la emergencia, sin perjuicio del pronunciamiento de la Autoridad sobre dicho plan. En el caso de que exista afectación a terceros, el operador deberá remitir un informe de compensación o indemnización conforme los lineamientos establecidos en este Reglamento.

2.3.6 Acuerdo ministerial 142

Listados nacionales de sustancias químicas peligrosas, desechos peligrosos y especiales (MAE, 2012).

Art. 2.- Serán considerados desechos peligrosos, los establecidos en el Anexo B del presente acuerdo (**Ver Anexos, Tabla 14**).

2.3.7 Decreto ejecutivo 1215

El reglamento sustitutivo del reglamento ambiental para las operaciones Hidrocarburífera en el Ecuador, del capítulo III, disposiciones generales (RAOHE, 2012). Establece que:

Art. 25.- Manejo y almacenamiento de crudo y/o combustibles. - Para el manejo y almacenamiento de combustibles y petróleo se cumplirá con lo siguiente:

a) Instruir y capacitar al personal de operadoras, subcontratistas, concesionarios y distribuidores sobre el manejo de combustibles, sus potenciales efectos y riesgos ambientales, así como las señales de seguridad correspondientes, de acuerdo a normas de seguridad industrial, así como sobre el cumplimiento de los Reglamentos de Seguridad Industrial del Sistema PETROECUADOR vigentes, respecto al manejo de combustibles;

b) Los tanques, grupos de tanques o recipientes para crudo y sus derivados así como para combustibles se regirán para su construcción con la norma API650, API12F, API12D, UL58, UL1746, UL142 o equivalentes, donde sean aplicables, deberán mantenerse herméticamente cerrados, a nivel del suelo y estar aislados mediante un material impermeable para evitar filtraciones y contaminación del ambiente, y rodeados de un cubeto técnicamente diseñado para el efecto, con un volumen igual o mayor al 110% del tanque mayor;

c) Los tanques o recipientes para combustibles deben cumplir con todas las especificaciones técnicas y de seguridad industrial del Sistema PETROECUADOR, para evitar evaporación excesiva, contaminación, explosión o derrame de combustible.

Principalmente se cumplirá la norma NFPA-30 o equivalente;

d) Todos los equipos mecánicos tales como tanques de almacenamiento, tuberías de productos, motores eléctricos y de combustión interna estacionarios, así como compresores, bombas y demás conexiones eléctricas, deben ser conectados a tierra;

e) Los tanques de almacenamiento de petróleo y derivados deberán ser protegidos contra la corrosión a fin de evitar daños que puedan causar filtraciones de petróleo o derivados que contaminen el ambiente;

f) Los sitios de almacenamiento de combustibles serán ubicados en áreas no inundables. La instalación de tanques de almacenamiento de combustibles se realizará en las condiciones de seguridad industrial establecidas en cuanto a capacidad y distancias mínimas de centros poblados, escuelas, centros de salud y demás lugares comunitarios o públicos;

g) Los sitios de almacenamiento de combustibles y/o lubricantes de un volumen mayor a 700 galones deberán tener cunetas con trampas de aceite.

En plataformas offshore, los tanques de combustibles serán protegidos por bandejas que permitan la recolección de combustibles derramados y su adecuado tratamiento y disposición; y,

h) Cuando se helitransporten combustibles, se lo hará con sujeción a las normas de seguridad OACI.

Art. 27.- Operación y mantenimiento de equipos e instalaciones.- Se deberá disponer de equipos y materiales para control de derrames así como equipos contra incendios y contar con programas de mantenimiento tanto preventivo como correctivo, especificados en el Plan de Manejo Ambiental, así como documentado y reportado anualmente en forma resumida a través de la Dirección Nacional de Protección Ambiental Hidrocarburífera a la Subsecretaría de Protección Ambiental del Ministerio de Energía y Minas. Durante la operación y mantenimiento se dispondrá, para respuesta inmediata ante cualquier contingencia, del equipo y materiales necesarios, así como personal capacitado especificados en el Plan de Contingencias del Plan de Manejo Ambiental, y se realizarán periódicamente los respectivos entrenamientos y simulacros.

Art. 86.- Parámetros.- Los sujetos de control y sus operadoras y afines en la ejecución de sus operaciones, para descargas líquidas, emisiones a la atmósfera y disposición de los desechos sólidos en el ambiente, cumplirán con los límites permisibles que constan en los Anexos No.1, 2 y 3 de este Reglamento, los cuales constituyen el programa mínimo para el monitoreo ambiental interno y se reportarán a la Subsecretaría de Protección Ambiental conforme la periodicidad establecida en el artículo 12 de este Reglamento.

En caso de exceder un límite permisible establecido en los anexos, se debe reportar inmediatamente a la Subsecretaría de Protección Ambiental y justificar las acciones correctivas tomadas.

b) Anexo 2: Parámetros, valores máximos referenciales y límites permisibles para el monitoreo ambiental interno rutinario y control ambiental.

c) Tabla No. 6: Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios (**Ver Anexos, Tabla 15**).

3. Materiales y métodos

3.1 Enfoque de la investigación

3.1.1 Tipo de investigación

La investigación es de tipo documental-descriptiva, ya que se encarga de recopilar información pertinente con respecto al tema de remediación de suelos contaminados por hidrocarburos a dos escalas, primero a macro escala identificando los impactos que ocasiona la actividad hidrocarburífera en la provincia de Orellana; y luego a micro escala por medio de la biorremediación (uso de bacterias y hongos) dando a conocer su eficiencia en cada proceso y ensayo en ambientes controlados y no controlados; las fuentes de información serán papers y artículos de bibliotecas virtuales y otras fuentes académicas que tengan características similares al tema de investigación en cuestión. La evaluación posterior se realizará con base a las características de eficiencia mostradas por los diversos tipos de técnicas de remediación de suelos.

3.1.2 Diseño de investigación

El presente trabajo de tesis no es experimental, la metodología que se utilizará no tendrá variables que sean modificables. Los datos reunidos serán organizados, identificados y ubicados para su posterior evaluación, en el caso de las bacterias y hongos se identificarán mediante revisión bibliografía los más factibles para la degradación de hidrocarburos. Así mismo, se procederá a realizar el cálculo de la frecuencia de utilización de microorganismos y el cálculo de % de remoción de contaminantes.

3.2 Metodología

3.2.1 Variables

3.2.1.1 Variable independiente

- Concentración inicial de hidrocarburos: Abarca todos los hidrocarburos encontrados en el suelo contaminado que estén fuera de los límites permisibles. La unidad de medición será por ppm o mg/Kg según sea el caso.
- Especies de Bacterias: Se tomarán en cuenta todas las bacterias utilizadas al momento de remover metales pesados del suelo. Se anotarán las especies.
- Especies de Hongos: Se tomarán en cuenta todos los hongos utilizados al momento de remover metales pesados del suelo. Se anotarán las especies.

3.2.1.2 Variable dependiente

- Valoración de impactos ambientales por derrames de hidrocarburos.
- Conteo de Bacterias: Se tomarán en cuenta según las técnicas establecidas a las bacterias más eficientes utilizadas al momento de remover metales pesados del suelo. Se anotarán las especies y el número de bacterias que se han utilizado para la remoción de metales pesados.
- Conteo de Hongos: Se tomarán en cuenta según las técnicas establecidas a los hongos más eficientes utilizados al momento de remover metales pesados del suelo. Se anotarán las especies y el número de hongos que se han utilizado para la remoción de metales pesados.
- % de remoción: Abarca la cantidad de contaminación removida o remediación encontrada en el suelo ya tratado por los distintos medios. La unidad de medida será en ppm o mg/g.

3.2.2 Tratamientos

Para el desarrollo de la tesis no se realizará ningún tipo de tratamiento para la identificación y evaluación de los resultados obtenidos por la metodología descriptiva-comparativa esto debido a que es una investigación no experimental.

3.2.3 Diseño experimental

No se realizará ningún tipo de diseño experimental para la identificación, gestión y evaluación de los resultados obtenidos por la metodología descriptiva-comparativa, ya que es una investigación no experimental.

3.2.4 Recolección de datos

3.2.4.1 Recursos

Entre los recursos del presente trabajo de dónde provinieron los insumos que generaran la información a ejecutar la tesis tenemos:

- Documentos de tesis y artículos científicos.
- Computadora.
- Internet.
- Bibliotecas Virtuales.
- Libros.

3.2.4.2 Métodos y técnicas

Se hizo uso de una metodología que consta de una técnica descriptiva-comparativa de datos, se llevará a cabo una serie de 3 etapas para el cumplimiento de los objetivos específicos propuestos.

3.2.4.2.1 Etapa 1

Para la realización del primer objetivo se utilizó la matriz Aspecto – Impacto que nos ayudara a identificar los impactos ocasionados por cada actividad en el factor ambiental de manera cualitativa (**Ver en Anexos, Figura 14**), y la matriz de importancia que me permitirá valorar los impactos posibles ocasionados por la actividad hidrocarburífera, de manera cuantitativa, con el fin de cuantificar los daños causados en las etapas de exploración, perforación, explotación, y transporte (**Ver en Anexos, Figura 15**).

3.2.4.2.2 Etapa 2

Para la realización del segundo objetivo la metodología que utilice es de carácter investigativo, ya que se realizó una búsqueda, selección, clasificación de las bacterias y hongos más utilizados para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos, los datos obtenidos se registraron en tablas, la identificación se las clasifíco según el género y especie, considerando también que tipos de hidrocarburos son capaces de degradar.

3.2.4.2.3 Etapa 3

Para la realización del tercer objetivo se utilizó el cálculo de la frecuencia para identificar que microorganismos (bacterias y hongos) se utiliza con mayor frecuencia para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos, esto mediante la siguiente fórmula de frecuencia absoluta:

$$\sum_{i=1}^k n_i = n_1 + n_2 + n_3 + \dots = N$$

Donde:

N= Frecuencia absoluta.

n1, n2, n3...= Dato que se repite por unidad en el conjunto del trabajo.

Por otra parte, para obtener el % de remoción de hidrocarburos mediante hongos y bacterias, se utilizará la siguiente fórmula:

$$C.I - C.F/C. I \times 100 = \% \text{ de remoción de hidrocarburos}$$

Los valores obtenidos se registrarán en una tabla, determinando la concentración inicial, concentración final y él % de remoción de los hidrocarburos.

3.2.5 Análisis estadístico

El trabajo que se realizó en la tesis está descrito como un análisis descriptivo-comparativo en la que se usaron las variables ya expuestas, se usó como base la estadística descriptiva para la representación dinámica de la información, las

expresiones gráficas a usarse incluyeron diagramas de pastel, barras. Por otra parte, también se utilizó tablas de datos para el ordenamiento y gestionamiento de la información recolectada.

3.2.5.1 Tablas de datos

Se utilizó principalmente para registrar una serie de información primaria de la investigación, donde también tendrán la función de ordenarla y gestionarla dependiendo del tipo de información analizada. Entre los datos presentados en las mismas se tendrá la información compilada de los objetivos que necesiten el reconocimiento y análisis inicial de las variables; por otra parte, también se necesita este insumo para gestionar la identificación, evaluación, porcentaje de remediación y cálculo de frecuencia absoluta (de uso) de hongos y bacterias que se vayan a tomar en cuenta para este estudio.

3.2.5.2 Gráficos

Esta herramienta en su totalidad descriptiva se usará para constituir de manera gráfica la información de las tablas, además de poder representar otro tipo de información (cualitativa) dependiendo del caso. Se utilizarán gráficos de tipo pastel, barras y otros dependiendo la necesidad.

4. Resultados

4.1 Caracterización de los impactos ambientales mediante la matriz de aspectos-impactos

Es importante poner a conocimiento las diferentes industrias petroleras que mantienen sus actividades en la provincia de Orellana. De acuerdo a la información obtenida del Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de la provincia de Orellana 2015-2019, en la actualidad existen 10 operadoras petroleras las cuales ocupan un área de asignación aproximada de 2.057.933.05 ha, tal como se muestra en la siguiente Tabla 4.

Tabla 4. Industrias petroleras presentes en la provincia de Orellana

INDUSTRIA PETROLERA	Área asignada/ha
PETROAMAZONAS	865.452,08 ha
PETROORIENTAL	391.481,12 ha
REPSOL YPF	140.435,64 ha
SHE	410.791,92 ha
CONSORCIO PEGASO	17.598,41 ha
ENAP-SIPETROL	46.313,12 ha
PETROECUADOR EP	117.969,37 ha
PETROECUADOR-RIO NAPO	35.231,86 ha
PETROBELL	25.422,36 ha
PETROSUD-PETROSIRVA	7.237,15 ha
TOTAL	2'057.933,05 ha

Autora, 2020

Como se observa en la Figura 2, el mayor % de área asignada de suelo en la provincia de Orellana para actividades hidrocarburíferas es la operada por la empresa petrolera PETROAMAZONAS con un 42%, seguido de la empresa petrolera SHE con un 20%, PETROORIENTAL con un 19%, REPSOL YPF con un 7%, PETROECUADOR EP con un 6%, ENAP-SIPETROL y PETROECUADOR- Rio

Napo con un 2%, CONSORCIO PEGASO y PETROBELL con un 1% y por último la empresa petrolera PETROSUD-PETROSIRVA con un 0.40% respectivamente.

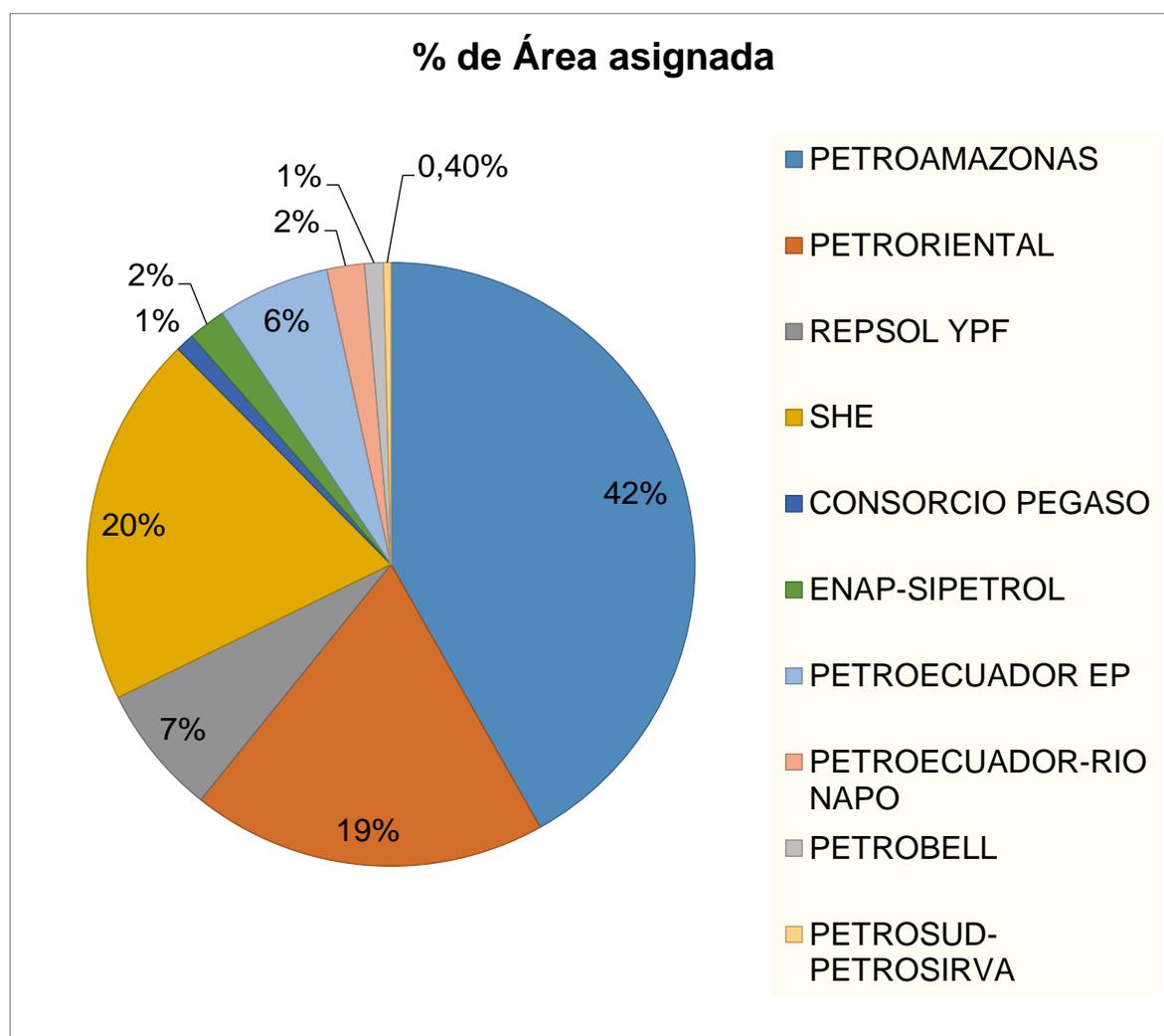


Figura 2. Industrias petroleras presentes en la provincia de Orellana
Autora, 2020

Para la caracterización de los impactos ambientales que son ocasionados por las distintas fases petroleras, se la realizó a partir de la matriz causa-efecto donde me permitió conocer las fases del petróleo que tiene potencialidad de generar efectos ambientales negativos.

Como se observa en la Figura 3, la contaminación por petróleo ocurre inevitablemente en cualquier etapa de la producción de petróleo y ejerce un impacto negativo sobre el medio ambiente. Los impactos ambientales que ocasiona la actividad hidrocarburífera es la alteración de los ecosistemas y afecta

considerablemente en la salud de la población cercana a estas industrias. Por ejemplo, en los factores abióticos las actividades de exploración, perforación y explotación provocan impactos sobre el suelo, ya que los movimientos de tierra ocasionada por la prospección sísmica hacen que el suelo pierda sus componentes minerales y orgánicas de la capa superior, provocando procesos erosivos como los derrumbes.

En el suelo la contaminación mayormente es ocasionada por los desechos industriales, lodos de perforación, residuos sólidos y fluidos de perforación, teniendo en cuenta también que la incorrecta disposición de líquidos afecta la calidad de los mismos. Sin embargo, producto de la construcción de helipuertos y plataformas, provocan modificaciones topográficas ocasionando cambios en el uso del suelo, y alteración a los ecosistemas provocando la migración de distintas especies de animales.

Otro factor abiótico afectado es el agua, producto de la incorrecta disposición de los desechos sólidos y líquidos. Diversos estudios han demostrado que los hidrocarburos se mantienen durante largos periodos de tiempo en el agua, provocando la formación de capas de crudo en las profundidades de los ríos y estas al ser removidas generan contaminación de otras fuentes cercanas. Así también afectando a las especies marinas presentes, y los peces que sirven de alimento y es la principal fuente de sustento para las comunidades indígenas de la provincia de Orellana.

