



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTONOMA DE TABASCO



DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**MICORREMEDIACIÓN DE UN SUELO CONTAMINADO CON
HIDROCARBUROS MEDIANTE EL USO DE HONGOS DE LA
PODREDUMBRE BLANCA**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA:

I.A. SAMUEL GUADALUPE CAHUICH FLORES

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DRA. SILVIA CAPPELLO GARCÍA

EN CODIRECCIÓN:

DRA. SUGEY LÓPEZ MARTÍNEZ

VILLAHERMOSA, TABASCO A 6 DE JUNIO 2024



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024
**Felipe Carrillo
PUERTO**
MÉXICO

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

Villahermosa, Tab., a 08 de Mayo de 2024

ASUNTO: Autorización de Modalidad de Titulación

**C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E**

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza al **C. SAMUEL GUADALUPE CAHUICH FLORES** egresado de la Maestría en **CIENCIAS AMBIENTALES** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis de Maestría denominado: **"MICORREMEDIACIÓN DE UN SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS MEDIANTE EL USO DE HONGOS DE LA PODREDUMBRE BLANCA"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

A T E N T A M E N T E


**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

C.c.p. - Expediente Alumno de la División Académica

C.c.p.- Interesado





UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024
Felipe Carrillo
PUERTO
MÉXICO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

MAYO 08 DE 2024

C. SAMUEL GUADALUPE CAHUICH FLORES
PAS. DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS AMBIENTALES
P R E S E N T E

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales titulado: **"MICORREMEDIACIÓN DE UN SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS MEDIANTE EL USO DE HONGOS DE LA PODREDUMBRE BLANCA"**, asesorado por la Dra. Silvia Cappello García y Dra. Sugey López Martínez, sobre el cual sustentará su Examen de Grado, cuyo jurado integrado por Dr. Carlos Mario Morales Bautista, Dra. Liliana Pampillón González, Dra. Silvia Cappello García, Dra. Nancy Ramírez Álvarez y Dra. Sugey López Martínez.

Por lo cual puede proceder a concluir con los trámites finales para fijar la fecha de examen.

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE


DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

C.c.p.- Expediente del Alumno.
C.c.p.- Archivo

U.J.A.T.
DIRECCIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



REGISTRADO

CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Maestría denominado: **"MICORREMEDIACIÓN DE UN SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS MEDIANTE EL USO DE HONGOS DE LA PODREDUMBRE BLANCA"**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el día 08 de mayo del dos mil veinticuatro.

AUTORIZO



SAMUEL GUADALUPE CAHUICH FLORES



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024
Felipe Carrillo
PUERTO
REGENERADOR DEL PROLETARIADO
REVOLUCIONARIO Y DEFENSOR
DEL MARERO
GOBIERNO DE
MÉXICO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

Villahermosa, Tabasco a 03 de mayo de 2024

C. SAMUEL GUADALUPE CAHUICH FLORES

EGRESADO DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTE

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad, y por instrucciones de la Dirección de Posgrado, se implementó la revisión de los trabajos recepcionales (tesis), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad, el Reglamento General de Estudios de Posgrado, el Código Institucional de Ética para la Investigación y con los requerimientos para los posgrados en el SNP-CONAHCYT.

Por este conducto, hago de su conocimiento las observaciones y el reporte de originalidad de su documento de tesis. Con el objetivo de fortalecer y enriquecer el programa de posgrado, se realizó la revisión del documento en la plataforma iThenticate, obteniendo el reporte de originalidad, el índice de similitud y se emitieron las siguientes sugerencias y recomendaciones para dar seguimiento en el documento de tesis del proyecto de investigación: **"Microrremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos mediante el uso de hongos de la podredumbre blanca"**.

OBSERVACIONES:

1. **El índice de similitud obtenido fue de 03%**, el cual se ubica dentro del estándar de tolerancia de acuerdo a las Políticas y Lineamientos para el uso y manejo del Software Antiplagio de la UJAT. Se demuestra el nivel de originalidad del documento y de la investigación.
2. Aun que el índice de similitud obtenido indica coincidencias, éstas se refieren a frases en las secciones de antecedentes y métodos, principalmente. Lo anterior no demerita el documento de tesis, pero se recomienda revisar las oraciones identificadas con similitud y ajustarlas a una redacción propia, e incluir las citas y referencias pertinentes.
3. **Se adjunta el informe de originalidad de la tesis** obtenido a través de la herramienta Turnitin iThenticate.

KM. 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA
Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 y 6401, e-mail: direccion.dacbiol@ujat.mx



Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua y ayuda a conservar los bosques



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024
**Felipe Carrillo
PUERTO**
GOBIERNO DEL PROLETARIADO,
REVOLUCIONARIO Y DEFENSA
DEL HAYAR
COMITÉ DE
MÉXICO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

- Finalmente, se le solicita al C. Samuel Guadalupe Cahuich Flores, integrar en la versión final de tesis, este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"

DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

C.C.P. Archivo

KM. 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA
Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 y 6401, e-mail: direccion.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despijorro de agua y ayuda a conservar los bosques

Microrremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos mediante el uso de hongos de la podredumbre blanca

INFORME DE ORIGINALIDAD

3%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	www.researchgate.net Internet	187 palabras — 1%
2	www.scielo.org.mx Internet	151 palabras — < 1%
3	hdl.handle.net Internet	82 palabras — < 1%
4	colposdigital.colpos.mx:8080 Internet	66 palabras — < 1%
5	Agnieszka Grelska, Magdalena Noszczyńska. "White rot fungi can be a promising tool for removal of bisphenol A, bisphenol S, and nonylphenol from wastewater", Environmental Science and Pollution Research, 2020 Crossref	50 palabras — < 1%
6	repositorio.chapingo.edu.mx Internet	50 palabras — < 1%
7	poseidon.unalmed.edu.co Internet	48 palabras — < 1%



Dedicatoria

Quiero dedicar este espacio para agradecer a Dios, por darme la fuerza, fortaleza y sabiduría, para poder continuar. Por haberme permitido llegar hasta este punto de mi vida y haberme dado la salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor y por estar conmigo en cada paso que doy.

Para mi querida madre, por su gran esfuerzo todos estos años. Para mis sobrinos Francisco, Fernando, Freddy y Cecilia. Y mis dos hermanas, Anahí y Gabriela. Ustedes son mi motor para seguir adelante, los amo y muchas gracias.



Agradecimientos

Mi agradecimiento más especial, va dirigido a Dios, por ser el autor de mi vida y por darme el valioso privilegio de entrar en esta carrera tan maravillosa, que tanto anhelaba, que es la Maestría en Ciencias Ambientales. Por permitirme llegar hasta este día, con salud, con alegría y gozo. Por darme las herramientas para no darme por vencido y poder culminar con éxito este proyecto de investigación. Así mismo, por haberme guiado y ser mi fortaleza en los momentos más difíciles. He caído en cuenta que todo lo que pidas a Dios, se te concede, tal vez no en el momento, pero mientras uno sea constante, se obtienen resultados, y esto, es una prueba de ello, los sueños realmente se cumplen cuando te lo propones y lo deseas de corazón.

Quiero Agradecer a la Dra. Sugely López Martínez, porque ha sido una mujer, una profesora, una docente, sobre todo una gran investigadora, pero más que eso, una segunda madre, porque todo el tiempo demostró su apoyo, dedicación y amor, hacia nosotros. Es por ello que la he llegado a estimar mucho, porque se cómo ella hay muy pocas personas y estoy seguro de que la vida se lo está recompensando hoy, mañana y siempre. Solo quiero agradecer a dios, a la vida, por haberse cruzado en mi camino, y sé que estas palabras no demuestran todo lo que siento, pero estoy consciente de que usted lo entenderá.

También me gustaría demostrar mi aprecio a la Dra. Silvia Capello García, por aceptarme como su asesorado en este proyecto. Durante todo este proceso demostró ser una profesora, pero de igual forma una gran investigadora. Gracias por toda esa paciencia y dedicación por enseñarme, realmente al día de hoy la estimo mucho Dra. Silvia.

A la Dra. Nancy Ramírez Álvarez, que, a pesar de estar lejos y separarnos una gran distancia desde Tabasco hasta Ensenada, no han sido un limitativo para mantener la comunicación. De igual forma, durante todo este proceso la Dra. Nancy ha demostrado su apoyo y ser una excelente investigadora. Gracias por ser parte de este proyecto Dra. Nancy

Al Dr. Carlos Mario Morales Bautista, por otorgarme todas las herramientas necesarias para llevar con éxito esta investigación, por darme la oportunidad en estar su centro de trabajo y sobre todo por transmitirme todas sus enseñanzas y conocimientos. Fui testigo de su dedicación y amor por la investigación y durante todo este proceso jamás me sentí excluido, siempre se tomó el tiempo para enseñarme. Gracias por todo Dr. Carlos.

Al comité revisor integrado por la Dra. Liliana Pampillón González, así como el Dr. Edmundo Rosique Gil por formar parte de este acontecimiento, por apoyarme con sus conocimientos y otorgarme las herramientas y materiales para poder llevar a cabo esta investigación. Muchas Gracias.

Así como a todos mis compañeros de maestría y doctorado.

Y por último a la División Académica de Ciencias Biológicas por darme la oportunidad de ser un Juchiman y a CONAHCYT con número de apoyo 743284 por la beca otorgada.



CONTENIDO

CAPÍTULO I	16
1. INTRODUCCIÓN	17
2. ANTECEDENTES	21
3. OBJETIVOS	24
13.1 OBJETIVO GENERAL	24
13.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4. JUSTIFICACIÓN	25
5. MATERIALES Y MÉTODOS	26
15.1 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	26
15.2 OBTENCIÓN DE MUESTRAS	27
15.2.1 HONGOS	27
15.2.2 BAGAZO DE CAÑA	27
15.2.3 SUELO	28
15.2.4 PETRÓLEO CRUDO	29
15.3 PRETRATAMIENTO DE MUESTRAS	30
15.3.1 HONGOS	30
15.3.1.1 PREPARACIÓN DEL MEDIO CULTIVO PDA	30
15.3.1.2 ACTIVACIÓN DE HONGOS	30
15.3.2 BAGAZO DE CAÑA	31
15.3.3 SUELO	32
15.3.3.1 PERFIL EDAFOLÓGICO	32
15.3.3.2 SUELO MUESTREADO	32
15.3.3.3 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS	33
15.3.3.3.1 pH	33
15.3.3.3.2 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA (CE)	34
15.3.3.3.3 MATERIA ORGÁNICA (%MO)	34
15.3.3.3.4 DENSIDAD APARENTE (DA)	36
15.3.3.3.5 DENSIDAD REAL (DR)	36
15.3.3.3.6 PORCENTAJE DE POROSIDAD (%P)	37
15.3.3.3.7 CAPACIDAD DE CAMPO (%CC)	37



15.3.3.3.8	TEXTURA (%A, %L y %R)	38
15.3.4	PETROLEO CRUDO	40
15.3.4.1	GRADOS API (°API)	40
15.3.4.2	INTEMPERIZACIÓN (WHEATERING)	41
15.4	ESTUDIOS PRELIMINARES	42
15.4.1	PRIMER ESTUDIO PRELIMINAR	42
15.4.1.1	PREPARACIÓN DEL SUSTRATO	42
15.4.1.2	ESTERILIZACIÓN DEL SUELO	42
15.4.1.3	MEZCLA DE SUELO Y BAGAZO	43
15.4.1.4	CRECIMIENTO MICELIAR DE LOS HONGOS IN VITRO	43
15.4.1.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	44
15.4.2	SEGUNDO ESTUDIO PRELIMINAR	45
15.4.2.1	PREPARACIÓN DEL SUSTRATO	45
15.4.2.2	ESTERILIZACIÓN DEL SUELO	45
15.4.2.3	MEZCLA DEL PETROLEO CRUDO (HC) Y SUELO	45
15.4.2.4	MEZCLA DE SUELO CONTAMINADO Y BAGAZO DE CAÑA	46
15.4.2.5	CRECIMIENTO MICELIAR DEL HONGO IN VITRO	46
15.4.2.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46
15.5	DISEÑO EXPERIMENTAL	46
15.5.1	PREPARACIÓN DEL SUSTRATO	46
15.5.2	ESTERILIZACIÓN DEL SUELO	47
15.5.3	MEZCLA DEL PETROLEO CRUDO (HC) Y SUELO	47
15.5.4	MEZCLA DE SUELO CONTAMINADO Y BAGAZO DE CAÑA	48
15.5.5	ACTIVACIÓN DE <i>G. multipileum</i> EN MAÍZ PALOMERO	48
15.5.6	CRECIMIENTO MICELIAR DE <i>G. multipileum</i>	49
15.5.7	ANÁLISIS DE DEGRADACIÓN DE PETRÓLEO CRUDO	49
15.5.7.1	EXTRACCIÓN DE HTP POR SOXHLET	50
15.5.7.2	ANALISIS S.A.R.A. POR CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA	51
15.5.7.3	ANÁLISIS FTIR	54
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
16.1	PERFIL EDAFOLÓGICO	55
16.2	PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DEL SUELO	58
16.3	GRADOS API	61
16.4	ESTUDIO PRELIMINAR 1	64



16.5	ESTUDIO PRELIMINAR 2.....	70
16.6	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	73
16.6.1	DEGRADACIÓN DE HTP.....	73
16.6.2	CINÉTICA DE BIORREMEDIACIÓN Y TIEMPO DE VIDA MEDIA DE HTP 76	76
16.6.3	ANÁLISIS DE HUELLAS DIGITALES FTIR Y CÁLCULO DE ÍNDICE RELATIVO DE LOS GRUPOS FUNCIONALES POLARES (IRAP) A LOS HTP	79
16.6.4	ANÁLISIS S.A.R.A.....	84
16.6.5	CINÉTICA DE BIORREMEDIACIÓN Y TIEMPO DE VIDA MEDIA DE LAS FRACCIONES SARA.....	90
16.6.6	MECANISMO DE DEGRADACIÓN DE LAS FRACCIONES S.A.R.A.....	92
CAPÍTULO II		93
7.	ARTICULO CIENTÍFICO.....	94
CAPÍTULO III		119
8.	CONCLUSIÓN.....	120
9.	RECOMENDACIONES.....	121
10.	REFERENCIAS	122
11.	ANEXOS	145



INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rangos de clasificación de pH reportados en la NOM–021–RECNAT–2000.....	33
Tabla 2. Rangos de clasificación de la CE reportados en la NOM–021–RECNAT–2000.....	34
Tabla 3. Rangos de clasificación de la concentración de materia orgánica reportados en la NOM–021–RECNAT–2000.....	35
Tabla 4. Rangos de clasificación de densidad aparente reportados en la NOM–021–RECNAT–2000.....	36
Tabla 5. %P/P de bagazo de caña con respecto al suelo	42
Tabla 6. Tratamientos propuestos para la degradación de PC	47
Tabla 7. Solventes empleados para cada fracción S.A.R.A.	52
Tabla 8. Descripción del perfil edafológico	55
Tabla 9. hoja de campo para la descripción de un perfil edafológico	57
Tabla 10. Resultados obtenidos de cada parámetro fisicoquímico del suelo	58
Tabla 11. Datos para el cálculo de grados API para la obtención de la ecuación de la pendiente.....	61
Tabla 12. Datos empleados para la obtención de grados API normalizados y la obtención de la ecuación de la pendiente	62
Tabla 13. Estadística descriptiva de los grados API y Grados API normalizados	63
Tabla 14. Medias de longitud crecimiento diario acumulado micelial de <i>G. multipileum</i> y <i>P. sanguineus</i> en bagazo de caña	64
Tabla 15. Medias de crecimiento micelial parcial cada 4 días de <i>G. multipileum</i> y <i>P. sanguineus</i> en bagazo de caña.....	64
Tabla 16. Tasas de crecimiento de la especie <i>G. multipileum</i> y <i>P. sanguineus</i>	68
Tabla 17. Medias de longitud de crecimiento micelial de la especie <i>G. multipileum</i> y <i>P. sanguineus</i> a 40,000 ppm.....	70
Tabla 18. Medias de crecimiento micelial parcial cada 4 días de la especie <i>G. multipileum</i> y <i>P. sanguineus</i> a 40,000 ppm.....	70
Tabla 19. Tasas de crecimiento micelial de ambas especies al 25% (P/P) de bagazo de caña	72
Tabla 20. Estadística descriptiva de la degradación de HTP para cada tratamiento	73
Tabla 21. Constante de velocidad de biodegradación y tiempo de vida media para cada tratamiento	78
Tabla 22. Valores de FTIR de las alturas máximas para cada grupo funcional.....	79
Tabla 23. Valores de IRAP, °API y Repelencia al agua.....	81
Tabla 24. Valores de porcentaje para cada fracción	85
Tabla 25. Porcentaje de Biodegradación para cada fracción	87
Tabla 26. Constante de velocidad de biodegradación y tiempo de vida media de la forma $\ln[C]$	90
Tabla 27. Constante de velocidad de biodegradación y tiempo de vida media de la forma $\ln[C/C_0]$	91
Tabla 28. Cuadro de interpretación de la humedad del suelo por Rai et al., (2017), traducido.	145



INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama simplificado del reino Fungi	19
Figura 2. Diseño experimental.....	26
Figura 3. Cepa de <i>P. sanguineus</i>	27
Figura 4. Cepa de <i>G. multipileum</i>	27
Figura 5. Localización del ingenio azucarero Santa Rosalía.....	27
Figura 6. Localización del sitio de muestreo del suelo.....	28
Figura 7. Lugar del muestreo.....	28
Figura 8. Presencia de manto freático en el núcleo.....	28
Figura 9. Muestreo de suelo.....	28
Figura 10. Barril de petróleo crudo con agua congénita.....	29
Figura 11. Agar dextrosa y papa.....	30
Figura 12. Matraz empleado en la elaboración de agar.....	30
Figura 13. Autoclave.....	30
Figura 14. Cepa de <i>P. sangeuineus</i>	31
Figura 15. Cepa de <i>G. multipileum</i>	31
Figura 16. Secado del bagazo de caña.....	31
Figura 17. Secado del suelo.....	32
Figura 18. Molienda del suelo.....	32
Figura 19. Potenciómetro.....	33
Figura 20. Medición del pH.....	33
Figura 21. Filtrado del suelo en filtros de papel Whatman.....	34
Figura 22. Reacción de la MO del suelo con H ₂ O ₂	35
Figura 23. Término de la reacción del H ₂ O ₂	35
Figura 24. Horno de secado.....	37
Figura 25. Bouyoucos.....	38
Figura 26. Primera lectura.....	38
Figura 27. Segunda lectura.....	38
Figura 28. Empleo del triángulo de Textura.....	39
Figura 29. Triángulo de Textura con los tipos de suelo.....	39
Figura 30. Fase del PC con agua congénita mezclados.....	40
Figura 31. Fase del PC separado del agua congénita.....	40
Figura 32. PC en matraz aforado de 25 mL.....	41
Figura 33. PC enfriado a 4 °C.....	41
Figura 34. Intemperización del petróleo crudo.....	41
Figura 35. A: Bagazo de caña sin triturar; B: Bagazo de caña triturado.....	43
Figura 36. Mezcla de suelo con el bagazo de caña.....	43
Figura 37. Tubos rotulados.....	44
Figura 38. Tubos con la mezcla de suelo y bagazo.....	44
Figura 39. Tubos con crecimiento de hongo.....	44
Figura 40. Estereoscopio usado en la medición de crecimiento.....	44
Figura 41. Bagazo humedecido.....	48
Figura 42. Bagazo mezclado con suelo contaminado.....	48
Figura 43. Maíz palomero en frascos.....	48
Figura 44. Maíz palomero esterilizado.....	48
Figura 45. Maíz palomero con crecimiento del hongo.....	48
Figura 46. Tazones con la mezcla de suelo contaminado, bagazo y <i>G. multipileum</i>	49
Figura 47. Extracción de muestra contaminada para su secado.....	49
Figura 48. Equipo Soxhlet con los cartuchos.....	50
Figura 49. Extractos de HTP con diclorometano.....	50
Figura 50. Columna de sílice.....	52
Figura 51. Aplicación de solvente para cada fracción.....	52
Figura 52. Fracción de Saturados, Aromáticos y Resinas.....	53
Figura 53. Grados API.....	62
Figura 54. Grados API normalizados.....	63
Figura 55. Medias de Crecimiento micelial de <i>G. multipileum</i>	66
Figura 56. Medias de Crecimiento micelial de <i>P. sanguineus</i>	66
Figura 57. Comparación de medias entre %P/P de bagazo de caña.....	66
Figura 58. Crecimiento micelial con respecto a los días transcurridos de <i>G. multipileum</i> para los %P/P de bagazo de caña del A: 15%, B: 25% y C: 35%.....	67



Figura 59. Crecimiento micelial con respecto a los días transcurridos de <i>P. sanguineus</i> para los %P/P de bagazo de caña del A: 15%, B: 25% y C: 35%.....	68
Figura 60. Gráfico de caja y bigotes de medianas de crecimiento micelial.....	71
Figura 61. Tasa de crecimiento micelial de <i>G. multipileum</i>	72
Figura 62. Tasa de crecimiento micelial de <i>P. sanguineus</i>	72
Figura 63. Cinética de degradación de HTP para el T1, T2 y T3.....	74
Figura 64. Gráfico de caja y bigote de medianas de degradación de HTP.....	74
Figura 65. Gráficos de reacción de primer orden de la forma $\ln(C)$ para el T1, T2 y T3.....	77
Figura 66. Gráficos de reacción de primer orden de la forma $\ln(C/C_0)$ para el T1, T2 y T3.....	77
Figura 67. Relación del IRAP con respecto a los °API tomado de Morales-Bautista et al., (2016).....	81
Figura 68. Repelencia al agua por tratamientos.....	83
Figura 69. Porcentaje correspondientes a las fracciones S.A.R.A. por tratamiento y día.....	86
Figura 70. Fracciones S.A.R con sus coloraciones características.....	86
Figura 71. Porcentaje de biodegradación de saturados.....	88
Figura 72. Porcentaje de biodegradación de Aromáticos.....	88
Figura 73. Porcentaje de biodegradación de Resinas.....	88
Figura 74. Porcentaje de biodegradación de Asfáltenos.....	88
Figura 75. Reacción de primer orden de la forma $\ln(C)$ para cada fracción del tratamiento 1.....	146
Figura 76. Reacción de primer orden de la forma $\ln(C)$ para cada fracción del tratamiento 2.....	147
Figura 77. Reacción de primer orden de la forma $\ln(C)$ para cada fracción del tratamiento 3.....	148
Figura 78. Reacción de primer orden de la forma $\ln(C/C_0)$ para cada fracción del tratamiento 1.....	149
Figura 79. Reacción de primer orden de la forma $\ln(C/C_0)$ para cada fracción del tratamiento 2.....	150
Figura 80. Reacción de primer orden de la forma $\ln(C/C_0)$ para cada fracción del tratamiento 3.....	151
Figura 81. Estructura parcial de la Lignina.....	153
Figura 82. Ruta general de mineralización extracelular e intracelular de la lignina.....	154
Figura 83. Rutas metabólicas propuestas en la degradación de lignina, celulosa y hemicelulosa.....	156
Figura 84. Degradación extracelular de contaminantes orgánicos por hongos de la podredumbre blanca.....	157
Figura 85. Mecanismo de degradación de hidrocarburos propuesto por Dickson et al. (2019).....	158
Figura 86. Mecanismo de degradación de hidrocarburos aromáticos.....	159



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

CAPÍTULO I



1. INTRODUCCIÓN

Con la llegada de la Revolución Industrial, se marcó el inicio de una era de impacto ambiental sin precedentes en la historia de la humanidad (Zalasiewicz *et al.*, 2010; Uglietti *et al.*, 2015). Por ende, el mundo ha estado expuesto a las consecuencias adversas del desarrollo incontrolado de múltiples actividades humanas como la urbanización, el transporte, la industria, la agricultura, entre otros; ocasionado la introducción de agentes contaminantes al medio ambiente (Özkara & Akyil, 2018), generando impactos negativos sobre los ecosistemas y graves riesgos para la salud humana (Spiegel & Maystre, 2001).

Entre los agentes contaminantes se pueden encontrar los hidrocarburos (HC) también conocidos como combustibles fósiles (Sandoval & lizardi, 2019), son sustancias conformadas principalmente de compuestos con diferente solubilidad y volatilidad (Velásquez, 2017), y constituidas por átomos de carbono e hidrogeno que pueden producirse de manera natural (Sandoval & lizardi, 2019). Los HC son usados alrededor del mundo como generadores fundamentales de diversas formas de energía (Velásquez, 2017). Su empleo se ha constituido en un propulsor importante para el desarrollo de la humanidad (Pardo *et al.*, 2004) expandiéndose durante los últimos años y volviéndose una pieza clave, como motor de crecimiento económico en varios países del mundo (Castro *et al.*, 2014). La alta demanda de los HC, ha provocado eventos catastróficos a nivel ambiental debido a la contaminación significativa (Benavides *et al.*, 2006) a ecosistemas acuáticos y terrestres (Núñez *et al.*, 2014), producto de los derrames accidentales, siendo uno de los problemas más graves de la actualidad, sobre todo cuando son de gran escala (Plohl & Leskovsek, 2002) y es muy común en países productores (Velásquez, 2017).

Los derrames de HC en suelo y agua impactan diferente de la siguiente manera: en el suelo, dependiendo del tipo de suelo y de la cantidad de materia orgánica (MO) determinan el destino de los HC y la extensión del daño a las plantas (Yu *et al.*, 2013). Serrano *et al.*, (2013) reporta que la contaminación por HC genera efectos adversos en las plantas, causa el deterioro de la estructura del suelo, pérdida del contenido de MO, pérdida de nutrientes minerales y fertilidad, generación de lixiviados y erosión. En el caso del agua, los HC tienden a flotar debido a la diferencia de densidad que existe con respecto al agua, ocasionando que la entrada de luz y los intercambios de gases sean bloqueadas (Velásquez, 2017). Dependiendo del peso molecular de los HC algunas pueden disolverse en el agua y



degradarse, mientras que otros presentan la capacidad de depositarse en los sedimentos (Mendelssohn *et al.*, 2012).

La necesidad de eliminar (o reducir al mínimo) el contenido de hidrocarburos provenientes de la actividad humana ha llevado al desarrollo de diversas estrategias (Días, 2012), es por ello, que Sun *et al.*, (2017) menciona que los procesos biológicos son mejores para tratar efluentes o matrices contaminadas en términos de eficiencia y economía. Esta técnica se basa en el aprovechamiento de las capacidades metabólicas de ciertos organismos (plantas, hongos y bacterias) para degradar, transformar o remover los contaminantes a productos metabólicos inocuos (Volke, 2002) y esto recibe el nombre genérico de biorremediación (Jurado, 2011).

Entre esas técnicas de biorremediación surge la micorremediación, que es la biorremediación mediante el uso de hongos, dicha técnica demostró ser buena alternativa para degradar una variedad de compuestos orgánicos y convertirlos en CO₂ y H₂O, debido a las características de su sistema enzimático y su vigoroso crecimiento, que les permite el desarrollo de su micelio y colonizar diferentes sustratos, la hacen un recurso potencial para remediar sitios contaminados (Moreno *et al.*, 2004). Dentro de esta gran variedad de hongos existe un grupo conocido como ligninolíticos y son denominados como hongos de la podredumbre blanca (HPB) de la madera (Bogale, 2020). Los HPB son organismos sapotróficos (obtienen sus nutrientes de residuos orgánicos en descomposición), pertenecen al reino fungí, subreino Dikaria, filo Basidiomycota y subfilo Agaricomycotina (Fig. 1). Este subfilo se divide en 4 clases y 18 órdenes. Los HPB se pueden encontrar dentro de las ordenes Agaricales, Auriculariales, Hymenochaetales y Russulales, entre otros. Sin embargo, la mayoría de los HPB pertenecen al orden poliporales (Pointing, 2001, Grigoriev *et al.*, 2011, 2014; Martínez *et al.*, 2018).

Los HPB se caracterizan por su capacidad fisiológica para degradar eficientemente la lignina que se encuentra presente en algún sustrato como la madera, paja de trigo, entre otros (Ten & Teunissen, 2001). La lignina es un polímero complejo y heterogéneo (Hatakka, 1994). La lignina, después de la celulosa, es el mayor componente de la materia vegetal y la forma más abundante de material aromático en la biosfera. La madera y otros tejidos vasculares contienen alrededor del 20-30% de lignina (Dence & Lin, 1992). La mayor parte de ésta se encuentra dentro de las paredes celulares, entremezclada con las hemicelulosas y formando una matriz que rodea las ordenadas microfibrillas de celulosa. Este compuesto provee de rigidez a las plantas superiores ya que actúa como pegamento entre las fibras

de celulosa formando la lámina media (Kirk & Farrel, 1987). Además, protege a los carbohidratos fácilmente degradables (celulosa, hemicelulosa) de la hidrólisis enzimática microbiana (Fritsche y Hofrichter, 2000).

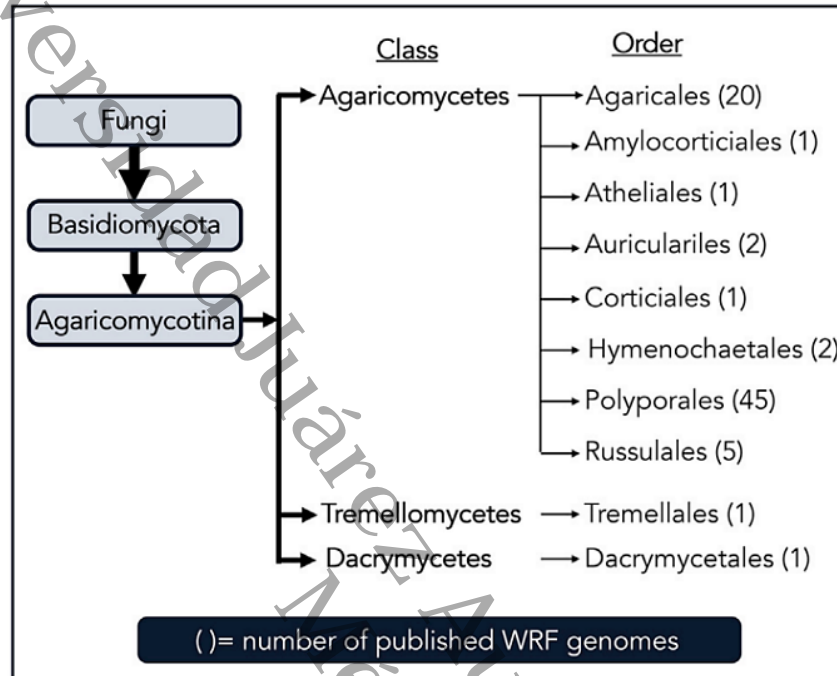


Figura 1. Diagrama simplificado del reino Fungi (Kijpornyongpan *et al.*, 2022)

La degradación de la lignina se lleva a cabo por la secreción de varias enzimas extracelulares que son esenciales para la transformación inicial de la lignina y que en conjunto logran su mineralización (Pointing, 2001). Dichas enzimas son lignina-peroxidasa (LiP), manganeso-dependiente peroxidasa (MnP) y lacasa (Lac) (Glelska & Noszczyńska, 2020; Bogale, 2020; Kathiravan & Gnanadoss, 2021). La degradación de la lignina les permite tener acceso a la celulosa y hemicelulosa, las cuales finalmente representan su fuente de carbono y energía (Ten & Teunissen, 2001).

Los hongos ligninolíticos han desarrollado un sistema enzimático único y no específico que funciona en el ambiente extracelular (Dávila & Vázquez, 2006) y gracias a estas enzimas permiten la degradación de compuestos orgánicos que tienen similitudes con la lignina (Hatakka, 1994). Esta capacidad que poseen las ha llevado a la realización de una variedad de investigaciones internacionales donde se ha descrito su capacidad para degradar diversos contaminantes orgánicos como los HPA (Lee *et al.*, 2014), suelos contaminados con petróleo (Shahi *et al.*, 2016), entre otros. No obstante, para poder degradar estos compuestos se han propuesto multitud de materiales ligninolíticos o residuos orgánicos que



servan de soporte y alimento para el hongo, como pueden ser paja de trigo o maíz, pellets de paja de trigo, bagazo de caña, mazorcas de maíz, grano de trigo y sustratos de cultivo de hongos, entre otros (Eggen, 1999; Mauricio *et al.*, 2014).

Por lo anterior, el propósito de este proyecto es evaluar el crecimiento micelial en suelo contaminado con petróleo crudo y el potencial de degradación de hidrocarburos totales de petróleo, empleando las especies *Pycnoporus sanguineus* y *Ganoderma multipileum*.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México



2. ANTECEDENTES

El petróleo es una fuente energética no renovable, que representa un consumo mundial del 33.1% (BP, 2012). Esta fuente energética aporta beneficios asociados a la generación de empleos y materia prima para las industrias, sin embargo, el mal manejo de este recurso genera graves problemas ambientales (León *et al.*, 2009, Pernía *et al.*, 2012), en cualquier parte del mundo, la mayoría provienen de derrames accidentales y las disposiciones inadecuadas (Infante y García, 2012).

En México, la actividad petrolera tiene más de 50 años, (Hueseman *et al.*, 1993) y durante ese tiempo, el suelo y los ecosistemas acuáticos se han visto afectados por la contaminación de hidrocarburos, posicionándose como uno de los problemas ambientales de mayor relevancia en este país (CNH, 2014), por ende, en los últimos años se ha registrado un aumento significativo en el número de sitios contaminados sin remediar (Rojo, 2009).

En el sureste de mexicano, la exploración y la perforación petrolera dio inicio de manera comercial durante la década de 1940. A finales de los años cincuenta inició la perforación en la región noroeste del estado de Tabasco y a partir de 1973 aumento la superficie por el descubrimiento de importantes yacimientos petroleros en el área de Comalcalco-Terciario y por tal razón, el estado se convirtió como área productiva por los volúmenes de crudo y gas que se extraían (West *et al.*, 1976, Tudela 1989, Ortiz 2009). Dicha actividad petrolera generó diversos problemas ambientales (Ortiz *et al.*, 2012).

Las estadísticas oficiales del país, mencionan que las emergencias ambientales por derrames de petróleo empezaron a registrarse en Tabasco en el año de 1992 (González, 1995). De acuerdo con la PROFEPA durante el periodo de 1993 a 2009 ocurrieron en México 7998 emergencias ambientales, de las cuales 1315 (16.44 %) sucedieron en Tabasco (PROFEPA, 2011). Por otra parte, la Comisión Nacional de Hidrocarburos describe que en el estado de Tabasco durante el periodo 2000 - 2013, ocupó el segundo lugar con un 30% en derrames de hidrocarburos confirmados y el primer lugar con un 50% en derrames no confirmados (CNH, 2014), entre los que se identifican sitios recién contaminados (< 1 mes) y suelos intemperizados con un largo historial de contaminación (Ortiz *et al.*, 2017). De acuerdo con Zavala, 2005 menciona que el activo 5 presidentes es la que registra la mayor cantidad de derrames en el estado, ocasionando daños a los pastizales y a la vegetación natural que la rodea.