Por otra parte, en el aire, podemos destacar que en todas las fases de la industria hidrocarburífera provocan contaminación acústica ocasionada por el manejo de maquinarias, por las turbinas de las plataformas o muchas de las veces por los taladros de perforación. Sin embargo, la calidad del aire se ve afectada en gran

parte por la quema de gas, producto de los mecheros existentes en las estaciones petroleras de la provincia de Orellana. Los mecheros causan un grave daño en la salud de los habitantes, ya que la quema de gas emite partículas altamente cancerígenas como los HAPs y benceno. Un claro ejemplo de cómo los mecheros afectan en la salud de la población de Orellana es el reporte realizado por El Universo, 2020 donde menciona que en Orellana y Sucumbíos existen alrededor de 447 mecheros que queman gas al aire libre. Según los habitantes afectados por la contaminación, mencionan que registran 235 casos de cáncer y temen que los casos sigan aumentando si no se toman medidas correctivas contra las petroleras. Otro cantón afectado por la presencia de mecheros es el cantón Francisco de Orellana, comuna san Vicente, en donde desde hace 29 años la población tiene que soportar los continuos derrames de petróleo, y las emisiones de gases de distintas fuentes que ocurren no solo en el cantón Francisco de Orellana, sino también en distintas comunas de Orellana. Esta problemática provoca que la población presente dolores de cabeza, mareos, dolor de garganta, hormigueo en la cabeza y cuello. Sin embargo, en la comuna se ha evidenciado la muerte de varios de sus habitantes por cáncer debido a los contaminantes perjudiciales a los que están constantemente expuestos (Zambrano, 2020). Cabe recalcar que los mecheros contribuyen al calentamiento global, ya que producto de que la quema de gas ocasiona grandes cantidades de CO₂ (El Salto Extremadura, 2020).

El factor biótico también sufre el impacto que ocasiona las petroleras, producto de la construcción de helipuertos, plataformas y excavaciones ocasiona el deterioro y remoción de la capa vegetal. Sin embargo, el deterioro de la capa vegetal es producto de la acumulación de lodos de perforación, lubricantes, basura industrial, etc.

En la fauna, producto de las distintas fases petroleras, ocasiona el desplazamiento de especies tanto terrestres como aéreas, debió a la construcción de plataformas, apertura de caminos, y el ruido que es provocado por la maquinaria ocasionando que distintas especies se desplacen de su hábitat.

Cabe recalcar que las empresas petroleras responsables del proceso extractivo jamás han respetado a la naturaleza de la zona de explotación, estas deberían parar la contaminación e incrementar la eficiencia de sus operaciones en los campos petroleros existentes mediante la implementación de una tecnología más adecuada, menos invasiva y menos contaminante al ambiente. El Estado debe ser el principal garante del derecho a vivir en un ambiente libre de contaminación. Toda iniciativa en beneficio del desarrollo de una cultura ecológica siempre será plausible.

FARI			ASPI	ACTIVIDADES HIDROCARBURIFERAS				
COMPONENTE AMBIENTAL	RECURSO AFECTADO	COMPONENTES AMBIENTALES	EXPLORACIÓN	PERFORACIÓN	EXTRACCIÓN	PRODUCCIÓN	TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO	
FACTORES AMBIENTALES	FACTOR ABIOTICO	AIRE	Contaminación del aire (emisión de gases y partículas)	X	X	X	X	X
			Contaminación acústica	X	X	X	X	X
		AGUA	Contaminación del agua superficial			X		X
			Contaminación del agua subterránea			X	X	X
			Contaminación de las aguas freáticas		X			
			Perdida de nacimientos de agua	X				
			Interrupción de flujos de agua		X			
			Alteración de cauces y lechos hídricos	X				
		SUELO	Contaminación del suelo	X	X	X	X	X
			Perdida de la fertilidad de los suelos	X	X	X	X	X
	Perdida de cultivos				X	X	X	
	Erosión		X	X	X	X	X	
	Afectación a la vegetación		X	X	X	X	X	
	FACTOR BIOTICO	FLORA	Afectación a la flora	X	X	X	X	X
		FAUNA	Alteración del hábitat de fauna terrestre	X	X	X		X
			Migración de especies de animales	X	X	X	X	X
		PAISAJE	Alteración de calidad visual	X	X	X		X
			Deforestación	X	X			
	SOCIO-ECONÓMICO	SOCIAL-ECONOMICO	Deterioro en la calidad de vida de la población	X	X	X	X	X

Figura 3. Matriz de impactos ambientales ocasionados en la industria petrolera
 Autora, 2020

4.1.1 Valorización de los impactos ambientales mediante la matriz de importancia

Una vez identificados los impactos ambientales, se elaboró la matriz de valorización de impactos ambientales Figura 4, que me permitió obtener una valorización cualitativa de los impactos ambientales.

Para la calificación de los impactos, se les designo un índice de significancia. Este índice se obtuvo al aplicar la fórmula de valorización de impactos, en donde el impacto ambiental es calificado. A continuación, se presenta la fórmula de valorización de impactos por significancia:

$$I=\pm (3i+2EX+MO+PE+RV+SI+AC+EF+PR+MC)$$

Dónde:

i= impacto

EX= Extensión

MO= Momento

PE= Persistencia

RV=Reversibilidad

SI= Sinergia

AC= Acumulación

EF= Efecto

PR= Periodicidad

MC=Recuperabilidad.

COMPONENTE AMBIENTAL	RECURSO AFECTADO	IMPACTO AMBIENTAL	VALORIZACIÓN DE LOS IMPACTOS											Relevancia del impacto	
			i	EX	MO	PE	RY	SI	AC	EF	PR	MC	TOTAL		
FACTOR ABIOTICO	AIRE	Contaminación del aire (emisión de gases y	-1	-4	-4	-2	-2	-2	-4	-1	-4	-4	-34	MODERADO	
		Contaminación acústica	-1	-4	-4	-2	-1	-1	-1	-1	-4	-1	-26	MODERADO	
	AGUA	Contaminación del agua superficial	-12	-12	-4	-4	-2	-1	-4	-4	-2	-4	-85	CRITICO	
		Contaminación del agua subterránea	-1	-4	-4	-2	-2	-1	-4	-1	-2	-4	-31	MODERADO	
		Contaminación de las aguas freáticas	-1	-4	-4	-2	-2	-1	-1	-1	-2	-4	-28	MODERADO	
		Perdida de nacimientos de agua	-1	-2	-2	-4	-4	-1	-1	-1	-1	-4	-25	BAJO	
		Interrupción de flujos de agua	-1	-2	-4	-4	-4	-1	-1	-1	-1	-4	-27	MODERADO	
		Alteración de cauces y lechos hídricos	-1	-2	-2	-4	-2	-1	-1	-1	-1	-4	-23	BAJO	
	SUELO	Contaminación del suelo	-12	-12	-4	-2	-2	-1	-4	-4	-2	-4	-83	CRITICO	
		Perdida de la fertilidad de los suelos	-12	-4	-2	-2	-2	-2	-4	-1	-2	-4	-63	SEVERO	
		Perdida de cultivos	-12	-4	-2	-4	-4	-1	-1	-1	-2	-4	-63	SEVERO	
		Afectación a la vegetación	-12	-8	-4	-4	-2	-2	-4	-1	-2	-2	-73	SEVERO	
		Erosión	-12	-8	-4	-4	-4	-1	-1	-1	-4	-8	-79	CRITICO	
	FACTOR BIOTICO	FLORA	Afectación a la flora	-1	-12	-4	-4	-2	-2	-1	-1	-4	-8	-53	SEVERO
		FAUNA	Alteración del hábitat de fauna terrestre	-12	-12	-4	-2	-2	-2	-1	-1	-4	-8	-84	CRITICO
Migración de especies de animales			-1	-8	-4	-4	-2	-2	-1	-1	-4	-4	-41	MODERADO	
PAISAJE		Alteración de calidad visual	-12	-12	-2	-4	-4	-1	-4	-1	-4	-8	-88	CRITICO	
		Deforestación	-12	-12	-4	-4	-2	-1	-4	-4	-4	-8	-91	CRITICO	
SOCIO-ECONÓMICO	SOCIAL-ECONÓMICO	Deterioro en la calidad de vida de la población	-12	-8	-2	-2	-2	-2	-1	-1	-4	-4	-70	SEVERO	

Figura 4. Matriz de importancia de impactos ambientales en cada fase petrolera
 Autora, 2020

Para determinar la relevancia de los impactos ambientales, utilice la Tabla 3, la cual me permite calificar el impacto según los resultados obtenidos del cálculo de importancia.

Como se observa en la Tabla 5, la relevancia de los impactos ambientales es mayormente de rangos moderada, crítica y severa. Por lo tanto, es importante la prevención, control y remediación de la contaminación por las empresas petroleras en las regiones amazónicas.

Por lo tanto, es importante que se tomen medidas necesarias en donde las empresas petroleras cumplan con lo dispuesto en las leyes ambientales y así poder mitigar los impactos que ocasiona las mismas ya que ocasionan un gran impacto al medio ambiente y en donde especies de animales se ven afectadas, y principalmente el hogar de muchas comunidades indígenas que ya han perdido gran parte de sus territorios tradicionales y sus posibilidades de sobrevivencia cultural.

Tabla 5. Relevancia de los impactos ambientales

RECURSO AFECTADO	RELEVANCIA DEL IMPACTO
AIRE	Moderado
	Critico
AGUA	Moderado
	Bajo
SUELO	Critico
	Severo
FLORA	Severo
FAUNA	Moderado
	Critico
PAISAJE	Critico
SOCIAL-ECONOMICO	Severo

Relevancia de los impactos ambientales ocasionados en cada fase de la industria petrolera
 Autora, 2020

4.2 Identificación de las bacterias y hongos utilizables en la degradación de hidrocarburos

Para la identificación de las bacterias y hongos con la capacidad de degradar hidrocarburos, la realice mediante revisión bibliográfica de distintos trabajos experimentales a escala de laboratorio.

4.2.1 Bacterias degradadoras de hidrocarburos

El aislamiento de distintos géneros de bacterias ya sea de ecosistemas contaminados o de hábitats externos, ha evidenciado la diversidad de microorganismos con el poder de crecer y biodegradar los hidrocarburos. La mayor parte de los trabajos encontrados de distintas fuentes bibliográficas, determinaron la capacidad que tienen distintas bacterias en la degradación de diferentes compuestos de hidrocarburos. Como se puede observar en la Tabla 6, se logró identificar un total de 50 géneros y 86 especies de bacterias con la habilidad de degradar diferentes tipos de hidrocarburos.

La mayoría de las bacterias identificadas tienen la capacidad de degradar en gran parte HAPs y alcanos, ya que gran parte de la composición del petróleo está conformada por dichos compuestos. Bacterias del género *Acidovorax*, han demostrado ser géneros asociados en la degradación de HAPs y alcanos. Así también géneros como *Agrococcus*, *Dietzia*, *Hydrogenophaga*, *Gordonia amicalis*, *Marmoricola*, *Microbacterium*, *Nocardia*, *Novosphingobium*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, son utilizados en la degradación de HAPs y alcanos (Izquierdo, 2014).

Luna y otros (2018) mencionaron que el género *Bacillus*, tiene la capacidad de degradar distintos compuestos como el benzo(a) pireno (BaP), dichos compuestos son reconocidos por ser hidrocarburos potencialmente cancerígenos y

mutagénicos. Por otra parte, en la degradación de compuestos mono aromáticos y poliaromáticos, han demostrado su efectividad las bacterias *Achromobacter xylosoxidans* y *Aeribacillus pallidus* (Ma, Lu, Wan y Luo, 2015).

Bacterias del género *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, han demostrado una relación directa de degradar hidrocarburos y así mismo, la posibilidad de crear biosurfactantes, ya que mencionadas bacterias usan a los hidrocarburos como fuente de carbono y energía (Guzmán, Cerrato, Rivera, Torres y Garibay, 2017). En un estudio realizado en Perú por Ayamamani (2018) determino que géneros como: *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, son potenciales degradadores de hidrocarburos en muestras de suelos contaminados con petróleo.

Por otra parte, bacterias del género *Acinetobacter*, son reconocidas por su capacidad de degradar fracciones alifáticas del petróleo (Wayens, 2004). También se ha demostrado que este género es capaz de degradar Hidrocarburos aromáticos (fenol), y alcanos como el hexadecano y el decano (Victoria, Ceruti, Marino y Simonetta, 2016., Arias y Gómez, 2009). Especies como: *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter venetianus* son capaces de degradar HTP (Pinto y Sánchez, 2018). *Acinobacter lwoffii* y *Acinetobacter genomosp*, han demostrado ser degradadoras de hidrocarburos aromáticos policíclicos como el fenantreno (Carrión, 2017).

Géneros de bacterias como *Actinobacillus*, *Arthrobater*, *Chromobacterium*, *Exiguobacterium*, *Pasteurella*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, han demostrado su eficacia en la degradación de hidrocarburos totales del petróleo. Por otra parte, bacterias del género *Aeromona*, *Burkholderia*, *Cellulosimicrobium* y *Klebsiella* resultaron ser degradadoras de hidrocarburos alifáticos, y alcanos como el hexano (Carrasco, 2007). También se han reportado bacterias del género: *Chromobacterium*,

Enterobacter, *Flavimonas*, *Klebsiella*, como degradadoras de compuestos de hidrocarburos alifáticos (Flórez, Gómez y Martínez, 2008).

En la degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos han demostrado su efectividad bacterias del género: *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* (Bracho, Díaz y Soto, 2004). Bacterias del género: *Burkholderia* y *Sphingomonas*, también han sido reportadas como degradadoras de hidrocarburos aromáticos policíclicos (Vandera y Koukkou, 2011).

Diversos trabajos investigativos han utilizado bacterias del género *Bacillus*, para la degradación de HTP, HAPs, hidrocarburos alifáticos, y aromáticos, demostrando ser efectivas. Especies del género *Bacillus* como: *Bacillus aerius*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus toyonensis*, *Lysinibacillus fusiformis*, y *Lysinibacillus xylanilyticus* degradan HAPs como el fenantreno (Carrión, 2017). Así mismo, especies como: *Bacillus licheniformis* y *Bacillus mojavensis*, demostraron ser degradadoras de hidrocarburos poli aromáticos presentes en una muestra de suelo contaminada con aceite (Eskandari, Hoodaji, Tahmourespour, Abdollahi y Mohammadian, 2017).

El género *Klebsiella*, también ha demostrado ser eficaz en la degradación de hidrocarburos. En el caso de las especies como *Klebsiella oxytoca* y *Klebsiella pneumoniae* son efectivas en la degradación de HAPs como el fenantreno, hidrocarburos alifáticos y alcanos. Por otra parte, géneros como *Marmoricola*, *Microbacterium* ayudan en la degradación de HAPs y alcanos. Así también, se han reportado bacterias del género *Geobacillus* y *Gordonia* como degradadoras de compuestos de alcanos (Abbasian, Lockington, Mallavarapu y Naidu, 2015; Brown, Gunasekera, Striebich y Ruiz, 2016).

Sin embargo, géneros de bacterias como el *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Spirillum*, *Xanthomonas* y la especie como la *Pseudomona aeruginosa*, demostraron ser prometedoras en la degradación de distintos hidrocarburos alifáticos como el queroseno, isoactano, e hidrocarburos aromáticos como el naftaleno y el tolueno (Maposita, Calle, Fiallos y Burgos, 2011).

Por otra parte, en un artículo realizado por Jahromi, Fazaelpoor, Ayatollahi y Niazi (2014) determinaron que las bacterias del género: *Bacillus*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Lysinibacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, tienen la habilidad de degradar compuestos de asfáltenos.

Un trabajo realizado en la provincia de Sucumbíos realizado por Naranjo (2017) en donde aisló bacterias autóctonas para la degradación de compuestos de hidrocarburos totales del petróleo, logro identificar bacterias del género: *Bacillus* y *Pseudomonas*, determinando que son capaces de crecer y degradar compuestos de hidrocarburos eficientemente. Bacterias del género *Rhodococcus* también han sido identificadas como degradadoras de los HTP (Ramírez, 2014).

En el artículo realizado por Liporace, Molina, Santiago y Quevedo (2019) identificaron a géneros como: *Cellulosimicrobium* y *Pseudomonas*, en la cual demostraron su capacidad para crecer y degradar HC, queroseno, diésel y gasolina en áreas fuertemente contaminadas por hidrocarburos.

Por lo tanto, la diversidad bacteriana existente para la degradación de hidrocarburos es importante para poder aplicarla en estudios experimentales de campo logrando así la recuperación de los suelos.

Tabla 6. Géneros de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos

Géneros	Especie	Hidrocarburo	Referencias
Achromobacter	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	Fenantreno, Pireno (HAPs).	Ma, Lu, Wan y Luo, 2015.
Acidoborax	<i>Acidoborax sp</i> <i>Acinetobacter sp.</i>	Fenantreno (HAPs). Fluoranteno, HTP, Fenol, Fluoranteno	Izquierdo, 2014 Guzmán, Ceruti, Marino y Simonetta, 2016, Arias y Gómez, 2009, Kumar et al., 2011
Acinetobacter	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Acinetobacter lwoffii</i> <i>Acinetobacter genomosp</i> <i>Acinetobacter venetianus</i>	HTP HAPs HAPs Alcanos, HTP	Pinto y Sánchez, 2018 Carrión, 2017 Carrión, 2017 Segura et al., 2016
Actinobacillus	<i>Actinobacillus sp.</i>	Fenol	Medina, 2017
Aeribacillus	<i>Aeribacillus pallidus</i>	Fluoranteno, Alifáticos	Ma, Lu, Wan y Luo, 2015, Mnif, Sayadi y Chamkha, 2014
Aeromona	<i>Aeromona sp.</i>	Alifáticos, alcanos	Carrasco, 2007
Alcaligenes	<i>Alcaligenes faecalis</i> <i>Alcaligenes sp.</i>	Alifáticos, alcanos Naftaleno y tolueno	Carrasco, 2007 Maposita, Calle, Fiallos y Burgos, 2011, Ayamamani, 2018.
Arthrobacter	<i>Arthrobacter mysorens</i> <i>Arthrobacter sp.</i>	HTP HAPs, 4-nitrofenol	Bautista, 2016. Jain, Dreisbach y Spain, 1994,
Agrococcus	<i>Agrococcus sp.</i>	HAPs	Izquierdo, 2014.
Bacillus	<i>Bacillus sp.</i>	HTP, Asfaltenos, Hidrocarburos alifáticos, aromáticos, HAPS	Guzmán, Ceruti, Marino y Simonetta, 2016, Medina, 2017, Maposita, Calle, Fiallos y Burgos, 2011, Ayamamani, 2018, Jahromi, Fazaelpoor, Ayatollahi y Niazi, 2014, Flórez, Gómez y Martínez, 2008, Bracho, Díaz y Soto, 2004,
	<i>Bacillus aerius</i>	HAPs	Carrión, 2017
	<i>Bacillus cereus</i>	HAPs	Carrión, 2017
	<i>Bacillus licheniformis</i>	HAPs	Eskandari, Hoodaji, Tahmourespour, Abdollahi y Mohammadian, 2017
	<i>Bacillus mojavensis</i>	HAPs	Eskandari, Hoodaji, Tahmourespour, Abdollahi y Mohammadian, 2017
	<i>Bacillus smithii</i>	Hidrocarburos aromáticos	Naranjo, 2017
	<i>Bacillus sphaericus</i>	HC	Naranjo, 2017
	<i>Bacillus subtilis</i>	HAPs	Carrión, 2017
	<i>Bacillus toyonensis</i>	HAPs	Carrión, 2017
	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	HAPs	Carrión, 2017
	<i>Lysinibacillus sp.</i>	Asfaltenos	Jahromi, Fazaelpoor, Ayatollahi y Niazi, 2014
	<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i>	HAPS	Carrión, 2017
Brevibacterium	<i>Brevibacterium sp.</i>	Naftaleno, tolueno	Maposita, Calle, Fiallos y Burgos, 2011
Burkholderia	<i>Burkholderia sp</i>	HC	Carrasco, 2007, Vandera y Koukkou, 2011

Cellulosimicrobium	<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>	HAPs	Carrasco, 2007
	<i>Cellulosimicrobium funkei</i>	HC	Liporace, Molina, Santiago y Quevedo, 2019
Chromobacterium	<i>Chromobacterium sp.</i>	Hidrocarburos alifáticos	Medina, 2017, Flórez, Gómez y Martínez, 2008
Cyanobacterium	<i>Cyanobacterium sp.</i>	HTP	Bautista, 2016
Citrobacter	<i>Citrobacter sp.</i>	Asfaltenos	Jahromi, Fazaelpoor, Ayatollahi y Niazi, 2014
Desulfobacter	<i>Desulfobacter sp.</i>	HTP	Bautista, 2016
Desulfomicrobium	<i>Desulfomicrobium sp.</i>	HTP	Bautista, 2016
Desulfurococcus	<i>Desulfurococcus sp.</i>	HTP	Bautista, 2016
Desulfovibrium	<i>Desulfovibrium sp.</i>	HTP	Bautista, 2016
Dietzia	<i>Dietzia sp.</i>	Fenantreno (HAPs)	Izquierdo, 2014
Enterobacter	<i>Enterobacter cloacae</i>	HAPs	Carrión, 2017
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	HC	Carrasco, 2007
	<i>Enterobacter sp.</i>	Asfaltenos, HC, Hidrocarburos alifáticos (n-alcanos)	Jahromi, Fazaelpoor, Ayatollahi y Niazi, 2014, Flórez, Gómez y Martínez, 2008
Escherichia	<i>Escherichia coli</i>	HC	Carrasco, 2007
Exiguobacterium	<i>Exiguobacterium profundum</i>	HTP	Segura et al., 2016
Flavimonas	<i>Flavimonas sp.</i>	Hidrocarburos alifáticos (n-alcanos)	Flórez, Gómez y Martínez, 2008
Flavobacterium	<i>Flavobacterium sp.</i>	HTP	Bautista, 2016
Geoalkalibacter	<i>Geoalkalibacter sp.</i>	HTP	Bautista, 2016
Geobacillus	<i>Geobacillus thermodenitrifican</i>	Hidrocarburos alifáticos	Abbasian, Lockington, Mallavarapu y Naidu, 2015
Gordonia	<i>Gordonia amicalis</i>	Fenantreno (HAPs)	Izquierdo, 2014
	<i>Gordonia sihwensis</i>	Alcanos	Brown, Gunasekera, Striebich y Ruiz, 2016
Hydrogenophaga	<i>Hydrogenophaga sp.</i>	Fenantreno (HAPs)	Izquierdo, 2014
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Benceno, fenantreno, fluoranteno y pireno	Mohamed, Yousef y Farag, 2012
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	HC	Carrasco, 2007
Klebsiella	<i>Klebsiella sp.</i>	Hidrocarburos alifáticos (n-alcanos)	Flórez, Gómez y Martínez, 2008
Marmoricola	<i>Marmoricola sp.</i>	Fenantreno (HAPs)	Izquierdo, 2014
Methanosphaera	<i>Methanosphaera sp.</i>	HTP	Bautista, 2016
Microbacterium	<i>Microbacterium sp.</i>	Fenantreno (HAPs)	Izquierdo, 2014
Micrococcus	<i>Micrococcus sp.</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	Maposita, Calle, Fiallos y Burgos, 2011, Bracho, Díaz y Soto, 2004
Nocardioides	<i>Nocardioides sp.</i>	Fenantreno (HAPs)	Izquierdo, 2014
Novosphingobium	<i>Novosphingobium sp.</i>	Fenantreno (HAPs)	Izquierdo, 2014
Pasteurella	<i>Pasteurella sp.</i>	HTP	Medina, 2017
Pseudomonas	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	Hidrocarburos aromáticos	Bracho, Díaz y Soto, 2004
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Fenol, hidrocarburos aromáticos y alifáticos	Arias y Gómez, 2009, Maposita, Calle, Fiallos y Burgos, 2011
	<i>Pseudomonas oleovorans</i>	HC	Naranjo D. , 2017
	<i>Pseudomonas panipatensis</i>	Naftaleno, azufre y kerosene	Liporace, Molina, Santiago y Quevedo, 2019
	<i>Pseudomonas putida</i>	Alcanos, HTP, Fenantreno (HAPs), Tolueno	Izquierdo, 2014, Victoria, Ceruti, Marino y Simonetta, 2016, Pinto y Sánchez, 2018.

	<i>Pseudomonas koreensis</i>	Naftaleno, azufre y kerosene	Liporace, Molina, Santiago y Quevedo, 2019
	<i>Pseudomonas kunmingensis</i>	Naftaleno, azufre y kerosene	Liporace, Molina, Santiago y Quevedo, 2019
	<i>Pseudomonas sp.</i>	Hidrocarburos alifáticos (n-alcanos), HC, HTP	Ayamamani, 2018, Carrasco, 2007, Jahromi, Fazaelpoor, Ayatollahi y Niazi, 2014, Flórez, Gómez y Martínez, 2008, Vandera y Koukkou, 2011, Ramírez M. , 2014
	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Hidrocarburos aromáticos	Bracho, Díaz y Soto, 2004
	<i>Pseudomonas veronii</i>	Naftaleno, azufre y kerosene	Liporace, Molina, Santiago y Quevedo, 2019
Raoultella	<i>Raoultella terrigena</i>	HC	Carrasco, 2007
Rhodococcus	<i>Rhodococcus sp.</i>	Hidrocarburos del petróleo	Ramírez M. , 2014
Serratia	<i>Serratia rubidae</i>	Hidrocarburos alifáticos y aromáticos	Maposita, Calle, Fiallos y Burgos, 2011
Spirillum	<i>Spirillum sp.</i>	Hidrocarburos alifáticos y aromáticos	Maposita, Calle, Fiallos y Burgos, 2011
Sphingobium	<i>Sphingobium sp.</i>	Fenantreno (HAPs)	Izquierdo, 2014
Sphingopyxis	<i>Sphingopyxis sp.</i>	Fenantreno (HAPs)	Izquierdo, 2014
Sphingomonas	<i>Sphingomonas sp.</i>	HAPs, Alcanos	Vandera y Koukkou, 2011
Staphylococcus	<i>Staphylococcus aureus</i>	Hidrocarburos aromáticos	Bracho, Díaz y Soto, 2004
	<i>Staphylococcus epidermis</i>	Hidrocarburos aromáticos	Bracho, Díaz y Soto, 2004
	<i>Staphylococcus sp.</i>	Asfaltenos	Jahromi, Fazaelpoor, Ayatollahi y Niazi, 2014
Stenotrophomonas	<i>Stenotrophomonas acidaminiphila</i>	Fenol	Arias y Gómez, 2009
Vibrio	<i>Vibrio fluvialis</i>	HTP, Fenantreno	Segura et al., 2016
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Fenantreno	West, Okpokwasili, Brayton, Grimes y Colwer, 1984
	<i>Vibrio splendidus</i>	Naftaleno y fenantreno	Geiselbrecht, Herwig, Deming y Staley, 1996
Xanthomonas	<i>Xanthomonas sp.</i>	Hidrocarburos alifáticos y aromáticos	Maposita, Calle, Fiallos y Burgos, 2011

Autora, 2020

4.2.1.1 Frecuencia de utilización de las bacterias

Mediante el cálculo de frecuencia, se identificó que género de bacteria es la más utilizada en trabajos experimentales a escala de laboratorio. Como se observa en la Figura 5, de los 25 primeros géneros de bacterias identificados, la que más se observó en los diferentes estudios como degradadora de hidrocarburos fue el

género de *Bacillus* con un total de 12 especies de bacterias. Las especies del género *Bacillus* identificadas como eficientes en la degradación de compuestos de hidrocarburos fueron: *Bacillus aerius*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus mojavenensis*, *Bacillus sp.*, *Bacillus smithii*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus toyonensis*, *Lysinibacillus fusiformis*, *Lysinibacillus sp.*, y *Lysinibacillus xylanilyticus*.

Numerosas especies de este género se han aislado y descrito como degradadoras de hidrocarburos. Especies como *Bacillus subtilis* y *Bacillus pumilis*, resultaron ser óptimas bacterias en la degradación del petróleo, obteniendo una degradación del 65 y 97% respectivamente (Wang, Lin, Junzhang, Wang y Li, 2019), (Varma, Lakshmi, Rajagopal y Velan, 2017). Se ha reportado también como degradadora de asfaltenos, hidrocarburos aromáticos monocíclicos y compuestos saturados (San-Martín et al., 2012).

Cabe recalcar que este género de bacterias, también ha sido utilizado para la biorremediación de aguas contaminadas por desechos de petróleo crudo, en donde la especie *Bacillus salmalaya* degradó el 79% y el 88% de los HTP (Ismail y Dadrasnia, 2015). También han sido utilizadas para degradar residuos industriales obteniendo un 99% de degradación (Ramírez G. , 2017).

Por otra parte, Nuñez, Campos, Guilarte, Gondres, Trista y Martinez (2004) demostró que mediante las células inmovilizadas húmedas de una especie del género *Bacillus*, utilizó el naftaleno como única fuente de carbono y energía, determinando ser una especie prometedora en la degradación del naftaleno.

Por lo tanto, este género de bacterias demuestran ser una opción factible para la degradación de diversos compuestos de hidrocarburos, tanto a escala de laboratorio como de campo.

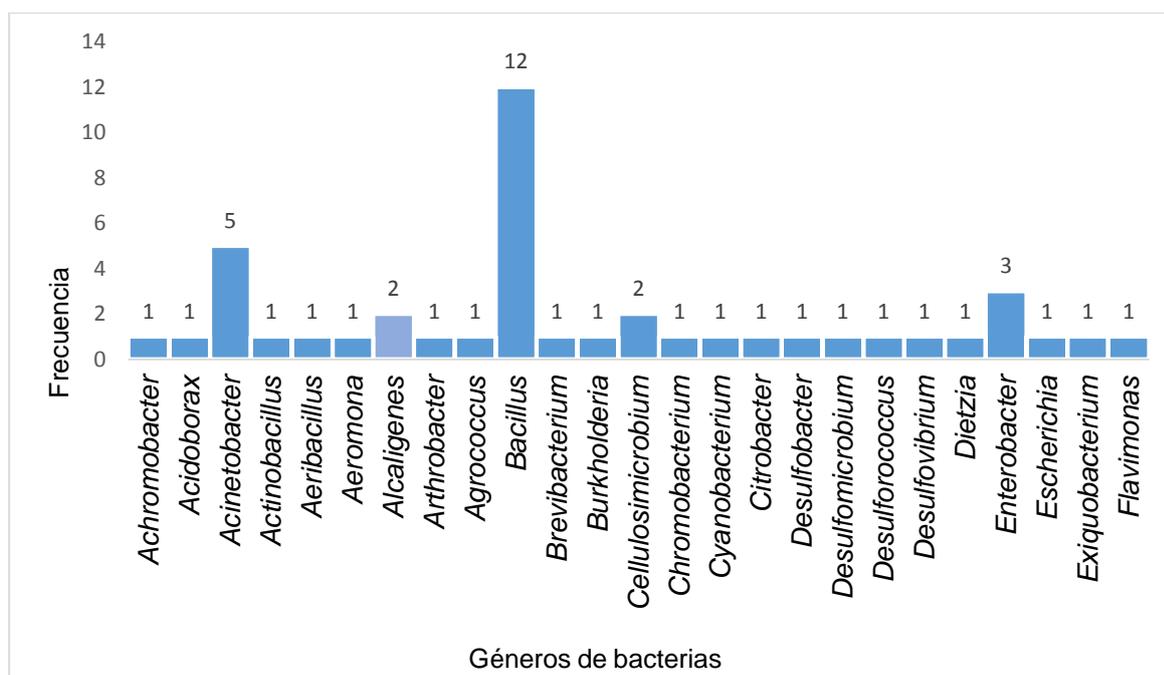


Figura 5. Frecuencia de utilización de las primeras 25 bacterias identificadas como degradadoras de hidrocarburos
 Autora, 2020

Como se observa en la Figura 6, de los 25 géneros de bacterias restantes, la que más se identificó en diferentes estudios como degradadora de hidrocarburos fue el género de *Pseudomonas* con un total de 10 especies de bacterias.

Por lo tanto, las especies que predominaron en este género de hongos fueron: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas oleovorans*, *Pseudomonas panipatensis*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas koreensis*, *Pseudomonas kunmingensis*, *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas stutzeri* y *Pseudomonas veronii*.

Este género de bacteria, es la más utilizada en la biorremediación, ya que utilizan una gran diversidad de compuestos orgánicos como sustratos para su crecimiento, lo que le permite colonizar nichos y ambientes inhóspitos en donde son escasos los nutrimentos y en la que otros organismos no pueden crecer (Pérez, Camacho, Gómez, Viñas y Moreno, 2008). Son conocidas también por su capacidad de

degradar una serie de compuestos de hidrocarburos, como los compuestos aromáticos, y sus derivados (Díaz, Tapias, Roldan, Brandão y Manrique, 2017).

En un artículo desarrollado por Huang et al., (2017) utilizaron 2 cepas del género *Pseudomonas*, para la degradación del petróleo crudo obteniendo una degradación del 65,67%, en comparación a la degradación que obtuvo utilizando una sola cepa de bacteria (32%), determinando que la utilización de dos bacterias tuvieron un efecto sinérgico en la degradación del petróleo crudo. Este género de bacterias también ha sido reportada como degradadora de fenol (Ahumada y Gómez, 2009). Así también, como un biocatalizador potencial para su utilización en la industria del refinado, debido a que este género de bacteria elimina compuestos aromáticos presentes en diésel (Khan, Gupta y Gupta, 2018).

Este género de bacterias también ha sido utilizado en la degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos. Rabodonirina et al., (2019) utilizaron cepas del género *Pseudomonas* aisladas de sitios contaminados por petróleo, en donde evaluaron su capacidad para degradar HAP como el fluoreno, fenantreno, obteniendo una degradación aproximada de 65-86% y 86-95% de dichos compuestos. También ha sido utilizada para la degradación de n-hexano y para la producción de biosurfactantes, determinando ser óptimas en la degradación de COV hidrofóbico (Él et al., 2020). También se ha reportado como degradadora de polímeros de baja densidad (Tribedi y Sil, 2013).

Por lo tanto, distintas especies del género *Pseudomonas* tienen la capacidad de degradar distintos compuestos de hidrocarburos, presentes en suelos y aguas, por lo que pueden ser utilizados en campos de investigación experimental para la remediación de los suelos contaminados por petróleo.

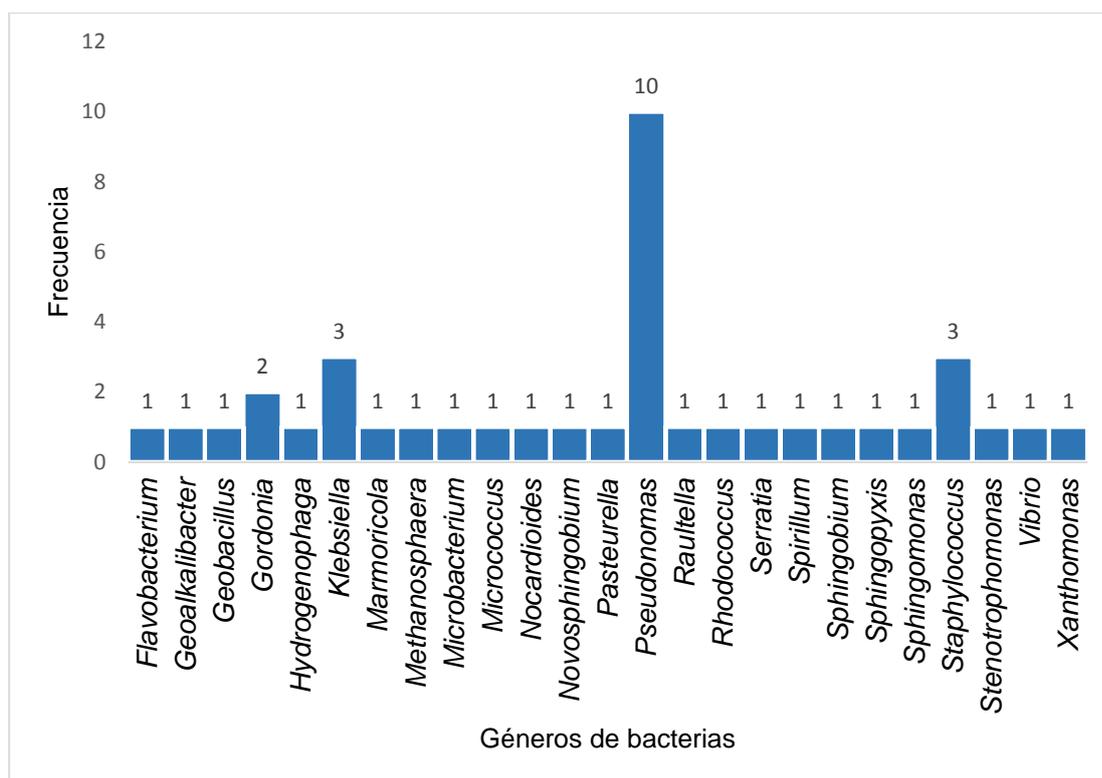


Figura 6. Frecuencia de utilización de las 25 bacterias restantes identificadas como degradadoras de hidrocarburos
 Autora, 2020

Por otra parte, se clasifico las bacterias según su tinción de Gram, para determinar si las bacterias Gram positivas son más utilizadas que las Gram negativas en la degradación de hidrocarburos. Cabe recalcar que las bacterias Gram positivas se caracterizan por tener tinción azul-violeta y una pared celular gruesa y las Gram negativas son las que se decoloran y se tiñen con safranina y presenta una pared celular delgada (Rodríguez y Arenas, 2018).

Como se observa en la Tabla 7, se identificó un total de 17 géneros de bacterias Gram positivas y 33 géneros de bacterias Gram negativas, descritas en la Tabla 8.

Tabla 7. Bacterias Gram positivas

Bacterias Gram positivas			
<i>Aeribacillus</i>	<i>Brevibacterium</i>	<i>Geobacillus</i>	<i>Micrococcus</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>Cellulosimicrobium</i>	<i>Gordonia</i>	<i>Nocardioides</i>
<i>Agrococcus</i>	<i>Dietzia</i>	<i>Marmoricola</i>	<i>Rhodococcus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Exiguobacterium</i>	<i>Methanosphaera</i>	<i>Staphylococcus</i>

Autora, 2020

Tabla 8. Bacterias Gram negativas

Bacterias Gram negativas			
<i>Achromobacter</i>	<i>Chromobacterium</i>	<i>Geoalkalibacter</i>	<i>Sphingobium</i>
<i>Acidoborax</i>	<i>Desulfolbacter</i>	<i>Hydrogenophaga</i>	<i>Sphingopyxis</i>
<i>Acinetobacter</i>	<i>Desilforococcus</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Sphingomonas</i>
<i>Actinobacillus</i>	<i>Desulfomicrobium</i>	<i>Novosphingobium</i>	<i>Stenotrophomonas</i>
<i>Aeromona</i>	<i>Desulfovibrium</i>	<i>Pasteurella</i>	<i>Vibrio</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Xanthomonas</i>
<i>Burkholderia</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Raultella</i>	
<i>Citrobacter</i>	<i>Flavimonas</i>	<i>Serratia</i>	
<i>Cyanobacterium</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Spirillum</i>	

Autora, 2020

Por lo tanto, como se observa en la Figura 7, las bacterias Gram negativas predominan como las más utilizadas en la degradación de hidrocarburos con un 66%, mientras que las Gram positivas con un 34%. Esta teoría se afirma en un estudio realizado por Carrara y Arena (2017) en donde las bacterias predominantes para degradar hidrocarburos pertenecían a las Gram negativas. Esta afirmación también coincide con un estudio realizado por Jain et al., (2005) en donde menciona que las bacterias gram negativas son las que predominan en suelos afectados por hidrocarburos. Un claro ejemplo, es el estudio realizado por Bracho, Díaz y Soto (2004) en donde de 37 cepas bacterianas aisladas de suelos contaminados con petróleo, el 54,05% correspondía a bacterias Gram negativas y un 24.32% a bacterias Gram positivas. En otro estudio realizado por Díaz, Tapias, Roldan, Brandão y Manrique (2017) menciona que en estudios basados en bacterias cultivables indica que en suelos afectados por hidrocarburos predominan bacterias Gram negativas. Por lo tanto, las bacterias Gram negativas demuestran ser predominantes en tolerar y degradar compuestos de hidrocarburos.