A raíz de estas problemáticas diversos trabajos han reportado que los derrames causan alteraciones a las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Cébron *et al.*, 2011, Rivera 2011, Trujillo *et al.*, 2012). Pero mencionan que el grado de contaminación dependerá del ecosistema y de las propiedades físicas y químicas del hidrocarburo, así como del tipo de emergencia (García *et al.*, 2006, Pinkus y Contreras, 2012). Generalmente estas problemáticas provocan la muerte de diversas especies animales, plantas (Ordoñez *et al.*, 2018). Así como también, alteran la microflora y mesofauna del suelo (Carvazos *et al.*, 2014), y causan afectaciones a la salud humana (ATSDR, 1999).

Por tal razón diversas tecnologías han sido desarrolladas y aplicadas para remediar los suelos contaminados, una de ellas es la biorremediación. (Sanscartier *et al.*, 2009; Hentati *et al.*, 2013; Hamzah *et al.*, 2014). Este método se conforma de un conjunto de técnicas que emplea el uso de bacterias, plantas y hongos (Bamforth & Singleton 2005). Actualmente los estudios se han enfocado principalmente en las bacterias y es poca la importancia que se le da a los hongos para biorremediar (Benavides Lopez de Meza, *et al.*, 2006), sin embargo, se ha reportado que los hongos ofrecen ventajas potenciales, por su capacidad para degradar numerosos compuestos recalcitrantes, ya que son más tolerantes que las bacterias a altas concentraciones de contaminantes y han sido empleadas para la biorremediación históricamente desde el siglo XIX (Tisma *et al.* 2010). Esta forma de emplear los hongos en la biorremediación se conoce como micorremediación.

Se han reportado que los hongos presentan 5 divisiones: *Basidiomicetos*, *Ascomicetos*, *Glomeromicetos*, *Zigomicetos* y *Quitridiomicetos* (Ruggiero *et al.*, 2015). De los 5 grupos, los basidiomicetos, varios autores la han considerado un grupo muy interesante, por la capacidad de adaptación que les permite crecer en sitios perjudiciales donde actúan constantemente como degradadores naturales (Choi *et al.*, 2009) de la lignina, celulosa y hemicelulosa, que juntas se denomina con el nombre lignocelulosa (Howard *et al.*, 2003). Blanchette, (1995) menciona que este grupo se clasifica en hongos de podredumbre parda (HPD) o blanca (HPB) y son totalmente diferentes puesto que los HPD degradan eficientemente los polisacáridos de la madera, pero la lignina presente solo la degradan ligeramente convirtiéndola a lignina demetoxilada por eso su coloración café, en cambio menciona que los HPB descomponen todos los polímeros de la madera, incluida la lignina, haciendo que la madera presente un aspecto blanco y fibroso.



Las enzimas que generan los HPB durante la degradación de la lignina y de las estructuras similares a la lignina que contenga algún contaminante orgánico, ha permitido que se emplee en una variedad de estudios de remediación. Por ejemplo, se han realizado trabajos donde las especies *Trametes versicolor* y *Bjerkandera adusta* son buenos candidatos para degradar diversos compuestos xenobióticos (Tisma & Zeli, 2010; Gothwal & Shashidhar, 2014), otros HPB se han empleado para la eliminación de productos farmacéuticos (Marco *et al.*, 2009), la biodegradación de COPs (Zhao *et al.*, 2010), la degradación de plaguicidas (Díaz, 2011), la decoloración de aguas residuales textiles (Echavarría *et al.*, 2011), degradación de tintes industriales (Vera *et al.*, 2012), la biodegradación de resinas fenólicas (Ponce *et al.*, 2012), la biorremediación de PCBs (Stella *et al.*, 2017) y la limpieza de aguas residuales (Kumar *et al.*, 2018).

A nivel nacional son escasos los estudios enfocados en la micorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, generalmente, la mayoría están enfocados en pesticidas, por ejemplo, el trabajo realizado por Cupul *et al.* (2014), quienes emplearon los HPB para evaluar la actividad enzimática en presencia de atrazina en el estado de Veracruz, México. Por otra parte, Camacho *et al.* (2017), emplearon ocho especies de HPB para degradar paraquat a escala laboratorio en el estado de Chiapas, México. En cambio, existe una amplia gama de estudios internacionales donde ha sido empleada de manera general en la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos (Shahi *et al.*, 2016; Hassain & Bordjiba, 2018) y de manera específica en HPA (Chen *et al.*, 2010; Arun & Eyini, 2011; Lee *et al.*, 2014; Taha *et al.*, 2018).

Los estudios relacionados en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo empleando HPB son altamente escasos, particularmente para las especies *P. sanguineus* y *G. mutipileum*. La especie *P. sanguineus* ha sido empleada de forma general para degradar HPA (Arun *et al.*, 2008; Munusamy *et al.*, 2008; Low *et al.* 2009; Thongkred *et al.*, 2011), antraceno y pireno (Zhang *et al.*, 2015), colorantes (Annur *et al.*, 2009) y microcontaminantes farmacéuticos (Rodriguez *et al.*, 2016). Por otra parte, la especie *G. mutipileum* se han realizado estudios enfocados en la degradación de HTP (Mohammadi *et al.*, 2019), HPA (Punnayak, 2009) y fenantreno y pireno (Ting *et al.*, 2011 Agrawal *et al.*, 2018).



3. OBJETIVOS

13.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la degradación potencial de las fracciones de hidrocarburos totales del petróleo mediante la aplicación de la micorremediación con hongos de la podredumbre blanca empleando las especies *Pycnoporus sanguineus* y *Ganoderma multipileum* y su posible implementación de su uso en la biorremediación de estos compuestos.

13.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar cultivos de ambas especies en medios de cultivo Agar de Dextrosa y Papa (PDA).
- Evaluar el crecimiento micelial de ambas especies en suelo mezclado con bagazo de caña y en suelo contaminado con HC mezclado con bagazo de caña.
- Descartar la especie que haya obtenido un menor crecimiento micelial en el suelo contaminado con HC mezclado con bagazo de caña, mediante la aplicación de análisis estadístico.
- Evaluar la eficiencia de la especie de hongo para degradar hidrocarburos totales de petróleo mediante una cinética de concentración y tiempo por medio del método gravimétrico EPA 3540C por Soxhlet.
- Identificar la fracción que más degrada la especie de hongo, mediante la aplicación del análisis S.A.R.A. en columna cromatográfica de sílice.



4. JUSTIFICACIÓN

En México, la industria del petróleo ha tenido un impacto negativo en materia ambiental. Debido a la amplia gama de productos derivados del petróleo, no ha sido posible evaluar cuantitativamente la contaminación involucrada desde la fase de explotación hasta la obtención de los productos petroquímicos básicos. Entre 2008 y 2013 se registraron emergencias ambientales de hidrocarburos como: 171 emergencias con la gasolina magna (27.3% del total), 141 (22.5%) con el diésel, 98 (15.6%) con combustóleo, 36 (5.7%) con turbosina y 32 (5.1%) con otros contaminantes como ácidos y bases. Para poder solucionar estos impactos existen varias técnicas para remediarlo y una de las más eficientes es la remediación con hongos, conocida como micorremediación. De esta técnica, los hongos de pudrición blanca (HPB) han demostrado tener un alto grado de eficiencia para degradar HC de hasta un 60% al 90% y una variedad de compuestos orgánicos con estructuras tóxicas. Además, los HPB cuenta con algunos estudios que han mostrado su efectividad para degradar contaminantes orgánicos como HTPs, HPA, fenantreno, antraceno, pireno, Benzo[a]pireno, colorantes, tintes, entre otros. Del grupo de los HPB se eligieron a las especies *Pycnoporus sanguineus* y *Ganoderma multipileum*. para este proyecto, dichas especies no cuentan con muchos estudios en la remediación de HTP, por ende, se evaluará su eficiencia para degradarlos. Este proyecto generará para el beneficio social, empresarial y gubernamental nuevos conocimientos y servirá como una propuesta para usar estas especies de hongos y el sustrato para remediar sitios contaminados por HC en nuestro estado o en cualquier parte del mundo.

Estos hongos producen enzimas, que les permite degradar estos contaminantes, para ello necesitan de un material vegetal que sea rico en hemicelulosa para poder producir las enzimas, responsables para la biodegradación de los HTP. En este caso será usado el bagazo de caña que servirá como soporte para el hongo, fuente de carbono y de sustancias nutritivas que aceleran la degradación de HC, además de que en suelo aumenta la porosidad, la aerobiosis, retiene humedad y evita la erosión. Afortunadamente en la región Sur Sureste del país (Campeche Chiapas, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y Yucatán) se encuentra el 56 % (32) de los ingenios en México. Durante la zafra 2011-2012 la región sureste produjo alrededor de 7'214,967 toneladas de caña de azúcar. De esos cultivos se genera el bagazo, que es un subproducto de la caña de azúcar y es considerado un residuo y debido a que no se aprovecha del todo y por tal razón se le dará un uso en este proyecto como sustrato para el crecimiento del hongo.



5. MATERIALES Y MÉTODOS

15.1 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

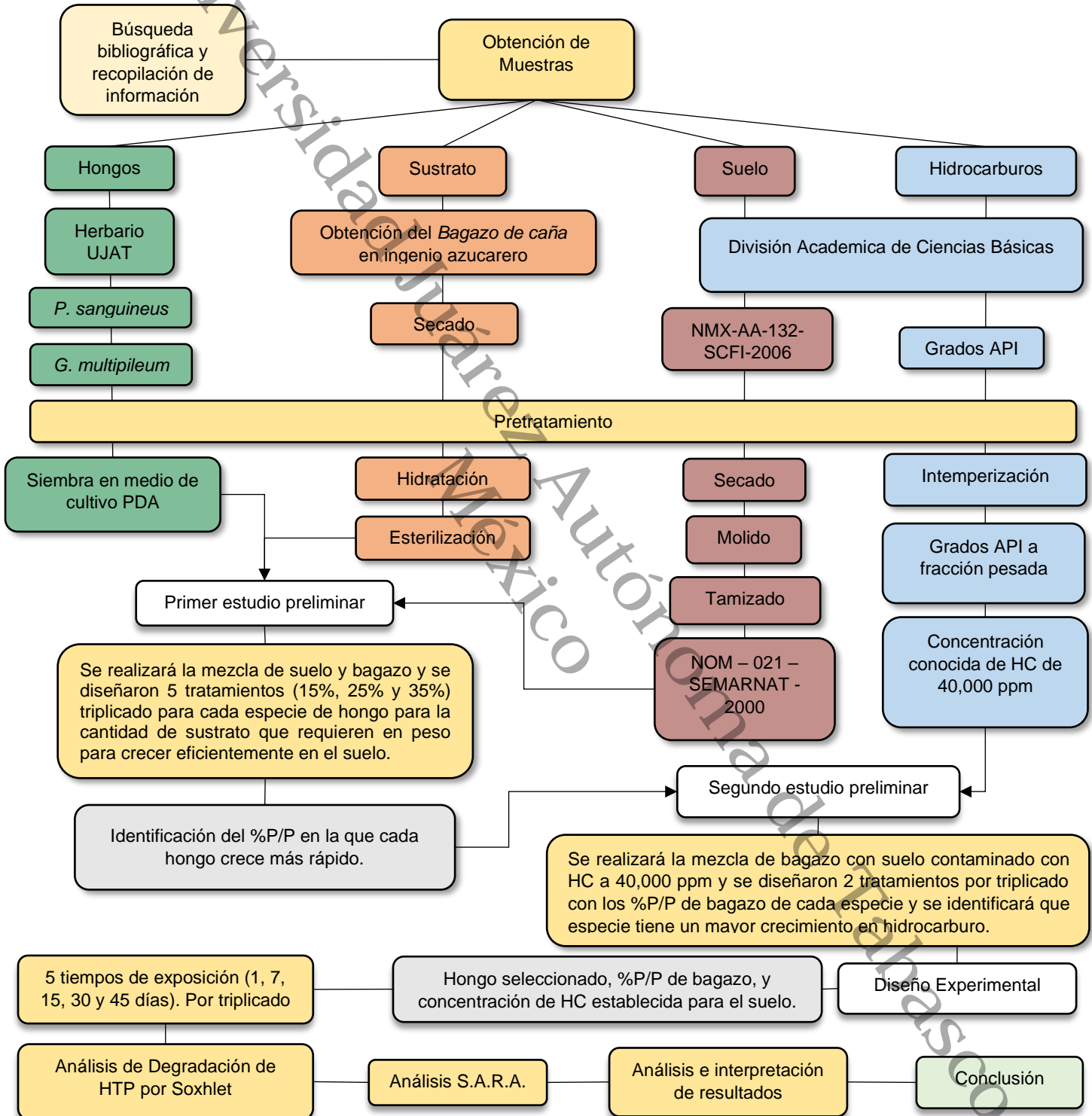


Figura 2. Diseño experimental

15.2 OBTENCIÓN DE MUESTRAS

15.2.1 HONGOS

Las especies de hongos, *P. sanguineus* y *G. multipileum* con códigos de registro CCG031 y CCG025, respectivamente, fueron obtenidos del Herbario de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la división Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol), con coordenadas UTM 15Q 502850.00 E, 1989051.00 N.

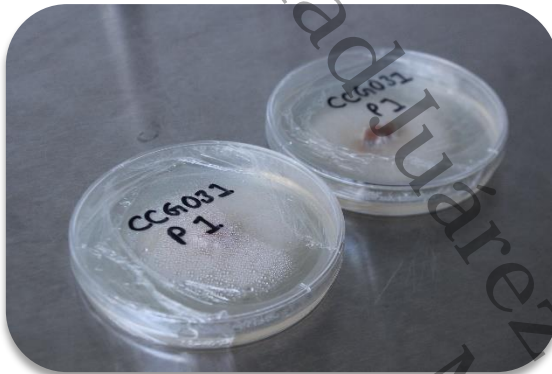


Figura 3. Cepa de *P. sanguineus*



Figura 4. Cepa de *G. multipileum*

15.2.2 BAGAZO DE CAÑA

El sustrato empleado en este proyecto es el bagazo de caña y fue obtenido del ingenio azucarero Santa Rosalía (Figura 4), en el municipio de Cárdenas, Tabasco, México, con coordenadas UTM 15Q 482051.30 E, 1998636.58 N. El material se encontraba casi a sequedad y fue colocado en bolsas negras de polietileno, para ser transportado al laboratorio de suelos de Edafología de la DACBiol, para su pretratamiento.



Figura 5. Localización del ingenio azucarero Santa Rosalía

15.2.3 SUELO

El suelo fue obtenido en el municipio de Cunduacán, Tabasco, México, con coordenadas UTM 15Q 482051.70 E, 1998637 N (Figura 5). En el sitio se realizó un perfil edafológico de 140 cm de profundidad y un muestreo dirigido de 20 Kg de suelo de acuerdo con la NMX-AA-132-SCFI-2006 (SCFI, 2006) de 0 a 30 cm de profundidad (Fig. 7-9). El perfil edafológico y los 20 Kg de suelos fueron transportados al laboratorio de suelos de la División Académica de Ciencias Básicas (DACB) para la identificación de sus horizontes, y para su posterior pretratamiento, respectivamente.



Figura 6. Localización del sitio de muestreo del suelo



Figura 7. Lugar del muestreo



Figura 8. Presencia de manto freático en el núcleo



Figura 9. Muestreo de suelo

15.2.4 PETRÓLEO CRUDO

El petróleo crudo (PC) fue obtenido de un barril proveniente directamente de un pozo de extracción (Fig. 10). El PC en cuestión se encuentra en conjunto con agua congénita, es decir, fácilmente se denotan las fases hidrocarburo – agua congénita. Se muestreó un volumen de 1L de PC entremezclado con agua congénita, para luego aplicarse el pretratamiento en el laboratorio de suelos de la DACB.



Figura 10. Barril de petróleo crudo con agua congénita

15.3 PRETRATAMIENTO DE MUESTRAS

15.3.1 HONGOS

15.3.1.1 PREPARACIÓN DEL MEDIO CULTIVO PDA

Para la realización del caldo del medio de cultivo se tomó un matraz de 1L para preparar 700 ml, para ello se pesaron 27.3 g de PDA. Como primer paso, se agregó 350 ml de agua purificada al matraz, seguido de los 27.3 g de PDA. Posteriormente se mezcló vigorosamente para evitar la formación de grumos y una vez mezclado se agregó el resto del agua. Finalmente se elaboró un tapón de algodón y se colocó en la autoclave para su esterilización a 120 °C por 15 min. Al término del proceso, se esperó a que la temperatura disminuyera para poder trasvasar a las cajas Petri. Se debe evitar que se enfríe de más debido a que se solidifica. Se realizaron un total de 10 cajas Petri y se establecieron 5 cajas por especie.



Figura 11. Agar dextrosa y papa

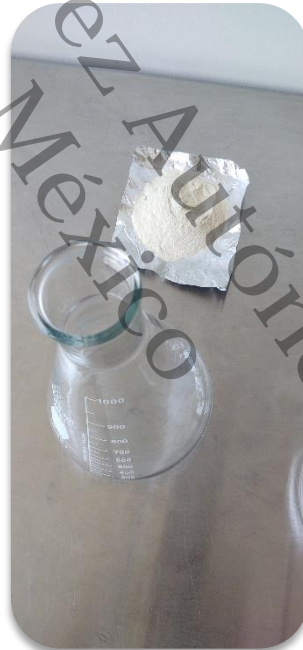


Figura 12. Matraz empleado en la elaboración de agar



Figura 13. Autoclave

15.3.1.2 ACTIVACIÓN DE HONGOS

Se tomó una cepa por especie de la colección de hongos del herbario de la especie *P. sanguineus* (Fig. 14) y *G. multipileum* (Fig. 15) con código de registro CCG031 y CCG025, respectivamente. Para llevar a cabo este proceso, los materiales empleados y el sitio de trabajo fueron esterilizados. Para la activación, se empleó el uso de mecheros y con ayuda

de un asa se recortó un cuadro de un 1cm de agar y se colocó en el centro de las cajas Petri, en total fueron cinco cuadros por especie, dando un total de 10 cuadritos. Al momento de resembrar en la caja Petri, se selló inmediatamente y se colocó en oscuridad durante 15 días. La caja Petri fue monitoreada cada dos días para observar algún tipo de contaminación. Una vez que el micelio del hongo se propagó en su totalidad la caja se resguardó en refrigeración a 4 °C para inhibir su crecimiento y emplearlo para futuros usos.

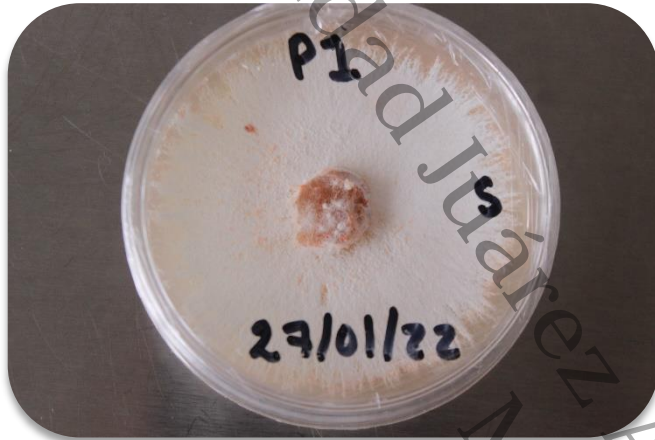


Figura 14. Cepa de *P. sangeuineus*



Figura 15. Cepa de *G. multipileum*

15.3.2 BAGAZO DE CAÑA

El bagazo de caña, fue secado a temperatura ambiente a la sombra tal como se observa en la Figura 16. Una vez acabado el proceso, el bagazo fue resguardado en bolsas negras de polietileno para evitar alguna contaminación y contacto con la humedad, hasta su uso.



Figura 16. Secado del bagazo de caña

15.3.3 SUELO

15.3.3.1 PERFIL EDAFOLÓGICO

El perfil edafológico fue sometido a un secado a temperatura ambiente a la luz del sol, colocado sobre bolsas negras. El periodo de secado fue de 9 h diarias (8:00 am a 5:00 pm), hasta sequedad, para poder diferenciar los horizontes que lo conformaban.

15.3.3.2 SUELO MUESTREADO

Los 20 kg de suelo fueron secados bajo las mismas condiciones del perfil de suelo (Fig. 17). El suelo fue parcialmente removido para acelerar el proceso de secado.



Figura 17. Secado del suelo

Posterior al secado, se procedió al proceso de molido (Fig. 18) seguido de un proceso de tamizado, usando un tamaño de malla de 2 mm de diámetro para eliminar los materiales de mayor tamaño y o cualquier material que pudiera causar interferencia en los análisis. Se resguardo en un contenedor de plástico, para reducir al mínimo su contacto con la humedad.

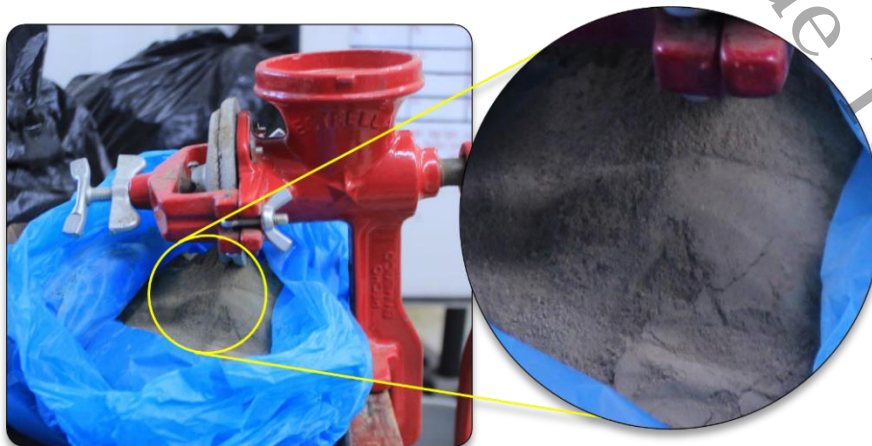


Figura 18. Molienda del suelo

15.3.3.3 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS

A continuación, se describen los parámetros fisicoquímicos realizados al suelo utilizado en el proyecto, de acuerdo con las metodologías descritas en la NOM-021-RECNAT-2000. Para cada método se realizaron 5 repeticiones.

15.3.3.3.1 pH

Se realizó la medición por triplicado en una relación de suelo y agua de 1:2, respectivamente, usando agua entre pH de 6.6 y 7.3 de acuerdo a lo descrito en el método AS-02 de la presente norma. Para ello se pesaron 5 g de suelo y se colocó en 10 ml de agua, y se mezcló vigorosamente. Por otra parte, el potenciómetro marca HANNA – HI 9813 -5 (Fig. 19), fue calibrado con solución reguladora de pH 7. Por último, se prosiguió a la medición del pH (Fig. 20) y los datos obtenidos se compararon con los rangos reportados en la norma como se describe en la Tabla 1.



Figura 19. Potenciómetro



Figura 20. Medición del pH

Tabla 1. Rangos de clasificación de pH reportados en la NOM-021-RECNAT-2000

Fuertemente Acido	<5.0
Moderadamente Acido	5.1 – 6.5
Neutro	6.6 – 7.3
Medianamente Alcalino	7.4 – 8.5
Fuertemente Alcalino	>8.5

15.3.3.3.2 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA (CE)

Para la evaluación de la CE (Fig. 21) se usó la muestra empleada para la medición de pH, se dejó reposar por 24 h y se filtró con papel Whatman #40. Finalmente, se colocó el electrodo del potenciómetro HANNA – HI 9813 -5 en el líquido filtrado para la medición de la CE. Y los datos obtenidos se compararon con los datos reportados en la norma en la Tabla 2.



Figura 21. Filtrado del suelo en filtros de papel Whatman

Tabla 2. Rangos de clasificación de la CE reportados en la NOM-021-RECNAT-2000

Efectos despreciables de salinidad	<1.0
Muy ligeramente salino	1.1 – 2.0
Moderadamente salino	2.1 – 4.0
Suelo salino	4.1 – 8.0
Fuertemente salino	8.1 – 16.0
Muy fuertemente salino	>16.0

15.3.3.3.3 MATERIA ORGÁNICA (%MO)

Para la determinación de %MO (Fig. 22 y 23), el suelo fue secado a peso constante y se pesó la cantidad de 2 g de suelo, el cual fue colocado en vasos de precipitado (vaso previamente pesado) y se registra el peso con el vaso (peso inicial). Primeramente, se le agregó la cantidad de 1mL de ácido nítrico, al término de la reacción, se agregó 1 ml de

peróxido de hidrogeno y se observó la reacción, al terminar se colocó en la estufa por 72h hasta peso constante y se registra el peso (peso final). Los datos obtenidos se calculan con la siguiente formula (Ec. 1).

$$\%MO = \frac{P_i - P_f}{P_1} * 100 \quad \text{Ec.1}$$

Donde:

P_i = peso inicial (recipiente + suelo)

P_f = peso final a peso constante (recipiente + suelo)



Figura 22. Reacción de la MO del suelo con H₂O₂



Figura 23. Término de la reacción del H₂O₂

Los datos obtenidos son comparados con los rangos reportados en la norma en la Tabla 3, para la clasificación de la concentración de la materia orgánica en suelos minerales y volcánicos.

Tabla 3. Rangos de clasificación de la concentración de materia orgánica reportados en la NOM-021-RECNAT-2000

Clase	Suelos Volcánicos	Suelos no Volcánicos
Muy bajo	<4.0	<0.5
Bajo	4.1 – 6.0	0.6 – 1.5
Medio	6.1 -10.9	1.6 – 3.5
Alto	11.0 – 16.0	3.6 – 6.0
Muy alto	>16.1	>6.0



15.3.3.3.4 DENSIDAD APARENTE (DA)

Para la determinación de DA se empleó una probeta de 10 ml y se registró el peso, posteriormente, se le agregó suelo hasta aforar y se dieron ligeros golpes sobre una superficie para ocupar los espacios vacíos del suelo, nuevamente fue aforado y se repitió el proceso hasta el aforamiento. Los datos obtenidos deben calcularse con la siguiente fórmula (Ec. 2):

$$DA = \frac{1 - 2}{10 \text{ ml}} \quad \text{Ec.2}$$

Donde:

1= peso del matraz con suelo

2= peso de la probeta

Tabla 4. Rangos de clasificación de densidad aparente reportados en la NOM-021-RECNAT-2000

Tipos de Suelos		g/cm ³
Orgánicos y Volcánicos		Menor de 1.00
Minerales		
	Arcillosos	1.0 – 1.19
	Francosos	1.20 – 1.32
	Arenosos	Mayor a 1.32

15.3.3.3.5 DENSIDAD REAL (DR)

Para la determinación de DR se tomaron matraces de 25 ml previamente pesados. A uno de los matraces se le adicionó 5 g de suelo, y se registró el nuevo peso, luego se le adicionó agua hasta aforar y se registró nuevamente el peso y la temperatura. Por otra parte, se tomó otro matraz y se le adicionó agua hasta aforar, se registró el peso y la temperatura. El cálculo de DR se realiza con la siguiente ecuación (Ec. 3):

$$V_s = \frac{(4) - (1)}{\rho_w} - \frac{(3) - (2)}{\rho_w} = \frac{\text{peso del agua desplazada por partículas de suelo}}{\text{densidad del agua}} \quad \text{Ec. 3}$$

$$ps = (2) - (1) \quad \text{Ec. 4}$$

$$\text{Densidad real } (\rho_s) = \frac{ps}{V_s} \quad \text{Ec. 5}$$

Donde:

1 = Peso matraz seco

2 = Peso matraz con suelo

3 = Peso matraz con suelo y aforado con agua

$4 =$ *Peso matraz con agua*
 $\rho_w =$ *densidad del agua*
 $V_s =$ *volumen de las partículas de suelo*
 $ps =$ *peso de las partículas del suelo*
 $\rho_s =$ *densidad real*

15.3.3.3.6 PORCENTAJE DE POROSIDAD (%P)

La norma menciona que el %P se determina mediante la relación de DA y DR y se calcula de la siguiente forma (Ec. 4):

$$\text{Porcentaje de porosidad (\%P)} = \frac{(DR - DA)}{DR} * 100 \quad \text{Ec. 6}$$

15.3.3.3.7 CAPACIDAD DE CAMPO (%CC)

Se Pesaron 50 g de suelo y se colocó dentro un vaso con filtro con agujeros para permitir el escurrimiento. Posteriormente el suelo se humectó durante dos horas con agua potable. Al término, se dejó escurrir hasta finalizar el goteo e inmediatamente se pesaron 10 g de suelo húmedo (PSH) y se colocó en un crisol previamente pesado. Luego el crisol con el suelo húmedo se colocó dentro de una estufa a 105 °C durante 24 h para su secado (Fig. 24), al término se dejó enfriar y se tomó el peso del suelo seco (PSS) hasta peso constante. Los datos obtenidos se aplican en la siguiente ecuación para hallar %CC.

$$\%CC = \frac{PSH - PSS}{PSH} * 100 \quad \text{Ec. 7}$$

Donde:

$PSH =$ *peso del suelo húmedo*
 $PSS =$ *peso del suelo seco*



Figura 24. Horno de Secado

15.3.3.3.8 TEXTURA (%A, %L y %R)

Para la determinación de Textura se empleó el método del hidrómetro de Bouyoucos tal como describe la norma, para ello, se pesó una cantidad de 50 g de suelo y se midió un volumen de 1 L de agua, y estas se colocaron dentro de una licuadora y se licuó por un minuto, al término, la mezcla se vertió dentro de una probeta de 1 L. Finalmente, se toman dos lecturas, a los 40 s de haber colocado la mezcla dentro de la probeta y a las 2 h. En cada lectura se midió la temperatura.



Figura 25. Bouyoucos



Figura 26. Primera lectura

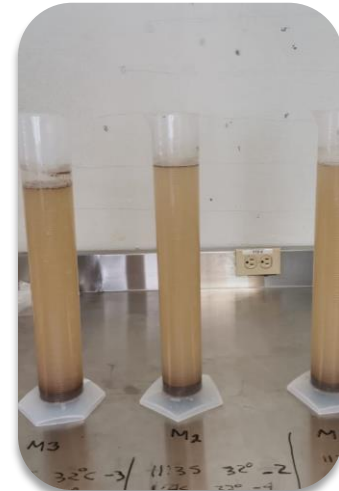


Figura 27. Segunda lectura

Para el cálculo de Textura se deben emplear las ecuaciones siguientes:

$$\%L + \%R = (D1 + FcT1) * 2 \quad \text{Ec. 8}$$

$$\%R = (D2 + FcT2) * 2 \quad \text{Ec. 9}$$

$$\%A = 100 - (D1 + FcT1) \quad \text{Ec. 10}$$

$$\%L = 100 - (\%A + \%R) \quad \text{Ec. 11}$$

Donde:

D1 = Medición a los 40 s con el hidrómetro

D2 = Medición a las 2 h con el hidrómetro

FcT1 = Factor de corrección de la temperatura a los 40 s

FcT2 = Factor de corrección de la temperatura a las 2h

%R = Porcentaje de Arcilla

%A = Porcentaje de Arena

%L = Porcentaje de Limo

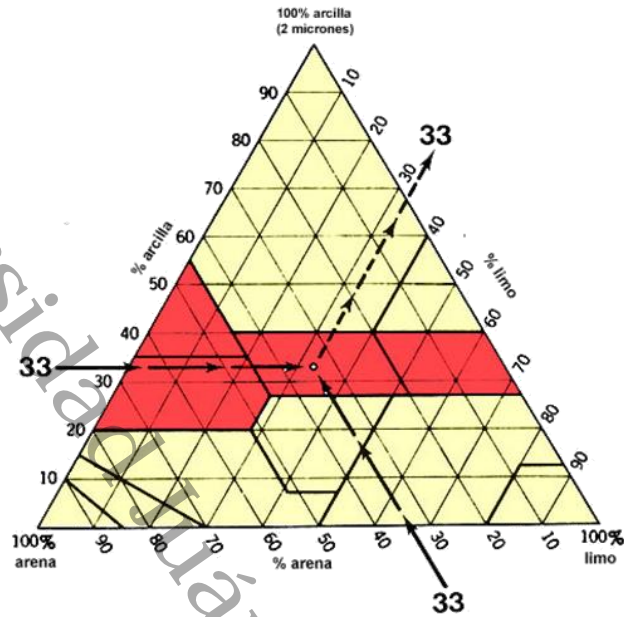


Figura 28. Empleo del triángulo de Textura

Una vez obtenidos los porcentajes para cada tamaño de partícula se procede a ubicarlos en el triángulo textural de forma ordenada (Fig. 28). Primeramente, se ubica el %R, luego el %A y por último %L, en el sentido de las flechas. Una vez ubicados, con ayuda de la Figura 29 se determina qué tipo de suelo es.

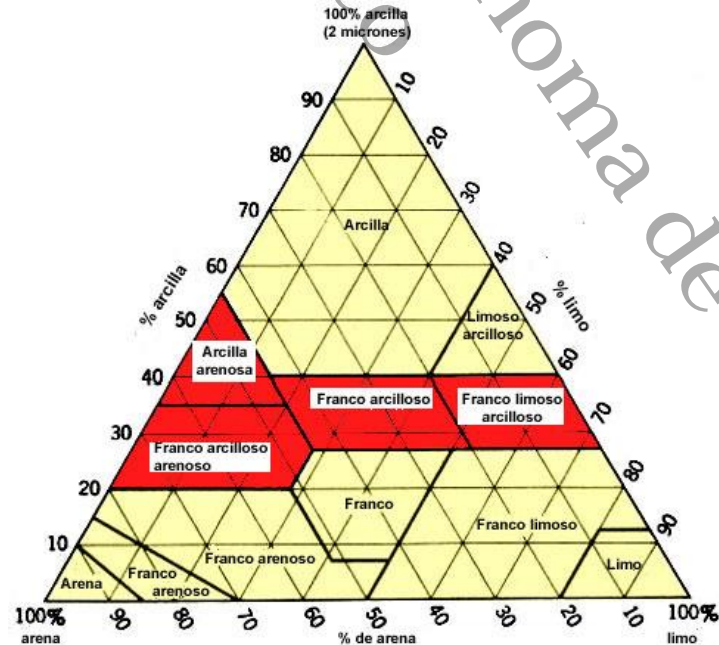


Figura 29. Triángulo de Textura con los tipos de suelo

15.3.4 PETROLEO CRUDO

Debido a la mezcla heterogénea del petróleo crudo (PC) con el agua congénita, se realizó la separación de estas fases. En la Figura 30 se puede observar que las fases no están muy definidas a comparación de la Figura 31. Una vez que las fases se encuentran separadas se procedió a extraer el solamente el PC y se colocó en una botella de vidrio ámbar.

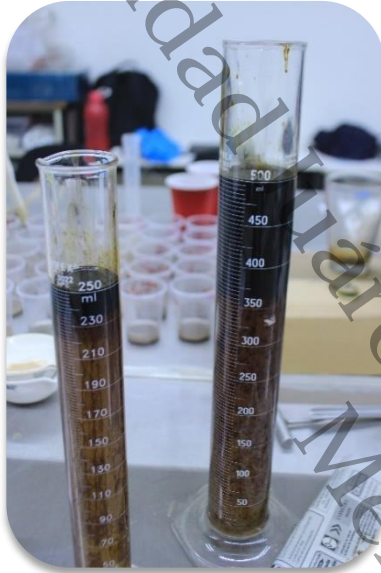


Figura 30. Fase del PC con agua congénita mezclados



Figura 31. Fase del PC separado del agua congénita

15.3.4.1 GRADOS API (°API)

Al PC se le realizó el análisis de grados API de acuerdo al método ASTM (2006) con modificaciones para conocer el tipo de fracción de hidrocarburo que se poseía. Para ello, se realizó por el método directo por gravimetría. El PC fue sometido a rangos de temperatura en frío y en caliente. Para el calentamiento, se tomó un cristalizador con agua y se calentó sobre una plancha. Por otra parte, se llenó un vaso de precipitado de 100 ml con PC y se colocó dentro del cristalizador. Una vez caliente el PC, con ayuda de una pipeta y propipeta se colocó PC caliente dentro de un matraz de 50 ml previamente pesado (Fig. 32), hasta aforar. Inmediatamente el PC dentro del matraz era pesado y se registraba la cantidad, e inmediatamente se media la temperatura.

Para el caso del enfriamiento el PC (Fig. 33) fue colocado en refrigeración y nuevamente se repitió el proceso anterior de pesaje y la medición de temperatura.



Figura 32. PC en matraz aforado de 25 mL



Figura 33. PC enfriado a 4 °C

Para calcular los grados API se realiza con la siguiente formula general (Ec. 12):

$$^{\circ}API = \frac{141.5}{\rho} - 131.5 \quad \text{Ec. 11}$$

$$\rho = m/V \quad \text{Ec. 13}$$

Donde:

ρ = Densidad del hidrocarburo

m = Masa del PC en el matraz aforado

V = Volumen del matraz

15.3.4.2 INTEMPERIZACIÓN (WHEATERING)

El PC fue sometido a un proceso de intemperización (Fig. 34) que es prácticamente la volatilización de hidrocarburos de fracciones más ligeras. Para este caso, el petróleo crudo fue colocado en una bandeja plástica a la luz del sol en un rango de horas de 9:00 am a 5:00 pm, este proceso se realizó hasta obtener la fracción de hidrocarburo deseada, que en este caso era la fracción pesada y esto se realizó mediante el cálculo de grados API.



Figura 34. Intemperización del petróleo crudo



15.4 ESTUDIOS PRELIMINARES

Se realizaron dos estudios preliminares consecutivos con el objetivo de dar pauta a la realización diseño experimental. Dichos estudios son: primer estudios preliminar y segundo estudio preliminar y se describen a continuación.

15.4.1 PRIMER ESTUDIO PRELIMINAR

El primer estudio preliminar evalúa el crecimiento micelial de la especie *P. sanguienus* y *G. multipileum* en una mezcla de bagazo de caña con suelo sin contaminar. Una vez concluido el estudio se seleccionará el %P/P de bagazo de caña en la que cada hongo obtuvo el mayor crecimiento micelial. Para ello se establecieron tres tratamientos por triplicado de %P/P de bagazo de caña con respecto al suelo que fueron de 15%, 25% y 35%, para un tamaño de muestra de 15 g. Las cantidades se observan en la Tabla 5.

Tabla 5. %P/P de bagazo de caña con respecto al suelo

%P/P de bagazo	g	%P/P de suelo	g
15%	2.25	85%	12.75
25%	3.75	75%	11.25
35%	5.25	65%	9.75

15.4.1.1 PREPARACIÓN DEL SUSTRATO

El bagazo de caña se fragmento en un tamaño de partícula de 2 a 3 cm², tal como se observa en la Figura 35, posteriormente se hidrató por 12 h, y al termino se escurrieron hasta lograr un contenido de humedad del 70%. Finalmente, el bagazo se pasteurizó por inmersión al agua en un recipiente metálico con capacidad de 10 L sobre una hornilla durante 1h a 80 °C, al termino se escurrió y se enfrió en condiciones asépticas.

15.4.1.2 ESTERILIZACIÓN DEL SUELO

Para poder llevar a cabo este estudio fue necesario esterilizar el suelo. Este proceso se realizó debido a que nos interesa conocer si el hongo realmente puede crecer en el bagazo, así como evitar el contacto con otros factores, como los microorganismos autóctonos. Para ello el suelo fue esterilizado por 30 min a 120 °C en una charola metálica.



Figura 35. A: Bagazo de caña sin triturar; B: Bagazo de caña triturado

15.4.1.3 MEZCLA DE SUELO Y BAGAZO

A este punto se procedió a realizar las mezclas correspondientes de %P/P de bagazo con respecto a los %P/P del suelo. Para ello, se colocó primeramente el bagazo en tazones de vidrio estériles de 10 cm alto x 15 cm de ancho (Fig. 36), luego se agregó el suelo y se procedió a realizar la mezcla, procurando que el suelo se homogenice con el bagazo. Se debe observar que el bagazo no se encuentre muy húmedo.



Figura 36. Mezcla de suelo con el bagazo de caña

15.4.1.4 CRECIMIENTO MICELIAR DE LOS HONGOS IN VITRO

Una vez preparadas las mezclas se procedió a colocarlo dentro de tubos de ensayo con medidas 2.2 cm ancho x 15 cm largo, hasta alcanzar una altura de la mezcla de 12 cm (Fig. 38). Una vez terminado de colocar las mezclas a todos los tubos se procedió a inocular los tubos con cuadros de 1 cm de micelio de hongo por separado e inmediatamente se colocó un tapón de algodón para evitar la contaminación de la muestra y para permitir el

intercambio gaseoso. Por último, estas se incubaron en oscuridad a una temperatura de 28 ± 2 °C (Fig. 39).

Para el crecimiento miceliar a cada tubo se le trazaron dos líneas opuestas “A” y “B” y sobre estas se midió el crecimiento del micelio cada dos días (Fig. 37), hasta la base del tubo de ensayo con ayuda de un estereoscopio marca Zeiss Stemi DV4 (Fig. 40) (Gaitán-Hernández & Salmones, 2015).



Figura 37. Tubos rotulados

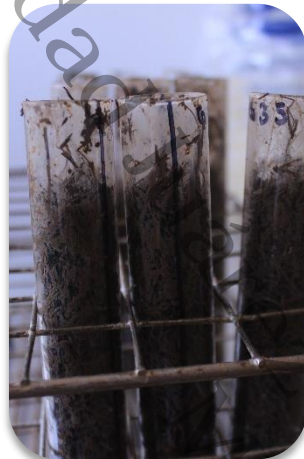


Figura 38. Tubos con la mezcla de suelo y bagazo



Figura 39. Tubos con crecimiento de hongo

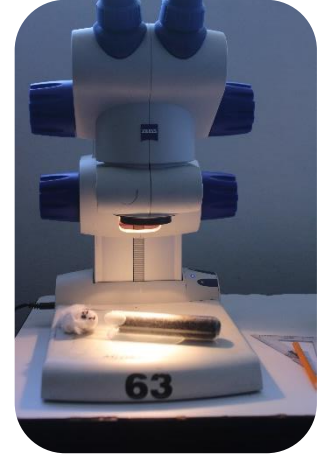


Figura 40. Estereoscopio usado en la medición de crecimiento

15.4.1.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se elaboró un diseño de dos factores, con un arreglo de 2x3 por triplicado, el factor A con dos niveles que son las especies de hongos, *P. sanguineus* y *G. multipileum* y el factor B con tres niveles que son los %P/P de bagazo, 15%, 25% y 35%. Para determinar los efectos de las especies y de los diferentes %P/P de bagazo, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) multifactorial seguida de una prueba de rangos LSD. Se empleó el paquete estadístico Statgraphics Centurion® XVI. Para todos los casos se empleó un nivel de significancia de 0.05 ($\alpha=0.05$).

Para el crecimiento miceliar, se evaluó mediante la obtención de la tasa de crecimiento, para ello, se estimó el valor de la pendiente $y = mx + b$, que sustituida en términos de crecimiento miceliar la ecuación queda de la siguiente forma: $y = Ktx + C$, donde Kt = tasa de crecimiento, y = crecimiento mm/día, x = días transcurridos y C = factor constante (Gaitán-Hernández & Salmones, 2015).



15.4.2 SEGUNDO ESTUDIO PRELIMINAR

Una vez concluido el primer estudio preliminar se procedió a realizar el segundo estudio preliminar. Este estudio se realizó dependiendo de los %P/P de bagazo de caña en la que cada especie haya un obtenido un alto crecimiento en el estudio anterior, estos pueden coincidir en los mismos porcentajes, o simplemente que uno crezca en un menor %P/P de bagazo o mayor. Se descartó el que obtuvo un crecimiento micelar bajo. Una vez obtenido esos datos se procedió hacer lo siguiente:

15.4.2.1 PREPARACIÓN DEL SUSTRATO

Se realizó lo mismo que en el numeral 6.4.1.1

15.4.2.2 ESTERILIZACIÓN DEL SUELO

Se realizó lo mismo que en el numeral 6.4.1.2

15.4.2.3 MEZCLA DEL PETROLEO CRUDO (HC) Y SUELO

Una vez esterilizado el suelo, se debe calcular la masa del hidrocarburo necesario para contaminar el suelo total a utilizar a 40,000 ppm. Para este caso se empleó una regla de tres y queda de la siguiente forma:

Para:

$$40,000 \text{ ppm} = 40,000 \frac{\text{mg}}{\text{Kg}} \therefore 40,000 \frac{\text{mg}}{\text{Kg}} * \frac{1}{1000\text{mg}} = 40 \frac{\text{g}}{\text{Kg}}$$

Entonces:

$$\begin{array}{l} 1 \text{ Kg} \text{ ---} \rightarrow 40\text{g} \\ 67.5 \text{ ---} \rightarrow x \end{array} \quad x = 2.7 \text{ g de PC}$$

Una vez calculada la masa se procedió a realizar la mezcla del hidrocarburo con el suelo a contaminar, para ello se colocó la mitad de suelo en una charola metálica y gradualmente se agregó el PC, se mezcló y luego se agregó el resto del suelo hasta homogenizar el PC con el suelo, en su totalidad.



15.4.2.4 MEZCLA DE SUELO CONTAMINADO Y BAGAZO DE CAÑA

Se realizó lo mismo que en el numeral 6.4.1.3

15.4.2.5 CRECIMIENTO MICELIAR DEL HONGO IN VITRO

Se realizó lo mismo que en el numeral 6.4.1.4

15.4.2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se elaboró un diseño de dos factores con un arreglo de 2x1 por triplicado, el factor A con dos niveles que son las especies de hongos *P. sanguineus* y *G. multipileum* y el factor B el %P/P de bagazo de caña. Para determinar los efectos de las especies y el %P/P de bagazo de caña, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) multifactorial seguida de una prueba de rangos LSD. Se empleó el paquete estadístico Statgraphics Centurion © XVI. Para todos los casos se empleó un nivel de significancia de 0.05 ($\alpha=0.05$). los datos obtenidos se mostrarán en el apartado de resultados.

15.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Una vez finalizado el segundo estudio preliminar y con los datos obtenidos del %P/P de bagazo caña identificado y con la especie *G. multipileum* con el mayor crecimiento miceliar en suelo contaminado, se procedió a realizar el diseño experimental. El diseño se llevó a cabo en tazones de vidrio individuales de 15 cm de ancho X 10 cm de alto, para garantizar la Normalidad estadística para un tamaño de muestra de 80 g para un 25% P/P de bagazo de caña. Se evaluó el potencial de remediación de la especie del hongo, para degradar PC de fracción pesada a 40,000 ppm mediante una cinética de concentración de HTP con respecto a diferentes tiempos que son: 1, 7, 15, 30 y 45 días de exposición, además se evaluó que fracción del análisis S.A.R.A. tuvo mayor degradación. El diseño se muestra en la Tabla 6, con tres tratamientos por triplicado, cada tratamiento fue muestreado en los días 1, 7, 15, 30 y 45, dando un total de 36 UE.

15.5.1 PREPARACIÓN DEL SUSTRATO

Debido a que son 36 UE corresponde un total de 20 g de bagazo por tazón, para ello, se esterilizó un total de 720 g de bagazo de caña en peso seco y su preparación se realizó de la misma forma que en el numeral 6.4.1.1



Tabla 6. Tratamientos propuestos para la degradación de PC

Tratamiento	Tiempo (Días)	Repeticiones	Unidades Experimentales (UE)
T1 Suelo + Hidrocarburo	1	R1, R2, R3	12 UE
	15	R1, R2, R3	
	30	R1, R2, R3	
	45	R1, R2, R3	
T2 Suelo + Bagazo de Caña + Hidrocarburo	1	R1, R2, R3	12 UE
	15	R1, R2, R3	
	30	R1, R2, R3	
	45	R1, R2, R3	
T3 Hongo + Sustrato + Suelo + Hidrocarburo	1	R1, R2, R3	12 UE
	15	R1, R2, R3	
	30	R1, R2, R3	
	45	R1, R2, R3	

T1=tratamiento 1, T2=tratamiento 2, T3=tratamiento 3

15.5.2 ESTERILIZACIÓN DEL SUELO

Para este caso, corresponde un total de 60 g de suelo para cada tazón, dando un total de 2,160 g de suelo para las 36 UE. La esterilización se realizó de la misma forma que en el numeral 6.4.1.2

15.5.3 MEZCLA DEL PETROLEO CRUDO (HC) Y SUELO

Una vez esterilizado el suelo, se calculó la masa del hidrocarburo necesario para contaminar el suelo total a utilizar a 40,000 ppm, en este caso fueron 2.160 Kg y el cálculo fue de la siguiente forma empleando una regla de tres:

Para:

$$40,000 \text{ ppm} = 40,000 \frac{\text{mg}}{\text{Kg}} \therefore 40,000 \frac{\text{mg}}{\text{Kg}} * \frac{1}{1000\text{mg}} = 40 \frac{\text{g}}{\text{Kg}}$$

Entonces:

$$\begin{array}{l} 1000 \text{ g} \text{ --- } \rightarrow 40\text{g} \\ 2,160 \text{ g} \text{ --- } \rightarrow x \end{array} \quad x = 86.4 \text{ de PC}$$

La contaminación asistida del suelo se realizó de la misma forma que en el numeral 6.4.2.3.

15.5.4 MEZCLA DE SUELO CONTAMINADO Y BAGAZO DE CAÑA

Se realizó lo mismo que en el numeral 6.4.1.3 y se muestran en la Figura 41 y 42.



Figura 41. Bagazo humedecido



Figura 42. Bagazo mezclado con suelo contaminado

15.5.5 ACTIVACIÓN DE *G. multipileum* EN MAÍZ PALOMERO

Para reducir el consumo del medio de cultivo PDA se realizó la activación del hongo en maíz palomero. Primeramente, se tomaron 2 Kg de maíz y se hidrató por 12h en una bandeja, al termino se colocó en frascos de vidrio previamente esterilizados (Fig. 43) y se esterilizó en autoclave por 15 min a 120 °C. Al finalizar, se dejó enfriar y se inoculó el hongo *G. multipileum* con un cuadro de agar de 1 cm² con ayuda de mecheros (Fig. 44), posteriormente se dejó en oscuridad hasta propagar en su totalidad el maíz palomero, tal como se observa en la Figura 45.



Figura 43. Maíz palomero en frascos de vidrio



Figura 44. Maíz palomero esterilizado



Figura 45. Maíz palomero con crecimiento del hongo

15.5.6 CRECIMIENTO MICELIAR DE *G. multipileum*

Una vez realizadas las mezclas se colocó en tazones de vidrio (unidades experimentales "UE") previamente esterilizadas con medidas de 15 cm largo X 10 cm ancho. El lugar de trabajo y los materiales empleados fueron esterilizados para evitar algún tipo de contaminación en las UE. Para el tratamiento tres se colocaron semillas de maíz palomero con *G. multipileum* de forma distribuida sobre la mezcla para que la propagación del hongo fuera uniforme en la UE (Fig. 46), posteriormente se selló con una película plástica para evitar algún tipo de contaminación y se colocaron en oscuridad. A partir de los 7 días se realizaron agujeros en la película plástica, para favorecer la transferencia de oxígeno para *G. multipileum*.



Figura 46. Tazones con la mezcla de suelo contaminado, bagazo y *G. multipileum*



Figura 47. Extracción de muestra contaminada para su secado

Al término de los días 1, 7, 15, 30 y 45, se realizó un muestreo compuesto de los tazones procurando no remover la mezcla (Fig. 47). La muestra fue homogenizada y se secó a temperatura ambiente para retirar la humedad, luego se molió a un tamaño de poro de 2mm y se resguardo para su posterior análisis.

15.5.7 ANÁLISIS DE DEGRADACIÓN DE PETRÓLEO CRUDO

En este apartado se realizó el método gravimétrico EPA 3540C por Soxhlet, para conocer la concentración hidrocarburos totales de petróleo (HTP) para cada muestra. Una vez obtenido la extracción se empleó el análisis S.A.R.A. por medio de cromatografía en columna, para conocer que fracción degrada más el hongo *G. multipileum*.

15.5.7.1 EXTRACCIÓN DE HTP POR SOXHLET

Se tomaron los materiales que conforman el equipo de extracción por Soxhlet, un tubo condensador esférico, un tubo extractor Soxhlet, un matraz esférico de fondo plano de 125 mL el equipo se observa en la Figura 48. Luego se pesaron 5 g de muestra contaminada de suelo y se colocó dentro un cartucho que contendrá la muestra para la extracción de HTP. El cartucho se colocó dentro del tubo extractor Soxhlet y el matraz se rellenó con 100 mL de diclorometano.



Figura 48. Equipo Soxhlet con los cartuchos



Figura 49. Extractos de HTP con diclorometano

Por último, todo el equipo se colocó sobre una plancha térmica y se regula la temperatura a 40 °C, que es la temperatura del punto ebullición del diclorometano. Debido al tipo de textura que presentaba el suelo, el tiempo de extracción de HTP del suelo se estableció para un lapso de 10 h.

Una vez finalizada la extracción, el extracto (Fig. 49) fue colocado en un vaso de precipitado previamente pesado para facilitar la evaporación del solvente, una vez evaporado se pesaba nuevamente el vaso de precipitado con la muestra de HTP y se anotaba el peso. Como siguiente paso se estimó cual sería la masa presente de HTP en 5 g de suelo, de la siguiente forma:



Para:

$$40,000 \text{ ppm} = 40,000 \frac{\text{mg}}{\text{Kg}} \therefore 40,000 \frac{\text{mg}}{\text{Kg}} * \frac{1}{1000 \text{mg}} = 40 \frac{\text{g}}{\text{Kg}} \text{ de HTP en el suelo}$$

Entonces:

En 5 g de suelo cuánto de HTP hay presente (Ec.14):

$$HTP_{\text{suelo}} = HTP_{\text{total}} * mM = 40 \frac{\text{g}}{\text{Kg}} * 0.005 \text{ Kg} = 0.2 \text{ g de HTP} \quad \text{Ec. 14}$$

Donde:

HTP_{suelo} = masa de HTP presente en una cantidad de suelo

HTP_{total} = HTP total en un kilogramo de suelo

mM = masa de la muestra de suelo contaminado

Descrito lo anterior, cada 5 g de suelo contiene 0.200 g de HTP. Por lo tanto, los extractos de HTP de cada muestra se evaluaron de la siguiente forma (Ec. 15), para conocer la cantidad de HTP presentes.

$$HTP_{\text{real}} = \frac{mEHTP}{mM} \quad \text{Ec. 15}$$

Donde:

HTP_{real} = HTP real presente en la muestra de suelo en mg kg^{-1}

$mEHTP$ = masa del extracto de HTP evaporado en mg

mM = masa de la muestra de suelo contaminado en Kg

15.5.7.2 ANALISIS S.A.R.A. POR CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA

Una vez obtenidos las extracciones de todas las muestras se procedió a realizar el análisis S.A.R.A. primeramente se prepararon las columnas, para ello se tomaron pipetas Pasteur de vidrio, se agregó una base de algodón dentro de la pipeta para evitar que el material se salga, luego se agregó silica gel 2/3 partes de la columna previamente activada y en la parte restante se agregó sulfato de sodio (Fig. 50).

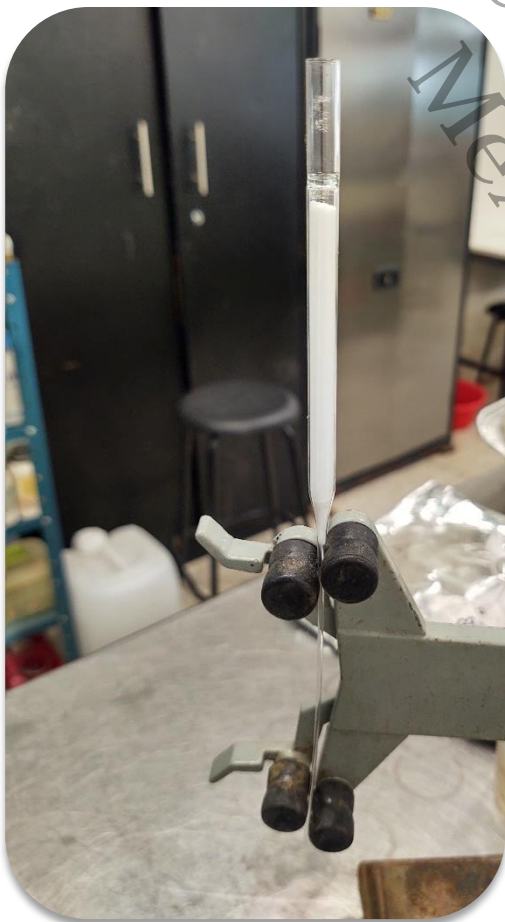
Para la separación de las fracciones de HTP se establecieron los siguientes solventes de forma ordenada y se observan en la Tabla 7.

Tabla 7. Solventes empleados para cada fracción S.A.R.A.

Fracción S.A.R.A.	Solvente
Saturados	Hexano ¹
Aromáticos	Tolueno ²
Resinas	Metanol/Cetona ^{3*}
Asfáltenos	Diferencia de Peso

*relación 1:1. 1= Diaz-Ramírez *et al.*, 2003; Caumette *et al.*, 2009; Kristanti *et al.*, 2011. 2= Kristanti *et al.*, 2011, Reyes *et al.*, 2012, Rakhmatullin *et al.*, 2020. 3= Diaz-Ramírez *et al.*, 2003; Kristanti *et al.*, 2011

Para llevar a cabo la separación de las fracciones S.A.R.A., los solventes deben agregarse de forma ordenada en la columna (Fig. 51), por lo que primeramente la fracción de saturados son los primeros en la extracción con la aplicación del hexano, una vez terminado se agrega el tolueno para la extracción de la fracción de aromáticos y, por último, se agrega una mezcla de metanol/cetona en una relación 1:1 (v:v) para la extracción de resinas.

**Figura 50.** Columna de sílice**Figura 51.** Aplicación de solvente para cada fracción

La columna de sílice fue humedecida con hexano hasta el goteo, luego se agregó cuidadosamente en su totalidad la muestra de HTP ya evaporada, mezclado con hexano, en la parte superior de la columna. Para realizar la extracción de la fracción saturados se agregó hexano, la extracción se recolectó en un vaso de precipitado previamente pesado. Una vez que se observa que el solvente ya es transparente se procedió a extraer la fracción de aromáticos con tolueno y nuevamente la extracción se recolectó en un vaso de precipitado. Una vez que el solvente se observa transparente se procedió a extraer la fracción de resinas para ello se agregó la mezcla de metanol/cetona y la extracción se recolectó nuevamente en un vaso de precipitado. La fracción de asfaltenos se obtiene por diferencia de pesos de la suma de las tres fracciones anteriores para una masa de HTP conocida. Todas las fracciones se evaporaron a temperatura ambiente, una vez evaporadas, se anotaron los pesos, para su posterior análisis. En la Figura 52 se observan las fracciones S.A.R. de izquierda a derecha.



Figura 52. Fracción de Saturados, Aromáticos y Resinas



15.5.7.3 ANÁLISIS FTIR

Las muestras de fracciones SARA fueron analizadas por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (Fourier transform infrared spectroscopy "FTIR" por sus siglas en inglés). Para ello, se tomaron los tubos que contenía cada fracción y se colocaron dentro del equipo para ser analizados. El equipo utilizado fue FTIR modelo Nicole is5 ZNSE con detector AIR diamon, marca Thermo Scientific. Los espectros fueron tomados en los rangos de 1152 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} .

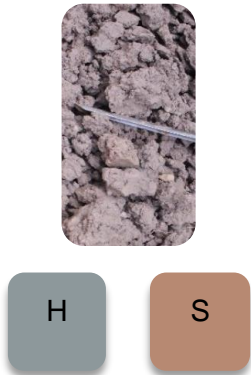
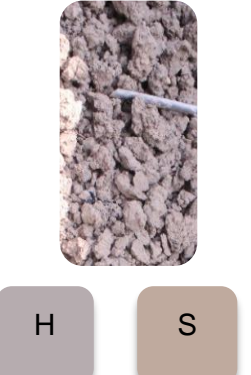
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

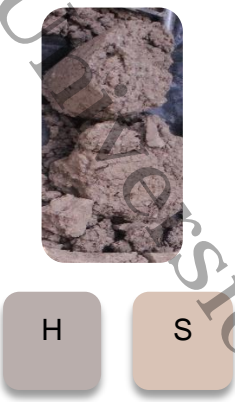
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

16.1 PERFIL EDAFOLÓGICO

El sitio de muestreo del perfil edafológico con coordenadas UTM 15Q 482051.70, 1998637 se describió de acuerdo con la notación de color de la tabla Munsell y guía para la descripción de suelos (FAO, 2009). Se realizó entre las 10:00 am y 2:00 pm con una profundidad de 140 cm. El sitio presentaba una alta densidad de vegetación, por lo que el lugar se tuvo que despejar. entre la vegetación se encontraban árboles, trepadoras, diversos tipos de pastos, entre otros. Y el perfil se describe en la Tabla 8.

Tabla 8. Descripción del perfil edafológico

Ilustración del perfil	Horizonte (Ho)	Profundidad (cm)	Descripción
	H1	0 – 36	Color base del suelo húmedo 5BP 6/1 gris azulado; formación de esfera y chorizo se establece que es un suelo limoso; ligeramente plástico; firme; grietas finas y superficiales. Color base del suelo en seco 5YR 6/4; muy duro; pocas moteas color 5YR 7/4; presencia de raíces medianas (M) y pocas (F); reactividad nula al ácido acético (CH ₃ -COOH); reactividad media al peróxido de hidrogeno (H ₂ O ₂); transición gradual a la siguiente capa de 6 cm.
	H2	36 – 90	Color base del suelo húmedo 5RP 7/1, morado-claro; gris; formación de esfera y chorizo; se establece que es un suelo limoso; ligeramente plástico; firme. Color base del suelo seco 5YR 7/2; muy duro; pocas moteas color 10YR 8/8: presencia de raíces finas (F) y muy pocas (V) y raíces gruesas (C) y muy pocas (V); reactividad nula al CH ₃ -COOH; reactividad media al H ₂ O ₂ ; transición gradual a la siguiente capa 10 cm.

	<p>H3</p>	<p>90 – 140</p>	<p>Color base del suelo húmedo 5R 7/1 rojo-claro, gris; formación de esfera y chorizo, se establece que es un suelo limoso; ligeramente plástico; firme. Color base del suelo seco 5YR 8/2; muy duro; pocas moteas color 5YR 8/4; sin presencia de raíces; reactividad al CH₃-COOH; reactividad mucha al H₂O₂.</p>
---	-----------	-----------------	---

H = suelo húmedo, S = suelo seco; H1 = horizonte 1, H2 = horizonte 2, H3 = horizonte 3

Para la realización del muestreo del perfil, se empleó una hoja de campo, donde se tomaron los datos principales al momento de la realización de un perfil edafológico y se visualiza en la Tabla 9.

En la Tabla 8 se observa la identificación de 3 horizontes (H1, H2 y H3). Se identificó el color de cada uno, en estado húmedo (H) y seco (S), y se representan gráficamente en la tabla en los recuadros coloreados. Se determinó para los todos los horizontes de acuerdo con las pruebas rápidas in situ, que el suelo es limoso debido a que se pudo realizar la esfera y el chorizo, pero no fue imposible de hacer el aro. En los horizontes H1 y H2, hubo presencia de raíces. Todos los horizontes presentaron moteas en tonalidades naranjas y no se observó evidencia de presencia de carbonatos (reacción al agregar ácido acético). En cambio, la aplicación del peróxido de hidrógeno se observó reacción en todos los horizontes, por lo que esto es un indicador de presencia de materia orgánica en el suelo.



Tabla 9. hoja de campo para la descripción de un perfil edafológico

DESCRIPCIÓN EDÁFICA DEL PERFIL						
Área de estudio	LABORATORIO DE SUELOS E HIDROCARBUROS, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (DACB)					
MUESTRA:	Perfil edafológico – Cunduacán					
Fecha	25/02/20	Clima: Despejado	Encargado (s)			
Coordenadas						
Coordenadas Geográficas				Coordenadas UTM (15Q)		
Latitud: 18° 4.579'N		Longitud: 93° 10.177'O		X: 482051.70		Y: 1998637
Profundidad	H1: 0-36cm	H2: 36-90cm	H3: 90-140cm		TOTAL: 140m	
Drenaje	Material parental				Subunidad	
DESCRIPCIÓN POR HORIZONTE						
Horizonte	H1		H2		H3	
Longitud	36 cm		54 cm		50 cm	
Humedad al tacto	Medio		Medio		Muy Alta	
Matriz de suelo	5YR 6/4		5YR 7/2		5YR 8/2	
Color Munsell	Dull orange		Light brownish - gray		Light gray	
Textura	Limosa		Limosa		Limosa	
Agregados	+	Sin presencia	+	Sin presencia	Sin presencia	
Raíces	+	Diámetro: M Abundancia: F	+	Diámetro: F Abundancia: V Diámetro: C Abundancia: V	+	Sin presencia
Biota	-	Sin presencia	-	Sin presencia	-	Sin presencia
Moteas	+	5YR 7/4 Dull orange	+	10YR 8/8 Yellow orange		5YR 8/4 Pale orange
Grietas	-	Finas y superficial	-	Sin presencia	-	Sin presencia
Olor						
Material antropogénico	-	Sin presencia	-	Sin presencia		Sin presencia
Materia orgánica visible	-	Muy poca		Sin presencia	+	Sin presencia
REACTIVIDAD						
CH ₃ COOH	+	Nula	+	Nula	+	Nula
H ₂ O ₂	+	Medio	+	Medio	+	Medio
HCl	-	Negativa	-	Negativa	-	Negativa
OBSERVACIONES:						



16.2 PARÁMETROS FISIQUÍMICOS DEL SUELO

La Tabla 10 muestran los resultados de los parámetros fisicoquímicos del suelo usado en el experimento.

Tabla 10. Resultados obtenidos de cada parámetro fisicoquímico del suelo

pH	CIC (Cmol/kg)	CE (dS/m)	%MO	DA (g/cm ³)	DR (g/cm ³)	%P	%CC	%A	%L	%R
6.62 ± 0.04	9.8 ± 0.03	0.128 ± 0.00	2.00 ± 0.00	1.28 ± 0.04	2.43 ± 0.02	47.17 ± 1.76	48.75 ± 0.01	41.65 ± 2.49	56.51 ± 2.29	1.84 ± 1.19

los datos están representados por la media ± la DE; n=5

De acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000, el pH obtenido está clasificado como un suelo neutro ya que se encuentra dentro del rango de 6.6 – 7.3. El pH es una medida de los iones hidrógenos del suelo y se influenciado por la presencia de elementos ácidos (H^+ , Na^+ , AlF^{+2} , Ca^{+2} , Zn^{+2}) frente a no ácidos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , $Al(OH)_4$), retenidos dentro la capacidad de intercambio catiónico. A valores de pH bajos <5.8 la disponibilidad de nutrientes, como el fósforo, nitrógeno, calcio, magnesio, disminuye, así como la actividad microbiana y aumenta la toxicidad de algunos elementos como Al^{+3} , que es muy tóxico para las plantas. En cambio, a valores altos de pH >7,5 la disponibilidad de fósforo, hierro, manganeso, cobre y zinc es limitada (Jackson *et al.*, 2014; Pepper & Gentry, 2015; Singh *et al.*, 2015)

El valor reportado de CE fue de 0.128 ± 0.00 (dS/m) la norma la clasifica con efectos despreciables de salinidad. La CE se utiliza para estimar la concentración de sales solubles y es una medida de la salinidad. La presencia de sales está relacionada con el material parental del suelo, sin embargo, algunos autores coinciden que estos valores dependen de la topografía, así como la existencia de un alto drenaje en el sitio, si no existiera, habría un considerable nivel de salinidad. Se correlaciona directamente con las propiedades del suelo como la textura, CIC, materia orgánica, salinidad y las características del subsuelo (Brevik *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2014; Tale & Ingole, 2015).

Por otra parte, los valores obtenidos del %MO fueron de $2.00\% \pm 0.00\%$, de acuerdo con la NOM-021 de la Tabla 3, se consideran que el contenido de materia orgánica del suelo (MOS) es mediana ya que se encuentra entre los rangos 1.6% a 3.5%. Por lo general, los valores la MOS se encuentran entre el 1% y 5% de la masa del suelo y estos valores dependen del uso del suelo, de las condiciones climáticas, del material parental, del relieve, la vegetación, así como del tiempo, entre otros. Por otra parte, la MOS ofrece beneficios al suelo como la formación de agregados, mejora de la infiltración, retención de agua, así



como una mejor plasticidad y su coloración oscura ayuda la absorción de la radiación solar y aumento de la temperatura, que a su vez beneficia a la actividad microbiana, germinación de semillas y crecimiento de plantas. Además, la MOS contiene diversas sustancias que contienen carbono y son la fracción biótica (raíces, animales y microorganismos) y la abiótica (residuos recién descompuestos o parcialmente descompuestos de la fracción biótica y materia orgánica altamente descompuesta: humus). Particularmente, la fracción abiótica se caracteriza por estar conformada por compuestos no húmicos (20-30% de la MOS), húmicos (60-80% de la MOS) y el carbono negro conocido como black carbon o char. La composición de las sustancias no húmicas se caracteriza por estar compuesta de celulosa, hemicelulosa, proteínas, ligninas, azúcares, almidón, polifenoles, ceras y grasas (Hatten & Liles, 2019; Singh *et al.*, 2014).

Para la DA se obtuvo un valor de $1.28 \pm 0.04 \text{ g/cm}^3$, de acuerdo con la NOM-021 en la Tabla 4, según estos valores se clasifica como un suelo francoso ya que se encuentra dentro de los rangos $1.20 - 1.32 \text{ g/cm}^3$. La DA es la masa de suelo seco por unidad de volumen expresado en g cm^{-3} . Esta medida nos ayuda a conocer el potencial de la falta de nutrientes, erosión y productividad de cultivos, además de ser un indicador del funcionamiento del suelo, aireación e infiltración. La porosidad está inversamente relacionado con la DA, a medida que aumenta la DA, disminuye la porosidad. La DA se puede ver afectada por factores como la biota del suelo, vegetación y prácticas mecánicas, actividad pecuaria, maquinaria agrícola, clima y la estación del año. (Almendro *et al.*, 2018; Upadhyay & Raghubanshi, 2020; Mobilian & Craft, 2022).