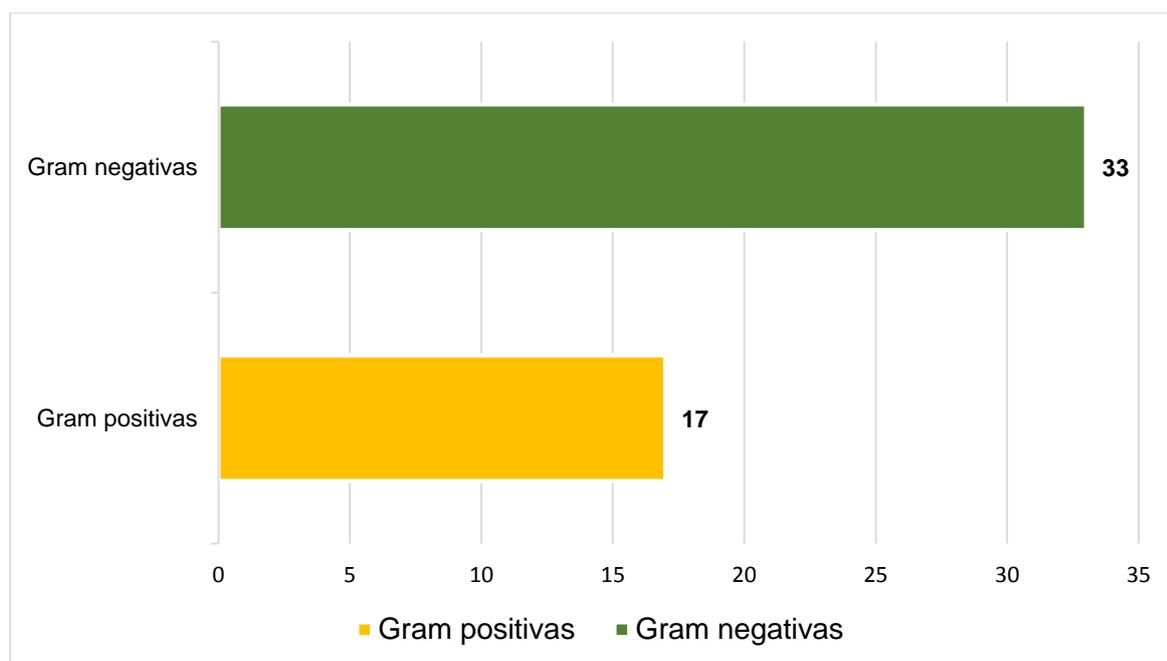


Figura 7. Porcentaje de utilización de bacterias según su tinción de Gram
Autora, 2020

4.2.2 Hongos degradadores de hidrocarburos

Como se observa en la Tabla 9, se identificaron mediante revisión bibliográfica un total de 34 géneros de hongos con un total de 74 especies, las cuales fueron aisladas de suelos contaminados por petróleo para determinar su capacidad de degradación de hidrocarburos.

Diversos trabajos experimentales han reportado géneros de hongos potenciales en la degradación de hidrocarburos. Un estudio realizado en Chile por Valenzuela, Solís, Martínez y Pinochet (2006) identificaron a hongos del género *Absidia*, *Penicillium*, *Mortierella*, como degradadores de aldehídos, alquinos y anhídridos, así como también de alcanos saturados e insaturados, aromáticos y alquilos.

Otro estudio realizado en Venezuela por Medina, García y Paricaguán (2014) concluyeron que las especies de hongos del género *Aspergillus* tales como: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, tienen la capacidad de crecer y degradar hidrocarburos totales de petróleo en un 85%.

Géneros de hongos filamentosos como: *Aspergillus*, *Geotrichum* y *Penicillium*, fueron aislados de muestras de suelo en donde se determinó que son reductoras de hidrocarburos totales del petróleo (Villacís, 2011). Así mismo, la especie de hongo la especie de hongo *Penicillium brevicompactum*, tiene la capacidad de degradar hidrocarburos del petróleo de manera parcial (Suazo, 2017).

En un artículo de revista realizado por Ciro y Estupiñán (2018) evaluarón la capacidad biorremediadora de especies de hongos filamentosos sobre el petróleo crudo, en donde identificaron especies como el: *Aspergillus sp.*, *Neosartorya sp.*, y *Rhizomucor sp.* en la cual demostraron que en consorcio muestran un efecto sinérgico, logrando degradar petróleo de alta densidad (°API de 21.6). Especies de hongos del género *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cochliobolus*, *Cordyceps*, *Gibberella*, *Hypocrea* y *Pleospora*, han mostrado su efectividad en la degradación del petróleo crudo (Al-Nasrawi, 2012).

Géneros como: *Acremonium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Beauveria*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Exphiala*, *Fusarium*, *Geomyces*, *Gliocladium*, *Gliomastix*, *Neosartorya*, *Oidiodendron*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phanerochaete*, *Phialophora*, *Phoma*, *Pseudallescheria*, *Rhodotorula*, *Trichoderma*, han sido identificados potenciales degradadores de hidrocarburos de fracción alifática (April, Foght y Currah, 2000).

En un artículo de revista desarrollado por Anwar et al., (2017) identificaron a especies de bacterias de géneros: *Aspergillus* y *Penicillium* como degradadores de petróleo crudo que contenía compuestos como el tetradecano, pentadecano, hexadecano, heptadecano, tetracosano y heptacosano. Especie como el *Penicillium citrinum*, es catalogado como biodegradador del petróleo crudo que contenía n-alcenos de cadena larga (Barnes, Vishwas, Lotlikar, Meena y Damare, 2017).

Hongo del género *Phanerochaete*, ha determinado su capacidad de biodegradar naftaleno (Mollea, Bosco y Ruggeri, 2005).

Por otra parte, en la degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) ha demostrado su efectividad el hongo de género *Trichoderma* (Parra, 2014). Géneros de hongos como el *Aspergillus*, *Cladosporim*, *Fusarium*, *Neosartorya*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Pestalotiopsis*, *Phoma*, *Pseudallescheria*, *Trichoderma*, también han demostrado su capacidad en la degradación de los HAPs (Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007).

Así también, géneros como: *Penicillium*, *Mucor* y *Lasiodiplodia* utilizan como única fuente de carbono a los hidrocarburos poliaromáticos, logrando la degradación de compuestos de alcanos (Balaji, Arulazhagan y Ebenezer, 2014).

Por lo tanto, los hongos son microorganismos capaces de tolerar, crecer y degradar diversos compuestos de hidrocarburos, logrando ser microorganismos eficaces en la degradación de hidrocarburos.

Tabla 9. Géneros de hongos con capacidad degradadora de hidrocarburos

Géneros	Especie	Hidrocarburo	Referencia
<i>Absidia</i>	<i>Absidia sp.</i>	Aldehídos, alquinos, anhídridos, alcanos saturados e insaturados, aromáticos y alquilos	Valenzuela, Solís, Martínez y Pinochet, 2006)
<i>Acremonium</i>	<i>Acremonium butyri</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Acremonium kiliense</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Acremonium sp.</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Acremonium strictum</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria alternate</i>	HP	Al-Nasrawi, 2012
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	HTP	Medina, García y Paricaguán, 2014
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000; Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007

	<i>Aspergillus niger</i>	Naftaleno, Hidrocarburos aromáticos, alifáticos, HTP, alcanos	April, Foght y Currah, 2000, Medina, García y Paricaguán, 2014; Al-Nasrawi, 2012; Anwar et al., 2017
	<i>Aspergillus niveus</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Aspergillus oryzae</i>	Alcanos	Anwar et al, 2017
	<i>Aspergillus tamarii</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Aspergillus terreus</i>	HTP, Hidrocarburos poli-aromáticos	Medina, García y Paricaguán, 2014; Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
	<i>Aspergillus sp.</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000; Ciro y Estupiñan, 2018; Villacís, 2011
Aureobasidium	<i>Aureobasidium pullulans</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Beauveria bassiana</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
Byssochlamys	<i>Byssochlamys nivea</i>	Hidrocarburos poli- aromáticos	Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
Cochliobolus	<i>Cochliobolus lutanus</i>	HP	Al-Nasrawi, 2012
Cordyceps	<i>Cordyceps sinensis</i>	HP	Al-Nasrawi, 2012
Chaetomium	<i>Chaetomium globosum</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
Chalara	<i>Chalara sp.</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
Chyso sporium	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
Cladosporium	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	Hidrocarburos poli- aromáticos	Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
Exophiala	<i>Exophiala jeanselmei</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
Fusarium	<i>Fusarium avenaceum</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Fusarium proliferatum</i>	Hidrocarburos poli- aromáticos	Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
	<i>Fusarium solani</i>	Hidrocarburos poli- aromáticos	Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
	<i>Fusarium subglutinans</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Fusarium venenatum</i>	Hidrocarburos poli- aromáticos	Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
Geomyces	<i>Geomyces pannorum</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
Geotrichum	<i>Geotrichum sp</i>	HTP	Villacís, 2011
Gibberella	<i>Gibberella fujikuroi</i>	HP	Al-Nasrawi, 2012
Gliocladium	<i>Gliocladium catenulatum</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
Gliomastix	<i>Gliomastix sp.</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000

Hypocrea	<i>Hypocrea lixxi</i>	HP	Al-Nasrawi, 2012
Lasiodiplodia	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Hidrocarburos poli-aromáticos	Balaji, Arulazhagan y Ebenezer, 2014
Mucor	<i>Mucor racemosus</i>	Hidrocarburos poli-aromáticos	Balaji, Arulazhagan y Ebenezer, 2014
Mortierella	<i>Mortierella sp.</i>	Aldehídos, alquinos, anhídridos, alcanos saturados e insaturados, aromáticos y alquilos	Valenzuela, Solís, Martínez y Pinochet, 2006
Neosartorya	<i>Neosartorya fischeri</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000, Ciro y Estupiñan, 2018
	<i>Neosartorya spinosa</i>	Hidrocarburos poli-aromáticos	Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
	<i>Neosartorya pseudofischeri</i>	Hidrocarburos poli-aromáticos	Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
Oidiodendron	<i>Oidiodendron griseum</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
Paecilomyces	<i>Paecilomyces marquandii</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Paecilomyces sp.</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000; Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
Penicillium	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Penicillium brevicompactum</i>	HTP	Suazo, 2017
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Hidrocarburos poli-aromáticos	Balaji, Arulazhagan y Ebenezer, 2014
	<i>Penicillium citrinum</i>	n-alcanos de cadena larga	Barnes, Vishwas, Lotlikar, Meena y Damare, 2017
	<i>Penicillium commune</i>	Alcanos	Anwar et al., 2017
	<i>Penicillium corylophilum</i>	HTP	Lemos J., Rizzo, Millioli, Soriano y Sarquis, 2002
	<i>Penicillium indonesiae</i>	Hidrocarburos poli-aromáticos	Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
	<i>Penicillium janthinellum</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Penicillium montanense</i>	HTP	Chaillan et al., 2004
	<i>Penicillium pinophilum</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
<i>Penicillium purpurogenum</i>	Hidrocarburos saturados y aromáticos	Oudot, Dupont, Haloui y Roquebert, 1993 Chaillan et al., 2004	

	<i>Penicillium restriction</i>	Hidrocarburos saturados, aromáticos y poli-aromáticos	Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007; Chaillan et al., 2004
	<i>Penicillium sp.</i>	Hidrocarburos aromáticos, alifáticos, aldehídos, alquinos, anhídridos, alcanos saturados e insaturados	April, Foght y Currah, 2000, Villacís, 2011; Valenzuela, Solís, Martínez y Pinochet, 2006
	<i>Penicillium spinulosum</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Penicillium thomii</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
Phanerochaete	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Naftaleno	Mollea, Bosco y Ruggeri, 2005
Phialophora	<i>Phialophora americana</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Phialophora sp.</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Phialophora verrucosa</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Phoma glomerata</i>	Hidrocarburos poli-aromáticos	Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
Phoma	<i>Phoma sp.</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
Pleospora	<i>Pleospora herbarum</i>	HP	Al-Nasrawi, 2012
Pseudallescheria	<i>Pseudallescheria angusta</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000; Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
	<i>Pseudallescheria boydii</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
Rhizomucor	<i>Rhizomucor sp.</i>	HTP	Ciro y Estupiñan, 2018
Rhizopus	<i>Rhizopus stolonifer</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
Trichoderma	<i>Trichoderma harzianum</i>	HAPs	Parra, 2014
	<i>Trichoderma inhamatum</i>	Hidrocarburos poli-aromáticos	Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007
	<i>Trichoderma sp.</i>	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos	April, Foght y Currah, 2000
	<i>Trichoderma viride</i>	Hidrocarburos poli-aromáticos	Naranjo, Urbina, De Sisto y Leon, 2007

Autora, 2020

4.2.1.1 Frecuencia de utilización de hongos

Mediante el cálculo de frecuencia, se identificó que género de hongo es el más utilizado en trabajos experimentales a escala de laboratorio.

Como se observa en la Figura 8, de los 18 primeros géneros de hongos, se determinó cual ha sido el más utilizado en relación a las especies que han sido utilizadas como degradadoras de hidrocarburos. Por lo tanto, se identificó que el

género *Aspergillus*, fue el más utilizado en la degradación de hidrocarburos, con 8 especies de bacterias: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus niveus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus tamaraii*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus sp.*, determinando que son potenciales degradadores de hidrocarburos.

Este género de hongos se lo ha utilizado en la degradación de diferentes compuestos de hidrocarburos. Por ejemplo, en la degradación de HTP, ha resultado ser efectiva en la degradación de estos compuestos en aguas residuales de campos petrolíferos (Olufunmilayo y Owhonka, 2019).

En un estudio realizado por Contreras y Carreño (2018) donde aisló 15 géneros de bacterias de un suelo contaminados por petróleo, la especie del género *Aspergillus* fue la que presentó mayor eficiencia de degradación de HTP en un 73%. Especies como el *Aspergillus niger* y *Aspergillus versicolor*, han demostrado su capacidad para la degradación de hidrocarburos (Lemos et al., 2015). En un estudio realizado por Al-Hawash, Zhang y Ma (2019) evaluaron la capacidad de degradación de los hidrocarburos de petróleo a través del hongo *Aspergillus sp*, obteniendo una degradación del petróleo crudo en un 51,8 %, naftaleno (NAP) 84,6 %, fenantreno (PHE) 50,3 % y pireno (PYR) en un 55,1%. También han demostrado su capacidad para degradar eficientemente alcanos, hidrocarburos aromáticos, resinas, asfáltenos (Zhang, Xue, Gao y Ma, 2015) y en la degradación de n-hexadecano (Campos, Moreira, Silva y Guilarte, 2006). Otros estudios han demostrado su capacidad para la degradación del glifosato (Fu et al., 2017).

Por lo tanto, de acuerdo a lo expuesto, este género de hongos demuestra ser un gran degradador de diversos compuestos de hidrocarburos como los aromáticos, HTP, alcanos, resinas, n-hexadecano y asfáltenos, por lo que resulta ser un género prometedor en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos.

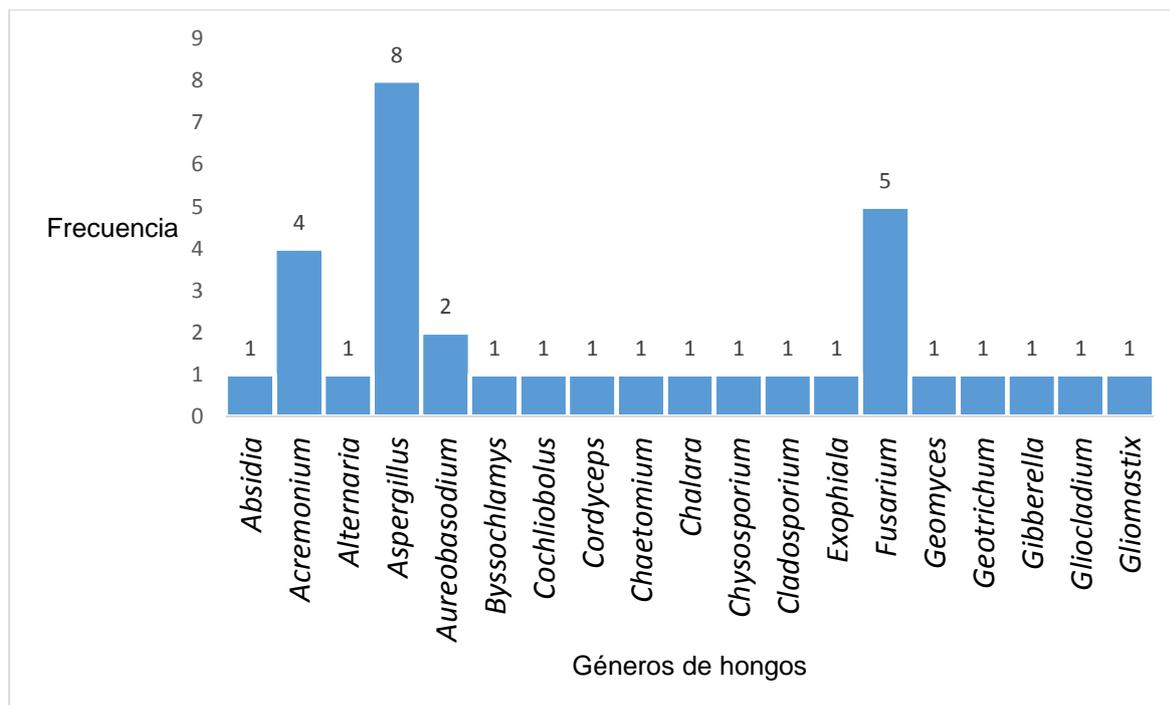


Figura 8. Frecuencia de utilización de los primeros 18 hongos identificados como degradadores de hidrocarburos
 Autora, 2020

Como se observa en la Figura 9, de los 16 géneros de hongos restantes, el género *Penicillium* fue el más utilizado la degradación de hidrocarburos. Se identificó 15 especies de este género: *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium commune*, *Penicillium corylophilum*, *Penicillium indonesiae*, *Penicillium janthinellum*, *Penicillium montanense*, *Penicillium pinophilum*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium restriction*, *Penicillium sp*, *Penicillium spinulosum*, *Penicillium thomii*.

Este género de hongos ha mostrado su capacidad para la degradación de distintos compuestos de hidrocarburos aromáticos policíclicos y varias cepas de este género pueden vivir en ambientes salinos (Leitao, 2009).

Vanishree, Thatheyus y Ramya (2014) determinaron que la especie *Penicillium sp.* tiene la capacidad de degradar tolerar distintas concentraciones de gasolina y crecer en ellas.

Por otra parte, las especies como el *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium sp*, y *Penicillium sp*, han sido reportadas como degradadoras de naftaleno, antraceno y criseno (Juhasz y Naidu, 2000). Así mismo, en el estudio realizado por Suazo (2017) determino que *Penicillium brevicompactum*, es un potencial degradador de hidrocarburo, determinando que dicho género puede ser considerado como alternativa para la biorremediación de suelos contaminados. Este género de hongos también ha sido reportado como potencial en el tratamiento de aguas contaminadas con uranio (Coelho, Reis, Cotrim, Rizzutto y Correa, 2020).