Los datos obtenidos para DR fueron de 2.43 ± 0.02 . La DR también conocida como gravedad específica o peso específico es la densidad de las partículas con independencia de su espacio poroso. Corresponde al cociente entre el peso de las partículas y el volumen que estas ocupan en volumen de agua y sus unidades son en g cm^{-3} . La DR ayuda a conocer la relación de vacíos, grado de saturación y porosidad, además de identificar y clasificar el tipo de suelo. Arenas: 2.65 – 2.67, Arena limosa: 2.67 – 2.70, arcilla inorgánica: 2.70 – 2.80, suelo con mica o hierro: 2.75 – 3.00, suelo inorgánico: 1.00 – 2.60. (Saibaba & Rama, 2002; Bowless, 2012; Lozano, 2016)

Para el caso del %P, se obtuvo un valor de 47.17 ± 1.76 . El %P se refiere a la porción de volumen del suelo que está ocupada por el espacio poroso o los vacíos y está expresado en porcentaje del volumen del suelo. Este parámetro se encuentra condicionada por el



tamaño, abundancia y distribución de poros. Existen varias clasificaciones del tamaño de poro, pero las más conocidas son 3 categorías: micro-(<2 nm), meso-(2-50 nm) y macroporos (>50 nm). El %P es importante ya que permite identificar el estado del flujo de agua y aire, así como la distribución de los nutrientes en el suelo. Y se ve afectada por diversos factores como densidad del empaquetamiento, distribución de partículas, forma de las partículas y la cementación, por otra parte, en términos hidrológicos se ve influenciada por la conductividad hidráulica, retención de agua, infiltración y la capacidad de agua disponible. Por otra parte, la actividad biológica, así como las raíces de las plantas dependen de la porosidad (Zdravkov *et al.*, 2007; Gonzalez 2012; Nimo, 2013; Rai *et al.*, 2017; Indoria *et al.*, 2020)

Los datos en la %CC fueron de 48.75 ± 0.01 , Rai *et al.* (2017) reporta datos de %CC obtenidos dependiendo de la textura de suelo en rangos de 0%, 0-25%, 25-50%, 50-75% y 75-100%, ya sea textura gruesa, media, fina o muy fina, dichos datos se reportan en la Tabla 28 en el apartado de **anexo 1**. el término %CC es la cantidad de humedad del suelo o el contenido de agua en el suelo después de una lluvia o riego en el suelo, generando un drenaje de agua por acción de la gravedad a partes más profundas, después de ello, la tasa de movimiento disminuye y a los 2 o 3 días posteriores el valor de %CC se tornará casi constante en toda la matriz. Este parámetro favorece a la absorción de agua y nutrientes para las plantas. Por otra parte, el %CC se ve influenciada por: la historia previa del agua del suelo, textura y estructura del suelo, tipo de arcilla, materia orgánica, temperatura, manto freático (table water), profundidad de humedecimiento, presencia de capas que impiden y evotranspiración (Kirkham, 2005; De Oliveira *et al.*, 2015; Rai *et al.*, 2017).

La textura es definida como el porcentaje relativo de la fracción de arena (0.063-2mm), limo (0.002-0.063 mm) y arcilla (<0.002) y es también conocida como como la distribución de tamaño de partículas del suelo. El suelo se clasifica de acuerdo con la textura y se realiza mediante el uso del triángulo textural derivado de los Estados Unidos. De acuerdo con los datos obtenidos para la textura del suelo, la fracción de arena fue de 41.65 ± 2.49 , la de limo de 56.51 ± 2.29 y la de arcilla fue de 1.84 ± 1.19 . Se ubicaron los valores en el triángulo textural y se identificó que el suelo es de textura franco-limoso. La textura influencia el movimiento del agua, solutos, nutrientes a diferentes profundidades, fertilidad, además se asocia directamente con la porosidad, retención de agua, difusión gaseosa como la aireación y el flujo del agua. Existen partículas más grandes que las arenas de las fracciones anteriormente mencionadas y se denominan fragmentos gruesos y son la grava



(2-64 mm), adoquines (64 – 256 mm) y cantos rodados (>256 mm). (Tale & Ingole, 2015; Rai *et al.*, 2017; Hatten & Liles, 2019; Indoria *et al.*, 2020; Upadhyay & Raghubanshi, 2020).

16.3 GRADOS API

Los grados API se realizaron de acuerdo con el método ASTM (2006) con modificaciones para la obtención de PC de fracción pesada. En la Tabla 11, se muestran los datos empleados para la elaboración de la curva para generar la ecuación de la pendiente $y=mx+b$. para ello, se graficaron los 11 datos de grados API con respecto a la temperatura y la ecuación de la recta se muestra en la Figura 53.

Tabla 11. Datos para el cálculo de grados API para la obtención de la ecuación de la pendiente

Repetición	Densidad	Temperatura	°API
1	0.9316	24	20.38
2	0.9281	27	20.96
3	0.92796	27.5	20.98
4	0.92786	28	21.00
5	0.92346	31	21.72
6	0.9210	33	22.13
7	0.91632	37	22.92
8	0.9146	38	23.21
9	0.91214	41	23.62
10	0.91078	44	23.86
11	0.9073	45	24.45

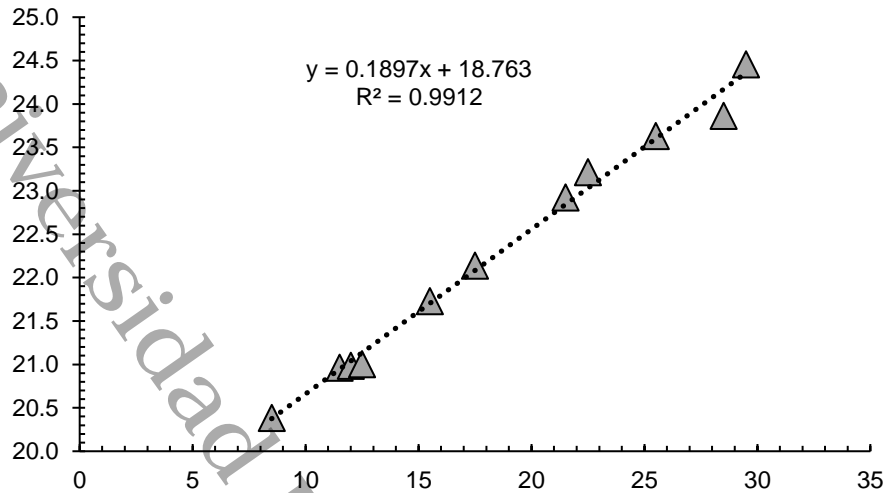


Figura 53. Grados API

Una vez graficados los datos se obtuvo la ecuación de la pendiente $y = 0.1897x + 18.763$, siendo “x” la temperatura. Debido a que el método ASTM (2006) sugiere que las temperaturas sean corregidas se realizaron los cálculos para calcular la diferencia de la temperatura observada con la sugerida en el cálculo de grados API, que es a 15.5 °C. Una vez realizado, se aplicó la ecuación de la recta sustituyendo la variable “x” para cada temperatura normalizada y con ello se obtuvieron los grados API normalizados.

Tabla 12. Datos empleados para la obtención de grados API normalizados y la obtención de la ecuación de la pendiente

Repetición	Temperatura	°API	Temperatura Normalizada	°API Normalizados
1	24	20.38	8.5	20.37
2	27	20.96	11.5	20.94
3	27.5	20.98	12	21.03
4	28	21.00	12.5	21.13
5	31	21.72	15.5	21.70
6	33	22.13	17.5	22.08
7	37	22.92	21.5	22.84
8	38	23.21	22.5	23.03
9	41	23.62	25.5	23.60
10	44	23.86	28.5	24.16
11	45	24.45	29.5	24.35



Se graficaron los nuevos datos de la temperatura normalizada de la Tabla 12 con respecto a los grados API normalizados y se observa en la Figura 54.

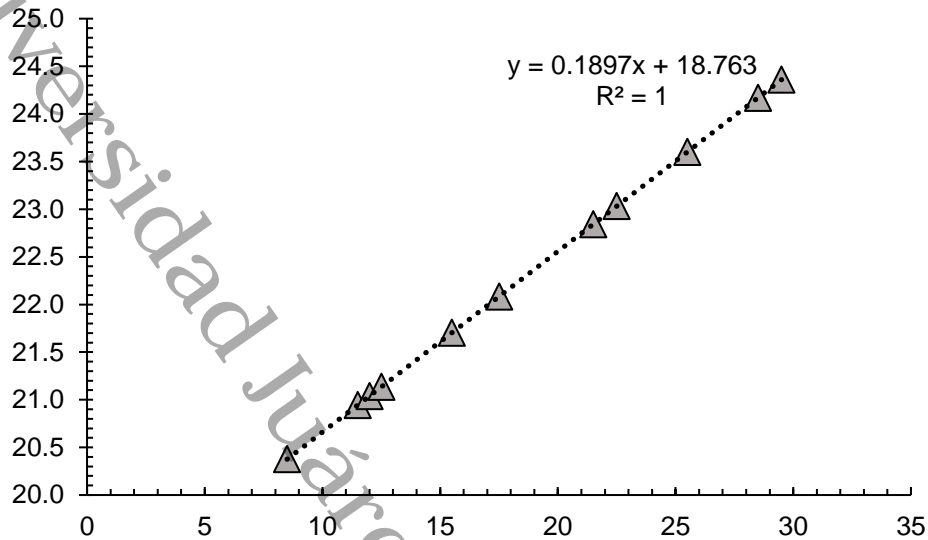


Figura 54. Grados API normalizados

La aplicación de la normalización enteramente estabiliza la ecuación de la recta dando un coeficiente de determinación de $R^2 = 1$ y se obtiene la ecuación de la pendiente $y=0.1897x + 18.763$.

Tabla 13. Estadística descriptiva de los grados API y Grados API normalizados

	\bar{x}	DE
Grados API	22.298	1.389
Grados API normalizados	18.76	1.383

En la Tabla 13 se reportan la estadística descriptiva para los grados API y grados API normalizados. Por último, se determina que el PC tiene un valor de grados API de 18.76 ± 1.38 y de acuerdo con Marin-Garcia et al. (2016) este valor se encuentra dentro del rango 10.0 - 22.3 y corresponde a la fracción pesada.



16.4 ESTUDIO PRELIMINAR 1

Como se mencionó antes, este estudio evalúa el crecimiento micelial de la especie *P. sanguineus* y *G. multipileum*, en una mezcla de bagazo de caña con suelo en tubos de ensayo. En la Tabla 14 se muestran los crecimientos totales a lo largo del tiempo de incubación expresado en cm para cada especie, las mediciones se realizaron cada cuatro días para cada %(P/P) de bagazo de caña al 15%, 25%, y 35%.

Tabla 14. Medias de longitud crecimiento diario acumulado micelial de *G. multipileum* y *P. sanguineus* en bagazo de caña

Especie	%(P/P) bagazo	Días de incubación (cm)				
		4	8	12	16	20
<i>G. multipileum</i>	15	2.7±0.18	5.10±0.35	7.3±0.00	---	---
	25	2.57±0.43	4.75±0.54	8.15±0.40	---	---
	35	2.35±0.23	4.57±0.33	8.00±0.35	10.52±0.33	---
<i>P. sanguineus</i>	15	1.55±0.25	3.16±0.26	5.81±0.42	---	---
	25	1.93±0.20	3.65±0.20	6.36±0.19	8.66±0.05	---
	35	2.01±0.07	3.58±0.20	6.16±0.15	8.76±0.16	10.6±0.00

Los datos están representados por media ± DE. n=3

Por otra parte, en la Tabla 15 se muestran las medias de crecimiento que se obtienen entre los días de medición, es decir cada cuatro días. Son prácticamente la diferencia de cierto día con el día siguiente y esa diferencia son estos valores.

Tabla 15. Medias de crecimiento micelial parcial cada 4 días de *G. multipileum* y *P. sanguineus* en bagazo de caña

Especie	%(P/P) de Bagazo de Caña (cm/día)		
	15%	25%	35%
<i>G. multipileum</i>	2.43±0.00 ^a	2.75±0.13 ^b	2.65±0.07 ^b
<i>P. sanguineus</i>	1.93±0.14 ^a	2.12±0.04 ^a	2.05±0.05 ^a

Valores con diferente letra en la misma fila indican diferencia significativa y están representados por la media ± DE, p<0.05. n=3



Son escasos los estudios para la comparación de crecimientos miceliares en bagazo de caña, ya sea los crecimientos por cada número días o crecimientos entre los días, particularmente con las especies de hongos empleadas, Sin embargo, los estudios compilados reportan crecimientos miceliares para otras especies del mismo género.

Comparando los resultados para *G. multipileum* de la Tabla 14, las medias de crecimiento para 15%, 25% y 35% (P/P) de bagazo fueron de 7.3 cm, 8.15 cm y 10.52 cm, respectivamente. Bellere, (2018) reporta que obtuvo crecimientos de *G. curtisii* valores de 8.66 cm al sexto día de haberlas cultivado en medio de cultivo hecho de gelatina blanca con agua de coco. Por otra parte; Fletcher et al. (2019) reportaron crecimientos miceliares de *G. lucidum* con un valor de 9.03 cm a los 12 de incubación en medio de cultivo PDA, en este contexto, Hernández y Sánchez (2021) mencionan que obtuvieron crecimientos miceliares de *G. lucidum* con un valor de 8.325 cm a los 12 días de incubación en medio de cultivo PDA. Además, De Porto et al. (2011) menciona que obtuvo crecimientos con *G. lucidum* 8 cm a los 15 días de incubación empleando sustratos como el aserrín y cascara de cupoazú; Jo et al. (2009), reporta que obtuvo crecimientos con *G. applanatum* un valor de 0.84 cm a los 5 días de incubación en medio de cultivo PDA. Todos estos valores son mayores a los obtenidos a los 12 y 15 días a comparación con el obtenido por Jo et al. (2009) a los 5 días.

Para el caso de la especie *P. sanguineus* las medias crecimiento (Tabla 14) para 15%, 25% y 35% (P/P) fueron de 5.81 cm, 8.66 cm y 10.6 cm, respectivamente. De acuerdo a Shittu et al. (2005) reportó que obtuvo para *P. sanguineus* un crecimiento de 8 cm a los 7 días de incubación en medio agar dextrosa saboraud. Cruz-Muñoz et al. (2015) reportó un crecimiento de *P. sanguineus* de 7.98 cm en medio de cultivo EMaA (agar extracto de mango) a los 15 días de incubación. Sharma & Jaitly (2017) reportaron crecimientos para *P. sanguineus* y *P. cinnabarinus* de 2.5 cm a los 15 días de incubación para ambas especies. Por otra parte, Sutthisa & Sanoamuang (2017) reportaron un crecimiento para *P. coccineus* de 3.30 cm a los 7 días de incubación en caldo de papa dextrosa. Dulay and Damaso (2020) reportaron crecimientos para *P. sanguineus* de 8.2 cm a los 4 días de incubación en caldo de agar de papa con sacarosa. Portz et al. (2022) reportó crecimientos para *P. sanguineus* de 4.22 cm a los 14 días de incubación en aserrín de eucalipto. Por último, Backes et al. (2023) reportó crecimientos para *P. sanguineus* de 8 cm a los 5 días de incubación en medio de cultivo PDA.



La Figura 55 y 56 son la representación gráfica de la Tabla 15. Relacionando, se observa que para la especie *G. multipileum* al 15% P/P de bagazo es diferente del resto con un valor de 2.43 ± 0.00 , en cambio los valores obtenidos para el 25% y 35% no presentan diferencias significativas entre ellas. Por otra parte, para la especie *P. sanguineus*, todos sus valores no presentaron diferencias significativas, tal como se observa en la Figura 56.

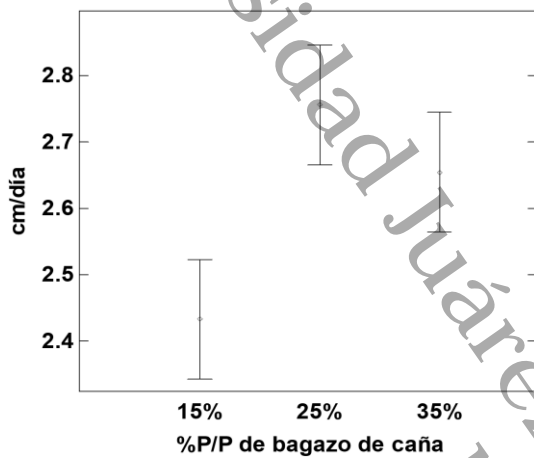


Figura 55. Medias de Crecimiento micelar de *G. multipileum*

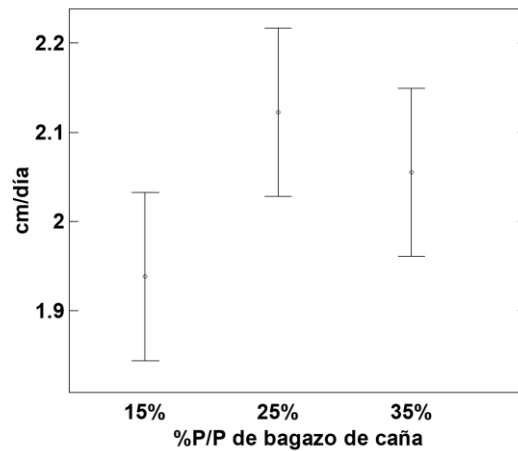


Figura 56. Medias de Crecimiento micelar de *P. sanguineus*

Debido a que los datos cumplen las postulaciones de la estadística paramétrica (independencia, normalidad y homocedasticidad) se realizó un ANOVA multifactorial de dos factores, para conocer las diferencias los %P/P de bagazo de caña. Los datos son los siguientes:

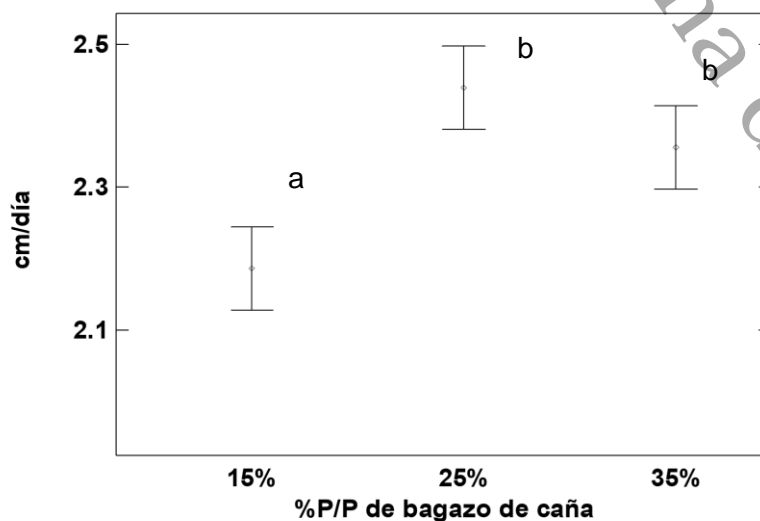


Figura 57. Comparación de medias de %P/P de bagazo de caña entre especies

La Figura 57, evalúa el efecto del crecimiento con respecto a los diferentes %P/P de bagazo de caña. Los resultados del ANOVA reportan que existen diferencias altamente significativas entre los diferentes %P/P de bagazo de caña con un valor de $p < 0.0015$. De acuerdo a los datos, el 15% de bagazo de caña fue la que presentó diferencias significativas con respecto al resto, con un valor de 2.18 ± 0.28 cm/día. Por otra parte, los %P/P de 25% y 35% no presentaron diferencias y sus valores fueron de 2.43 ± 0.35 y 2.35 ± 0.33 cm/día, respectivamente, siendo el 25% P/P de bagazo con el mayor crecimiento miceliar.

De acuerdo con los autores citados es más factible evaluar el crecimiento miceliar de una especie de hongo, mediante la obtención de la ecuación de la pendiente $y=mx+b$, para ello se grafica el crecimiento con respecto a los días transcurridos, una vez obtenida la ecuación $y=mx+b$ la ecuación pasa a términos de crecimiento $y = Kr x + C$, siendo Kr la tasa de crecimiento, así como lo menciona Zerkavis et al. (2001).

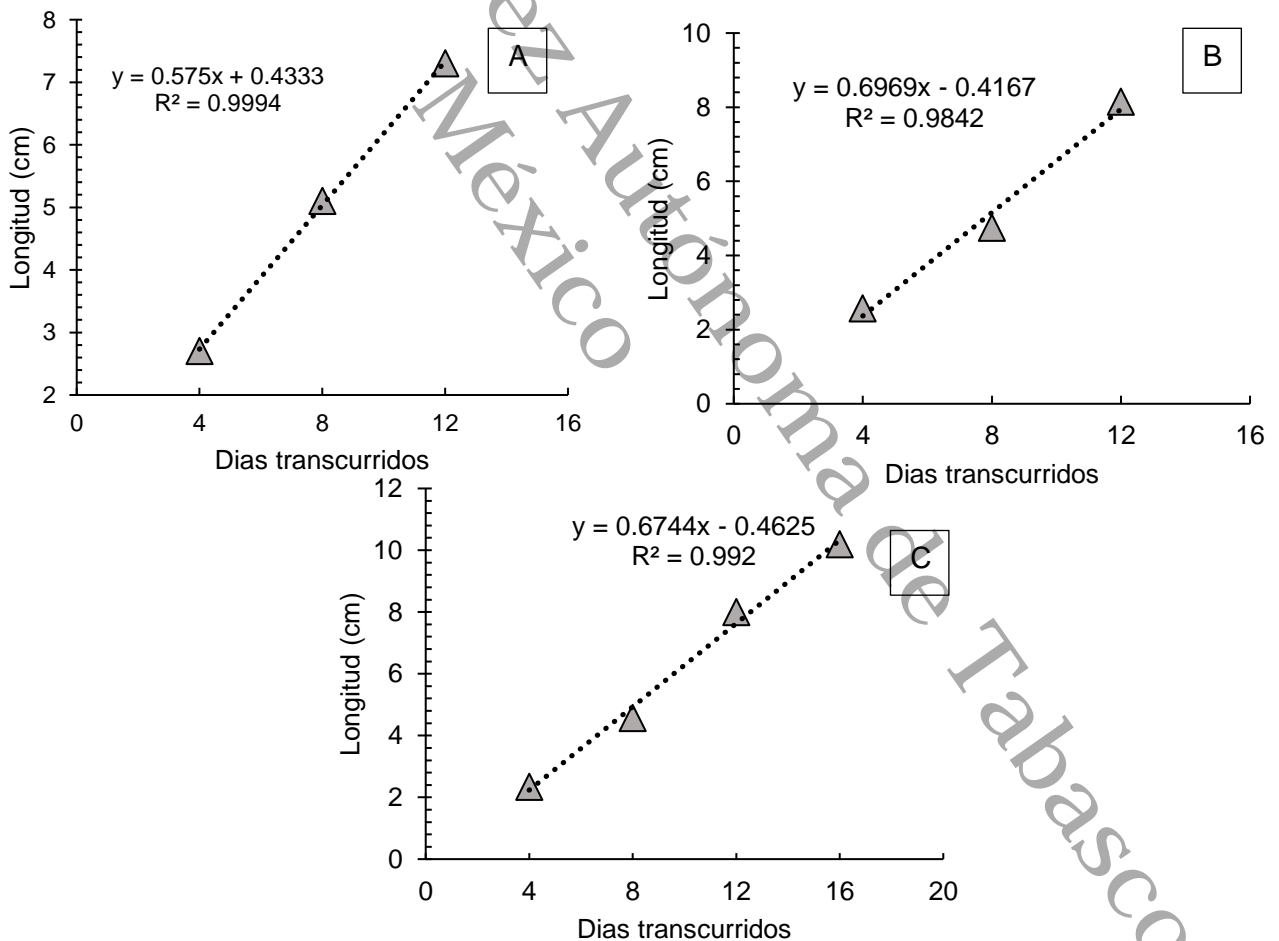


Figura 58. Crecimiento miceliar con respecto a los días transcurridos de *G. multipileum* para los %P/P de bagazo de caña del A: 15%, B: 25% y C: 35%

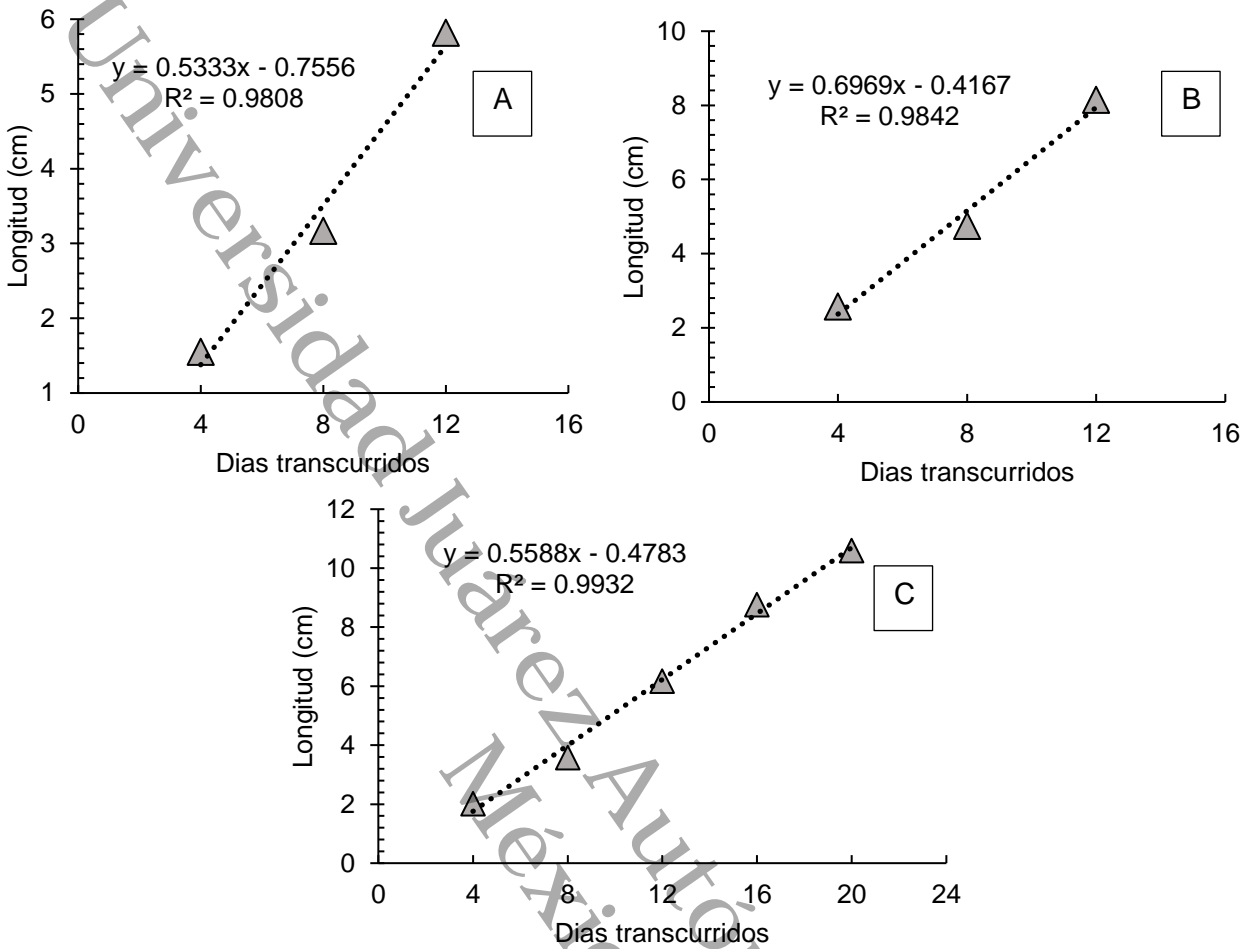


Figura 59. Crecimiento micelial con respecto a los días transcurridos de *P. sanguineus* para los %P/P de bagazo de caña del A: 15%, B: 25% y C: 35%

La Figura 58 reporta las ecuaciones de la pendiente con sus respectivas tasas de crecimiento para la especie *G. multipileum* y las Figura 59 reportan las ecuaciones de la pendiente para la especie *P. sanguineus*. Las tasas de crecimiento se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16. Tasas de crecimiento de la especie *G. multipileum* y *P. sanguineus*

Especies	%P/P de bagazo (cm/día)		
	15%	25%	35%
<i>G. multipileum</i>	0.575	0.696	0.674
<i>P. sanguineus</i>	0.533	0.572	0.558



G. multipileum obtuvo en al 25% (P/P) la mayor tasa de crecimiento con un valor de 0.696 cm/día, de acuerdo a Hsieh & Yang (2004) mencionan que obtuvieron una tasa de crecimiento de 0.55 y 0.6 cm/día para *G. lucidum*, Koutrotsios et al. (2019) obtuvo una tasa de crecimiento de 0.70 cm/día para *G. lucidum* para un tiempo de incubación de 43 días, Zhang et al. (2019) obtuvo una tasa de crecimiento de 0.57 cm/día para *G. lucidum* en una mezcla de cascara de semilla de algodón, salvado de trigo, harina de maíz y yeso, Hernández & Sánchez (2021) reportan que obtuvieron una alta tasa de crecimiento de 0.70 cm/día para un tiempo de incubación de 12 días y por último, Subedi et al. (2021) obtuvo altas tasas de crecimiento para *G. lucidum* valores entre 0.8 a 0.9 y 1.0 a 1.2 cm/día para un tiempo de incubación de cuatro días. El valor obtenido y comparado con el de los autores se encuentra entre los mencionados en un rango de 0.55 a 1.2 cm/día.

P. sanguineus obtuvo de igual manera una alta tasa de crecimiento al 25% (P/P) de bagazo de caña con un valor de 0.572 cm/día, de acuerdo con Labanjun (2005) obtuvo un alto crecimiento para *P. cinnabarinus* de 1.28 cm/día en medio de cultivo PCA (agar de recuento en placa) a los siete días de incubación. Shittu et al. (2005) obtuvo una tasa de crecimiento para *P. cinnabarinus* de 1.19 cm/día a los siete días de incubación en medio de cultivo agar dextrosa saboraud. Sharma & Jaitly (2017) reportaron tasas de crecimiento de para *P. cinnabarinus* y *P. sanguineus* de 0.46 y 0.48 cm/día respectivamente, a los 15 días de incubación. Por último, Mendoza et al. (2020) obtuvo para *P. sanguineus* un alto de crecimiento de 0.640 cm/día a los 25 días de incubación en medio de cultivo con agua de coco. El valor obtenido con el de los autores se encuentra en un rango de 0.46 a 1.28 cm/día.



16.5 ESTUDIO PRELIMINAR 2

Para la realización de este estudio se consideró seleccionar los valores obtenidos en las tasas de crecimiento. Ambas especies obtuvieron un alto crecimiento miceliar al 25 %P/P de bagazo de caña con un valor de 0.696 y 0.572 cm/día, para la especie *G. multipileum* y *P. sanguineus*, respectivamente, como se mencionó anteriormente. En este apartado se evaluó el crecimiento miceliar en suelo contaminado con HTP a 40,000 mezclado con bagazo de caña al 25% (P/P) y los datos se presentan a continuación. En la Tabla 17 se muestran los crecimientos totales a lo largo del tiempo de incubación expresado en cm para cada especie, las mediciones se realizaron cada cuatro días durante 16 días para cada especie.

Tabla 17. Medias de longitud de crecimiento miceliar de la especie *G. multipileum* y *P. sanguineus* a 40,000 ppm.

Especie	% (P/P) bagazo	Días de incubación (cm)			
		4	8	12	16
<i>G. multipileum</i>	25	1.41±0.11	4.32±0.19	7.38±0.31	10.18±0.19
<i>P. sanguineus</i>	25	1.21±0.32	3.77±0.37	6.54±0.47	9.23±0.61

Los datos están representados por la media ± DE. n=5.

Por otra parte, en la Tabla 18 se muestran las medias de crecimiento que se obtienen entre los días de medición, es decir cada 4 días. Son prácticamente la diferencia de cierto día con el día siguiente y esa diferencia son estos valores.

Tabla 18. Medias de crecimiento miceliar parcial cada 4 días de la especie *G. multipileum* y *P. sanguineus* a 40,000 ppm

Especie	% (P/P) de Bagazo de caña (cm/día)
	25%
<i>G. multipileum</i>	2.52 ± 0.1
<i>P. sanguineus</i>	2.43 ± 0.27

Como se mencionó anteriormente en el primer estudio preliminar, los datos referentes al crecimiento miceliar para compararlos con otros autores, son altamente escasos sobre todo en crecimiento miceliar en suelo contaminado con HTP a 40,000 ppm, hablando de forma general y específica para las especies de hongo de la podredumbre blanca (HPB).

Comparando los resultados de la Tabla 17. Los siguientes autores reportaron crecimiento miceliar en derivados de hidrocarburos usando diferentes especies de hongos de la podredumbre blanca. Jayasinghe et al. (2008) reportó crecimientos en *Ganoderma lucidum*, *Pycnoporus cinnabarinus* y *Pycnoporus coccineus* valores de 4.4 ± 0.5 cm, 5.3 ± 0.1 cm y 7.3 ± 0.2 cm, respectivamente, a los 10 días de incubación en medio de cultivo PDA en combinación con tintes aromáticos. Por otra parte, Montejo-Mayo et al. (2020) reportó crecimientos miceliares para el HPB *Trametes versicolor* un valor de 8 cm a los 15 días de incubación expuesto a un compuesto orgánico volátil N,N-Dimetilcetilamina.

De acuerdo con los datos presentados en la Tabla 18, para la evaluación estadística se determinó que los datos son independientes, pero no cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad, por lo que se realizó una prueba de Kruskal–Wallis para conocer la diferencia entre medianas. Los datos están representados por la mediana \pm rango intercuartil.

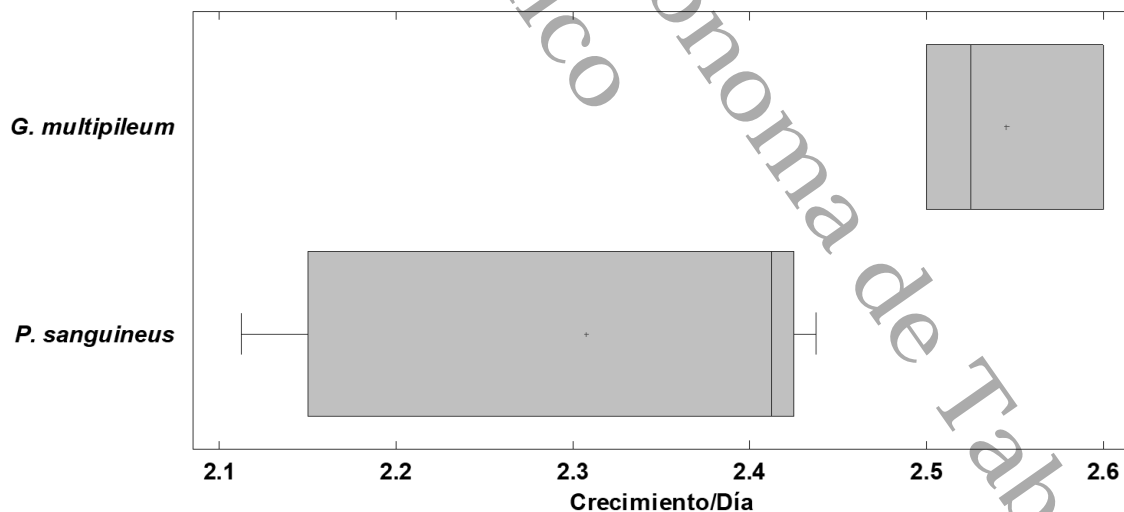


Figura 60. Gráfico de caja y bigotes de medianas de crecimiento miceliar

Los resultados de la prueba demostraron que existen diferencias significativas entre las especies ya que el valor de $p=0.00860885$. De acuerdo a la Figura 60, se puede observar que la especie *P. sanguineus* tiene una mayor distribución de datos a comparación de la



especie *G. multipileum*. La especie *G. multipileum* tiene una menor distribución, por lo que hay menos variabilidad, obtuvo un mayor crecimiento miceliar con un valor de 2.52 ± 0.1 cm/día, en cambio *P. sanguineus* obtuvo un valor de 2.41 ± 0.27 cm/día.

En las Figuras 61 y 62 se muestran las ecuaciones de la pendiente con sus respectivas tasas de crecimiento de ambas especies.

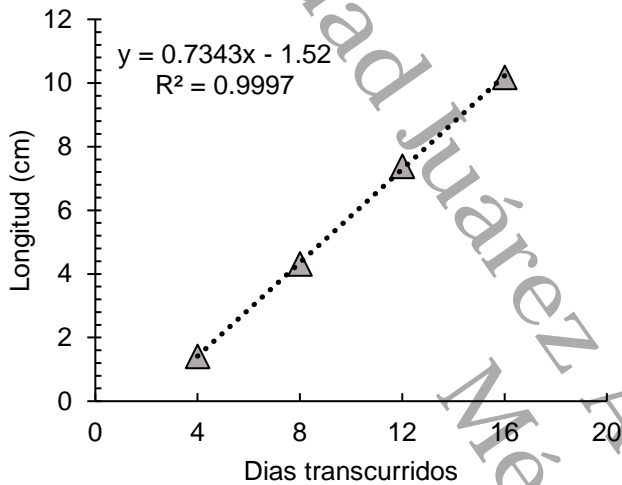


Figura 61. Tasa de crecimiento miceliar de *G. multipileum*

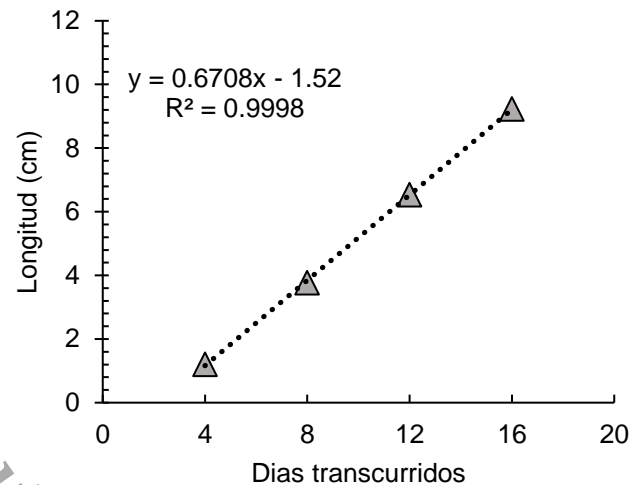


Figura 62. Tasa de crecimiento miceliar de *P. sanguineus*

En la Tabla 19 se presentan las tasas de crecimiento obtenido para especie. Se observa claramente que *G. multipileum* fue la que obtuvo la mayor tasa de crecimiento miceliar con un valor de 0.7343 cm/día a comparación de la especie *P. sanguineus* con un valor de 0.6708 cm/día, por lo que se procederá a descartarla. Debido a la escasez de estudios para la comparación de tasas de crecimiento miceliar en HTP, no hubo un punto de comparación.

Tabla 19. Tasas de crecimiento miceliar de ambas especies al 25% (P/P) de bagazo de caña

Especies	% (P/P) bagazo de caña (cm/día)	
	25%	
<i>G. multipileum</i>	0.7343	
<i>P. sanguineus</i>	0.6708	



16.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

Retomando los datos los resultados del primer estudio preliminar se determinó que el diseño se realizara al 25% (P/P) de bagazo de caña y respecto al segundo estudio preliminar, se descartó la especie *P. sanguineus*, por obtener el menor crecimiento micelial en suelo contaminado con HTP a 40,000 ppm y se seleccionó la especie *G. multipileum*.

Debido a la escasez de estudios relacionados a degradaciones de HTP y de fracciones de hidrocarburos aplicando la especie *G. multipileum*, los resultados se compararon con otras especies que fueron empleadas que pertenecen a al mismo grupo de hongos de la podredumbre blanca, sin embargo, son pocos los estudios compilados.

16.6.1 DEGRADACIÓN DE HTP

A continuación, en la Tabla 20 se presentan las medias de extracción de HTP para cada tratamiento (T1 = suelo + HC; T2 = suelo + bagazo + HC; T3= suelo + bagazo + HC + Hongo), tanto la masa de HTP en gramos y en ppm. Se puede observar claramente que tanto el T1 y T2 las degradaciones con respecto al tiempo es similar y menor que la observada en el T3. En la Figura 63 se representa gráficamente los datos de la Tabla 20 para tener una mejor percepción.

Tabla 20. Estadística descriptiva de la degradación de HTP para cada tratamiento

Tratamientos	Días	HTP extraído (g)	HTP (ppm)
T1	1	0.200 ± 0.00	40,000 ± 115.47
	7	0.200 ± 0.00	40,000 ± 115.47
	15	0.199 ± 0.00	39,800 ± 200.00
	30	0.198 ± 0.00	39,800 ± 305.50
	45	0.198 ± 0.00	39,800 ± 115.47
T2	1	0.200 ± 0.00	40,000 ± 200.00
	7	0.200 ± 0.00	40,000 ± 230.94
	15	0.199 ± 0.00	39,800 ± 230.94
	30	0.198 ± 0.00	39,600 ± 529.15
	45	0.198 ± 0.00	39,600 ± 416.33
T3	1	0.200 ± 0.00	40,000 ± 0.00
	7	0.181 ± 0.00	36,200 ± 346.41
	15	0.173 ± 0.00	34,533 ± 808.29
	30	0.166 ± 0.00	33,133 ± 642.91
	45	0.159 ± 0.00	31,186 ± 230.94

Los datos están representados por la media ± DE. n=3.

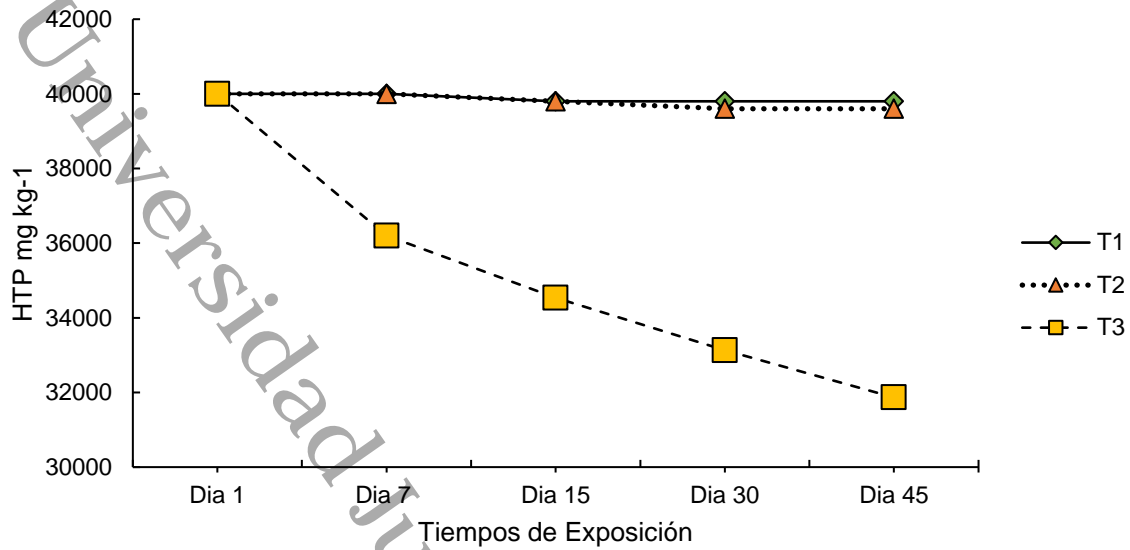


Figura 63. Cinética de degradación de HTP para el T1, T2 y T3

Posteriormente se realizó el análisis estadístico correspondiente. Los datos cumplieron los postulados de la independencia, pero no cumplió los de normalidad y homocedasticidad, por ello los datos fueron evaluados aplicando la prueba de Kruskal-Wallis obteniendo un valor de $p=0.000071651$, indicando que es altamente significativo, para conocer la diferencia entre medianas para cada tratamiento. Los datos están representados por la mediana \pm rango intercuartil.

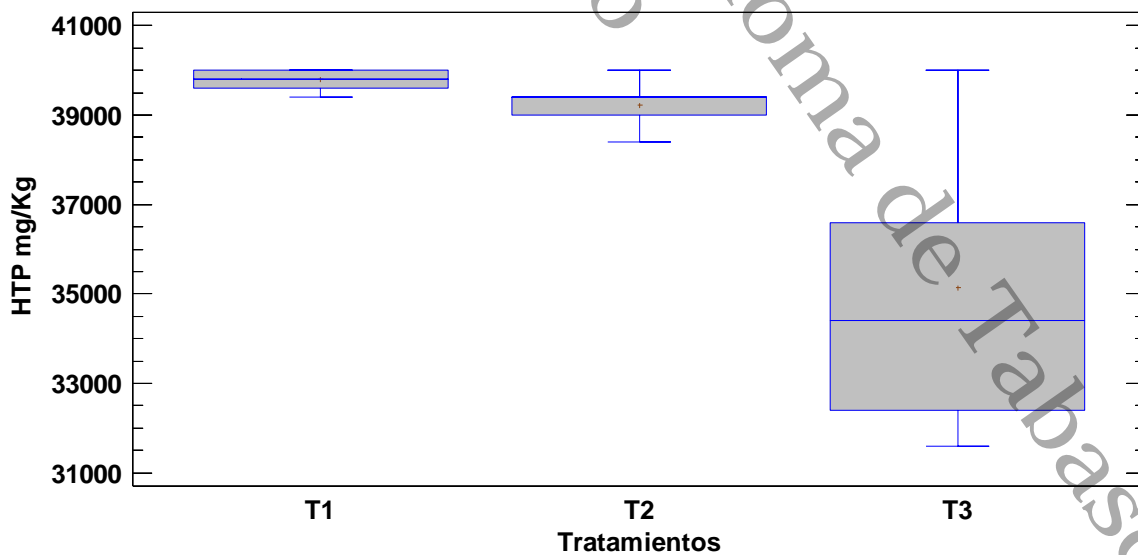


Figura 64. Gráfico de caja y bigote de degradación de HTP



De acuerdo a la Figura 64, se reporta que el T1, T2 y T3 obtuvieron valores de $39,800 \pm 400.00$, $39,400 \pm 400$ y $34,400 \pm 4,200$, respectivamente. El T3 es la que contiene el hongo y por lo tanto es la que presentó más degradación a comparación del resto de los tratamientos, sin embargo, su distribución de datos es mucho mayor. Una de las razones por las que se haya observado degradaciones en el T1 y T2 puede deberse a la temperatura ($120\text{ }^{\circ}\text{C}$) al que fue sometido el suelo durante el proceso de esterilización, esto resulta ser similar a un tratamiento térmico de suelo contaminado por hidrocarburos, ya que se emplean temperaturas mayores a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ para la volatilización de los mismos (Vidonish *et al.*, 2016); sin embargo, Zamani *et al.* (2015) reportaron en su trabajo una comparación de los niveles de HTP de un suelo contaminado, esterilizado y no esterilizado, los resultados de las concentraciones fueron mínimas con valores de 21.8 mg/Kg y 21.6 mg/Kg , respectivamente. otra razón, pudiera estar asociada a la presencia de microbiota autóctona que haya resistido la esterilización, así como también puede estar relacionado a procesos de sorción de parte del bagazo de caña o transformación química de los hidrocarburos (Pérez-Armendariz *et al.*, 2003; Pérez-Armendariz *et al.*, 2010). La degradación del T3 está asociada a la presencia del hongo, autores como Kristanti *et al.* (2011) realizó un estudio donde empleó la especie *Polyporus sp.* para remediar 3000 mg de petróleo crudo en 200 g de suelo a una temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 60 días, la concentración de HTP disminuyó a menos de 1500 mg . Por otra parte, Castro *et al.* (2022) reporta la aplicación de bagazo de caña en biopilas para la degradación de todos aceitosos, los resultados mostraron degradaciones de HTP del 40% a 60% a los 240 días. Mohammadi-Sichani *et al.* (2019), en su estudio empleó hongos de la podredumbre blanca, entre ellas la especie *Ganoderma lucidum*, para degradar HTP de un suelo contaminado proveniente de una refinera, los resultados reportaron que el hongo obtuvo degradaciones del 57.7% a los 3 meses de incubación. Por último, Yateem *et al.* (1997) empleo hongos de la podredumbre blanca (*Phanerochaete chrysosporium*, *Corolius versicolor* y *Pleurotus ostreatus*) para remediar un suelo contaminado con hidrocarburos con 31 g/Kg de HTP, *C. versicolor* fue el hongo con un alto porcentaje de remoción del 77.1% a los 12 meses de incubación. Cabe destacar que los estudios mencionados, los tiempos considerados para degradar son muy altas, y dependerá también de la fracción que se requiera degradar ya sea fracción ligera, mediana o pesada.



16.6.2 CINÉTICA DE BIORREMEDIACIÓN Y TIEMPO DE VIDA MEDIA DE HTP

La aplicación del análisis cinético es clave para conocer el proceso de biodegradación de un elemento, así como su velocidad y eliminación. Para este caso, se trata un suelo contaminado por hidrocarburos. Las cinéticas son esenciales, porque también permiten caracterizar la concentración del contaminante sin degradar, en cualquier momento, además de que permite conocer el nivel que probablemente estará presente en un futuro (Zahed *et al.*, 2011). La biodegradabilidad del petróleo crudo por lo general y de acuerdo con diversos autores (Gearing & Gearing 1983; Heitkamp *et al.*, 1987; Heitkamp & Cerniglla 1987; Venosa *et al.*, 1996; Holder *et al.*, 1999; Seabra *et al.*, 1999; Winningham *et al.*, 1999; Grossi *et al.*, 2002; Namkoonga *et al.*, 2002; Hçhener *et al.*, 2003;) se explica aplicando la cinética de primer orden y es similar a la pendiente de una recta $y = mx + b$ (Ec. 16):

$$\ln[C] = -kt + \ln[C_0] \quad \text{Ec. 16}$$

Aplicando la exponencial en ambos lados de la ecuación, queda (Ec.17):

$$[C] = [C_0]e^{-kt} \quad \text{Ec. 17}$$

Donde:

C_0 = concentración inicial de HTP en suelo (mg/Kg)

C = concentración residual de HTP en suelo al tiempo t (mg/Kg)

k = constante de velocidad (tasa) de biodegradación (días^{-1})

t = tiempo (días)

también se puede representar la ecuación de primer orden de la siguiente forma (Ec. 18), la constante de biodegradación ($-k$) será la misma.

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -kt \quad \text{Ec. 18}$$

Se grafica el logaritmo natural de la concentración de los HTP (C) con respecto al tiempo (t) y se obtendrá un nuevo valor de la pendiente con el valor $-k$. Dado que la reacción de primer orden son reacciones en descomposición se puede calcular el tiempo de vida media (Ec. 19). Este cálculo nos permite conocer el tiempo requerido para transformar el 50% de algún elemento y se calcula mediante la siguiente ecuación (Sims *et al.*, 1990; Zahed *et al.*, 2011; Agarry *et al.*, 2015):

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln(2)}{k} = \frac{0.693}{k} \quad \text{Ec. 19}$$

Donde:

k = constante de velocidad de biodegradación.



Para ello, se graficó el $\ln [C]$ de HTP versus tiempo (t) y también $\ln [C/C_0]$ versus tiempo (t), por tratamientos para conocer la pendiente de la recta y la constante de velocidad (-k).

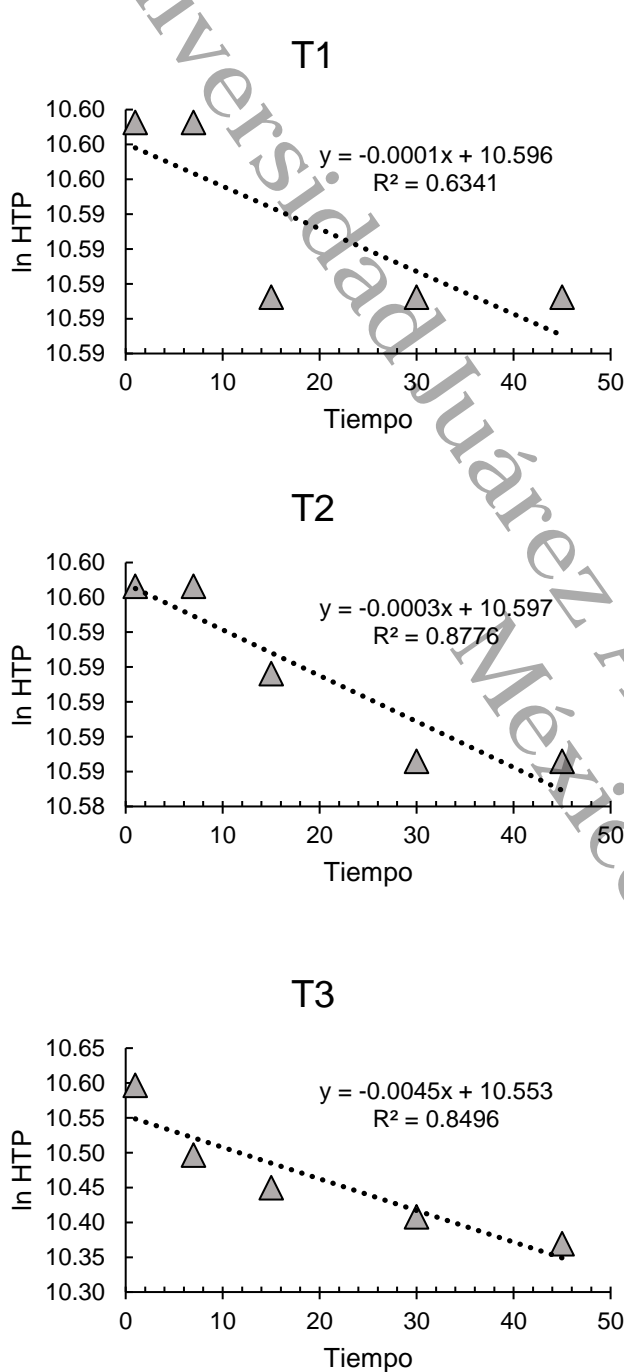


Figura 65. Gráficos de reacción de primer orden de la forma $\ln (C)$ para el T1, T2 y T3

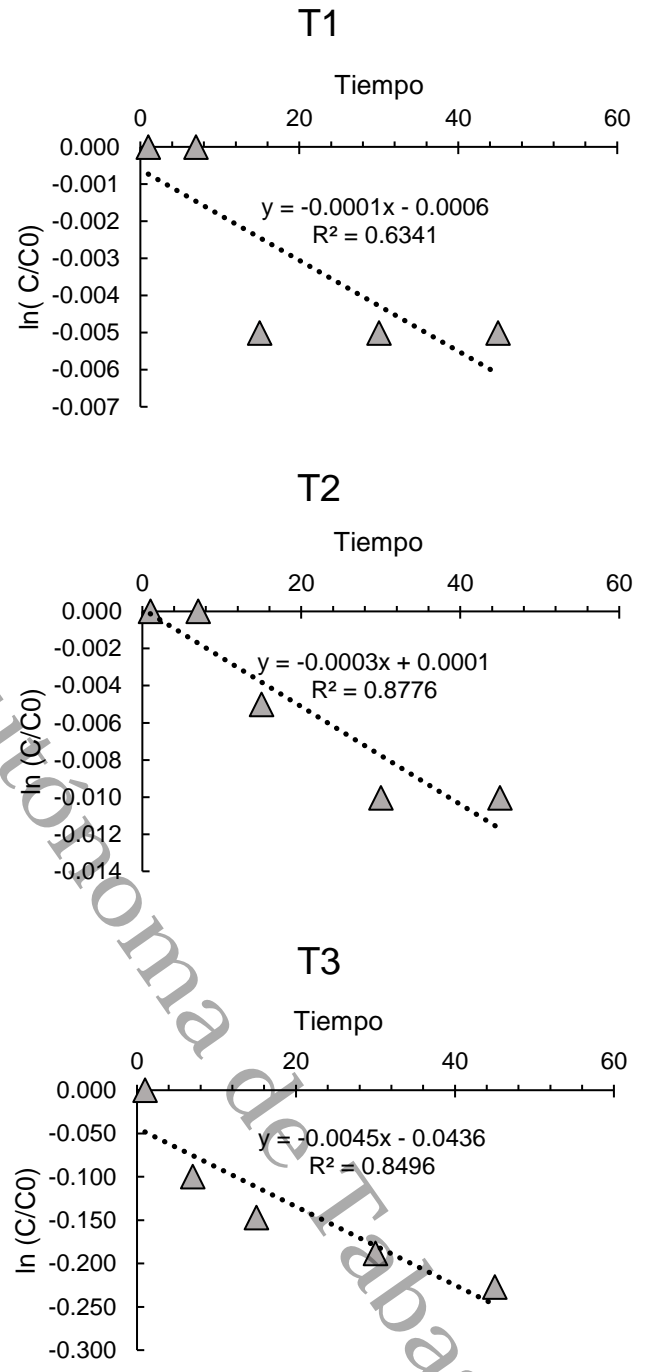


Figura 66. Gráficos de reacción de primer orden de la forma $\ln (C/C_0)$ para el T1, T2 y T3



Una vez obtenidas las ecuaciones de la pendiente se calcularon los tiempos de vida media para cada tratamiento. Se mostrará el ejemplo siguiente:

$$y = -0.0001x + 10.596$$

Entonces:

$$-k = -0.0001$$

$$k = 0.0001$$

Se aplica la ecuación de vida media:

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0.693}{0.0001} = 6930 \text{ días}$$

Los datos obtenidos de las constantes de biodegradación y los tiempos de vida media se representan en la Tabla 21.

Tabla 21. Constante de velocidad de biodegradación y tiempo de vida media para cada tratamiento

Tratamiento	ln [C] -k (d ⁻¹)	ln [C/C0] -k (d ⁻¹)	t _{1/2} (días)
T1	-0.0001	-0.0001	6930
T2	-0.0003	-0.0003	2310
T3	-0.0045	-0.0045	154

El T1 fue la que obtuvo la tasa de biodegradación más baja con un valor de 0.0001 s⁻¹ y un tiempo de vida media de 6930 días, este tratamiento está conformado de suelo más HTP, para este caso, Agarry *et al.* (2013) reportaron en su trabajo una tasa de degradación de un suelo contaminado un valor de 0.0144 d⁻¹ para remediar HTP de fracción ligera de 31.2 ° API y un tiempo de vida media de 48.1 días. El T2 obtuvo una tasa de degradación de -0.0003 d⁻¹, esta se encuentra conformada por el suelo, bagazo de caña y HTP, Díaz-Ramírez *et al.* (2013) realizaron un estudio donde empleo bagazo de caña como enmienda para degradar HTP de fracción super ligera con 39.3 ° API, donde obtuvo una constante de biodegradación de 0.0103 d⁻¹ y un tiempo de vida media de 67.5 días. Por último, el T3 fue la que obtuvo la tasa más alta con un valor de 0.0045 d⁻¹ y un tiempo de vida media de 154 días, demostrando que el hongo posee el potencial para degradar HTP de fracción pesada.



Dhailappan *et al.* (2022) realizó un estudio donde empleó *Pleurotus ostreatus* para degradar HTP de un suelo contaminado a 12,000 ppm a los 21 días de incubación, obtuvo una tasa de degradación de 0.097 y un tiempo de vida media de 7 días.

16.6.3 ANÁLISIS DE HUELLAS DIGITALES FTIR Y CÁLCULO DE ÍNDICE RELATIVO DE LOS GRUPOS FUNCIONALES POLARES (IRAP) A LOS HTP

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (Fourier transform infrared spectroscopy “FTIR” por sus siglas en inglés) es un método que permite determinar grupos funcionales de un elemento polimérico. Así mismo, brinda información de la evolución de las reacciones en descomposición, así como una mejor perspectiva de los mecanismos en descomposición (Zhang *et al.*, 2015)

Se seleccionaron los picos de absorción de los grupos funcionales más representativos para la evaluación de la abundancia relativa de los grupos funcionales de acuerdo con los rangos propuestos por Morales-Bautista *et al.* (2016). Los picos fueron los siguientes: 1376 cm^{-1} para grupos saturados, 1600 cm^{-1} para grupos insaturados (C=C), 1021 cm^{-1} para grupos éteres (COC), 1152 cm^{-1} para grupos sulfonilos (O=S=O) y 1700 cm^{-1} para grupos carbonilo-aromáticos (ArCOR).

De los grupos mencionados los éteres, sulfonilo- y carbonilo-aromáticos se caracterizan por ser más polares que los grupos saturados e insaturados. Estos grupos pueden verse implicados en la alteración de la fertilidad del suelo, reducción de la capacidad de campo, alteración de la capacidad de intercambio catiónico y generación de repelencia al agua (Morales-Bautista *et al.*, 2016).

En la Tabla 22 se reportan los valores de la altura máxima de los picos para cada grupo funcional por tratamientos.

Tabla 22. Valores de FTIR de las alturas máximas para cada grupo funcional

Tratamientos	O=S=O	COC	SAT	C=C	ArCOR
D1T1	93.23	94.05	85.16	95.56	94.48
D7T1	92.73	93.39	84.03	95.15	94.10
D15T1	91.17	92.06	82.66	93.60	93.15
D30T1	91.26	92.02	82.62	93.56	93.06
D45T1	90.26	91.26	81.92	92.76	92.07
D1T2	90.64	91.08	82.35	92.94	91.66
D7T2	90.01	90.31	81.63	92.46	91.05



D15T2	90.27	90.56	81.95	92.89	92.37
D30T2	90.65	89.78	82.00	92.76	92.81
D45T2	89.22	90.23	81.49	92.3	90.85
D1T3	91.14	92.12	83.15	94.36	92.90
D7T3	91.21	91.95	82.98	94.13	92.55
D15T3	91.12	91.42	83.01	94.04	92.15
D30T3	91.19	91.41	82.80	93.81	91.73
D45T3	90.91	90.94	82.89	93.70	91.41

Los valores obtenidos para cada pico, obtenidos en la prueba FTIR, se emplearon para obtener el índice conocido como índice relativo de los grupos funcionales polares (IRAP), tal como lo propone Morales-Bautista et al. (2016). El IRAP nos permite conocer la cantidad de grupos funcionales polares en una muestra contaminada de HTP, y se calcula de la siguiente forma (Ec. 20):

$$IRAP = \left[\left(\frac{O = S = O}{SAT} \right) + \left(\frac{COC}{SAT} \right) + \left(\frac{ArCOR}{SAT} \right) \right] * 100\% \quad \text{Ec. 20}$$

Donde:

O=S=O = es la altura máxima a los 1152 cm⁻¹

COC = es la altura máxima a los 1021 cm⁻¹

ArCOR = es la altura máxima a los 1700 cm⁻¹

SAT = es la altura máxima a los 1376 cm⁻¹

Una vez calculado el IRAP, los datos fueron empleados en la ecuación de la pendiente que reporta Morales-Bautista et al. (2016) (Ec. 21), donde relaciona los °API con respecto al IRAP, para la obtención de los °API (Ec. 22).

$$y = -1.1688x + 82.703 \quad \text{Ec. 21}$$

$$x = \frac{y - 82.703}{1.1688} \quad \text{Ec. 22}$$

Donde:

y = IRAP

x = °API

Una vez obtenidos los valores de °API, se podrá calcular la repelencia al agua, empleando la ecuación de la pendiente para HTP de fracción pesada, reportado por Marín-García et al. (2015) (Ec. 23).

Ec. 23



$$y = 45.399 \ln(x) + 45.163 \quad \text{Ec. 23}$$

Donde:

y = Repelencia (segundos)

x = concentración del crudo (°API)

A continuación, se presentan los valores de %IRAP, °API y Repelencia al agua en la Tabla 23.

Tabla 23. Valores de IRAP, °API y Repelencia al agua

Tratamientos	%IRAP	°API	Repelencia (s)
D1T1	331.329	2.127	79.43
D7T1	333.476	2.146	79.82
D15T1	334.358	2.153	79.98
D30T1	334.471	2.154	80.00
D45T1	333.972	2.150	79.91
D1T2	331.973	2.133	79.55
D7T2	332.439	2.137	79.63
D15T2	333.374	2.145	79.80
D30T2	333.220	2.143	79.77
D45T2	331.697	2.130	79.50
D1T3	332.123	2.134	79.57
D7T3	332.261	2.135	79.60
D15T3	330.912	2.124	79.35
D30T3	331.316	2.127	79.43
D45T3	329.666	2.113	79.13

Morales-Bautista et al. (2016) menciona que obtener valores altos de IRAP indican una alta presencia de grupos polares, por lo que suelen ser más frecuentes en fracciones pesadas y extrapesadas, a comparación de los crudos medios y ligeros. También menciona que el incremento del índice IRAP con respecto a los °API (Fig. 67) puede darse de forma lineal en un rango de 41 – 65 IRAP, que incluye a los de hidrocarburos de 15 – 37 °API, de acuerdo a la gráfica que reporta.

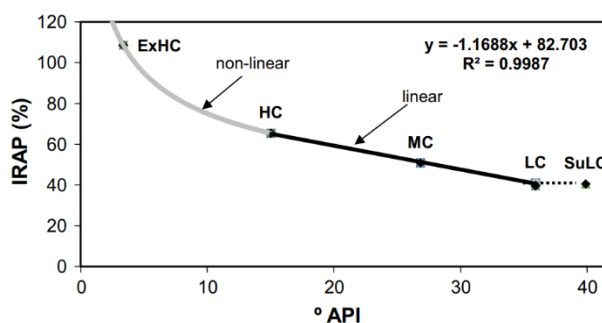


Figura 67. Relación del IRAP con respecto a los °API tomado de Morales-Bautista et al. (2016)



Morales-Bautista et al. (2016) no mencionaron específicamente que valor de IRAP se considera un valor crítico, sin embargo, menciona que la curva observada en la Figura 67 es no lineal, y el inicio de la pronunciación de la curva puede representar la alta presencia de los grupos polares abarcando de los 15 – 3 °API.

Los valores de IRAP obtenidos en el T1, T2 y T3 (Tabla 23), ubicándolo en la Figura 67, se reporta que es un hidrocarburo extrapesado ya que esta por arriba de un valor de 300% de IRAP.

Los valores del índice IRAP del T1 y T2 (Tabla 23) no se registró una disminución, sino más bien un aumento en el índice y esto se aprecia claramente en la repelencia al agua (Fig. 68), ya que es directamente proporcional. En cambio, el T3 registró una disminución del IRAP y esto se observa claramente en la repelencia de la Figura 68.

La repelencia al agua se define como la capacidad reducida del suelo para reabsorber agua después de un periodo prolongado de sequía, sin embargo, existen otros factores que influyen en la repelencia, como la textura arenosa y la quema del suelo; sin embargo para el caso de suelos contaminados por hidrocarburos esta repelencia suele presentarse en suelos con periodos de sequía prolongados después de un derrame o también cuando el suelo se encuentre muy seco antes de un derrame (Adams *et al.*, 2008. Se sabe muy poco de los impactos que ocasiona la repelencia al suelo contaminado por hidrocarburos (Takawira *et al.*, 2014).

Sin embargo, algunos estudios han demostrado las repercusiones que esta ocasiona: se ha reportado que la contaminación por hidrocarburos puede alterar la capacidad de campo, porosidad, densidad aparente, reducción de la capacidad retener nutrientes catiónicos durante las precipitaciones, erosión hídrica y contenido óptimo de agua, inclusive en concentraciones muy bajas de hidrocarburos (Roy & McGill 1998; Caravaca & Rolda, 2003; Adams *et al.*, 2008; Rahman *et al.*, 2010). Por otra parte, puede ocurrir la compactación del suelo debido a la aglomeración de asfáltenos, resinas y compuestos polares en altas concentraciones, ya sea en crudo intemperizados, ocasionando un impedimento en la infiltración del agua, así como de la penetración y desarrollo radicular (Adams *et al.*, 2008).

Algunos estudios han reportado la clasificación de las clases de repelencia al agua y son las siguientes: Clase 0: humectable, no repelente al agua (infiltración en 5 s); Clase I: ligeramente repelente (5 s < WDPT ≤ 60 s); clase II: fuertemente repelente (60 s < WDPT ≤ 600 s); clase III: muy repelente al agua (600 < WDPT ≤ 3600 s); clase IV: extremadamente



repelente (WDPT > 3600 s), aunque también se reportan otras clases, que son las siguientes: clase V: $1 \text{ h} < \text{WDPT} \leq 2 \text{ h}$; clase VI: $2 \text{ h} < \text{WDPT} \leq 3 \text{ h}$; Clase VII: $3 \text{ h} < \text{WDPT} \leq 4 \text{ h}$; clase VIII: $\text{WDPT} > 4 \text{ h}$ (Orfánus *et al.*, 2008; Helweke *et al.*, 2018; Helweke & Gozdowski, 2020)

De acuerdo a los datos obtenidos, los valores de repelencia para cada tratamiento se muestran en la Tabla 23, y los valores graficados en la Figura 68. Para el T1 se observa que hay un aumento desde el día uno hasta el día 30 y luego disminuye ligeramente; para el T2 se observa un aumento desde el día uno hasta el día 15 y luego disminuye ligeramente hasta el día 45.

Por último, el T3 que es la que contiene el hongo se observa una disminución notable de la repelencia del agua del día uno con un valor de 79.57 s hasta el día 45 con un valor de 79.13 s, aunque la disminución de la repelencia es mínima, *G. multipileum* puede ser capaz en reducir la hidrofobicidad del suelo, sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, a medidas que se degradan las fracciones saturadas, alifáticas y aromáticas, las fracciones de resinas y asfáltenos aumentan por la generación de compuestos polares.