Varias especies de este género de hongos como: *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium frequentans* y *Penicillium simplicissimumhan*, han demostrado su eficiencia en la degradación de fenoles, clorofenoles y pentaclorofenol (Leitao, 2009). Otra especie de hongo como el *Penicillium oxalicum* ha demostrado su efectividad en la degradación de triclosan, que es considerado un contaminante emergente en el medio acuoso y en el suelo (Tian, Ma, Li y Wang, 2018). Y su capacidad en la degradación de metamidofos en diferentes condiciones de temperatura y pH (Zhao, Bao y Liu, 2010).

Sánchez et al., (2015) menciono que distintas especies del género *Penicillium* han sido consideradas como degradadoras de plaguicidas (Sánchez et al., 2015). Especie como el *Penicillium chrysogenum* XJ-1 ha ido utilizado en la desintoxicación y biorremediación del cadmio (Xingjian et al., 2015). Así como también, resulta ser un hongo potencial en la reducción de plomo en suelos cargados de petróleo (Ahmad y Ganjo, 2020).

Shetty, Zheng y Levin (1999) descubrieron que la cepa *Penicillium Sp.* B1 ATCC74414, es capaz de degradar colorantes aromáticos poliméricos, incluyendo los colorantes azoicos.

Por lo tanto, según lo encontrado en diversos artículos de revista, sea demostrado que este género de hongos es un potencial degradador de distintos compuestos de hidrocarburos.

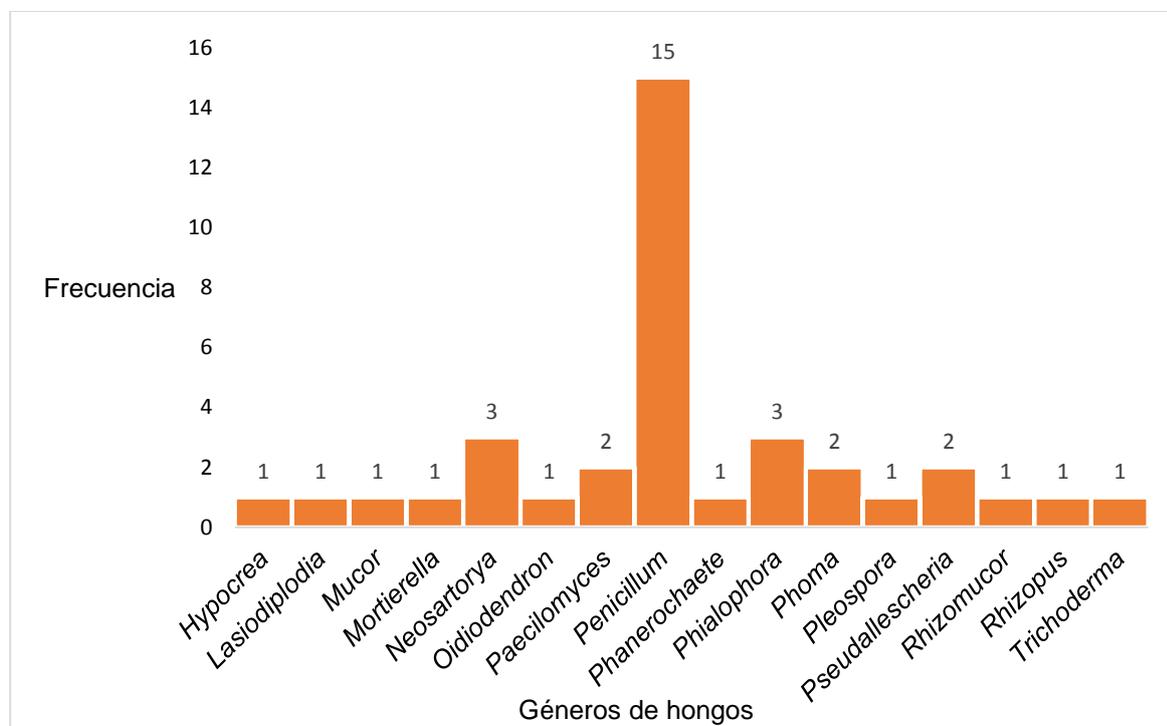


Figura 9. Frecuencia de utilización de los 16 hongos restantes identificados como degradadores de hidrocarburos
Autora, 2020

4.3 Determinación del porcentaje de degradación de hidrocarburos mediante el uso de bacterias y hongos

En base a los resultados recopilados de distintos trabajos experimentales, se determinó la eficiencia de cada especie de bacterias y hongos, tomando como variable las concentraciones y tiempo de degradación para los hidrocarburos, con el fin de determinar el microorganismo más eficiente en la biorremediación de suelos contaminados por petróleo.

4.3.1 Porcentaje de degradación de hidrocarburos mediante el uso de bacterias y hongos

Para determinar el % de degradación de los hidrocarburos, utilice la siguiente fórmula:

$$\frac{C.I - C.F}{C.I} \times 100 = \% \text{ de degradación}$$

Donde:

C.I = Concentración inicial del contaminante en el suelo

C.F= Concentración final del contaminante en el suelo

Como se observa en la Tabla 10, se recopilaron mediante estudios realizados por diversos autores la eficiencia de bacterias y hongos para la degradación de hidrocarburos, determinando que mediante el cálculo del % de remoción y tomando como variable el tiempo en las que degradaron los HTP, resultaron ser eficientes por un lado la bacteria del género *Pseudomonas* especie *Pseudomonas fluorescens*, reportando una degradación del 98%, en un periodo de tiempo de 3 meses, y por otro lado, el hongo *Trichoderma sp*, reportando una degradación del 99% de los HTP en un periodo de tiempo de 3 meses, concluyendo que estadísticamente existe solo 1% de diferencia entre *Pseudomonas fluorescens* y el hongo *Trichoderma sp*.

Este análisis se afirma en un estudio realizado por Pozo (2018) en donde la bacteria *Pseudomonas fluorescens* degradó en un 99,25% los hidrocarburos aromáticos policíclicos y en un 97,50 % los hidrocarburos totales del petróleo. Benedek et al., (2012) mediante la bacteria *Pseudomonas fluorescens* BBN1 y *Rhodococcus qingshengii* degradaron los compuestos en un 95% el n-decano, 66% el tolueno y un 77% el naftaleno.

El género de bacterias *Pseudomonas*, se caracteriza por predominar en todos los hábitats naturales, muy aparte de que sus requerimientos nutricionales son muy simples, además que poseen una mayor tolerancia a condiciones ambientales que son desfavorables en el crecimiento de otras bacterias. Diversas especies de este género son capaces de degradar distintos compuestos de hidrocarburos, en donde en el proceso de degradación de los hidrocarburos la *Pseudomonas fluorescens*

produce surfactantes favoreciendo en la reducción de la tensión superficial de alguna sustancia (hidrocarburos). Además de que facilita el ingreso de los hidrocarburos por la pared celular llevando a cabo los procesos metabólicos que conducen a la multiplicación celular a partir de los hidrocarburos utilizándolo como única fuente de energía y carbono (Shafy y Mansour, 2015). Determinando que la utilización de microorganismos resulta ser una técnica eficiente en la degradación de los hidrocarburos, ya que demuestra ser una alternativa eficiente para llevar a cabo la recuperación de los suelos contaminados por hidrocarburos.

Tabla 10. Porcentaje de remoción de hidrocarburos en el suelo mediante bacterias y hongos

Especies	Microorganismo	Concentración inicial (mg/Kg-1)	Concentración Final (mg/Kg-1)	hidrocarburo	Remoción	Tiempo
<i>Bacillus brevis</i>	Bacterias	1.679,50	1.094,40	HTP	34,84%	1 mes
<i>Bacillus coagulans</i>		1.561,4	1.088,30	HTP	30,30%	1 mes
<i>Exiguobacterium profundum</i>		5.000	617,28	HTP	88%	1 mes
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	Hongos	104. 000	35.640	HTP	68%	3 meses
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		42.070,30	7.141	HTP	83%	3 meses
<i>Aspergillus sp.</i>		25.987	18.970	HTP	73%	3 meses
<i>Auricularia sp.</i>		2.447	1.193	Fracción 3	51,30%	3 meses
<i>Penicillium janthinellum</i>		10.000	2.512,23	HTP	75%	1 mes
<i>Pleurotus ostreatus</i>		31.717,32	1.045,25	HTP	96%	1 mes
<i>Pleurotus ostreatus</i>		107.239,48	2.729,22	HTP	97,5%	2 meses
<i>Trichoderma sp.</i>		42.070,30	714,1	HTP	98.3%	3 meses

Autora, 2020

4.3.1.1 Degradación de hidrocarburos por bacterias en relación a la concentración inicial

Como se observa en la Figura 10, las bacterias del género *Bacillus* expuestas a una concentración de 1.000 mg/kg de hidrocarburos, no resultan ser eficientes en la degradación, debido a que presentan una degradación de tan solo el 30%. Por otra parte, especies de bacterias tales como el *Exiguobacterium profundum* y la *Pseudomonas fluorescens* expuestas a concentraciones de 5.000 a 42.000 mg/kg-1 de hidrocarburos, presenta una degradación de hasta el 83%. Sin embargo, a

concentraciones de 104.000 mg/kg-1 disminuye el porcentaje de degradación con un 66%. Determinando que a concentraciones más elevadas las bacterias obtienen un menor porcentaje de degradación.

Por lo tanto, la bacteria que obtuvo la mayor degradación de hidrocarburos, se presentó en la especie *Exiquobacterium profundum*, con el 88% en un tiempo de 1 mes, teniendo en cuenta que a la concentración que estuvo expuesta fue mínima de 5.000 mg/kg-1.

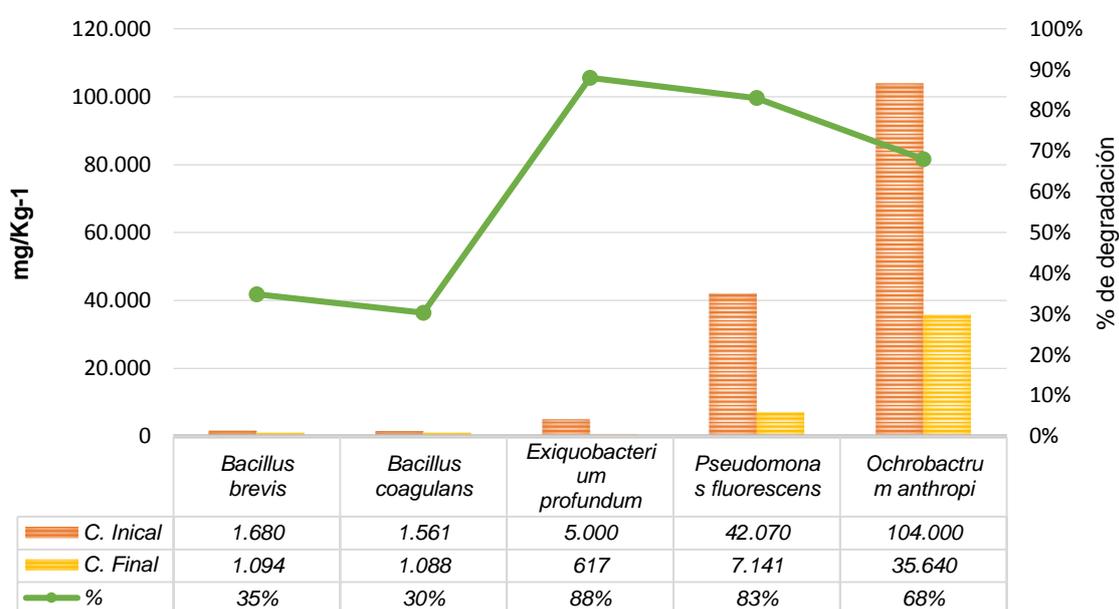


Figura 10. Degradación de hidrocarburos por bacterias
Autora, 2020

4.3.1.2 Degradación de hidrocarburos por hongos en relación a la concentración inicial

Como se observa en la Figura 11, los hongos expuestas a una concentración de aproximadamente de 10.000 a 42.000 mg/Kg-1 de hidrocarburos presentan una degradación de entre el 70 al 98%, en comparación al porcentaje obtenido con una concentración de 2.000 mg/kg-1, en donde se obtuvo un 51,30%. Esto indica que las bacterias *Aspergillus sp.*, *Penicillium janthinellum*, *Pleurotus ostreatus* y

Trichoderma sp., toleran altas concentraciones de hidrocarburos, obteniendo una degradación de hidrocarburos elevado.

De los 6 hongos identificadas de diversos estudios experimentales, se determinó que el hongo *Pleurotus ostreatus* es el más eficiente en la degradación de hidrocarburos a elevadas concentraciones y en corto tiempo, obteniendo una degradación del 97,5%, en un tiempo de 2 meses.

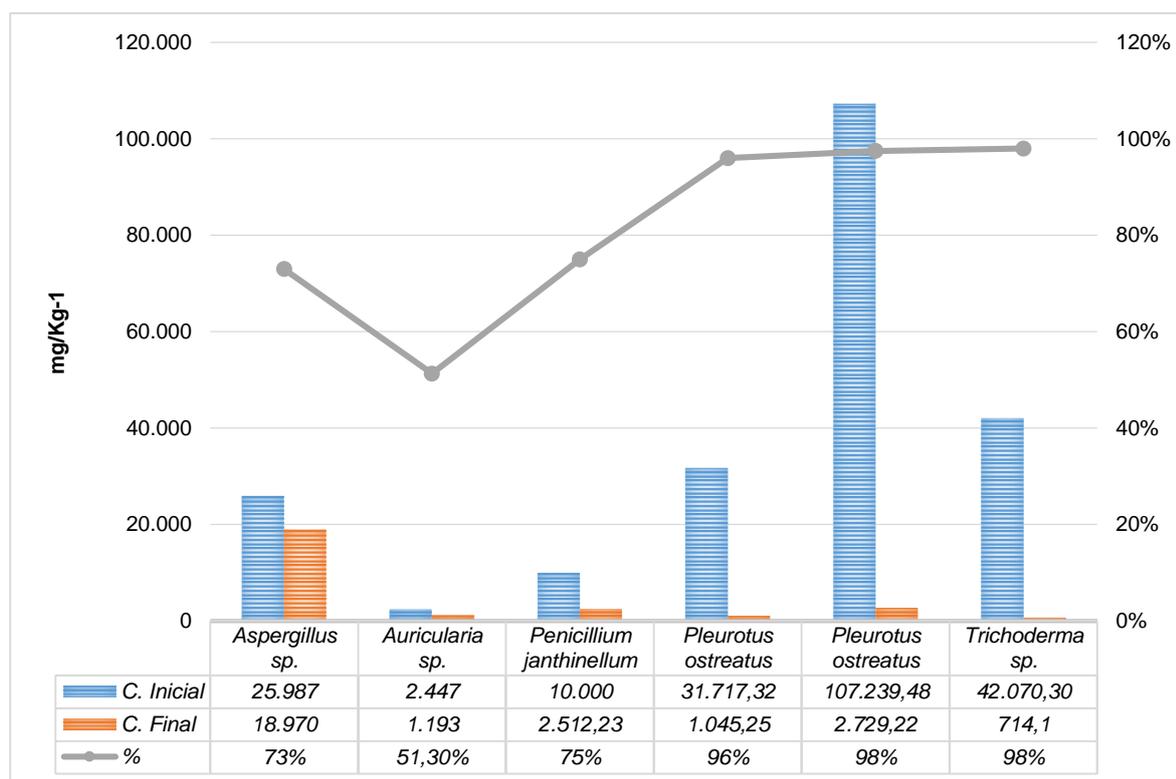


Figura 11. Degradación de hidrocarburos por hongos
Autora, 2020

4.3.1.3 Degradación de hidrocarburos por medio de consorcios microbianos

Cabe destacar también, que otra manera que resulto ser efectiva en la degradación de los HTP, es mediante la utilización de consorcios microbianos bacterias/hongos, es decir, en conjunto con otras bacterias o en conjunto con hongos. Tal es el caso del consorcio *Trichoderma sp.* + *Pseudonomas fluorescens* que mediante el % de remoción se obtuvo el 99.1% de degradación de

hidrocarburos expuestos a 42070.3 mg/Kg-1. Por lo tanto, esta es otra medida efectiva en la degradación de dichos compuestos. Esto se comprueba en un estudio realizado por Pesántez y Castro (2016) en la que las especies de hongo *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* y *Trichoderma psedokoningii*, obtuvieron una degradación entre un 47 y 69.1% de los hidrocarburos y un 53.72% de los metales pesados. Afirmando también en otro estudio que utilizaron un consorcio bacteriano conformado por géneros de *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Serratia sp.*, *Enterobacter sp.*, y *Raoultella sp.* obtuvieron una degradación del 33% de hidrocarburos (Reyes et al., 2018). Otro estudio realizado por Sun, Jin, Sun, Liu y Liu (2010) determinó que el consorcio del filum *Proteobacteria* es factible en la degradación en un 83% y un 96% de pireno y el fluoranteno, además de un 65% para el benzo[a] pireno. Así mismo, el consorcio bacteriano conformado por *Mycobacterium fortuitum*, *Bacillus cereus*, *Microbacterium sp.*, *Gordonia polyisoprenivorans* y el hongo *Fusarium oxysporum* degradaron en un 99%, 99% y 96% de los hidrocarburos aromáticos policíclicos a concentraciones de 250, 500 y 1000 mg/kg-1 de suelo (Jacques et al., 2008). En otro estudio, realizado por Hasan, Mhail y Ali (2016) en donde el consorcio de hongos conformado por *Aspergillus niger* y *Aspergillus fumigatis*, degradaron en un 95% los hidrocarburos totales del petróleo. Concluyendo que las bacterias y hongos en consorcio también es otra medida efectiva en la degradación de hidrocarburos ya que mediante el cálculo de % de remoción de hidrocarburos se determinó un rango de entre 40 a 99%.

Tabla 11. Porcentaje de degradación de hidrocarburos por microorganismos en consorcios

Especies	Microorganismos	Concentración Inicial (mg/Kg-1)	Concentración Final (mg/Kg-1)	Tipo de hidrocarburo	% de remoción	Tiempo
<i>Aspergillus niger</i> + <i>Pleurotus ostreatus</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacterias + hongos	104.231	58.342	TPHs y HAPs	44%	3 mes
<i>Bacillus</i> + <i>Pseudomonas Trichoderma sp.</i> + <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Bacterias	53.008,4	2.711,60	HTP	95%	2 mes
	Bacteria + Hongo	42.070,3	379,2	THPs	91%	3 mes

Autora, 2020

4.3.1.4 Degradación de hidrocarburos por medio de consorcios microbianos en relación a su concentración inicial

Como se observa en la Figura 12, los consorcios microbianos conformados por bacterias y hongos, resultan ser otra manera efectiva en la degradación de hidrocarburos. Los consorcios microbianos expuestos a concentraciones de 40.000 a 53.000 mg/kg-1 de hidrocarburos obtienen una degradación del 95 al 99%. Sin embargo, a concentraciones bajas conllevan a degradar en menor porcentaje 44%. Por lo tanto, el consorcio conformado por las bacterias *Bacillus* y *Pseudomonas* presentaron el mayor porcentaje con el 95% a una concentración de 53.008,40 mg/kg-1 de hidrocarburos en un tiempo de 3 meses. Concluyendo que el sinergismo entre bacterias y hongos aumenta la velocidad de oxidación de los hidrocarburos.

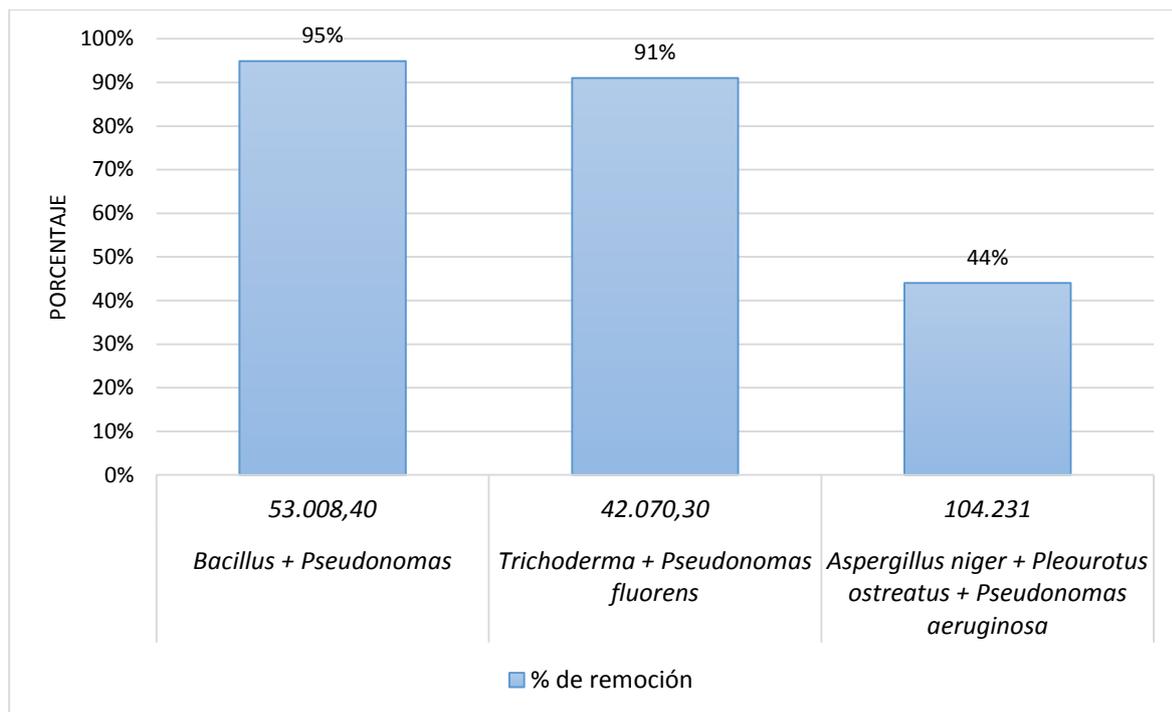


Figura 12. Degradación de hidrocarburos por consorcios microbianos Autora, 2020

4.3.1.5 Comparación del porcentaje de degradación obtenido por la bacteria *Exiguobacterium profundum*, el hongo *Pleurotus ostreatus* y el consorcio microbiano

Para determinar el microorganismo más eficiente en la degradación de hidrocarburos, se comparó los resultados obtenidos anteriormente. Como se observa en la Figura 13, el hongo *Pleurotus ostreatus*, es el que mayor porcentaje de degradación obtiene con un 98%, en un lapso de 2 meses, teniendo en cuenta que la concentración inicial era de 107.239,48 mg/kg-1 de hidrocarburos obteniendo una concentración final de 2.729,22 mg/kg-1. Por lo tanto, este género de hongo resulta ser eficiente debido a que tolera elevadas concentraciones de hidrocarburos y degrada en un lapso corto de tiempo.

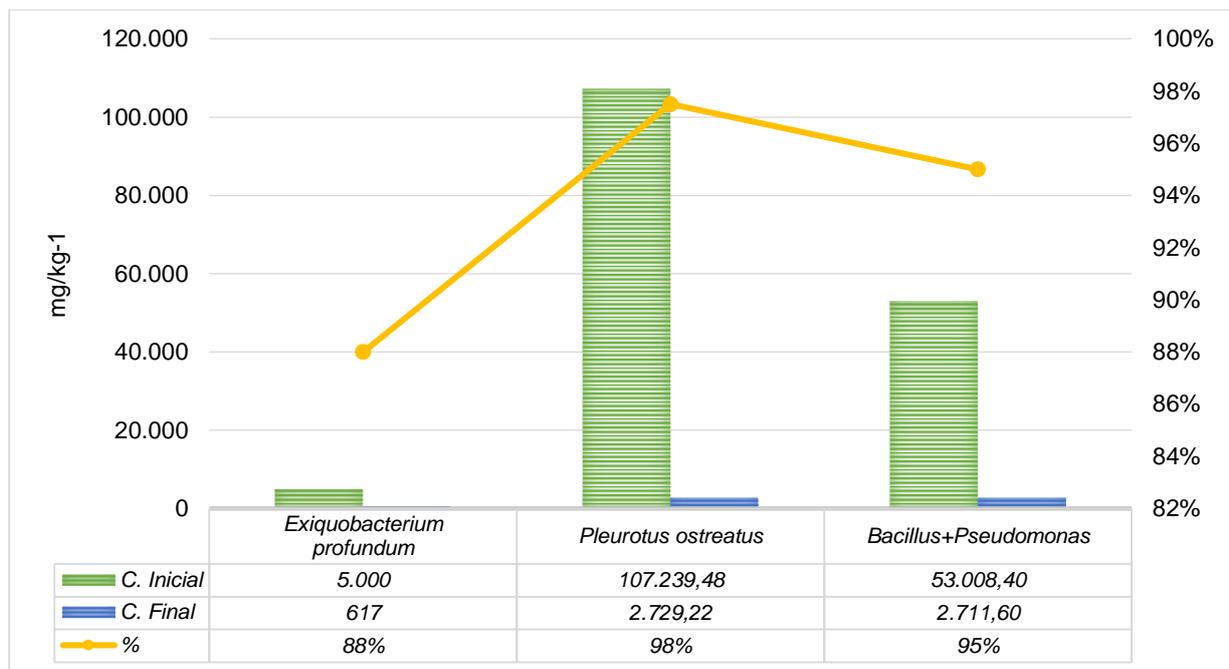


Figura 13. Degradación de HTP por medio de la bacteria, hongo y consorcio microbianos
Autora, 2020

5. Discusión

La utilización de los microorganismos ha demostrado ser una alternativa viable y efectiva en la degradación de los hidrocarburos, en donde los hongos han demostrado ser más efectivos debido a que toleran y degradan a concentraciones elevadas los hidrocarburos, obteniendo un mayor porcentaje de degradación de los hidrocarburos, por lo tanto, resultan ser más eficientes que las bacterias. Esto se afirma en un estudio realizado por Valenzuela, Solís, Martínez y Pinochet (2006) en donde mencionan que las bacterias son menos efectivas que los hongos en la degradación de hidrocarburos debido a que los hongos poseen una batería enzimática más eficiente para atacar los hidrocarburos. Incluyendo también que los hongos se presentan como mejores degradadores de hidrocarburos de cadena larga que las bacterias de acuerdo con Martínez, Hernández, Ojeda y García (2011) quienes mencionan que el hongo *Aspergillus* y *Penicillium* son los géneros que se encuentran en mayor proporción en suelos contaminados con hidrocarburos, utilizándolos para estudios de biorremediación de petróleo crudo y sus derivados, así como la mineralización de aromáticos policíclicos.

De los diversos trabajos experimentales encontrados y mediante el cálculo de degradación se determinó que los hongos resultan más eficaces en la degradación de hidrocarburos. Tal es el caso del estudio experimental realizado por Zárate (2010) donde el hongo *Pleurotus ostreatus*, obtuvo la mayor degradación de hidrocarburos en una concentración inicial de 107.239,48 mg/kg-1 en un tiempo de 2 meses, obteniendo como resultado una concentración final de 2729,22 mg/kg-1 es decir una degradación del 98%. Mientras que, en el estudio experimental de Segura et al., (2016) utilizaron la especie de bacteria *Exiguobacterium profundum* para la biodegradación de los hidrocarburos del petróleo, en la cual obtuvieron una

degradación del 88% en una concentración inicial de 5000 mg/kg-1. Es decir que los hongos pueden degradar a altas concentraciones de hidrocarburos obteniendo una mayor degradación en comparación con las bacterias. Esto se demuestra en un estudio realizado por Muñoz (2016) en donde a una concentración de 42.070,30 mg/kg-1 de hidrocarburos el hongo *Trichoderma sp.*, degradó el 98% los hidrocarburos, mientras que la bacteria *Pseudomonas fluorescens* obtuvo una degradación del 83%. Steliga, Jakubowicz y Kapusta (2010) trataron ex-situ suelos con un alto nivel de impurezas de petróleo de 102,417 mg/kg-1 a 132,472 mg/kg-1 TPH, inoculando los suelos con biopreparaciones basadas en hongos y bacterias nativas, lograron la disminución de TPH en un 93,8 a 94,3% en nueve meses. Sin embargo, en el trabajo realizado por Zárate (2010) logró disminuir en 2 meses un 95,2% a 96,7% los HTP en suelos no esterilizados utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus*, teniendo en cuenta que la concentración de los hidrocarburos era de 31.717,32 mg/kg-1, determinando que el hongo a elevadas concentraciones llega a ser eficiente en la degradación de hidrocarburos. En otro estudio realizado por Mendo (2014) donde utilizó a la bacteria *Ochrobactrum anthropi* para la degradación de hidrocarburos, con una concentración inicial de un valor inicial de HTP de 104.000 mg/kg-1, consiguió degradar un 68,36% en un tiempo de 3 meses. Obteniendo que el hongo *Pleurotus ostreatus* obtuvo una mayor degradación que la bacteria *Ochrobactrum anthropi*.

Por otra parte, en un estudio realizado por Anwar et al., (2017) en donde se aislaron 15 hongos de sitios contaminados con petróleo, el hongo *Aspergillus sp.* demostró la capacidad de degradar el petróleo crudo en un 99% a 1% de petróleo.

Por lo tanto, los hongos demuestran ser más eficientes que las bacterias debido a que su metabolismo es más evolucionado y les permite degradar hidrocarburos

de mayor peso molecular (Nadia, 2013). Una de las ventajas que tiene los hongos sobre las bacterias, es que gracias a las hifas que poseen los hongos les permite penetrar el suelo contaminado y producir enzimas extracelulares que les permite degradar metales pesados y compuestos xenobióticos. Además, que las bacterias no pueden degradar de manera eficiente los HAP (Leitao, 2009). Lo que demuestra que la utilización de los hongos es una excelente alternativa para biorremediar suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo.

6. Conclusiones

A pesar de su importancia económica, la actividad petrolera es una de las actividades humanas que causa grandes impactos sobre el medio ambiente. Diversos eventos de contaminación han ocasionado grandes daños en los ecosistemas. La industria del petróleo es responsable de la generación de altas cantidades de residuos orgánicos, así como de la contaminación de suelos, ríos y mares. La potencialidad de los microorganismos, señalados en la literatura como agentes de degradación de varios compuestos, señala a los tratamientos biológicos como la alternativa más prometedora para reducir el impacto ambiental causado por los derrames de petróleo.

De acuerdo a los resultados obtenidos en mi segundo los diferentes microorganismos identificados como degradadores de hidrocarburos utilizan estos compuestos como fuente de carbono y energía demostrando su efectividad para utilizarlos como alternativa para la recuperación de los suelos, sin embargo, esto solo se ha demostrado a escala de laboratorio, por lo que es importante la realización de trabajos de campos con bacterias y hongos.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo investigativo confirman que los hongos son microorganismos eficientes que pueden ser utilizados en la biorremediación de los suelos contaminados debido a que han demostrado su efectividad en tolerar concentraciones elevadas de hidrocarburos y según varios autores indican que los hongos son más eficientes que las bacterias debido a que poseen una batería enzimática más eficiente para atacar los hidrocarburos, por lo que pueden ser utilizados como alternativa para la recuperación de suelos contaminados en el cantón Joya de los Sachas, provincia de Orellana.

7. Recomendaciones

Si se lleva a cabo la biorremediación por hongos, es necesario determinar el tipo de contaminante, para poder emplear el género más eficiente, debido a que ciertas especies de hongos tienen la capacidad de tolerar concentraciones mayores como es el caso del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Para llevar a cabo una degradación eficaz se recomienda que las condiciones de temperatura, humedad, materia orgánica, sean las adecuadas para el crecimiento de los microorganismos.

Se debe tener en cuenta la cantidad de contaminante, ya que a concentraciones muy elevadas, la degradación es menos eficiente en las bacterias.

Se recomienda que se lleven a cabo la implementación de diversos consorcios microbianos entre bacterias y hongos, ya que también resultaron obtener un gran porcentaje de degradación en concentraciones altas de 53.008,40 mg/kg-1.

Por último, se recomienda la realización de trabajos experimentales *in situ*, debido a que los trabajos encontrados solamente eran a escala de laboratorio.

8. Bibliografía

- Abbasian, F., Lockington, R., Mallavarapu, M., & Naidu, R. (2015). Una revisión completa de la biodegradación de hidrocarburos alifáticos por bacterias. *Apl. Biochem. Biotechnol*, 176, 670-699.
- Aguderlo, L. (2014). Fitorremediación: la alternativa para absorber metales pesados de los biosólidos. *Lasallista*, 2(1), 47.
- Ahmad, T., & Ganjo, D. (2020). Fungal isolates and their bioremediation for pH, chloride, tph and some toxic heavy metals. *EurAsian Journal of BioSciences*, 14, 149-160.
- Ahumada, M., & Gómez, R. (2009). *Evaluación y selección de bacterias degradadoras de fenol por respirometría*. Pontifica Universidad Javeriana Facultad de Ciencias, Bogota.
- Alcaraz, F. (1991). *Nomenclatura de química orgánica*. España: Editum.
- Alhama, I. (2013). *Reciclado en suelos de lodos de refinería: nuevas aproximaciones para la biodegradación de hidrocarburos mediante el manejo de enmiendas orgánicas (Tesis de pregrado)*. Universidad de Murcia, España.
- Al-Hawash, A., Zhang, X., & Ma, F. (2019). Eliminación y biodegradación de diferentes hidrocarburos de petróleo utilizando el hongo filamentoso *Aspergillus* sp. RFC - 1. *Microbiology Open*, 8(1).
- ALMADIUS. (2017). *Suelos contaminados y micorremediación*. Obtenido de <https://www.almadius.com/es/tecnolog%C3%ADa/suelos-contaminados-y-micorremediacion>
- Al-Nasrawi, H. (2012). Biodegradation of crude oil by fungi soled from Gulf of Mexico. *Journal of Biorremediation and Biodegradation*, 3, 147.

- Amazon Frontline. (2019). *Amazon Frontline*. Obtenido de Petróleo del Amazonas: <https://www.amazonfrontlines.org/es/nuestro-trabajo/territorios/impactos/>
- Anwar, Y., Sabir, J., Mohamed, S., Al-Garni, S., Zinadah, O., & Ahmed, M. (2017). Characterization of native fungi responsible for degrading crude oil from the coastal area of Yanbu, Saudi Arabia. *Biotechnology y Biotechnological Equipmente*, 31(1), 105-111.
- April, T., Foght, J., & Currah, R. (2000). Hydrocarbon-degrading filamentous fungi isolated from flare pit soils in northern and western Canada. *Can. J. Microbiol.*, 46, 38-49.
- Arellano, P., Tansey, K., Balzter, H., & Boyd, D. (2015). Detectando los efectos de la contaminación por hidrocarburos en la selva amazónica utilizando imágenes de satélite hiperespectrales. *Journal of Environmental Pollution*, 205, 225-239.
- Arévalo, A., Sotomayor, S., Moscoso, N., & Ramírez, M. (2017). Contaminación por extracción de petróleo crudo: refinamiento y sus efectos en la salud humana. *Journal of Environmental Pollution*(231), 415-425.
- Arguelles, R. (2010). *Biorremediación*. México.
- Arias, A., Rivera, M., & Trujillo, A. (2017). Fitotoxicidad de un suelo contaminado con petróleo fresco sobre *Phaseolus vulgaris* L. (leguminosae). *Revista Internacional Contaminación Ambiental*, 411-419.
- Arias, P., & Gómez, K. (2009). *Evaluación y selección de bacterias degradadoras de fenol por respirometría (Tesis de pregrado)*. Pontifica Universidad Javeriana, Colombia.

- ATSDR. (2015). *Resúmenes de Salud Pública - Hidrocarburos totales de petróleo [Total Petroleum Hydrocarbons (TPH)]*. Obtenido de https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs123.html
- ATSDR. (2016). *ToxFAQs™ - Hidrocarburos totales de petróleo (Total Petroleum Hydrocarbons)*. Obtenido de https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts123.html#:~:text=Los%20t%C3%A9rminos%20hidrocarburos%20totales%20de,qu%C3%ADmicos%20originados%20de%20petr%C3%B3leo%20crudo.&text=Los%20TPH%20son%20una%20mezcla,hidr%C3%B3geno%20y%20carbono%2C%20llamados%20hid
- Ayamamani, J. (2018). *Determinación de bacterias heterótrofas en suelos contaminados con hidrocarburos y su capacidad de tolerar concentraciones crecientes de petróleo in vitro (Tesis de pregrado)*. Universidad Nacional del Antiplano, Perú.
- Balaji, V., Arulazhagan, P., & Ebenezer, P. (2014). Biorremediación enzimática de hidrocarburos poliaromáticos mediante consorcios de hongos enriquecidos con suelos y semillas oleaginosas contaminados con petróleo. *Environ Biol*, 35(3), 521-529.
- Ballesta, R. (2017). *Introducción a la contaminación de suelos*. España: Mundi - Prensa.
- Barnes, N., Vishwas, K., Lotlikar, N., Meena, R., & Damare, S. (2017). Potencial de biorremediación de hongos que utilizan hidrocarburos de determinados nichos marinos de la India. *3 Biotech*, 8(1).
- Bautista, S. (2016). *Caracterización metagenómica de sedimentos marinos para la identificación de bacterias con capacidad para degradar hidrocarburos*

- totales del petróleo (HTP) (Tesis de maestría)*. Centro de Investigación científica de Yucatán, A.C, Yucatán.
- Benavides, J. (2014). *Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo*. Colombia: Nova.
- Benedek, T., Máthe, I., Salamon, R., Rákos, S., Páztohy, Z., Márialigeti, K., & Lány, S. (2012). Potential bacterial soil inoculant made up by *Rhodococcus* sp. and *Pseudomonas* sp. for remediation in situ of hydrocarbon – and heavy metal polluted soils. *Chemia*, 57(3), 199-211.
- Biomar. (2019). *Micorremediación*. Obtenido de <https://biomarmt.com/micorremediacion-pueden-los-hongos-ayudar-a-salvar-el-mundo/>
- Borgna, A., Cosimo, J., & Fígoli, N. (2001). *Petróleo y gas natural*. Argentina: Centro de Publicaciones, UNL.
- Bracho, M., Díaz, L., & Soto, L. (2004). Degradación de hidrocarburos aromáticos por bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo en el estado Zulia, Venezuela. *Revisión Luz*, 38(3), 1-9.
- Briceño, J. (2018). *Identificación molecular de cepas hidrocarbonoclastas nativas de suelos en sitios contaminados por petróleo crudo en Tabasco y Veracruz*. México.
- Brown, L., Gunasekera, T., Striebich, R., & Ruiz, O. (2016). Borrador de la secuencia del genoma de la cepa 9 de *Gordonia sihwensis*, una bacteria ramificada que degrada los alcanos. *Anuncio del genoma*.
- Bureau Veritas. (2008). *Manual para la formación en medio ambiente*. Lex Nova.
- Burgos, M. (2016). *Implementación de los procesos de rehabilitación de áreas y remediación de suelos contaminados con hidrocarburos-PetroEcuador (Trabajo de Titulación)*. Sangolqui - Ecuador.