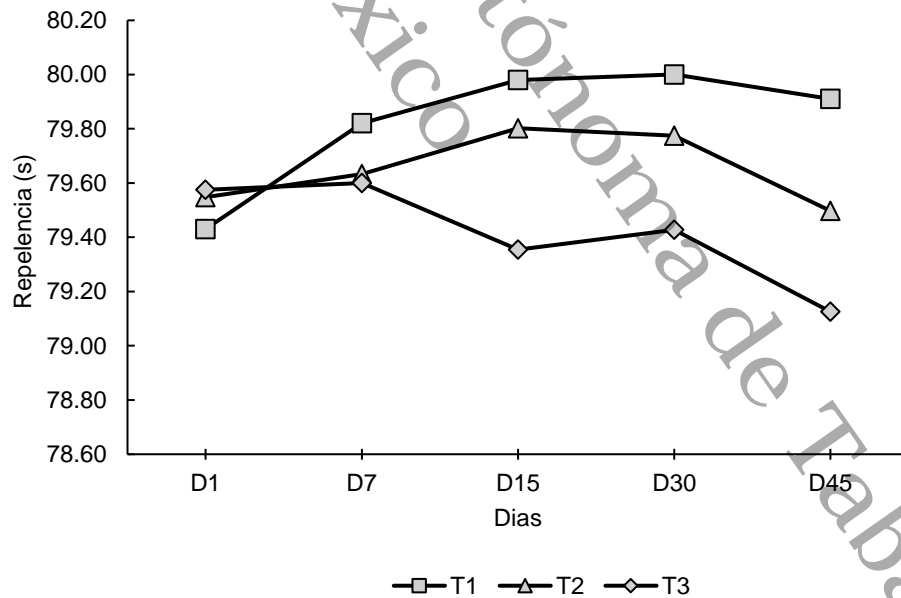


Figura 68. Repelencia al agua por tratamientos



16.6.4 ANALISIS S.A.R.A.

El petróleo crudo posee una estructura química compleja, ya que está conformada de una mezcla de diversos compuestos, que por lo general son: gases disueltos, líquidos y sólidos. Por tal razón, se han propuesto diversas técnicas para el fraccionamiento del PC, siendo las técnicas cromatográficas la más usada para la determinación del tipo grupo de hidrocarburos, específicamente para el fraccionamiento del PC en saturados (S), aromáticos (A), resinas (R) y asfáltenos (A), conocido también como análisis SARA. En este caso, los líquidos están conformados por los saturados, aromáticos y resinas, mientras que los sólidos por los asfáltenos (Akmaz *et al.*, 2011; Ashoori *et al.*, 2017; Fakher *et al.*, 2019).

La prueba del análisis SARA se realizó por cromatografía en columna de sílice, mediante la aplicación de solventes orgánicos, tal como se explica el numeral 6.5.7.2. Los asfáltenos se obtuvieron por diferencia de peso con respecto a la suma de porcentajes de las fracciones SARA.

Una característica muy importante al momento de fraccionar el PC, las fracciones SARA tienen coloraciones propias, algunos autores han reportado dichas coloraciones para cada fracción. Las coloraciones obtenidas en el fraccionamiento del PC se muestran en la Figura 70. de izquierda a derecha: los saturados, aromáticos y resinas.

La fracción de saturados son líquidos a temperatura ambiente y pueden ser incoloros, ligeramente coloreados, o con tonalidades de amarillo pálido. Contiene hidrocarburos no polares de cadenas lineales, ramificadas o parafinas cíclicas alifáticas (Zhang *et al.*, 2015; Karevan *et al.*, 2022)

La fracción de aromáticos son líquidos aceitosos a temperatura ambiente y no polares, su coloración va de amarillo a rojo y contiene por lo menos un anillo aromático de diferente grado de condensación, sustitución alquímica y heteroátomos (sulfuros, oxígeno y nitrógeno). Los aromáticos son más viscosos que los saturados al mismo nivel de temperatura (Caumette *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2015; Karevan *et al.*, 2022)

La fracción de resinas es un líquido viscoso a semisólido y se caracteriza por tener un lado polar y no polar y funciona como puente que conecta los hidrocarburos no polares con los asfáltenos altamente polares, su coloración va de un café oscuro a un negro sólido. Contiene un alto grado de condensación y de heteroátomos comparado a la fracción aromática. También se ha mencionado que la composición de las resinas es cercana a los



asfáltenos a excepción de su peso molecular. Las resinas algunas veces pueden ser más polares que los asfáltenos. (Keshmirizadeh *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2015; Fakher *et al.*, 2019).

La fracción de asfáltenos es un componente sólido a temperatura ambiente y su coloración por lo general es de un color negro, es altamente polar a comparación del PC que en su conjunto es no polar. Es insoluble en solventes n-alkanos como n-pentano o n-heptano y soluble en aromáticos como tolueno o xileno. También se encuentra asociado con heteroátomos (Zhang *et al.*, 2015; Fakher *et al.*, 2019).

A continuación, se reportan los porcentajes obtenidos para cada fracción para cada tratamiento y por días en la Tabla 24.

Tabla 24. Valores de porcentaje para cada fracción

Tratamientos	Días	% Fracciones			
		Saturados	Aromáticos	Resinas	Asfáltenos
Tratamiento 1	1	65.00	9.50	20.00	5.50
	7	64.50	9.50	20.00	6.00
	15	64.82	9.29	20.10	5.77
	30	65.15	9.09	20.20	5.55
	45	65.65	9.09	20.20	5.05
Tratamiento 2	1	65.00	9.50	20.00	5.50
	7	65.00	9.50	20.00	5.50
	15	64.32	9.54	20.10	6.03
	30	64.64	9.34	20.20	5.80
	45	64.64	9.34	19.69	6.31
Tratamiento 3	1	65.00	9.50	20.00	5.50
	7	60.77	8.83	24.30	6.07
	15	55.49	7.51	28.90	8.09
	30	39.75	6.02	36.76	17.46
	45	38.99	4.40	40.88	15.72

Por otra parte, en la Figura 69, se presentan gráficamente los porcentajes de las fracciones SARA, para una mejor representación de los datos. se observa claramente que la suma de las cuatro fracciones es un total de 100%.

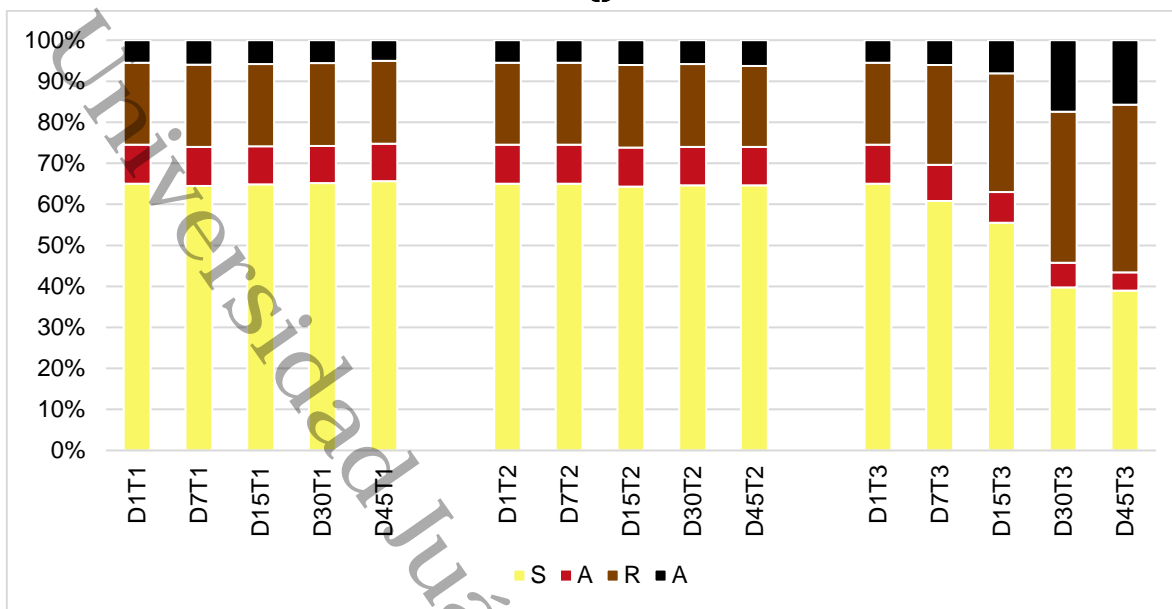


Figura 69. Porcentaje correspondientes a las fracciones S.A.R.A. por tratamiento y día

Se observa en la Figura 69, que las concentraciones de las fracciones del T1 y T2 permanecen casi iguales en todos los días, a comparación del T3. En el T3 se observa que existe una disminución de la concentración de saturados de 65% al 38.99% y de aromáticos de 9.5% a 4.40% del día uno al día 45, respectivamente. Sin embargo, para las fracciones de resinas y asfáltenos se observa un aumento en sus concentraciones con valores de 20% al 40.88% y de 5.5% al 15.72% del día uno al día 45, respectivamente.



Figura 70. Fracciones S.A.R con sus coloraciones características



Por otra parte, en la Tabla 25 y en las Figuras 71, 72, 73 y 74, se muestran los porcentajes de biodegradación (%B) para cada tratamiento, el cálculo se realizó por medio de la siguiente ecuación:

$$\%B = \left(\frac{C_i - C_t}{C_i} \right) * 100 \quad \text{Ec. 24}$$

Donde:

%B = Porcentaje de biodegradación

C_i = Concentración inicial de la fracción

C_t = Concentración de la fracción al tiempo *t*

Tabla 25. Porcentaje de Biodegradación para cada fracción

Tratamientos	Días	% Biodegradación			
		S	A	R	A
T1	1	0	0	0	0
	7	0.76	0	0	-9.09
	15	0.27	2.14	-0.50	-5.07
	30	-0.23	4.30	-1.01	-1.01
	45	-1.01	4.30	-1.01	8.17
T2	1	0	0	0	0
	7	0	0	0	0
	15	1.04	-0.50	-0.50	-9.63
	30	0.54	1.64	-1.01	-5.60
	45	0.54	1.64	1.51	-14.78
T3	1	0	0	0	0
	7	6.50	6.94	-21.54	-10.49
	15	14.62	20.90	-44.50	-47.13
	30	38.83	36.58	-83.73	-217.63
	45	40.00	53.65	-104.40	-185.87

Los estudios relacionados en la biodegradación de fracciones SARA mediante el empleo de la especie *G. multipileum* son altamente escasos, sin embargo, este estudio será una aportación de información para futuras consultas.

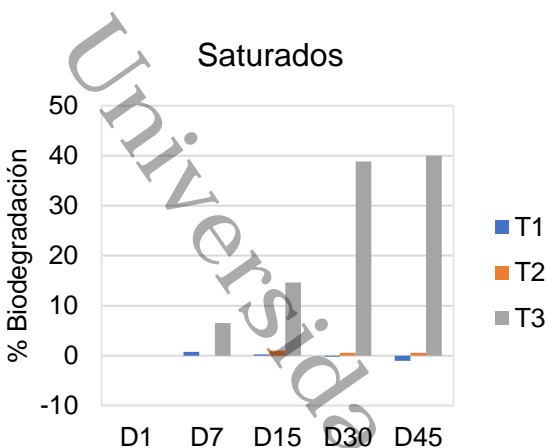


Figura 71. Porcentaje de biodegradación de saturados

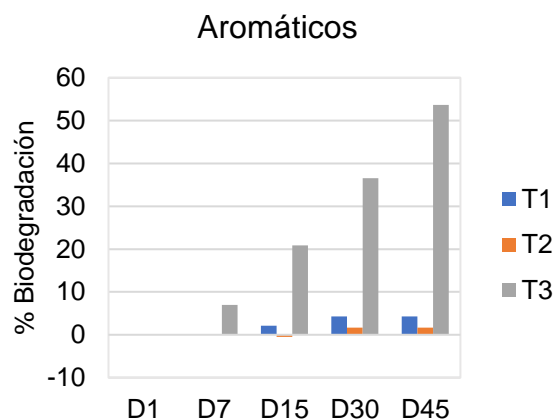


Figura 72. Porcentaje de biodegradación de Aromáticos

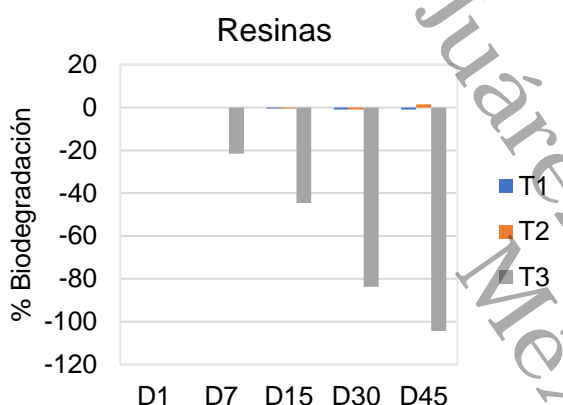


Figura 73. Porcentaje de biodegradación de Resinas

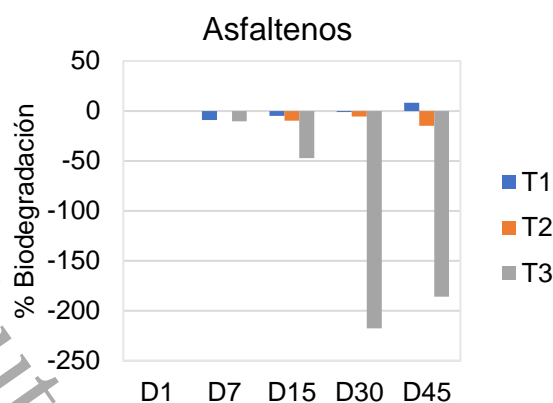


Figura 74. Porcentaje de biodegradación de Asfáltenos

De acuerdo a la Figura 71, se observa que la fracción de saturados para el T1 y T2 no se observan degradaciones a comparación del T3 que obtuvo un %B al día 45 con un valor del 40.00% este valor resulta ser menor al reportado por Ogbo et al. (2008) donde obtuvo un %B del 80%. Ogbo et al. (2008), empleó la especie *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Singer usando como sustratos aserrín y hojas de plátano, para evaluar la biodegradación de las fracciones SARA.

Para la fracción de aromáticos (Fig. 72) se pueden observar ligeras biodegradaciones para el T1 y T2, sin embargo, el T1 es la que supera al T2. El T3 supera a las anteriores alcanzando un %B al día 45 un valor del 53.65% al día 45, este valor resulta ser casi similar al de Ogbo et al. (2008) reportando un %B del 60%.

Para la fracción de resinas (Fig. 73) se observan que los porcentajes %B para todos los tratamientos son negativas, siendo el T3 la más representativa, alcanzando un %B del -



104.40%, para este caso Ogbo et al. (2008) reportó un valor %B del 60%. Sin embargo, al día 45 para el T2 se registró una %B de 1.51%.

Por último, para la fracción de asfaltenos (Fig. 74) de igual manera se observan %B negativas para todos los tratamientos, siendo el T3 el más representativo, alcanzando un valor de %B al día 30 de -217.63%, a comparación de Ogbo et al. (2008) obtuvo un %B del 30%. Sin embargo, para el T1 para el día 45 se obtuvo un %B de 8.17%.

Ciertos factores pueden estar involucrados en la biodegradación de las fracciones de saturados y aromáticos para el T3, como se mencionó anteriormente, esto puede deberse a la esterilización del suelo provocando su volatilización, sin embargo, esta volatilización es mínima, así lo confirma Zamani et al. (2015) en su estudio y estos valores pueden compararse en la Tabla 25 para el T1, T2 y T3, siendo el T3 con más %B de saturados y aromáticos. Otro punto importante, es que para el T3, la presencia de bagazo de caña beneficia al hongo para degradar las fracciones, ya que esta, aparte de aportar la celulosa como su alimento para la obtención de energía, aumenta la porosidad del suelo en más del 80% facilitando así la respiración del hongo y la correcta distribución de las hifas del hongo (Chiu *et al.*, 2009) Sin embargo, la degradación de los hidrocarburos dependerá de la capacidad y eficiencia del hongo (Mohammadi-Sichani *et al.*, 2019).

Estudios relacionados en degradación de fracción de resinas y asfaltenos son altamente escasos, la mayoría de los estudios se han enfocado en la degradación de compuestos aromáticos. Sin embargo, son pocos los autores los que se han aventurado en la investigación de las fracciones pesadas y han reportado características importantes para estas fracciones. Una de ellas es cuando el suelo se encuentra contaminado por PC, por lo general se presenta una coloración marrón oscuro y autores como Tahhan & Abu-Ateih (2009), Beškoski et al. (2011) y Mohammadi-Sichani et al. (2019) mencionan que la biodegradación está relacionada con la reducción de esta coloración. En este experimento se observó dicho factor tanto al momento de la contaminación del suelo, así como su disminución de coloración al momento del muestreo después del tiempo de biodegradación. Mohammadi-Sichani et al. (2019) menciona que la presencia de resinas y asfaltenos está relacionado con la coloración del suelo.

Respecto a las %B negativas autores como Ogbo et al. (2008) han mencionado que esto puede deberse a la formación de metabolitos que pueden llegar ser dañinos o que haya sucedido alguna mineralización incompleta de alguna fracción. Esto también lo menciona



Adongbede & Sanni (2014) en su investigación, donde reportaron la formación de metabolitos secundarios en las muestras contaminadas y que además estos son indeseables y que también pueden ser inofensivos. Hidayat & Tachibana (2013), menciona que los metabolitos secundarios se originan cuando el metabolismo no fue completo, sin embargo, una remediación efectiva termina cuando el contaminante es transformado a CO₂. Por último, los %B de biodegradación negativos obtenidos efectivamente sucede por el aumento de su concentración durante la degradación. El comportamiento de estas dos fracciones se debe a que se ven enriquecidas conforme las fracciones de saturadas y aromáticas son metabolizadas, dando como productos compuestos polares (Liao *et al.*, 2009; Romero-Hernández *et al.*, 2021)

16.6.5 CINÉTICA DE BIORREMEDIACIÓN Y TIEMPO DE VIDA MEDIA DE LAS FRACCIONES SARA

Se realizaron las cinéticas de biorremediación siguiendo las ecuaciones del numeral 7.6.2. De igual forma se realizaron las cinéticas de reacción de primer orden, ya que los autores coinciden que una biorremediación se rige por ella. Se calcularon las cinéticas para el $\ln[C]$ y para el $\ln[C/C_0]$ donde: C = concentración el tiempo, C₀= concentración inicial. Las gráficas se presentarán en el anexo en la sección debido a la cantidad de ellas, sin embargo, las ecuaciones de la pendiente son más relevantes y se presentan en la Tabla 26, ya que estas de igual forma nos permiten calcular el tiempo de vida media.

Tabla 26. Constante de velocidad de biodegradación y tiempo de vida media de la forma $\ln[C]$

Fracción	Tratamientos	$\ln[C] = -kt + \ln[C_0]$	-K	t _{1/2} (días)
Saturados	T1	y = 0.0003x + 4.1688	0.0003	2310
	T2	y = -0.0001x + 4.1724	0.0001	6930
	T3	y = -0.0129x + 4.1819	0.0129	53
Aromáticos	T1	y = -0.0012x + 2.252	0.0012	577.5
	T2	y = -0.0005x + 2.2551	0.0005	1386
	T3	y = -0.0174x + 2.2865	0.0174	39
Resinas	T1	y = 0.0003x + 2.9956	0.0003	2310
	T2	y = -0.0002x + 3.0004	0.0002	3465
	T3	y = 0.0159x + 3.0615	0.0159	43
	T1	y = -0.0026x + 1.7689	0.0026	266



Asfáltenos	T2	$y = 0.0029x + 1.7058$	0.0029	238
	T3	$y = 0.0279x + 1.6967$	0.00279	24

Tabla 27. Constante de velocidad de biodegradación y tiempo de vida media de la forma $\ln[C/C_0]$

Fracción	Tratamientos	$\ln[C/C_0] = -kt$	-K	$t_{1/2}$ (días)
Saturados	T1	$y = 0.0003x - 0.0056$	0.0003	2310
	T2	$y = -0.0001x - 0.002$	0.0001	6930
	T3	$y = -0.0129x + 0.0075$	0.0129	53
Aromáticos	T1	$y = -0.0012x + 0.0007$	0.0012	577.5
	T2	$y = -0.0005x + 0.0038$	0.0005	1386
	T3	$y = -0.0174x + 0.0353$	0.0174	39
Resinas	T1	$y = 0.0003x - 0.0001$	0.0003	2310
	T2	$y = -0.0002x + 0.0047$	0.0002	3465
	T3	$y = 0.0159x + 0.0658$	0.0159	43
Asfáltenos	T1	$y = -0.0026x + 0.0641$	0.0026	266
	T2	$y = 0.0029x + 0.001$	0.0029	238
	T3	$y = 0.0279x - 0.008$	0.0279	24

De acuerdo con las tablas presentadas con las respectivas ecuaciones de la pendiente, se calculó los tiempos de vida media, con la constante de biodegradación -k. La constante de biodegradación para la cinética $\ln [C]$ y $\ln [C/C_0]$ son las mismas, tal como se ha mencionado en puntos anteriores, las gráficas se muestran en el apartado de **anexo 2**. Otro punto muy importante, es la comparación de datos, por lo que resulta difícil una comparación con otras investigaciones de estos tópicos ya que son altamente escasos.

Para todas las fracciones se observó que el T1 y T2 obtuvieron altos tiempos de vida media, estos tratamientos como se ha mencionado no contenían al hongo, el T1 solo era suelo más PC y el T2 era suelo más PC y bagazo de caña, por tal razón se obtuvieron dichos valores de vida media. En cambio, para el T3, se observó que los tiempos de vida eran muy bajos, lo que quiere decir que el hongo es capaz de degradar las fracciones a un 50%. Para Saturados obtuvo un valor de 53 días, para aromáticos un valor de 39 días, para resinas de 43 días y asfáltenos de 24 días.



16.6.6 MECANISMO DE DEGRADACIÓN DE LAS FRACCIONES S.A.R.A.

Los productos generados en la degradación de las fracciones de los HTP se describen de forma breve en el apartado de **anexo 3** abarcando desde las enzimas involucradas en la degradación de los HTP así como también los productos generados después de la degradación.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

CAPÍTULO II



7. ARTICULO CIENTÍFICO

Micorremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos mediante el uso de hongos de la podredumbre blanca

Cahuich-Flores Samuel Guadalupe¹ | López-Martínez Suguey² | Capello-García Silvia¹ | Morales-Bautista Carlos Mario³ | Ramírez-Álvarez Nancy⁴

¹División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, CP. 86100, Villahermosa, Tabasco, México.

²Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Mérida Av. Tecnológico S/N Km. 4.5 C.P. 97118, Mérida Yucatan.

³División Académica de Ciencias Básicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, CP. 86690, Cunduacán, Tabasco, México.

⁴Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California. C.P. 22860, Ensenada, Baja California, México.

ORCID

Cahuich-Flores Samuel Guadalupe - <https://orcid.org/0009-0008-1569-3766>

López-Martínez Suguey - <https://orcid.org/0000-0002-3681-4001>

Capello-García Silvia - <https://orcid.org/0000-0003-1354-6304>

Morales-Bautista Carlos Mario - <https://orcid.org/0000-0002-4825-4558>

Ramírez-Álvarez Nancy - <https://orcid.org/0000-0002-5372-549X>

Autor correspondence

López-Martínez Suguey - Email: suguey.lopez@ujat.mx

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el crecimiento miceliar *in vitro* y la degradación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) a 40,000 ppm de fracción pesada (18.7±1.38 °API) en suelo empleando las especies *Ganoderma multipileum* y *Pycnoporus sanguineus*, utilizando bagazo de caña como fuente de energía. Se realizaron dos estudios preliminares: el primero evaluó el crecimiento miceliar en suelo con diferentes proporciones de bagazo, mostrando un alto crecimiento al 25% (P/P). El segundo estudio evaluó el crecimiento en suelo contaminado con HTP a 40,000 ppm con bagazo de caña al 25% (P/P), ambos estudios se analizaron mediante una prueba de Kruskal-Wallis. Los resultados anteriores se emplearon para establecer 3 tratamientos y evaluar la cinética de degradación de HTP con respecto al tiempo (1, 7, 15, 30 y 45 días). También se evaluó la cinética de reacción de primer orden y los tiempos de vida media para los HTP y las fracciones SARA. Los resultados demostraron que ambas especies tienen la capacidad para crecer en suelo contaminado con hidrocarburo así como el potencial de degradar hidrocarburos de fracción pesada.

Palabras clave: suelo, hidrocarburos, micorremediación, cinética de primer orden, bagazo de caña.

1. introducción



La Revolución Industrial marcó el comienzo de una era de impacto ambiental sin precedentes, introduciendo contaminantes como los hidrocarburos (HC) al medio ambiente (Zalasiewicz et al., 2010; Uglietti et al. 2015; Özkara & Akyil, 2018). Debido a la alta demanda, se origina la introducción de grandes cantidades a ecosistemas acuáticos y terrestres (Ñústez et al., 2014; Benguenab & Chibani 2021). Por tal razón, se ha propuesto la micorremediación como una alternativa para remediar estos impactos (Moreno et al., 2004). Dentro de esa gran variedad de hongos se encuentran particularmente los hongos de la podredumbre blanca (HPB) (Bogale, 2020). Los HPB han demostrado la capacidad de transformar una variedad de contaminantes orgánicos, debido a que estos compuestos poseen una estructura similar a la lignina (Pointing, 2001; Dávila & Vázquez, 2006). Diversas investigaciones han demostrado que los HPB son efectivos para degradar Antibióticos, tintes textiles sintéticos, hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA), dicloro difenil tricloroetano (DDT), Bifenilos policlorados (BPCs), penta clorofenoles (PCF), trinitrotolueno (TNT), pesticidas, polímeros sintéticos como los “plásticos”, preservadores de madera, BTEX, Creosota, efluentes de la industria de papel en el blanqueamiento, herbicidas, Nylon (Pointing, 2001; Korcan et al., 2013; Abdel-Hamid et al. 2013; Ellouze & Sayadi 2016; Kaehlishvili et al., 2016; Stella et al., 2017; Guo et al., 2018; Vršanská et al., 2018; Lee et al., 2020; Xiao & Kondo 2020). Sin embargo, para degradar estos compuestos, se requiere un material vegetal como soporte en el suelo. Por lo tanto, se han propuesto varios materiales ligninolíticos o residuos orgánicos como soporte, entre ellos el bagazo de caña (Eggen, 1998; Mauricio et al., 2014).

El objetivo de esta investigación fue evaluar el crecimiento miceliar in vitro, la degradación de los HTP de fracción pesada y las fracciones SARA empleando las especies *G. multipileum* y *P. Sanguineus*.

2. Materiales y Métodos

2.1. Obtención de muestras

Se obtuvieron las cepas de hongos *P. sanguineus* y *G. multipileum* con códigos de registro CCG031 y CCG025, respectivamente, del herbario de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Por otra parte, el bagazo de caña se obtuvo del ingenio azucarero Santa Rosalía, en el municipio de Cárdenas, Tabasco. El Suelo se muestreó de acuerdo a la NMX-AA-132-SCFI-2006 (SCFI, 2006) en el municipio de Cunduacán, Tabasco. Por último, el petróleo crudo (PC) se obtuvo de un barril proveniente de un pozo de extracción.

2.2 Pretratamiento de muestras

Ambas especies de hongos fueron sembradas en medio de cultivo agar dextrosa y papa, el cual fue esterilizado a 120 °C por 15 min, para ser colocados posteriormente en cajas Petri. Para el caso del bagazo de caña se sometió a un secado a la sombra a temperatura ambiente y se resguardaron en bolsas negras de polietileno para su conservación. Para el caso del suelo se realizó un perfil edafológico para evaluarlo en su forma húmeda y seca, además se evaluaron los parámetros fisicoquímicos como pH, conductividad eléctrica (CE), materia orgánica (%MO), densidad aparente (DA), densidad real (DR), porosidad (%P), capacidad de campo (%CC), capacidad de intercambio catiónico (CIC) and textura (%arena %limo, %arcilla), de acuerdo a las metodologías de la NOM-021-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT, 2000), por ende, el suelo fue secado a temperatura ambiente, molido, tamizado a un tamaño de malla de 2 mm y homogenizado y se resguardaron en frascos ámbar. Por último, el PC fue sometido a un proceso de intemperización, ya que su origen era de fracción ligera hasta la obtención de fracción pesada, para ello, el PC fue expuesto al sol por 8hrs durante dos



semanas hasta la obtención de la fracción pesada. La fracción del PC se evaluó con el cálculo de °API de acuerdo con el método de la ASTM (2006) con modificaciones.

2.3 Primer estudio preliminar

Se evaluó el crecimiento miceliar de *P. sanguineus* y *G. mutipileum* en una mezcla de bagazo de caña con suelo sin contaminar, para ello se establecieron 3 tratamientos por triplicado de %P/P de bagazo de caña del 15, 25 y 35 % (P/P) con respecto al suelo, para un tamaño de muestra de 15 g. La metodología fue la siguiente:

El bagazo fue fragmentado a un tamaño de 2 a 3 cm², luego se hidrato por 12 horas y se escurrió hasta obtener una humedad del 70%. Finalmente, el bagazo se pasteurizó por inmersión en agua en un recipiente metálico con capacidad de 10 L sobre una hornilla, durante 1 hora a 80 °C. Al finalizar, se escurrió y se enfrió en condiciones asépticas.

El suelo fue esterilizado durante 30 minutos a 120 °C en una charola metálica para evitar covariables que pudieran alterar la degradación del PC. Al terminar, se resguardó en frascos ámbar esterilizados para evitar su contaminación.

Posteriormente se realizó la mezcla de suelo con bagazo con respecto los diferentes porcentajes. Las mezclas se colocaron en tubos de ensayo de 2.2 cm de diámetro por 15 cm de largo, evitando compactar la mezcla. Todos los tubos fueron inoculados con cuadros de 1 cm de micelio de cada especie por separado y se colocó un tapón de algodón inmediatamente para evitar su contaminación y permitir el intercambio gaseoso. Los tubos se incubaron en oscuridad hasta que el micelio propagó en su totalidad el tubo a 28 °C. Los tubos se rotularon con dos líneas opuestas “A” y “B” de arriba abajo y se midió el crecimiento del micelio cada dos días hasta la base del tubo con ayuda de un estereoscopio (Gaitán-Hernández & Salmones, 2015).

Por último, el crecimiento miceliar se obtuvo mediante la ecuación de la pendiente $y=mx+b$, graficando el crecimiento cada dos días con respecto a los días transcurridos. La ecuación de la pendiente se convirtió a términos de crecimiento miceliar de la siguiente forma: $y = Krx + C$, donde Kr = tasa de crecimiento, y = crecimiento mm/día, x = días transcurridos y C = factor constante (Gaitán-Hernández & Salmones, 2015).

2.4 Segundo estudio preliminar

Se evaluó el crecimiento miceliar en suelo contaminado con petróleo crudo, y se descartó la especie con menor crecimiento. Para este caso el porcentaje de ambas especies presentaron un alto crecimiento miceliar al 25% (P/P). El suelo fue contaminado a 40,000 ppm. La metodología del crecimiento miceliar es la misma que el primer estudio preliminar.

2.5 Análisis estadístico de los estudios preliminares

Para el primer estudio se realizó un diseño de dos factores con un arreglo de 2x3 por triplicado, el factor A con dos niveles que son las especies de hongos y el factor B con tres niveles que son los porcentajes del 15, 25 y 35% (P/P).

Y para el segundo estudio se elaboró un diseño de dos factores con un arreglo de 2x1 por triplicado, el factor A con dos niveles que son las especies de hongos y el factor B el porcentaje en peso del bagazo.



A ambos estudios se les realizó un ANOVA multifactorial seguida de una prueba de rangos LSD. Se empleó el paquete estadístico Statgraphics Centurion © XVI.

2.6 Diseño experimental

La prueba se llevó a cabo en tazones de vidrio individuales esterilizados, de 15 cm de ancho por 10 cm de alto, para garantizar la normalidad estadística. En este caso, el tamaño de la muestra fue de 80 g para un 25% (P/P) de bagazo de caña. *G. multipileum* fue la especie con un alto crecimiento micelial y se evaluó su potencial para degradar PC de fracción pesada a 40,000 ppm. Se establecieron tres tratamientos (T1 = suelo + PC; T2 = suelo + bagazo + PC; T3 = suelo + bagazo + PC + hongo) con respecto a diferentes tiempos: 1, 15, 30 y 45 días de degradación, por triplicado, dando un total de 36 unidades experimentales.

El suelo fue esterilizado y posteriormente contaminado con PC a 40,000 ppm. Por otro lado, el bagazo se humedeció al 70% y luego se realizaron las mezclas de suelo contaminado con el bagazo. Además, se activó *G. multipileum* en maíz palomero; para esto, el maíz se hidrató durante 12 horas y al final se colocó en frascos de vidrio y se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 120 °C. Al finalizar, se dejó enfriar y se inoculó el hongo con un cuadro de agar de 1 cm² con mecheros. Finalmente, se dejó en oscuridad hasta que se propagó en su totalidad. Las semillas propagadas se usaron para el T3 y se colocaron de manera distribuida sobre la mezcla y se sellaron los tazones con una película plástica para evitar cualquier contaminación. A los 7 días, se realizaron agujeros en la película plástica para favorecer la transferencia de oxígeno. Al final de cada día establecido, se extrajeron muestras compuestas para la cuantificación de HTP.

2.6.1 Análisis de HTP

Se empleó el método gravimétrico EPA 3540C por Soxhlet con modificaciones. Las muestras de suelo fueron secadas a temperatura ambiente y homogenizadas, posteriormente se pesó una cantidad de 5 g de muestra y se colocó en un cartucho de papel filtro. Para el equipo Soxhlet se empleó un volumen de 100 mL de diclorometano grado HPLC (marca J.T. Baker) como disolvente de extracción. Debido al tipo de textura que presentaba el suelo, el tiempo de extracción se estableció para un lapso de 10 hrs. Una vez terminado el proceso, el extracto fue evaporado a temperatura ambiente y se calculó la concentración.

2.6.1.1 Análisis estadístico

Se realizó un diseño completamente aleatorizado de dos factores con un arreglo de 3x4 por triplicado. El Factor A son los tratamientos (T1, T2 y T3) y el factor B los días de degradación de HTP (1, 7, 15, 30 y 45 días), posteriormente los datos fueron analizados mediante una prueba de Kruskal-Wallis.

2.6.1.2 Análisis FTIR

Las muestras de fracciones SARA fueron analizadas por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (Fourier transform infrared spectroscopy "FTIR" por sus siglas en inglés). Para ello, se tomaron los tubos que contenía cada fracción y se colocaron dentro del equipo para ser analizados. El equipo utilizado fue FTIR modelo Nicole is5 ZNSE con detector AIR Diamon marca Thermo Scientific. Los espectros fueron tomados en los rangos de 1152 cm⁻¹ a 1700 cm⁻¹.