- Calderón, A. (2011). *Frecuencia absoluta, relativa, acumulada y tablas*. Obtenido de <https://www.sangakoo.com/es/temas/frecuencia-absoluta-relativa-acumulada-y-tablas-estadisticas>
- Calderón, M. (2011). *Determinación de la mejor etapa de aplicación de la fertilización nitrogenada en el sustrato caña de maíz (zea mays l.) para la producción del hongo Pleurotus ostreatus (Tesis de pregrado)*. Universidad San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- CAMIPER. (2019). *Minería*. Obtenido de <https://camiper.com/tiempominero/biolixiviacion-metodo-obtener-mayor-cantidad-metal/>
- Campilla, C. (2006). *Determinación de hidrocarburos totales de petróleo en choritos Mytilus chilensis de la bahía de corral y sitios aledaños (Tesis de pregrado)*. Universidad Austral de Chile, Chile.
- Campos, Y., Moreira, R., Silva, J., & Guilarte, E. (2006). Bacterias del género Bacillus degradadoras de n-hexadecano aisladas del sedimento marino: Parámetros cinéticos. *Revista Investigación Marina*, 27(3), 183-189.
- Cárdenas, C. (2019). *Evaluación del potencial de biorremediación de tres tipos de bacterias en suelos contaminados con hidrocarburos (Tesis de pregrado)*. Universidad UTE, Quito.
- Carrara, X., & Arena, M. (2017). Bacterias y hongos con potencial biodegradador de hidrocarburos en diversos ambientes. *Microbiología ambiental en México*, 246-263.
- Carrasco, D. (2007). *Aislamiento e identificación de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos, comprobando su actividad enzimática (Tesis de pregrado)*. Universidad San Francisco de Quito, Quito.

- Carrión, C. (2017). *Evaluación del efecto de las nanopartículas metálicas de hierro elemental (NPHE) sobre la población bacteriana de suelos contaminados con THPs (fenantreno) a nivel laboratorio (Tesis de pregrado)*. Universidad de las Fuerzas Armadas, Sangolquí.
- Castillo, F., Dolores, M., Blasco, R., Caballero, F., & Moreno, C. (2005). *Biotecnología ambiental*. Madrid: TÉBAR, S.L.
- Castro, M. (2016). Potencial de cepas de *Trichoderma* spp. para la biorremediación de suelos contaminados con petróleo. *Biotecnología Vegetal*, 16(4), 251-256.
- Catacora, L. (2019). *Micorremediación de suelos contamiandos con aceite sucio de motor y su efecto sobre el crecimiento de *Chenopodium quinoa wild* (Tesis de pregrado)*. Bolivia.
- Cavazos, A., Pérez, B., & Gutiérrez, A. (2014). Afectaciones y consecuencias de los derrames de hidrocarburos en suelos agrícolas de Acatzingo, Puebla, México. *Agricultura, sociedad, desarrollo*, 11(4), 539-550.
- Cerna, A. (2018). *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos usando el hongo *Penicillium janthinellum* en los servicios generales de la UNALM - La Molina (Tesis de pregrado)*. Universidad César Vallejo, Perú.
- Chaillan, F., Le Fléche, A., Bury, E., Phantavong, Y.-H., Grimont, P., Saliot, A., & Oudot, J. (2004). Identification and biodegradation potencial of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms. *Res Microbiol*, 155(7), 587-595.
- Ciro, C., & Estupiñan, L. (2018). Evaluación in vitro de la capacidad biorremediadora de hongos filamentosos sobre petróleo crudo. *NOVA*, 16(30), 37-58.

- CODELCO. (2017). *Sustentabilidad*. Obtenido de https://www.codelco.com/biolixivacion/prontus_codelco/2011-02-18/091203.html
- Coelho, E., Reis, T., Cotrim, M., Rizzutto, M., & Correa, B. (2020). *Biotechnology Progress. Bioremediation of water contaminated with uranium using Penicillium piscarium*, 1-30.
- CONICYT. (2014). *Biolixiviación*. Obtenido de <https://www.conicyt.cl/blog/2014/09/05/codelco-presenta-nueva-tecnologia-de-biolixivacion-desarrollada-por-biosigma-con-el-apoyo-del-cmm/>
- Contreras, D. (2014). *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos*. Universidad del Bío-Bío, Chile.
- Contreras, H., & Carreño, C. (2018). Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado. *Revista de Investigación Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(1), 27-33.
- Cornejo, M. (2014). Importancia de los hidrocarburos. *Con-Ciencia Boletín Científico De La Escuela Preparatoria*, 1(2).
- Cortés, E., & Villamizar, G. (2000). *Apuntes sobre energía y recursos energéticos*. Colombia.
- Covarrubias, S., José, G., & Peña, J. (2015). El papel de los microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados por metales pesados. *Acta Universitaria - Multidisciplinary Scientific Journal*, 25(3), 40-45.
- Defensoría del pueblo. (2018). *Código Orgánico Integral Penal*. Obtenido de www.defensa.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2018/03/COIP_feb2018.pdf

- Delira, R., Alarcón, A., Cerrato, R., & Cabriales, J. (2009). El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Revista Internacional de contaminación ambiental*, 25(4), 257-269.
- Díaz, J. (2019). *Biorremediación de suelos contaminados por petróleo (Tesis de pregrado)*. Universidad Técnica Federico Santa María, Chile.
- Díaz, S., Tapias, D., Roldan, F., Brandão, P., & Manrique, E. (2017). Biodegradación de fenol en aguas tratadas de la industria petrolera para re- uso en cultivos agrícolas. *Biología Tropical*, 65(2), 685-699.
- Eadic. (2016). *Hidrocarburos saturados*. Obtenido de <https://www.eadic.com/hidrocarburos-saturados/>
- El Comercio. (2017). *Áreas remediadas en la Amazonía alcanzan el millón de metros cúbicos*. Obtenido de <https://www.elcomercio.com/actualidad/remediacion-amazonia-contaminacion-explotacion-petroleo.html>
- El Salto Extremadura. (2020). *¿El fin de los mecheros de la muerte en Ecuador?* Obtenido de <https://www.elsaltodiario.com/ecuador/el-fin-de-los-mecheros-de-la-muerte-en-ecuador>
- El Telégrafo. (2019). *Refinería de Esmeraldas reanuda producción de diésel tras mantenimiento*. Obtenido de <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/economia/4/refineria-esmeraldas-reanuda>
- El Universo. (2020). *Nueve niñas denuncian al Estado por mecheros contaminantes en Orellana y Sucumbíos*. Obtenido de <https://www.eluniverso.com/noticias/2020/02/20/nota/7748742/nueve-ninas-denuncian-estado-mecheros-contaminantes-orellana>

- Él, S., Ni, Y., Lu, L., Chai, Q., Yu, T., Shen, Z., & Yang, C. (2020). Degradación simultánea de n-hexano y producción de biosurfactantes por *Pseudomonas* sp. cepa NEE2 aislada de suelos contaminados con aceite. *Quimiosfera*.
- Escalante, R. (2013). *Biodegradación de crudo de petróleo en Terrarios (Tesis de pregrado)*. UNMSM, Perú.
- Eskandari, S., Hoodaji, M., Tahmourespour, A., Abdollahi, A., & Mohammadian, B. (2017). Biorremediación de hidrocarburos aromáticos policíclicos por *Bacillus licheniformis* ATHE9 y *Bacillus* ATHE 13 como nuevas cepas aisladas de suelo contaminado con aceite. *Journal of Geography, Environment and Earth Science International*, 11(2), 1-11.
- Feijoo, S. (1 de 8 de 2019). Contaminación del suelo por hidrocarburos. (M. Torres, Entrevistador)
- Flores, M., Torras, S., & Téllez, R. (2004). Medidas de mitigación para uso de suelos contaminados por derrames de hidrocarburos en infraestructura de transporte terrestre Obtenido de: <https://www.imt.mx/archivos/Publicaciones/PublicacionTecnica/pt257.pdf>
- Flórez, S., Gómez, M., & Martínez, M. (2008). Selección de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos aisladas a partir de sedimentos del caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR*, 37(1), 61-75.
- Fu, G.-M., Chen, Y., Li, R.-Y., Yuan, X.-Q., Liu, C.-M., Li, B., & Wan, Y. (2017). Pathway and rate-limiting step of glyphosate degradation by *Aspergillus oryzae* A-F02. *Prep Biochem Biotechnol*, 47(8), 782-788.

- GADMFO. (2019). *Plan de desarrollo y ordenamiento territorial municipal de Francisco de Orellana*. Obtenido de <https://www.orellana.gob.ec/docs/PDyOT%20GADMFO%202014-2019.pdf>
- GADPO. (2015). *Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de la provincia de Orellana 2015-2019*. Obtenido de https://www.gporellana.gob.ec/wp-content/uploads/2015/11/PDYOT-2015-2019_ORELLANA_ACTUALIZADO.pdf
- García, R. (2016). *Remediación socio ambiental y su incidencia en suelos contaminados con hidrocarburos en el campo sachá en el año 2015 (Tesis de pregrado)*. Universidad Tecnológica Indoamérica, Ambato.
- Gavilanes, V., & Paredes, A. (2009). *Biorremediación del suelo contaminado con hidrocarburos por derrame de la línea de flujo del pozo sachá-161 mediante biopilas (Tesis de pregrado)*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba.
- Gavilanez, T. (2014). *Determinación de la biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para uso potencial en biorremediación (Tesis de pregrado)*. Ambato.
- Geiselbrecht, A., Herwig, R., Deming, J., & Staley, J. (1996). Enumeration and phylogenetic analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading marine bacteria from Puget Sound sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(9), 3344-3349.
- González, H. (2017). *Calidad y Gestión - Consultoría para empresas*. Obtenido de <https://calidadgestion.wordpress.com/tag/aspectos-e-impactos-ambientales-significativos/>
- Guevara, A., De la Torre, E., Villegas, A., & Criollo, E. (2009). Uso de la rizofiltración para el tratamiento de efluentes líquidos de cianuración que contienen

- cromo, cobre y cadmio. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, 871-878.
- Guzmán, G., Cerrato, R., Rivera, M., Torres, L., & Garibay, I. (2017). Degradación de diesel por bacterias emulsionantes aisladas de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo degradados. *Ecología aplicada del suelo*, 121, 127-134.
- Guzmán, M. (2007). *La contaminación de suelos y aguas: su prevención con nuevas sustancias naturales*. Sevilla.
- Guzmán, V., Ceruti, R., Marino, F., & Simonetta, A. (2016). *Ensayos de biodegradación de mezclas comerciales de diésel y biodiésel empleando bacterias degradadoras aisladas de suelos contaminados con hidrocarburos de la región Santa Fe (Tesis de pregrado)*. Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC), Argentina.
- Hasan, I., Mhail, N., & Ali, S. (2016). Evaluation the quality of the oil waste to AlNasiriya refinery and possibility of treatment by some filamentous fungi. *Advances in Environmental Biology*, 10(4), 34-43.
- Hernández, J., Laporte, P., & Vispo, J. (1987). *Guía práctica de formulación (Química Orgánica)*. Madrid: Ministro de educación y ciencia.
- Hidroar. (2015). *Metodología para el cálculo de las matrices ambientales*.
Obtenido de <http://www.chubut.gov.ar/portal/wp-organismos/ambiente/wp-content/uploads/sites/8/2015/01/Metodología-para-el-Calculo-de-las-Matrices-Ambientales.pdf>
- Huang, L., Zhao, T., He, Y., Yilin, L., Liu, C., Jin, D., & Jia, X. (2017). Biorremediación de un campo contaminado con petróleo por dos cepas de

- Pseudomonas aeruginosa*. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, 33(6), 957-967.
- IDIGER. (2015). *Guía Técnica para la Identificación de Aspectos e Impactos Ambientales*. Obtenido de <https://www.idiger.gov.co/documents/20182/297947/PLE-GU-01+Guia+Para+la+Identificacion+de+Aspectos+e+Impactos+Amb+V3.pdf/db462a5d-9133-4248-aa1d-422b2d9a105c>
- INREDH. (2016). *Apuntes sobre la explotación petrolera en el Ecuador*. Obtenido de <https://inredh.org/index.php/archivo/boletines-ambientales/153-apuntes-sobre-la-explotacion-petrolera-en-el-ecuador>
- Ismail, S., & Dadrasnia, A. (2015). Potencial biotecnológico de *Bacillus salmalaya* 139SI: una nueva cepa para remediar el agua contaminada con desechos de petróleo crudo. *PlosOne*, 10(4).
- ITOPF. (2011). *Efectos de la contaminación por hidrocarburos en el sector de la pesca y acuicultura*. Obtenido de https://www.itopf.org/uploads/translated/Final_TIP_11_2011_SP.pdf
- Izquierdo, A. (2014). *Biodegradación de HAPs durante la biorremediación aeróbica de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo. Análisis de poblaciones bacterianas y genes funcionales (Tesis de doctorado)*. Universitat de Barcelona, España.
- Jacques, R., Okeke, B., Bento, F., Teixeira, A., Peralba, M., & Camargo, F. (2008). Microbial consortium bioaugmentation of a polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil. *Bioresource Technology*, 99(7), 2637-2664.
- Jahromi, H., Fazaelpoor, M., Ayatollahi, S., & Niazi, A. (2014). Biodegradación de asfaltenos en condiciones de agitación y estáticas. *Fuel*, 117, 230-235.

- Jain, R., Dreisbach, J., & Spain, J. (1994). Biodegradation of p-nitrofenol via 1,2,4-benzenetriol by an *Arthrobacter* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(8), 3030-3032.
- Jain, R., Kapur, M., Labana, S., Lal, B., Sarma, P., Bhattacharya, D., & Thakur, I. (2005). Microbial diversity: Application of microorganisms for the biodegradation of xenobiotics. *Current Science*, 89(1), 101-112.
- Jiménez, B. (2002). *La contaminación ambiental en México*. México: LIMUSA.
- Juhasz, A., & Naidu, R. (2000). Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo(a)pyrene. *International Biodeterioration y Biodegradation*, 45(1-2), 57-58.
- Khan, S., Gupta, S., & Gupta, N. (2018). Desaromatización de gasoil con *Pseudomonas* sp. *Biotechnol Lett.*, 40, 9-10.
- Kumar, S., Upadhyay, S., Kumari, B., Tiwari, S., Singh, S., & Singh, P. (2011). In vitro degradation of fluoranthene by bacteria isolated from petroleum sludge. *Bioresource technology*, 102(4), 3709-3715.
- Leitao, A. (2009). Potencial of *Penicillium* Species in the Bioremediation Field. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6(4), 1393-1417.
- Lemos, J., Rizzo, A., Millioli, V., Soriano, A., Sarquis, M., & Santos, R. (2015). *Petroleum degradation by filamentous fungi*. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Andrea_Rizzo2/publication/242238362_PETROLEUM_DEGRADATION_BY_FILAMENTOUS_FUNGI/links/55eec0c808ae0af8ee1a30b6.pdf

- Lemos, J., Rizzo, C., Millioli, V., Soriano, U., & Sarquis, M. (2002). Petroleum degradation by filamentous fungi. *9th Annual International Petroleum Conference*. Mexico: Novo.
- Linstromberg, W. (1977). *Curso breve de química orgánica*. España: Reverté.
- Liporace, F., Molina, D., Santiago, N., & Quevedo, C. (2019). Aislamiento de microorganismos a partir de áreas crónicamente contaminadas con hidrocarburos cercanas a zonas urbanizadas, para la aplicación de estrategias de biorremediación. *Brazilian Journal of Development*, 5(6), 4660-4674.
- Luna, J., Fitz, P., Leal, E., Quiroz, M., Guevara, S., Godinez, M., . . . Ramírez, Y. (2018). Biotransformación de benzo(a)pireno por la bacteria termófila *Bacillus licheniformis* M2-7. *Mundo J Microbiol Biotechnol*, 34(7), 34-88.
- Ma, Y.-L., Lu, W., Wan, L.-L., & Luo, N. (2015). Elucidación de las características de degradación del fluoranteno en un *Achromobacter xylooxidans* DNoo2 recién aislado. *Appl Biochem Biotechnol*(3), 1294-1305.
- MAE. (2012). *Acuerdo Ministerial 142*. Obtenido de <http://www.quitoambiente.gob.ec/ambiente/index.php/biblioteca-digital/category/15-marco-normativo?download=321:acuerdo-ministerial-n-142>
- MAE. (2015). *Acuerdo Ministerial 028*. Obtenido de https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-09/Documento_Registro-Oficial-No-387-04-noviembre-2015_0.pdf
- MAE. (2017). *Código orgánico ambiental*. Obtenido de https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2018/01/CODIGO_ORGANICO_AMBIENTE.pdf

- MAE. (2020). *Guía metodológica de peritaje ambiental*. Obtenido de <http://pras.ambiente.gob.ec/documents/228536/7411726/Guía+Metodológica+de+Peritaje+Ambiental%2C%20segunda+edición.pdf/6eb4da75-ca52-4249-9d52-8b331f5cb3d4>
- Maposita, M., Calle, W., Fiallos, C., & Burgos, F. (2011). *Caracterización microbiológica en suelos contaminados por hidrocarburos de tipo pseudomonas en el sector río bonanza, provincia de pastaza (Tesis de pregrado)*. Universidad ESPOL, Pastaza.
- Marín, F. (2018). *Biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo por hongos endófitos de la Amazonia Ecuatoriana (Tesis de pregrado)*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.
- Martínez, J., Hernández, M., Ojeda, M., & García, M. (2011). Condiciones ambientales y de nutrientes óptimos para el desarrollo del microorganismo hidrocarbonoclasta *Penicillium* sp. in vitro. *Akadémeia*, 9, 97-112.
- Medina, J., García, F., & Paricaguán, B. (2014). Biodegradación de petróleo por microorganismo autóctonos en suelos contaminados proveniente de la bahía de Amuay del Estado Falcón. *Revista Ingeniería UC*, 21(1), 62-69.
- Medina, M. (2017). *Aislamiento y caracterización de cepas bacterianas degradadoras de petróleo obtenidas de suelos contaminados de la plataforma de tratamiento "El Salado" (Provincia del Napo) (Tesis de pregrado)*. Napo.
- Mendo, W. (2014). *Alternativa de biorremediación con bacterias autóctonas de sedimento contaminado de la Laguna de Tamiahua, Veracruz, México (Tesis de pregrado)*. Universidad Veracruzana, México.

- Ministerio de relaciones externas y movilidad humana. (2015). *El caso Chevron / Texaco en Ecuador. Una lucha por la justicia ambiental y social*. Obtenido de <https://www.cancilleria.gob.ec/wp-content/uploads/2015/06/Expediente-Caso-Chevron-abril-2015.pdf>
- Mnif, S., Sayadi, S., & Chamkha, M. (2014). Potencial biodegradativo y caracterización de una nueva bacteria aromática degradante aislada de un campo petrolífero geotérmico en condiciones salinas y termofílicas. *Biodeterior. Biodegrad.*(86), 258-264.
- Mohamed, A., Yousef, N., & Farag, G. (2012). Isolation and molecular identification of polyaromatic hydrocarbons-utilizing bacteria from crude petroleum oil samples. *African Journal of Microbiology Research*, 6(49), 7479-7484.
- Mollea, C., Bosco, F., & Ruggeri, B. (2005). Fungal biodegradation of naphthalene: microcosms studies. *Chemosphere*, 60(5), 636-643.
- Muñoz, S. (2016). *Evaluación de la eficacia de Trichoderma sp y Pseudonoma sp para biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos (Tesis de pregrado)*. Universidad Politécnica Salesiana, Quito.
- Nadia, L. (2013). *Hongos para degradar hidrocarburos*. Obtenido de TSS: <http://www.unsam.edu.ar/tss/hongos-contra-la-contaminacion/>
- Naranjo, D. (2017). *Aislamiento e identificación de microorganismos con capacidad de degradar hidrocarburos en suelos contaminados de la comunidad Lumbaqui, provincia de Sucumbíos*. Universidad de Las Américas, Sucumbíos.
- Naranjo, L., Urbina, H., De Sisto, A., & Leon, V. (2007). Aislamiento de hongos autóctonos de pudrición no blanca con potencial de mejora enzimática del

- crudo extrapesado venezolano. *Biotransformación biocatal*, 25(2-4), 341-349.
- Navarro, A. (2015). *Matrices causa-efecto*. Obtenido de https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/49250906/matrizdeleopold.pdf?1475273525=&response-content-disposition=attachment%3B+filename%3DMatrices_causa_efecto_La_Matriz_de_Leopo.pdf&Expires=1597197495&Signature=JVvKXcBuGGZRGFW~VXxScSBUIMJDKW1v9OFi7w-ORaoaxLys
- Núñez, R., Campos, Y., Guilarte, E., Gondres, R., Trista, C., & Martínez, J. (2004). Cinética de degradación del naftaleno por células inmovilizadas húmedas de *Bacillus alcalophilus* cepa IDO-225. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 35(2), 77-82.
- Ñúñez, D., Cuervo, D., & Cubillos, J. (2014). Bioremediation for degradation of total hydrocarbons present in the sediments of a fuel service station. *Revista Técnica de la Facultad de ingeniería Universidad del Zulia*, 37(1), 20-28.
- Obispo, P., & Ramos, C. (2019). *Biorremediación mediante el uso de Auricularia sp. en suelos agrícola contaminado por petróleo analizando la fracción 2 y 3 de hidrocarburo desarrollado en la universidad nacional del callao (Tesis de pregrado)*. Universidad Nacional del Callao.
- OEA. (2008). *Constitución de la República del Ecuador*. Obtenido de https://www.oas.org/juridico/pdfs/mesicic4_ecu_const.pdf
- Olufunmilayo, W., & Owhonka, A. (2019). Biodegradation Potentials of *Aspergillus sydowii* and *Fusarium lichenicola* on Total Petroleum Hydrocarbon in an Oilfield Wastewater in Rivers State. *Journal of Advances in Microbiology*, 19(3), 1-7.

- Ortiz, M. (2016). *Metodología conesa para la evaluación de impactos ambientales*.
Obtenido de https://www.academia.edu/4728000/METODOLOG%C3%80DA_CONESA_PARA_LA_EVALUCI%C3%93N_DE_IMPACTOS_AMBIENTALES?auto=download
- Oudot, J., Dupont, J., Haloui, S., & Roquebert, M. (1993). Biodegradation potencial of hydrocarbon-degrading fungi in tropical soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 25, 1167-1173.
- Pardo, J., Perdomo, M., & Benavides, J. (2004). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. *NOVA*, 2(2), 40-49.
- Parra, R. (2014). *Biorremediación de hidrocarburos aromáticos policíclicos HAPs en microcosmos de suelo a campo abierto (Tesis de pregrado)*. Universidad Politecnica Salesiana Sede Cuenca, Cuenca.
- Pérez, J., Viguera, E., Gómez, O., & Calva, G. (2015). Degradación microbiana con BFNA de hidrocarburos aromáticos por bioaumentación en biopilas. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 46, 416-423.
- Pérez, R., Camacho, M., Gómez, J., Viñas, M., & Moreno, D. (2008). Aislamiento y selección de una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con petróleo. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 39(1), 44-51.
- Pesántez, M., & Castro, R. (2016). Potencial de cepas de *Trichoderma* spp. para la biorremediación de suelos contaminados con petróleo. *Bioteología Vegetal*, 16(4), 251-256.

- Pineda, J. (2017). *Efecto Cocuyo - Periodismo que ilumina*. Obtenido de Los accidentes ambientales de Pdvsa: <https://efectococuyo.com/la-humanidad/mas-de-30-mil-derrames-ha-registrado-pdvsa-en-solo-cuatro-anos/>
- Pinto, D., & Sánchez, V. (2018). *Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante la utilización de diferentes cepas bacterianas a escala de laboratorio (Tesis de pregrado)*. Universidad Libre, Colombia.
- Pozo, M. (2018). *Evaluación de la biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos utilizando Pseudomonas fluorescens (Tesis de pregrado)*. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, Quito.
- PROVEA. (16 de Julio de 2018). *En seis años PDVSA derramó 856.722,85 barriles de petróleo al medio ambiente*. Obtenido de PROVEA: <https://www.derechos.org.ve/actualidad/en-seis-anos-pdvsa-derramo-856-72285-barriles-de-petroleo-al-medio-ambiente>
- Purisaca, D., & Quevedo, H. (2015). *Eficiencia de la biorremediación de suelos contaminados con petróleo por Actinobacterias nativas de la provincia de Talara, región Piura (Tesis de pregrado)*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Perú.
- Quinchía, A., Irwin, S., & Uribe, A. (2007). Diseño de una metodología de selección de sitios para monorrelenos de lodos papeleros. *Revista EIA*(7), 127-136.
- Quiroga, D., & Becerra, S. (2017). *Cultura de riesgo: Impacto social de la actividad petrolera en comunidades shuar y kichwa de la parroquia de Dayuma, Francisco de Orellana (Tesis de posgrado)*. Universidad San Francisco de Quito, Quito.
- Rabodonirina, S., Rasolomampianina, R., Krier, F., Drider, D., Merhaby, D., Net, S., & Ouddane, B. (2019). Degradación de fluoreno y fenantreno en suelos

contaminados con HAP utilizando cepas de *Pseudomonas* y *Bacillus* aisladas de sitios de derrames de petróleo. *J Environ Manage*, 1-7.

Ramírez, G. (2017). *Biodegradación de residuos industriales mediante la bacteria Bacillus licheniformis*. Universidad Politecnica Salesiana Sede Cuenca, Cuenca.

Ramírez, M. (2014). *Microorganismos degradadores de hidrocarburos del petróleo aislados de la rizósfera de manglar del estado de Campeche y su potencial en la biorremediación (Tesis de doctorado)*. Colegio de Postgraduados, México.

RAOHE. (2012). *Lexis*. Obtenido de Reglamento Ambiental de Actividades Hidrocarburíferas: <https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/09/RAOHE-DECRETO-EJECUTIVO-1215.pdf>

RAOHE. (2020). *Lexis*. Obtenido de Reglamento Ambiental de Operaciones Hidrocarburíferas: <https://www.petroamazonas.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2020/05/Reglamento-Ambiental-de-Operaciones-Hidrocarburíferas-Abr-2020.pdf>

Repsol. (2002). *El petróleo, el recorrido de la energía*. Obtenido de http://www.leganes.org/portal/RecursosWeb/DOCUMENTOS/1/0_36828_1.pdf

Reyes, M., Cala, E., Montes, E., Deluque, F., Álvarez, J., & Villamizar, G. (2018). Immobilization of potentially crude oil degrading bacteria in synthetic and natural organica matrices. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 34(4), 597-609.

- Rodriguez, L. (2008). *Evaluación de dos sustratos en la técnica de landfarming para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos (Tesis de pregrado)*. Escuela Superior Politecnica del Chimborazo, Riobamba.
- Rodríguez, N., McLaughlin, M., & Pennock, D. (2019). *La contaminación del suelo una realidad oculta*. Roma: FAO.
- Rodríguez, P., & Arenas, R. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, 16(2), 166-167.
- Rosa, D., Velasco, J., & Volke, T. (2005). *Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación*. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Ruiz, Álvarez, & Ríos. (2016). *Biorremediación de Organofosforados por Hongos y Bacterias en Suelos Agrícolas*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v18n1/v18n1a09.pdf>
- Saadon, I. (2015). Bioremediation of Petroleum Contamination. *Science Publishers.*, 86.
- Sánchez, C. (2015). *El impacto de Chevron en la Amazonía ecuatoriana*. Obtenido de Crónica popular: <https://www.cronicapopular.es/2015/03/el-impacto-de-chevron-en-la-amazonia-ecuatoriana/>
- Sánchez, K., Alarcón, A., Cerrato, R., Diaz, C., Escudero, J., Cruz, J., & Castillo, M. d. (2015). Tolerancia de hongos filamentosos a endosulfán, clorpirifós y clorotalonil en condiciones in vitro. *Revista Internacional Contaminación Ambiental*, 31(1), 23-37.
- San-Martín, Y., Acosta, S., Sánchez, A., Toledo, A., González, F., & García, R. (2012). Estudio y selección de bacterias aerobias degradadoras de

- hidrocarburos del petróleo aisladas de costas de Cuba. *Biotecnología Aplicada*, 29(2), 74-79.
- Segura, B., Mogollón, A., Zapata, A., Vieyra, E., Moran, P., & Madrid, J. (2016). Eficiencia de cepas bacterianas aisladas del manglar para biorremediar suelos contaminados con petróleo. *Revista Química Viva*(1), 20-30.
- Shafy, A., & Mansour, M. (2015). A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egypt. J. Pet*, 23-25.
- Shetty, K., Zheng, Z., & Levin, R. (1999). *Penicillium strain for bioremediation*.
Obtenido de <https://patentimages.storage.googleapis.com/71/78/8e/5e9cdcfe212f6f/US5877014.pdf>
- Silva, J., & Ortiz, D. (2019). *Efectos ambientales de los hidrocarburos*. Colombia.
- Simbaña, C. (2016). *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de la parroquia Taracoa en Francisco de Orellana mediante el hongo Pleurotus Ostreatus (Tesis de pregrado)*. Riobamba.
- Smith, L. (2006). *Química Orgánica*. Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia (EUNED).
- Solá, A., Menéndez, J., Rivas, P., Iglesias, S., & Borrás, A. (2018). Revisión de la literatura sobre efectos nocivos de la exposición laboral a hidrocarburos en trabajadores en ambiente externo. *Medicina y Seguridad del trabajo*, 64(252), 271-294.
- Steliga, T., Jakubowicz, P., & Kapusta, P. (2010). Optimisation research of petroleum hydrocarbon biodegradation in weathered drilling wastes from waste pits. *Waste Management Research*(28), 1065-1075.

- Suazo, C. (2017). *Evaluación de la capacidad degradadora de hidrocarburos (HC) de petróleo de hongos y bacterias aislados del borde costero de la región del Bío-Bío (Tesis de pregrado)*. Universidad del Bío-Bío, Chile.
- Sun, R., Jin, J., Sun, G., Liu, Y., & Liu, Z. (2010). Screening and degrading characteristics and community structure of a high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterial consortium from contaminated soil. *Journal of Environmental Sciences - China*, 22(10), 1576-1585.
- Tansey, K., Balzter, H., & Tellkamp, M. (2017). Impactos específicos de la familia de plantas de la contaminación del petróleo en la biodiversidad y el contenido de clorofila de las hojas en la selva amazónica de Ecuador. *Plos One*, 12(1), 1-18.
- Teijón, J., & García, A. (2018). *Química: teoría y problemas*. Madrid: Tébar Flores, S.L.
- Teleamazonas. (2019). *Teleamazonas*. Obtenido de <http://www.teleamazonas.com/2019/08/habitantes-de-orellana-piden-solucion-tras-contaminacion-por-rotura-de-tuberia/>
- Tian, H., Ma, Y. J., Li, W. Y., & Wang, J. W. (2018). Efficient degradation of triclosan by an endophytic fungus *Penicillium oxalicum* B4. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(9), 8963-8975.
- Torres, M. (2019). *Percepción social respecto a suelos contaminados por hidrocarburos en la parroquia San Carlos, perteneciente al cantón Joya de los Sachas, provincia de Orellana, Ecuador (Tesis de pregrado)*. Quito.
- Tribedi, P., & Sil, A. (2013). Degradación del polietileno de baja densidad por *Pseudomonas* sp. Biopelícula AKS2. *Environ Sci Pollut Res Int*, 20(6), 46-53.

- Valenzuela, E., Solís, L., Martínez, O., & Pinochet, D. (2006). Fungi isolated from petroleum-polluted soil. *Boletín Micológico*, 21, 35-41.
- Valenzuela, E., Solís, L., Martínez, O., & Pinochet, D. (2006). Hongos aislados desde suelos contaminados con petróleo. *Boletín Micológico*, 21, 35-41.
- Vandera, E., & Koukkou, A.-I. (2011). *Hydrocarbon-degrading Soil Bacteria: Current Research. Microbial Bioremediation of Non-metals: Current Research*. Caister Academic Press.
- Vanishree, M., Thatheyus, A., & Ramya, D. (2014). Biodegradation of Petrol Using the fungus *Penicillium* sp. *Science International*, 2(1), 26-31.
- Varela, C. (2017). *Evaluación del efecto de las nanopartículas metálicas de hierro elemental (NPHE) sobre la población bacteriana de suelos contaminados con TPHs (fenantreno) a nivel de laboratorio (Tesis de pregrado)*. Sangolquí.
- Varma, S., Lakshmi, M., Rajagopal, P., & Velan, M. (2017). Degradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) en suelos contaminados con *Bacillus pumilus* MVSV3. *Ciencia de Biocontrol*, 22(1), 17-23.
- Vásquez, A. (2005). *Golfo de México: contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*. México.
- Velasco, J., & Volke, T. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. México: SEMARNAP.
- Velazquez, J. (2017). Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia. Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(1), 151-167.
- Verdin, A, S., Durand, A., & R. (2004). Degradation of benzo(α)pyrene by mitosporic fungi and extracellular oxidative enzymes. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 53, 65-70.

- Villacís, R. (2011). *Selección, caracterización y evaluación de hongos potencialmente utilizables en biorremediación de suelos y agua contaminadas con hidrocarburos, a nivel de laboratorio, a partir de muestras de suelo de la parroquia San Carlos, cantón Joya de los Sachas*. Escuela Politécnica del Ejército, Orellana.
- Villamar, C. (2017). *Matriz de impacto ambiental*. Obtenido de <https://www.nueva-iso-14001.com/2017/05/importancia-matriz-de-impacto-ambiental/#:~:text=La%20matriz%20de%20impacto%20ambiental%20identifica%20los%20i mpactos%20del%20proyecto,para%20su%20atenci%C3%B3n%20y%20m anejo.&text=Por%20lo%20tanto%2C%20es%20el,sea%2>
- Vizuete, R., Lascano, A., & Moreno, R. (2019). Análisis econométrico en la gravedad de un derrame petrolero y su contaminación ambiental. Caso de estudio: Campo Sacha - Ecuador. *Revista Espacios*, 40(18), 24.
- Vullo, D. (2003). Microorganismos y metales pesados: Una interacción en beneficio del medio ambiente. *Revista Química Viva*, 2(3), 93-104.
- Wang, D., Lin, J., Junzhang, L., Wang, W., & Li, S. (2019). Biodegradación de hidrocarburos de petróleo por *Bacillus subtilis* BL-27, una cepa con hidrofobicidad débil. *Molecules*, 24(17).
- Wayens, C. (2004). *Estudio del potencial de degradación de los hidrocarburos por Acinetobacter sp. y Pseudomonas putida para su aplicación en la biorremediación de suelos contaminados*. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica.
- West, P., Okpokwasili, G., Brayton, P., Grimes, D., & Colwer, R. (1984). Numeric al taxonomy of phenanthrene degrading bacteria isolated from the chesapeake bay. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(1), 988-993.

- Xingjian, X., Lu, X., Wei, Z., Zheyi, Z., Qiaoyun, H., & Wenli, C. (2015). Role of *Penicillium chrysogenum* XJ-1 in the Detoxification and Bioremediation of Cadmium. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1-10.
- Yúfera, E. (1993). *Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria*. México: Reverté S.A.
- Zafra, G., Absalón, Á., & Cortés, D. (2014). Avances en el uso de microorganismos para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos. *Frontera Biotecnológica*(1), 17-25.
- Zambrano, D. (2020). *Agencia Ecologista*. Obtenido de <http://agenciaecologista.info/2020/02/04/explosion-de-un-mechero-en-subestacion-petrolera-en-la-provincia-de-orellana-afecta-a-campesinos/>
- Zárate, Á. (2010). *Biorremediación de suelos contamiandos con hidrocarburos derivados del petróleo del campamento Sacha 161 utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus* (Tesis de pregrado)*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Chimborazo.
- Zhang, J., Xue, Q.-H., Gao, H., & Ma, X. (2015). Degradación del petróleo crudo por preparaciones de enzimas fúngicas de *Aspergillus* spp. para uso potencial en recuperación mejorada de petróleo. *Revista de tecnología química y biotecnología*, 91(4).
- Zhao, R., Bao, H., & Liu, Y. (2010). Isolation and characterization of *Penicillium oxalicum* ZHJ6 for biodegradation og methamidophos. *Agric Sci China*, 9(5), 695-703.

9. Anexos

Tabla 12. Criterios de calidad del suelo

Sustancia	Unidades (Concentración en peso seco de suelo)	Valor
Parámetros Generales		
Conductividad	uS/m	200
pH		6a8
Relación de adsorción		4*
Hidrocarburos totales (TPH)	mg/kg	<150
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) cada tipo	mg/kg	0.1

MAE, 2015

Tabla 13. Criterios de remediación (valores máximos permisibles)

Parámetro	Unidades	Residencial	Comercial	Industrial	Agrícola
Hidrocarburos totales (TPH)	mg/kg	230	620	620	150
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	mg/kg	<2		<5	<1

MAE, 2015

Tabla 14. Desechos peligrosos por fuente específica

CIU	Descripción de categorías	CRITB	Código	Código
19	Suelos contaminados con hidrocarburos generados por derrames	T	C.19.13	Y18

MAE, 2012

Tabla 15. Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios

Parámetro	Expresado en	Unidad	Uso agrícola	Uso industrial	Ecosistemas sensibles
Hidrocarburos totales	TPH	mg/kg	<2500	<4000	<1000
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos	HAPs	mg/kg	<2	<5	<1
Cadmio	Cd	mg/kg	<2	<10	<1
Níquel	Ni	mg/kg	<50	<100	<40
Plomo	Pb	mg/kg	<100	<500	<80

RAOHE, 2012

FARI			ASPI							
			ACTIVIDADES HIDROCARBURIFERAS							
FACTORES AMBIENTALES	COMPONENTE AMBIENTAL	RECURSO AFECTADO	COMPONENTES AMBIENTALES	EXPLORACIÓN	PERFORACIÓN	EXTRACCIÓN	PRODUCCIÓN	ALMACENAMIENTO	TRANSPORTE	
	FACTOR ABIOTICO	AIRE								
		AGUA								
	SUELO									
FACTOR BIOTICO	FLORA									
	FAUNA									
	PAISAJE									
SOCIO-ECONÓMICO	SOCIAL									
	ECONÓMICO									

Figura 14. Matriz aspecto e impacto
IDIGER, 2015

COMPONENTE AMBIENTAL	RECURSO AFECTADO	IMPACTO AMBIENTAL	VALORIZACIÓN DE LOS IMPACTOS										Relevancia del impacto		
			EX	MO	PE	RV	SI	AC	EF	PR	MC	TOTAL			
FACTOR ABIOTICO	AIRE														
	AGUA														
	SUELO														
FACTOR BIOTICO	FLORA														
	FAUNA														
PAISAJE															
SOCIO-ECONÓMICO	SOCIAL														
	ECONÓMICO														

Figura 15. Matriz de importancia
IDIGER, 2015