2.6.2 SARA analysis



los extractos de HTP fueron fraccionados por análisis S.A.R.A. empleando la técnica de columna de sílice. La columna estaba conformada desde la base con un tapón de algodón para evitar el deslizamiento del material, luego se agregó sílica gel 60-200 Mesh (J.T. Baker) 2/3 partes de la columna y en el espacio restante se agregó sulfato de sodio. Para el fraccionamiento, primeramente, la columna fue humectada con hexano, para asegurar la firmeza del material y evitar la formación de burbujas. Para cada fracción se seleccionó un solvente como disolvente de extracción de forma secuencial por polaridad creciente de la siguiente forma:

- Saturados: Hexano
- Aromáticos: Tolueno
- Resinas: mezcla de Metanol/Cetona a 1:1 (v:v)
- Asfáltenos: por diferencia de peso

Inmediatamente el extracto de PC fue diluido en hexano y se agregó a la columna para la obtención de saturados, luego se agregó tolueno para la obtención de la fracción aromática y, por último, se agregó la mezcla de metanol/cetona para la obtención de la fracción de resinas. Para el caso de los asfáltenos se obtuvo por diferencia de peso. Todas las fracciones fueron evaporadas a temperatura ambiente para calcular la concentración de cada fracción.

2.6.3 Cinética de reacción de primer orden y tiempo de vida media

Los resultados obtenidos de la concentración del extracto del petróleo crudo (HTP) así como de las fracciones S.A.R.A. de la especie *G. multipileum*, fueron evaluados para el cálculo de la reacción de primer orden de la forma $\ln[C] = -kt + \ln[C_0]$. Las ecuaciones de la pendiente de las gráficas de la reacción de primer orden fueron empleadas para el cálculo del tiempo de vida media con la siguiente ecuación 1:

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln(2)}{k} = \frac{0.693}{k}$$

3. Resultados

3.1 Parámetros fisicoquímicos del suelo

En la Tabla 1 se presentan los resultados de los parámetros fisicoquímicos del suelo descritos en la NOM-021-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT, 2000). El valor de pH reporta que es un suelo neutro. El valor de la CE reporta que es un suelo ligeramente salino. El %MO reporta que se trata de un suelo con presencia media. La DA reporta que es un suelo francoso. Y los datos de la textura reporta que se trata de un suelo franco-limoso.

Tabla 1. Parametros fisicoquimicos del suelo

pH	CIC (Cmol/kg)	CE (dS/m)	%MO	DA (g/cm ³)	DR (g/cm ³)	%P	%CC	%A	%L	%R
6.62 ± 0.04	9.8 ± 0.03	0.128 ± 0.00	2.00 ± 0.00	1.28 ± 0.04	2.43 ± 0.02	47.17 ± 1.76	48.75 ± 0.01	41.65 ± 2.49	56.51 ± 2.29	1.84 ± 1.19

Los datos están representados por la media ± DE; n=5

3.2 Primer estudio preliminar



En las Figuras 1 y 2 se presentan las tasas de crecimiento miceliar (K_r) para *G. multipileum* y *P. sanguineus* a los 15, 25 y 35% (P/P) de bagazo, respectivamente, provenientes de la ecuación de la pendiente.

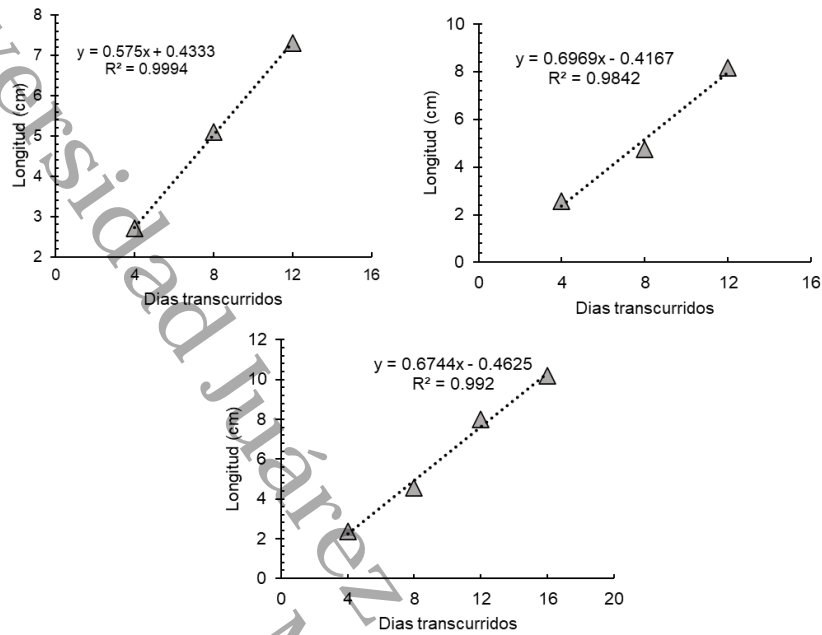


Figura 1. Tasa de crecimiento miceliar de *G. multipileum* en bagazo de caña al A: 15%, B: 25% and C: 35% (P/P)

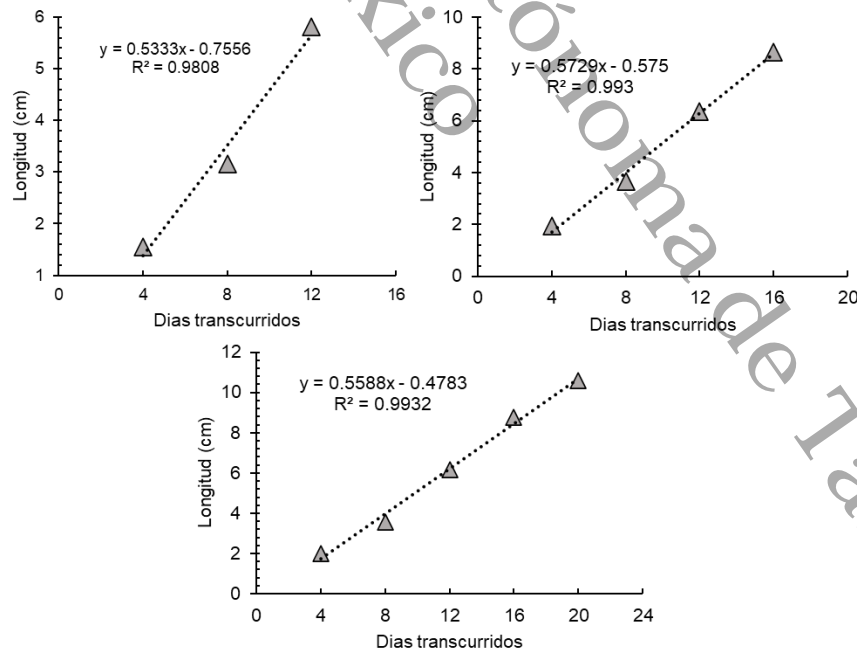


Figura 2. Tasa de crecimiento miceliar de *P. sanguineus* en bagazo de caña al A: 15%, B: 25% and C: 35% (P/P).



En la Tabla 2 se presentan las tasas de crecimiento de ambas especies y se puede observar que ambas presentaron una alta tasa de crecimiento miceliar al 25% (P/P) con valores de 0.696 cm/día y 0.572 cm/día, para *G. multipileum* y *P. sanguineus*, respectivamente.

Tabla 2. Tasas de crecimiento de la especie *G. multipileum* and *P. sanguineus*

Especies	% (P/P) bagazo de caña (cm/día)		
	15%	25%	35%
<i>G. multipileum</i>	0.575	0.696	0.674
<i>P. sanguineus</i>	0.533	0.572	0.558

3.3 Segundo estudio preliminar

En la Figura 3 se muestran las tasas de crecimiento miceliar para ambas especies al 25% (P/P) de bagazo con sus respectivas ecuaciones de la pendiente y su tasa de crecimiento (Kr).

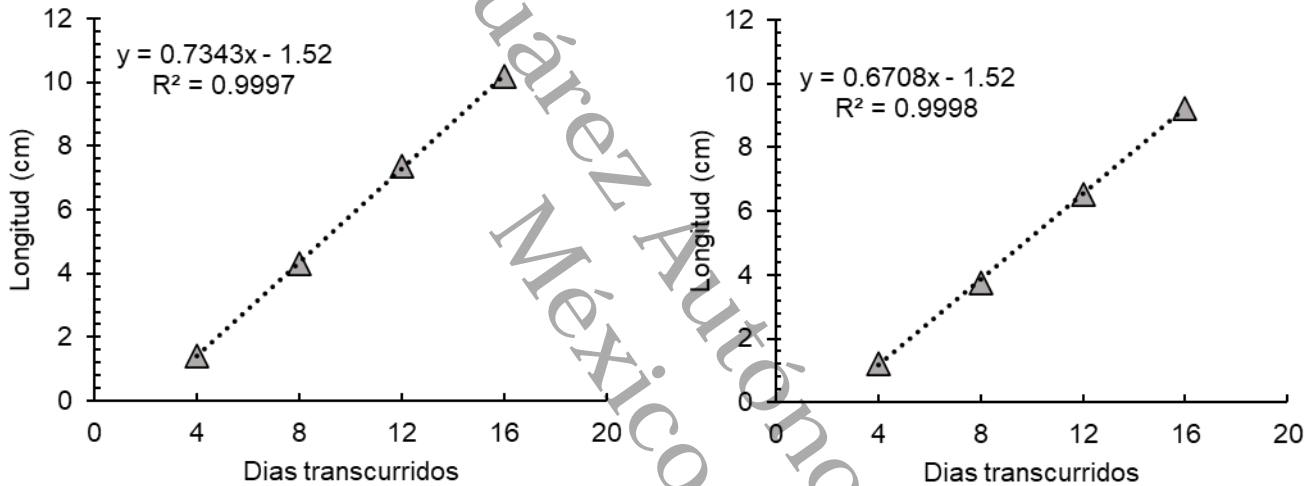


Figura 3. Tasa de crecimiento miceliar de: A) *G. multipileum* y B) *P. sanguineus* en suelo contaminado a 40,000 ppm

En la Tabla 3 se reportan las tasas de crecimiento (Kr) para ambas especies. *G. multipileum* fue la especie que presentó una alta tasa de crecimiento con un valor de 0.743 cm/día a comparación de *P. sanguineus* que obtuvo una tasa menor con un valor de 0.670 cm/día, por esta razón la especie fue descartada, empleando *G. multipileum* en el diseño experimental.

Tabla 3. Tasas de crecimiento miceliar de ambas especies al 25% (P/P) de bagazo de caña

Especies	$y = Krx + C$	Kr (cm/día)
<i>G. multipileum</i>	$y = 0.7343x - 1.52$	0.734
<i>P. sanguineus</i>	$y = 0.6708x - 1.52$	0.670

3.4 Degradación de HTP

En este punto, se consideraron los resultados obtenidos de ambas pruebas preliminares, estableciendo el diseño a un 25% (P/P) de bagazo de caña a 40,000 ppm empleando *G. multipileum* para evaluar la degradación de HTP de fracción pesada. La cinética de degradación se presenta en la Figura 4. El T3 fue la que presentó la mayor degradación, desde el día 1 hasta el día 45 con valores de $40,000 \pm 0.00$ y $31,186 \pm 230.94$ ppm, respectivamente, a comparación del T1 y T2 que presentaron degradaciones muy bajas desde el día 1 al día 45.

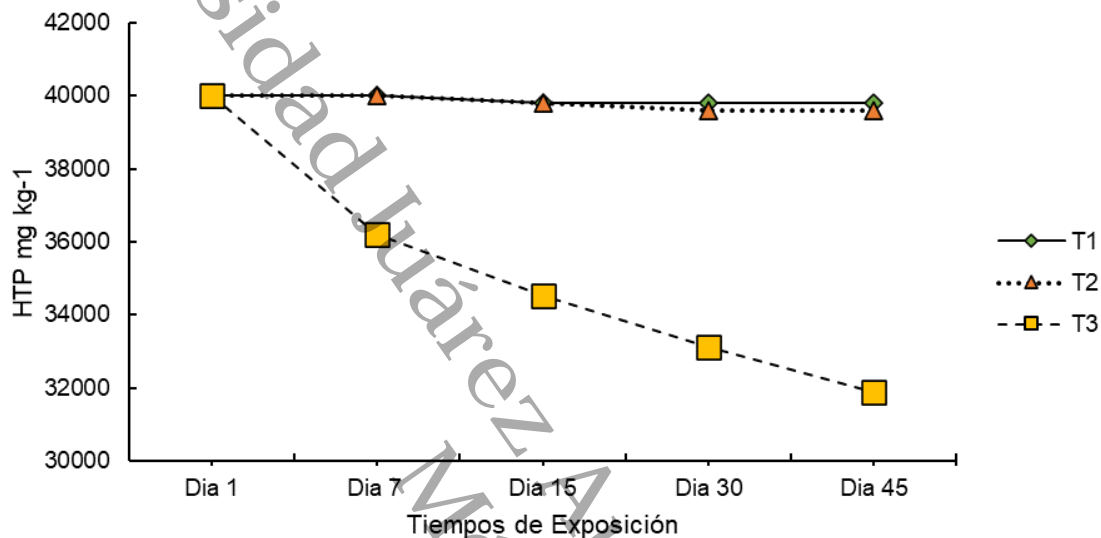


Figura 4. Cinética de degradación de HTP para el T1, T2 y T3

Los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis (Figura 5) obtuvo un valor de $p < 0.00000$... indicando que es altamente significativo. Los valores están reportados por la mediana \pm rango intercuartil. Se observa que el T3 tiene una mayor degradación de HTP, en cambio para el T1 y T2 las degradaciones fueron mínimas y similares.

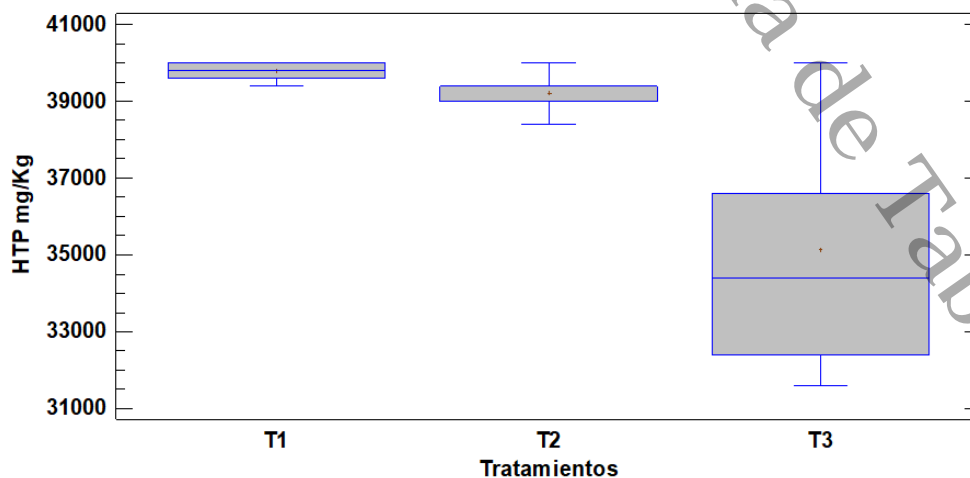


Figura 5. Gráfico de caja y bigote de degradación de HTP

3.4.1 Cinética de reacción de primer orden y tiempo de vida media de los HTP

La cinética de biorremediación fue evaluada por medio de la cinética de primer orden, ya que los autores coinciden que las degradaciones de HTP en suelos se rige por ese parámetro. Para ello fueron graficados el \ln [HTP] con respecto a los días transcurridos y se reportan en la Figura 6 para cada tratamiento.

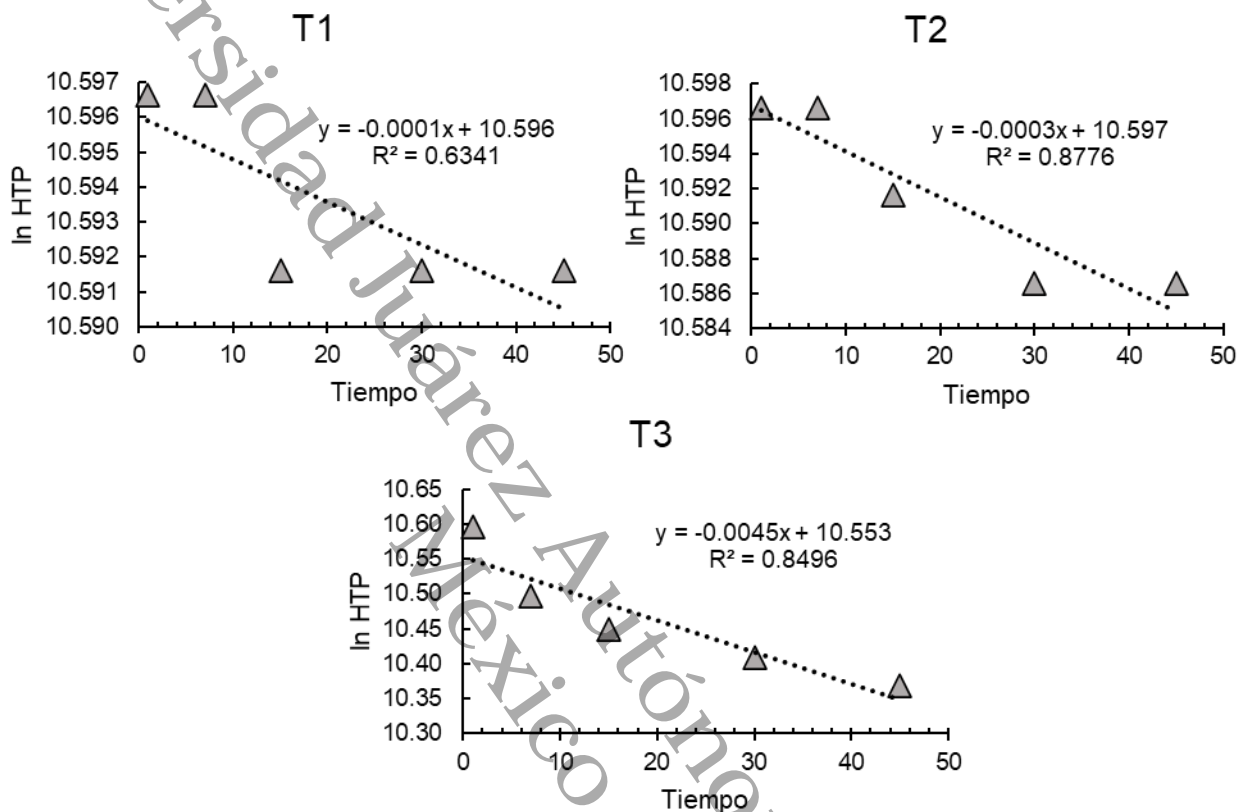


Figure 6. Cinética de reacción de primer orden para el T1, T2 and T3

En la Tabla 4 se muestran las constantes de biodegradación para cada tratamiento con sus respectivos tiempos de vida media.

Table 4. Constante de velocidad de biodegradación y tiempo de vida media para cada tratamiento

Tratamientos	$\ln[C] = -kt + \ln[C_0]$	$-k$ (d^{-1})	$t_{1/2}$ (días)
T1	$y = -0.0001x + 10.598$	-0.0001	6930
T2	$y = -0.0003x + 10.597$	-0.0003	2310
T3	$y = -0.0045x + 10.553$	-0.0045	154



3.4.2 Análisis FTIR

Se seleccionaron los picos de absorción de los grupos funcionales más representativos para la evaluación de la abundancia relativa de los grupos funcionales de acuerdo a los rangos propuestos por Morales-Bautista et al. (2016). Los picos fueron los siguientes: 1376 cm⁻¹ para grupos saturados (SAT), 1600 cm⁻¹ para grupos insaturados (C=C), 1021 cm⁻¹ para grupos éteres (COC), 1152 cm⁻¹ para grupos sulfonilos (O=S=O) y 1700 cm⁻¹ para grupos carbonilo-aromáticos (ArCOR). En la Tabla 5 se reportan los valores de la altura máxima de los picos para cada grupo funcional por tratamientos.

Tabla 5. Valores de FTIR de las alturas máximas para cada grupo funcional

Treatments	O=S=O	COC	SAT	C=C	ArCOR
D1T1	93.23	94.05	85.16	95.56	94.48
D7T1	92.73	93.39	84.03	95.15	94.10
D15T1	91.17	92.06	82.66	93.60	93.15
D30T1	91.26	92.02	82.62	93.56	93.06
D45T1	90.26	91.26	81.92	92.76	92.07
D1T2	90.64	91.08	82.35	92.94	91.66
D7T2	90.01	90.31	81.63	92.46	91.05
D15T2	90.27	90.56	81.95	92.89	92.37
D30T2	90.65	89.78	82.00	92.76	92.81
D45T2	89.22	90.23	81.49	92.3	90.85
D1T3	91.14	92.12	83.15	94.36	92.90
D7T3	91.21	91.95	82.98	94.13	92.55
D15T3	91.12	91.42	83.01	94.04	92.15
D30T3	91.19	91.41	82.80	93.81	91.73
D45T3	90.91	90.94	82.89	93.70	91.41

D= día 1, 7, 15, 30 y 45; T= tratamiento 1, tratamiento 2 & tratamiento 3.

Los valores obtenidos para cada pico, obtenidos en la prueba FTIR, se emplearon para obtener el índice conocido como índice relativo de los grupos funcionales polares (IRAP), tal como lo propone Morales-Bautista et al. (2016). El IRAP nos permite conocer la cantidad de grupos funcionales polares en una muestra contaminada de HTP, y se calcula de la siguiente forma en la ecuación 2:

$$IRAP = \left[\left(\frac{O=S=O}{SAT} \right) + \left(\frac{COC}{SAT} \right) + \left(\frac{ArCOR}{SAT} \right) \right] * 100\%$$

Donde:

O=S=O = es la altura máxima a los 1152 cm⁻¹

COC = es la altura máxima a los 1021 cm⁻¹

ArCOR = es la altura máxima a los 1700 cm⁻¹

SAT = es la altura máxima a los 1376 cm⁻¹

Una vez calculado el IRAP, los datos fueron empleados en la ecuación de la pendiente que reporta Morales-Bautista et al. (2016) (Ecuación 2), para poder despejar “x” y obtener los °API (Ecuación 3).

$$y = -1.1688x + 82.703 \quad Ec. 3$$



$$x = \frac{y-82.703}{1.1688} \quad Ec.4$$

Donde:

y = IRAP

x = °API

Una vez obtenidos los valores de °API, se podrá calcular la repelencia al agua, empleando la ecuación de la pendiente para HTP de fracción pesada, reportado por Marín-García et al. (2015) (Ecuación 4).

$$y = 45.399 \ln(x) + 45.163 \quad Ec. 5$$

Donde:

y = Repelencia (segundos)

x = concentración del crudo (°API)

A continuación, se presentan los valores del %IRAP, °API y repelencia al agua en la Tabla 6 y en la Figura 7 la repelencia al agua.

Tabla 6. Valores de IRAP, °API y Repelencia al agua

Tratamientos	%IRAP	°API	Repelencia (s)
D1T1	331.329	2.127	79.43
D7T1	333.476	2.146	79.82
D15T1	334.358	2.153	79.98
D30T1	334.471	2.154	80.00
D45T1	333.972	2.150	79.91
D1T2	331.973	2.133	79.55
D7T2	332.439	2.137	79.63
D15T2	333.374	2.145	79.80
D30T2	333.220	2.143	79.77
D45T2	331.697	2.130	79.50
D1T3	332.123	2.134	79.57
D7T3	332.261	2.135	79.60
D15T3	330.912	2.124	79.35
D30T3	331.316	2.127	79.43
D45T3	329.666	2.113	79.13

D= día 1, 7, 15, 30 y 45; T= tratamiento 1, tratamiento 2 & tratamiento 3.

Los valores de repelencia de la Tabla 6 se encuentran graficados en la Figura 7, de acuerdo a eso, para el T1 se observa que hay un aumento desde el día uno hasta el día 30 y luego disminuye ligeramente; para el T2 se observa un aumento desde el día uno hasta el día 15 y luego disminuye ligeramente hasta el día 45. Por último, el T3 que es la que contiene el hongo se observa una disminución notable de la repelencia del agua del día uno con un valor de 79.57 s hasta el día 45 con un valor de 79.13 s.

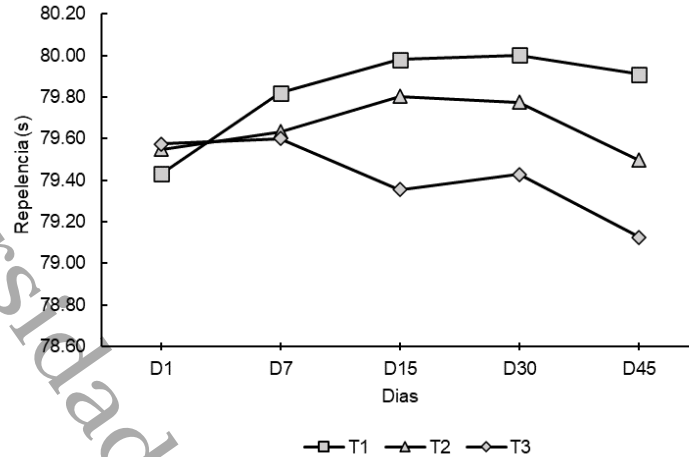


Figura 7. Repelencia al agua por tratamientos

3.5 Análisis SARA

En la Tabla 7 se reportan los valores de porcentaje para las fracciones SARA para cada tratamiento. Para el T1, en todas las fracciones los porcentajes se mantuvieron similares para todos los días. Para el T2 las fracciones SARA reportaron muy bajas disminuciones y solamente la fracciones de asfáltenos registró un aumento. Por último, el T3, para la fracción de saturados registró una disminución del 65.00% al 38.99%, para la fracción de aromáticos de 9.5% a 4.4%, sin embargo, para la fracción de resinas reportó un aumento en sus concentraciones del 20% a 40.88%, así como la fracción de asfáltenos del 5.5% a 15.72%.

Tabla 7. Valores de porcentaje para cada fracción SARA

Tratamientos	Días	% Fracciones			
		Saturados	Aromáticos	Resinas	Asfáltenos
T1	1	65.00	9.50	20.00	5.50
	7	64.50	9.50	20.00	6.00
	15	64.82	9.29	20.10	5.77
	30	65.15	9.09	20.20	5.55
	45	65.65	9.09	20.20	5.05
T2	1	65.00	9.50	20.00	5.50
	7	65.00	9.50	20.00	5.50
	15	64.32	9.54	20.10	6.03
	30	64.64	9.34	20.20	5.80
	45	64.64	9.34	19.69	6.31
T3	1	65.00	9.50	20.00	5.50
	7	60.77	8.83	24.30	6.07
	15	55.49	7.51	28.90	8.09
	30	39.75	6.02	36.76	17.46
	45	38.99	4.40	40.88	15.72



3.5.1 Porcentaje de biodegradación

En la Tabla 8 y en las Figuras 8, 9, 10 y 11, se muestran los porcentajes de biodegradación (%B) para cada tratamiento y para cada fracción SAR. El cálculo se realizó por medio de la siguiente ecuación 5:

$$\%B = \left(\frac{C_i - C_t}{C_i} \right) * 100 \quad \text{Ec. 6}$$

Donde:

- %B = Porcentaje de biodegradación
- C_i = Concentración inicial de la fracción
- C_t = Concentración de la fracción al tiempo t

Tabla 8. Porcentaje de Biodegradación para cada fracción

Tratamientos	Días	% Biodegradación			
		S	A	R	A
T1	1	0	0	0	0
	7	0.76	0	0	-9.09
	15	0.27	2.14	-0.50	-5.07
	30	-0.23	4.30	-1.01	-1.01
	45	-1.01	4.30	-1.01	8.17
T2	1	0	0	0	0
	7	0	0	0	0
	15	1.04	-0.50	-0.50	-9.63
	30	0.54	1.64	-1.01	-5.60
	45	0.54	1.64	1.51	-14.78
T3	1	0	0	0	0
	7	6.50	6.94	-21.54	-10.49
	15	14.62	20.90	-44.50	-47.13
	30	38.83	36.58	-83.73	-217.63
	45	40.00	53.65	-104.40	-185.87

Los estudios relacionados en la biodegradación de fracciones SARA mediante el empleo de la especie *G. multipileum* son altamente escasos, sin embargo, este estudio será una aportación de información para futuras consultas.

El T1 y el T2 de la fracción de saturados (Figura 8) y aromáticos (Figura 9), se observa que se obtuvieron minimas biodegradaciones, sin embargo, el T3, las superó con valores de %B más altas al día 45, ya que esta es la que contenía a la especie *G. multipileum*.

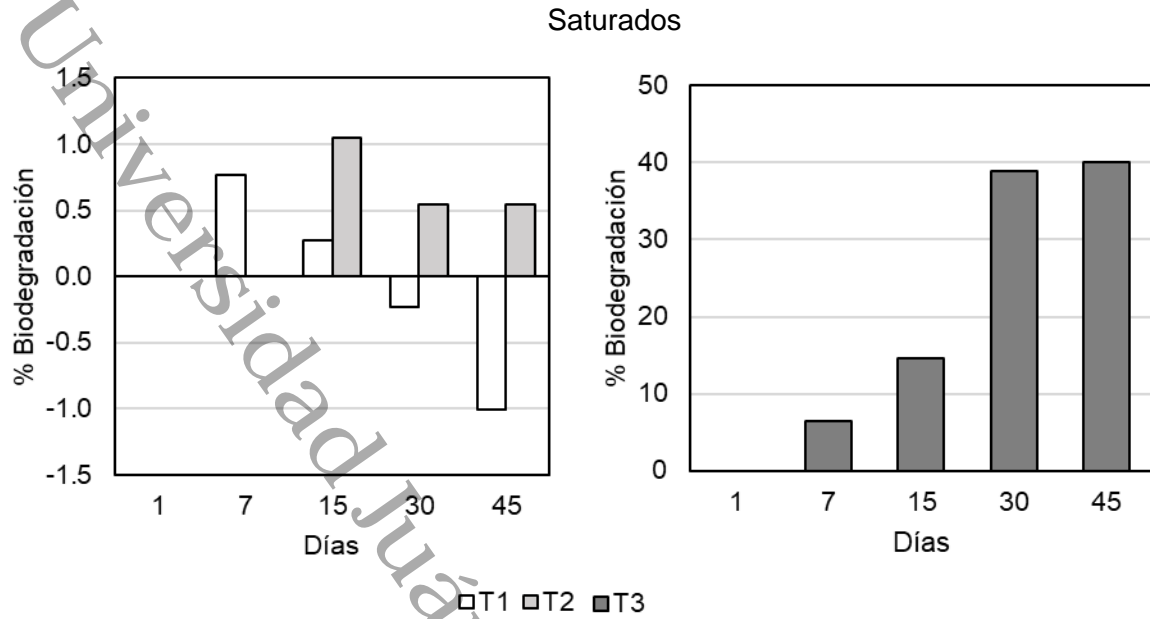


Figura 8. Porcentaje de biodegradación de Saturados

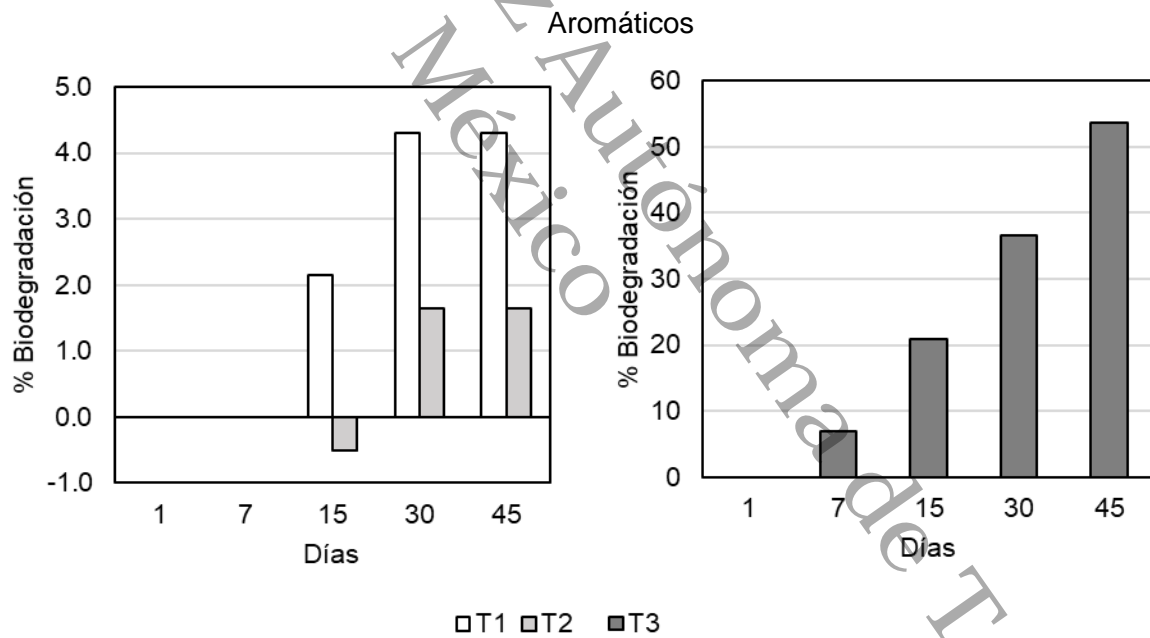


Figura 9. Porcentaje de biodegradación de Aromáticos



Sin embargo, para la fracción de resinas (Figura 10) y asfáltenos (Figura 11) se observan %B en negativos. Siendo el T3 el más significativo con valores negativos más altos.

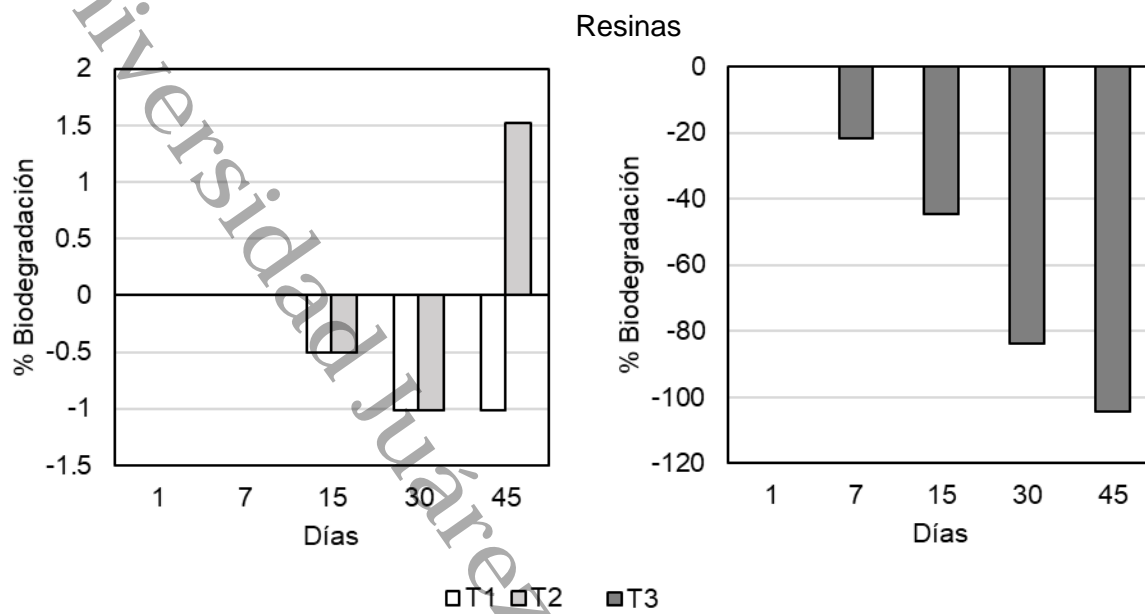


Figura 10. Porcentaje de biodegradación de Resinas

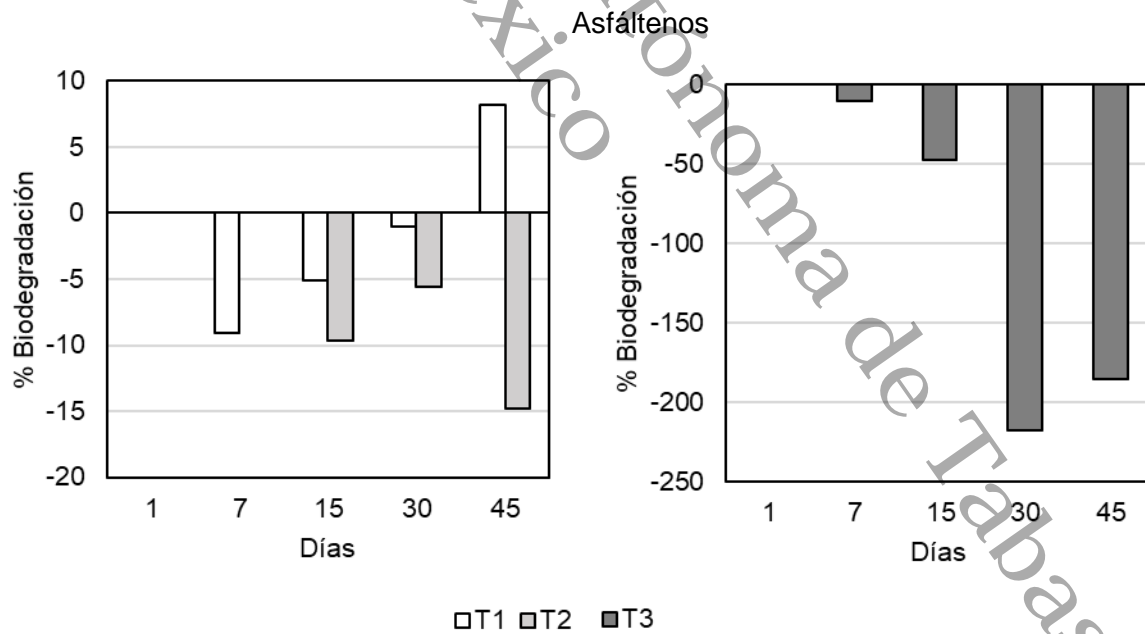


Figure 11. Porcentaje de biodegradación de Asfáltenos



3.5.2 Reacción de primer orden y tiempo de vida media de las fracciones SARA

Se calcularon las cinéticas de biorremediación para cada fracción SARA y para cada tratamiento graficando el \ln [HTP] con respecto a los días. En la Tabla 9 se reportan las ecuaciones de la pendiente así como la constante de biodegradación (-k).

Table 9. Constante de velocidad de biodegradación y tiempo de vida media de las fracciones

Fracciones	Tratamientos	$\ln[C] = -kt + \ln[C_0]$	-K	$t_{1/2}$ (días)
Saturados	T1	$y = 0.0003x + 4.1688$	0.0003	2310
	T2	$y = -0.0001x + 4.1724$	0.0001	6930
	T3	$y = -0.0129x + 4.1819$	0.0129	53
Aromáticos	T1	$y = -0.0012x + 2.252$	0.0012	577.5
	T2	$y = -0.0005x + 2.2551$	0.0005	1386
	T3	$y = -0.0174x + 2.2865$	0.0174	39
Resinas	T1	$y = 0.0003x + 2.9956$	0.0003	2310
	T2	$y = -0.0002x + 3.0004$	0.0002	3465
	T3	$y = 0.0159x + 3.0615$	0.0159	43
Asfáltenos	T1	$y = -0.0026x + 1.7689$	0.0026	266
	T2	$y = 0.0029x + 1.7058$	0.0029	238
	T3	$y = 0.0279x + 1.6967$	0.00279	24

4. Discusión

La comparación de los resultados obtenidos con otros autores fue limitativa, debido a que los estudios son altamente escasos. Es por ello que se realizaron comparaciones con especies de la misma familia y género en las tasas de crecimiento, degradación de HTP y fracciones SARA.

4.1 Primer estudio preliminar

G. multipileum obtuvo al 25% (P/P) de bagazo de caña la mayor tasa de crecimiento (Tabla 2) con un valor de 0.696 cm/día, de acuerdo con Hsieh & Yang (2004) mencionan que obtuvieron una tasa de crecimiento de 0.55 y 0.6 cm/día para *G. lucidum*, Koutrotsios et al. (2019) obtuvo una tasa de crecimiento de 0.70 cm/día para *G. lucidum* para un tiempo de incubación de 43 días, Zhang et al. (2019) obtuvo una tasa de crecimiento de 0.57 cm/día para *G. lucidum* en una mezcla de cascara de semilla de algodón, salvado de trigo, harina de maíz y yeso. El valor obtenido y comparado con el de los autores se encuentra entre los mencionados en un rango de 0.55 a 1.2 cm/día.

P. sanguineus obtuvo de igual manera una alta tasa de crecimiento (Tabla 2) al 25% (P/P) de bagazo de caña con un valor de 0.572 cm/día, de acuerdo con Labanjan (2005) obtuvo un alto de crecimiento para *P. cinnabarinus* de 1.28 cm/día en medio de cultivo PCA (agar de recuento en placa) a los 7 días de incubación. Shittu et al. (2005) obtuvo una tasa de crecimiento de 1.19 cm/día a los 7 días de incubación en medio de cultivo agar dextrosa saboraud. Sharma & Jaitly (2017) reportaron tasas de



crecimiento de para *P. cinnabarinus* y *P. sanguineus* de 0.46 y 0.48 cm/día respectivamente, a los 15 días de incubación. Por último, Mendoza et al. (2020) obtuvo para *P. sanguineus* un alto de crecimiento de 0.640 cm/día a los 25 días de incubación en medio de cultivo con agua de coco. El valor obtenido con el de los autores se encuentra en un rango de 0.46 a 1.28 cm/día.

4.2 Segundo estudio preliminar

De acuerdo a las Figura 3 y a los datos presentados en la Tabla 3, no fue posible comparar los datos debido a la escasez de estudios. Por tal razón, dichos datos contribuirán a ser empleados en futuras en consultas. Como se había mencionado anteriormente en este apartado *G. multipileum* fue la que presento un alto crecimiento miceliar con un valor de 0.743 cm/día, mientras que *P. sanguineus* obtuvo un valor más bajo de 0.670 cm/día. Por tal razón, *P. sanguineus* fue descartada, para emplear a continuación la especie *G. multipileum*.

4.3 Degradación de HTP

De acuerdo a la Figura 5, el T3 es la que contiene el hongo y por lo tanto es la que presentó más degradación a comparación del resto de los tratamientos, sin embargo, su distribución de datos es mucho mayor. Las posibles razones por las que se hayan obtenido degradaciones en el T1 y T2 (Figura 5) puede deberse a la esterilización aplicada al suelo, debido a que fue sometido a una temperatura de 120 °C, esto resulta ser similar a un tratamiento térmico de suelo contaminado por hidrocarburos, ya que se emplean temperaturas de 100 °C en adelante para la volatilización de los mismos (Vidonish et al., 2016); sin embargo, Zamani et al., (2015) reportó en su trabajo donde comparó niveles de HTP de un suelo contaminado, esterilizado y no esterilizado, los resultados de las concentraciones fueron mínimas con valores de 21.8 mg/Kg y 21.6 mg/Kg, respectivamente.

Por otra parte, las degradaciones en el T1 y T2 pueden estar asociadas a la presencia de microbiota autóctona que haya resistido la esterilización, así como también puede estar relacionado a procesos de sorción de parte del bagazo de caña o transformación química de los hidrocarburos (Pérez-Armendariz et al., 2004; Pérez-Armendariz et al., 2010).

La degradación de HTP del T3 está asociada a la presencia del hongo, autores como Kristanti et al. (2011) realizó un estudio donde empleó la especie *Polyporus sp.* para remediar 3000 mg de petróleo crudo en 200 g de suelo a una temperatura de 25 °C por 60 días, la concentración de HTP disminuyó a menos de 1500 mg/200g suelo a los 60 días. Mohammadi-Sichani et al. (2019), empleó hongos de la podredumbre blanca, entre ellas la especie *Ganoderma lucidum*, para degradar HTP de un suelo contaminado proveniente de una refinería, los resultados reportaron que el hongo obtuvo degradaciones del 57.7% a los 3 meses de incubación.

4.3.1 Reacción de primer orden y tiempo de vida media de HTP

El T1 (Tabla 4) fue la que obtuvo la tasa de biodegradación más baja con un valor de 0.0001 s^{-1} y un tiempo de vida media de 6930 días, este tratamiento está conformado de suelo más HTP, para este caso, Agarry et al. (2013) reportó en su trabajo una tasa de degradación de un suelo contaminado un valor de 0.0144 d^{-1} para remediar HTP de fracción ligera de 31.2 ° API y un tiempo de vida media de 48.1 días.

El T2 (Tabla 4) obtuvo una tasa de degradación de -0.0003 s^{-1} , esta se encuentra conformada por el suelo, bagazo de caña y HTP, Díaz-Ramírez et al. (2013) realizó un estudio donde empleo bagazo de



caña como enmienda para degradar HTP de fracción super ligera con 39.3 ° API, donde obtuvo una constante de biodegradación de 0.0103 d⁻¹ y un tiempo de vida media de 67.5 días.

Por último, el T3 (Tabla 4) fue la que obtuvo la tasa más alta con un valor de 0.0045 d⁻¹ y un tiempo de vida media de 154 días, demostrando que el hongo posee el potencial para degradar HTP de fracción pesada. Dhailappan et al. (2022) realizó un estudio donde empleó *Pleurotus ostreatus* para degradar HTP de un suelo contaminado a 12,000 ppm a los 21 días de incubación, obtuvo una tasa de degradación de 0.097 y un tiempo de vida media de 7 días. Por lo tanto, el T3 comprueba que la especie *G. multipleum* posee la capacidad para degradar HTP de fracción pesada a comparación del T1 y T2 que no contenían el hongo.

4.3.2 Análisis FTIR

Los valores de IRAP obtenidos en el T1, T2 y T3 (Tabla 6), se reporta que es un hidrocarburo extrapesado, ya que Morales-Bautista et al. (2016) mencionan en su estudio que obtener valores de <3 a 15 °API se consideran extrapesado, y de acuerdo a los valores obtenidos de IRAP de la Tabla 6 están por arriba de 300% con y arriba de 2°API con va. Morales-Bautista et al. (2016) mencionan que obtener valores altos de IRAP indican una alta presencia de grupos polares, por lo que suelen ser más frecuentes en fracciones pesadas y extrapesadas, a comparación de los crudos medios y ligeros.

Los valores del IRAP del T1 y T2 (Tabla 6) no se registró una disminución, sino más bien un aumento en el índice y esto se aprecia claramente en la repelencia al agua (Figura 7), ya que es directamente proporcional. En cambio, el T3 registró una disminución del IRAP y de igual forma se observa en la repelencia (Figura 7).

Se sabe muy poco de los impactos que ocasiona la repelencia al suelo contaminado por hidrocarburos (Takawira et al., 2014). Sin embargo, algunos estudios han demostrado las repercusiones que esta ocasiona: se ha reportado que la contaminación por hidrocarburos puede alterar la capacidad de campo, porosidad, densidad aparente, reducción de la capacidad retener nutrientes catiónicos durante las precipitaciones, erosión hídrica y contenido óptimo de agua, inclusive en concentraciones muy bajas de hidrocarburos (Roy & McGill 1998; Caravaca & Rolda, 2003; Adams et al., 2008; Rahman et al., 2010).

Algunos estudios han reportado la clasificación de las clases de repelencia al agua y son las siguientes: Clase 0: humectable, no repelente al agua (infiltración en 5 s); Clase I: ligeramente repelente (5 s < WDPT ≤ 60 s); clase II: fuertemente repelente (60 s < WDPT ≤ 600 s); clase III: muy repelente al agua (600 < WDPT ≤ 3600 s); clase IV: extremadamente repelente (WDPT > 3600 s), aunque también se reportan otras clases, que son las siguientes: clase V: 1 h < WDPT ≤ 2 h; clase VI: 2 h < WDPT ≤ 3 h; Clase VII: 3 h < WDPT ≤ 4 h; clase VIII: WDPT > 4 h (Orfánus et al., 2008; Helweke et al., 2018; Helweke & Gozdowski, 2020)

Comparando los resultados obtenidos con las diferentes clases de repelencia al agua, se determinó para todos los tratamientos que el suelo es clase II: fuertemente repelente, ya que los valores se encontraron en un rango de 79.13 s a 80 s. el aumento de repelencia al agua en los T1 y T2 está relacionado con el incremento de compuestos polares ya que los estudios de diferentes han demostrado que las resinas y asfáltenos se ven enriquecidos a medida que se metabolizan la fracción de saturados y aromáticos (Blumenstein et al., 2007; Carpentier, 2007; Romero-Hernández et al., 2021).

3.5.2 Porcentaje de Biodegradación



De acuerdo a la Figura 8, se observa que la fracción de saturados para el T1 y T2 no se observan degradaciones a comparación del T3 que obtuvo un %B al día 45 con un valor del 40.00%, este valor resulta ser menor al reportado por Ogbo & Okhuoya (2008) donde obtuvo un %B del 80%. Ogbo & Okhuoya (2008), empleó la especie *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Singer usando como sustratos aserrín y hojas de plátano, para evaluar la biodegradación de las fracciones SARA.

Para la fracción de aromáticos (Figura 9) se pueden observar ligeras biodegradaciones para el T1 y T2, sin embargo, el T1 es la que supera al T2. El T3 supera a las anteriores alcanzando un %B al día 45 un valor del 53.65% al día 45, este valor resulta ser casi similar al de Ogbo & Okhuoya (2008) reportando un %B del 60%.

Para la fracción de resinas (Figura 10) se observan que los porcentajes %B para todos los tratamientos son negativas, siendo el T3 la más representativa, alcanzando un %B del -104.40%, para este caso Ogbo & Okhuoya (2008) reportó un valor %B del 60%, en cambio, el T2 al día 45 registró un %B del 1.51%.

Por último, para la fracción de asfáltenos (Figura 11) de igual manera se observan %B negativas para todos los tratamientos, siendo el T3 el más representativo, alcanzando un valor de %B al día 30 de -217.63%, a comparación de Ogbo & Okhuoya (2008) obtuvo un %B del 30%, sin embargo, para el T1 para el día 45 obtuvo un %B de 8.17%.

Ciertos factores pueden estar involucrados en la biodegradación de las fracciones de saturados y aromáticos para el T3, como se mencionó anteriormente, esto puede deberse a la esterilización del suelo provocando su volatilización, sin embargo, esta volatilización es mínima, así lo confirma Zamani et al. (2015) en su estudio y estos valores pueden compararse en la Tabla 8 para el T1, T2 y T3, siendo el T3 con más %B de saturados y aromáticos. Otro punto importante, es que para el T3, la presencia de bagazo de caña beneficia al hongo para degradar las fracciones, ya que esta, aparte de aportar la celulosa como su alimento para la obtención de energía, aumenta la porosidad del suelo en más del 80% facilitando así la respiración del hongo y la correcta distribución de las hifas del hongo (Chiu et al., 2009) Sin embargo, la degradación de los hidrocarburos dependerá de la capacidad y eficiencia del hongo (Mohammadi-Sichani et al., 2019).

Respecto a las %B negativas autores como Ogbo & Okhuoya (2008) han mencionado que esto puede deberse a la formación de metabolitos que pueden llegar ser dañinos o que haya sucedido alguna mineralización incompleta de alguna fracción. Esto también lo menciona Adongbede & Sanni (2014) en su investigación, donde reportaron la formación de metabolitos secundarios en las muestras contaminadas y que además estos son indeseables y que también pueden ser inofensivos. Hidayat & Tachibana (2013), menciona que los metabolitos secundarios se originan cuando el metabolismo no fue completo, sin embargo, una remediación efectiva termina cuando el contaminante es transformado a CO₂. Por último, los %B de biodegradación negativos obtenidos efectivamente sucede por el aumento de su concentración durante la degradación. El comportamiento de estas dos fracciones se debe a que se ven enriquecidas conforme las fracciones de saturadas y aromáticas son metabolizadas, dando como productos compuestos polares (Liao et al., 2009; Romero-Hernández et al., 2021)

4.4.1 Reacción de primer orden y tiempo de vida media de las fracciones SARA

Los datos obtenidos de los porcentajes de las fracciones SARA de la Tabla 7 se emplearon para evaluar la cinética de primer orden para cada fracción así como su tiempo de vida media. Debido a la



escasez de estudios de igual forma no fue posible comparar los datos, sin embargo, estos datos contribuirán a futuras consultas.

Para todas las fracciones (Tabla 9) se observó que el T1 y T2 obtuvieron altos tiempos de vida media, estos tratamientos como se ha mencionado no contenían al hongo, el T1 solo era suelo más hidrocarburo y el T2 era suelo más hidrocarburo y bagazo de caña, por tal razón se obtuvieron dichos valores de vida media. En cambio, para el T3, se observó que los tiempos de vida eran muy bajos, para Saturados se obtuvo un valor de 53 días, para aromáticos un valor de 39 días, para resinas de 43 días y asfáltenos de 24 días. Estos datos confirman que el hongo es capaz de degradar las fracciones a un 50%. Obtener estos valores de vida para cada fracción más bajos que el obtenido para los HTP de 154 días, puede deberse a que la ecuación solo considera cuando solamente esa fracción está siendo degradada por el hongo y no en conjunto con el resto de las fracciones, ya que cada fracción, tiene diferente composición molecular.

Conclusiones

Este estudio confirma que los HPB, particularmente *P. sanguineus* y *G. multipileum*, tienen la capacidad de crecer en suelos de textura franco-limosa contaminado con hidrocarburos de fracción pesada. A pesar del reto que implicó establecer los % (P/P) de bagazo de caña para este tipo de suelo se determinó que disminuir la cantidad de bagazo sería difícil llevar a cabo el crecimiento miceliar ya que se producían la formación lodos y se reducía la formación de poros sin embargo ambas especies presentaron un crecimiento miceliar en bagazo al 25% (P/P); *P. sanguineus* estuvo casi a la par de *G. multipileum*, sin embargo *G. multipileum* presentó una alta tasa de crecimiento. Por otra parte, en la evaluación de la tasa de crecimiento en suelo contaminado *P. sanguineus* estuvo casi a la par de *G. multipileum*, pero este último presentó una alta tasa de crecimiento. *P. sanguineus* a pesar de haber sido descartada, puede ser una alternativa para remediar hidrocarburos de fracción pesada.

Por último, el empleo de *G. multipileum* en la degradación de HTP, el estudio demostró que puede degradar hidrocarburos de fracción pesada y reducirlo en un lapso de 45 días de 40,000 a 31,000 ppm y de acuerdo al tiempo de vida media solo le tomaría 154 días reducirlo a la mitad de su concentración inicial. Por otra parte, el fraccionamiento SARA reveló que las fracciones saturadas y aromáticas estaban siendo degradadas, lo cual se ha reportado en una variedad de estudios que los hongos tienden a degradar más estas fracciones. No obstante, para la fracción de resinas y asfáltenos reveló que estas aumentaban conforme transcurría el tiempo. Esto se ha reportado en algunos estudios ya que estas fracciones se ven enriquecidas conforme se degradan la fracción de saturados y aromáticos. Es por ello que se recurrió al cálculo del IRAP ya que este parámetro revela la cantidad de compuestos polares, y efectivamente los valores reportados superaban el 300% del IRAP, indicando una alta presencia de compuesto polares. Y esto era notorio en el porcentaje de biodegradación, ya que para estas fracciones se obtenían porcentajes negativos. A pesar de obtenerse estos resultados también se demostró que *G. mutipileum* tiene la capacidad de reducir la repelencia al agua, pero en cantidades muy bajas.

Agradecimientos

Agradecemos al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por el apoyo de financiación con número de beca 743284 otorgado a Samuel Guadalupe Cahuich Flores, en la Maestría en Ciencias Ambientales de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.



Referencias

- Abdel-Hamid, A. M., Solbiati, J. O., & Cann, I. K. O. (2013). Insights into Lignin Degradation and its Potential Industrial Applications. *Advances in Applied Microbiology*, 1–28. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-407679-2.00001-6>
- Adams, R. H., Guzmán Osorio, F. J., & Zavala Cruz, J. (2008). Water repellency in oil contaminated sandy and clayey soils. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 5(4), 445–454. <https://doi.org/10.1007/bf03326040>
- Adongbede, E. M., & Sanni, R. O. (2014). Biodegradation of engine oil by *Agaricus campestris* (a white rot fungus). *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 5(7). <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000262>
- Agarry, S. E., Aremu, M. O., & Aworanti, O. A. (2013). Kinetic modelling and half-life study on enhanced soil bioremediation of bonny light crude oil amended with crop and animal-derived organic wastes. *J Pet Environ Biotechnol*, 4(02), 137. <https://doi.org/10.4172/2157-7463.1000137>
- ASTM (2006). D287-92 standard test method for API gravity of crude petroleum and petroleum products. International American Society for Testing and Materials.
- Benguenab, A., & Chibani, A. (2021). Biodegradation of petroleum hydrocarbons by filamentous fungi (*Aspergillus ustus* and *Purpureocillium lilacinum*) isolated from used engine oil contaminated soil. *Acta Ecologica Sinica*, 41(5), 416-423. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2020.10.008>
- Blumenstein, I. O., Krooss, B. M., di Primio, R., Rottke, W., Müller, E., Westerlage, C., & Littke, R. (2007). Biodegradation in numerical basin modelling: a case study from the Gifhorn Trough, N-Germany. *International Journal of Earth Sciences*, 97(5), 1115–1129. <https://doi.org/10.1007/s00531-007-0272-1>
- Bogale, T. T. (2020). Biotechnological applications of white rot fungi: a review. *GSC Advanced Research and Reviews*, 5(2), 097-103. <https://doi.org/10.30574/gscarr.2020.5.2.0043>
- Caravaca, F., & Roldán, A. (2003). Assessing changes in physical and biological properties in a soil contaminated by oil sludges under semiarid Mediterranean conditions. *Geoderma*, 117(1-2), 53–61. [https://doi.org/10.1016/s0016-7061\(03\)00118-6](https://doi.org/10.1016/s0016-7061(03)00118-6)
- Carpentier, B., 2007. Method of evaluating the biodegradation of hydrocarbons trapped in a geologic structure. US Patent Application 20070007203A1.
- Chiu, S.-W., Gao, T., Chan, C. S.-S., & Ho, C. K.-M. (2009). Removal of spilled petroleum in industrial soils by spent compost of mushroom *Pleurotus pulmonarius*. *Chemosphere*, 75(6), 837–842. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.044>
- Dávila, G., & Vázquez, D. R. (2006). Enzimas ligninolíticas fúngicas para fines ambientales. *Mensaje bioquímico*, 30(1), 29-55.
- Dhailappan, A., Arumugam, A., Rajendran, G., & Ravichandran, M. (2022). A dualistic approach to investigate the remedial potential and edible property of *Pleurotus ostreatus* on hydrocarbon-contaminated soil. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 10(3), 70-78. <https://doi.org/10.7324/JABB.2022.100310>
- Díaz-Ramírez, I., Escalante-Espinosa, E., Schroeder, R. A., Fócil-Monterrubio, R., & Ramírez-Saad, H. (2013). Hydrocarbon biodegradation potential of native and exogenous microbial inocula



- in Mexican tropical soils. Biodegradation of hazardous and special products, 155178. <http://dx.doi.org/10.5772/56233>
- Eggen, T., & Majcherczyk, A. (1998). Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in contaminated soil by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41(2), 111-117. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(98\)00002-X](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(98)00002-X)
- Ellouze, M., & Sayadi, S. (2016). White-Rot Fungi and their Enzymes as a Biotechnological Tool for Xenobiotic Bioremediation. *Management of Hazardous Wastes*. <https://doi.org/10.5772/64145>
- Gaitán-Hernández, R., & Salmones, D. (2015). Uso de residuos lignocelulósicos para optimizar la producción de inóculo y la formación de carpóforos del hongo comestible *Lentinula boryana*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(7), 1639-1652.
- Guo, X., Peng, Z., Huang, D., Xu, P., Zeng, G., Zhou, S., ... Li, T. (2018). Biotransformation of cadmium-sulfamethazine combined pollutant in aqueous environments: *Phanerochaete chrysosporium* bring cautious optimism. *Chemical Engineering Journal*, 347, 74–83. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.04.089>
- Hewelke, E., & Gozdowski, D. (2020). Hydrophysical properties of sandy clay contaminated by petroleum hydrocarbon. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(9), 9697-9706. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07627-5>
- Hewelke, E., Szatyłowicz, J., Hewelke, P., Gnatowski, T., & Aghalarov, R. (2018). The impact of diesel oil pollution on the hydrophobicity and CO₂ efflux of forest soils. *Water, Air, & Soil Pollution*, 229, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3720-6>
- Hidayat, A., & Tachibana, S. (2013). Crude oil and n-octadecane degradation under saline conditions by *Fusarium* sp., F092. *Journal of Environmental Science and Technology*, 6(1), 29-40. <https://doi.org/10.3923/jest.2013.29.40>
- Hsieh, C., & Yang, F. C. (2004). Reusing soy residue for the solid-state fermentation of *Ganoderma lucidum*. *Bioresource Technology*, 91(1), 105-109. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00157-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00157-3)
- Jayasinghe, C., Imtiaj, A., Lee, G. W., Im, K. H., Hur, H., Lee, M. W., ... Lee, T.-S. (2008). Degradation of Three Aromatic Dyes by White Rot Fungi and the Production of Lignolytic Enzymes. *Mycobiology*, 36(2), 114. <https://doi.org/10.4489/myco.2008.36.2.114>
- Kachlishvili, E., Asatiani, M., Kobakhidze, A., & Elisashvili, V. (2016). Trinitrotoluene and mandarin peels selectively affect lignin-modifying enzyme production in white-rot basidiomycetes. *SpringerPlus*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1895-0>
- Korcan, S. E., Cigerci, İ.H., Konuk, M. (2013). White-Rot Fungi in Bioremediation. In: *Fungi as Bioremediators* (E. Goltapeh & Y. Danesh, A. Varma, eds). *Soil Biology*, vol 32. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-33811-3_16
- Koutrotsios, G., Patsou, M., Mitsou, E. K., Bekiaris, G., Kotsou, M., Tarantilis, P. A., ... & Zervakis, G. I. (2019). Valorization of olive by-products as substrates for the cultivation of *Ganoderma lucidum* and *Pleurotus ostreatus* mushrooms with enhanced functional and prebiotic properties. *Catalysts*, 9(6), 537. <https://doi.org/10.3390/catal9060537>
- Kristanti, R. A., Hadibarata, T., Toyama, T., Tanaka, Y., & Mori, K. (2011). Bioremediation of crude oil by white rot fungi *Polyporus* sp. S133. *Journal of microbiology and biotechnology*, 21(9), 995-1000. <https://doi.org/10.4014/jmb.1105.05047>



- Labanjun, S. M. (2005). Growth of *Pycnoporus* spp. in different environmental condition UNIMAS Institutional Repository. Available at: <https://ir.unimas.my/id/eprint/16339/>. Accessed: December 18, 2023.
- Liao, Y., Geng, A., & Huang, H. (2009). The influence of biodegradation on resins and asphaltenes in the Liaohe Basin. *Organic Geochemistry*, 40(3), 312-320. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2008.12.006>
- Marín-García, D. C., Adams, R. H., & Hernández-Barajas, R. (2015). Effect of crude petroleum on water repellency in a clayey alluvial soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13(1), 55–64. <https://doi.org/10.1007/s13762-015-0838-6>
- Mauricio Gutiérrez, A., Jiménez Salgado, T., Tapia Hernández, A., Cavazos Arroyo, J., & Pérez Armendáriz, B. (2014). Biodegradation of hydrocarbons exploiting spent substrate from *Pleurotus ostreatus* in agricultural soils. *African Journal of Biotechnology*, 13(33). <https://doi.org/10.5897/AJB2014.13964>
- Mendoza, W. C., Dulay, R. M. R., Valentino, M. J. G., & Reyes, R. G. (2020). Mycelial biomass and biological activities of Philippine mushroom *Pycnoporus sanguineus* in time-course submerged culture. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 8(5), 88-93. <https://doi.org/10.7324/JABB.2020.80512>
- Mohammadi-Sichani, M., Assadi, M. M., Farazmand, A., Kianirad, M., Ahadi, A. M., & Hadian-Ghahderijani, H. (2019). Ability of *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma lucidum* compost in biodegradation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(5), 2313-2320. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1636-0>
- Montejo-Mayo, W., Días-Rivera, E., Martínez-Pacheco, M., Munro-Rojas, A., Ambriz-Parra, E., & Velázquez-Becerra, C. (2021). Inhibitory Effect of N, N-Dimethylhexadecylamine on the Growth of White-Rot Fungus *Trametes versicolor* (L.) in Wood. *Phyton*, 90(1), 193. <https://doi.org/10.32604/phyton.2020.011402>
- Morales-Bautista, C. M., Adams, R. H., Hernández-Barajas, J. R., Lobato-García, C. E., & Torres-Torres, J. G. (2016). Characterization of fresh and weathered petroleum for potential impacts to soil fertility. *International journal of environmental science and technology*, 13, 2689-2696. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1097-x>
- Moreno, C. M., González, A., & Blanco, M. J. (2004). Tratamientos biológicos de suelos contaminados: contaminación por hidrocarburos. Aplicaciones de hongos en tratamientos de biorrecuperación. *Revista Iberoamericana de Micología*, 21(1): 103-120.
- Ñústez Cuartas, D. C., Paredes Cuervo, D., & Cubillos Vargas, J. (2014). Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, 37(1): 20-29.
- Ogbo, E. M., & Okhuoya, J. A. (2008). Biodegradation of aliphatic, aromatic, resinic and asphaltic fractions of crude oil contaminated soils by *Pleurotus tuber-regium* Fr. Singer-a white rot fungus. *African Journal of Biotechnology*, 7(23), 4291. <https://doi.org/10.5897/AJB08.347>
- Orfánus, T., Bedrna, Z., Lichner, E., Hallett, P. D., Kňava, K., & Sebiň, M. (2008). Spatial variability of water repellency in pine forest soil. *Soil and Water Research*, 3(10), S123-S129. <https://doi.org/10.17221/11/2008-SWR>



- Özkara, A., & AKYIL, D. (2018). Environmental Pollution and the Effects of the Pollutants on the Ecosystem. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 11(2), 11-17.
- Pérez-Armendariz, B., Loera-Corral, O., Fernandez-Linares, L., Esparza-Garcia, F., & Rodriguez-Vazquez, R. (2004). Biostimulation of micro-organisms from sugarcane bagasse pith for the removal of weathered hydrocarbon from soil. *Letters in Applied Microbiology*, 38(5), 373–377. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2004.01502.x>
- Pérez-Armendáriz, B., Martínez-Carrera, D., Calixto-Mosqueda, M., Alba, J., & Rodríguez-Vázquez, R. (2010). Filamentous fungi remove weathered hydrocarbons from polluted soil of tropical México. *Revista Internacional de contaminación ambiental*, 26(3), 193-199.
- Pointing, S. (2001). Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied microbiology and biotechnology*, 57(1-2), 20-33. <https://doi.org/10.1007/s002530100745>
- Rahman, Z. A., Hamzah, U., Taha, M. R., Ithnain, N. S., & Ahmad, N. (2010). Influence of oil contamination on geotechnical properties of basaltic residual soil. *American journal of applied sciences*, 7(7), 954–961. <https://doi.org/10.3844/ajassp.2010.954.961>
- Romero-Hernández, L., Velez, P., Betanzo-Gutiérrez, I., Camacho-López, M. D., Vázquez-Duhalt, R., & Riquelme, M. (2021). Extra-heavy crude oil degradation by *Alternaria* sp. isolated from deep-sea sediments of the Gulf of Mexico. *Applied Sciences*, 11(13), 6090. <https://doi.org/10.3390/app11136090>
- Romero-Hernández, L., Velez, P., Betanzo-Gutiérrez, I., Camacho-López, M. D., Vázquez-Duhalt, R., & Riquelme, M. (2021). Extra-heavy crude oil degradation by *Alternaria* sp. isolated from deep-sea sediments of the Gulf of Mexico. *Applied Sciences*, 11(13), 6090. <https://doi.org/10.3390/app11136090>
- Roy, J. L., & McGill, W. B. (1998). Characterization of disaggregated nonwetable surface soils found at old crude oil spill sites. *Canadian Journal of Soil Science*, 78(2), 331–344. <https://doi.org/10.4141/s97-039>
- SCFI (2006). Norma Mexicana, NMX-AA-132-SCFI-2006, Muestreo de suelos para la identificación y la cuantificación de metales y metaloides, y manejo de la muestra. México, DF: Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. https://www.cmic.org.mx/comisiones/Sectoriales/medioambiente/Varios/Leyes_y_Normas_SEMARNAT/NMX/Contaminaci%C3%B3n%20del%20Suelo/2.2006.pdf. Accessed: May 15, 2023.
- SEMARNAT (2000). Norma Oficial Mexicana, NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. México, DF: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. <https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/libros2009/DO2280n.pdf>. Accessed: April 30, 2023.
- Sharma, V., & Jaitly, A. K. (2017). Optimization of growth of two wild species of *Pycnoporus* collected from foothill of uttarakhand. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 6(1), 91-94.
- Shittu, O. B., Alofe, F. V., Onawunmi, G. O., Ogundaini, A. O., & Tiwalade, T. A. (2005). Mycelial growth and antibacterial metabolite production by wild mushrooms. *African Journal of Biomedical Research*, 8(3), 157-162. <https://doi.org/10.4314/ajbr.v8i3.35744>



- Stella, T., Covino, S., Čvančarová, M., Filipová, A., Petruccioli, M., D'Annibale, A., & Cajthaml, T. (2017). Bioremediation of long-term PCB-contaminated soil by white-rot fungi. *Journal of Hazardous Materials*, 324, 701–710. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.11.044>
- Takawira, A., Gwenzi, W., & Nyamugafata, P. (2014). Does hydrocarbon contamination induce water repellency and changes in hydraulic properties in inherently wetttable tropical sandy soils? *Geoderma*, 235-236, 279–289. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2014.07.023>
- Uglietti, C., Gabrielli, P., Cooke, C.A., Vallelonga, P. & Thompson, L.G. (2015). Widespread Pollution of the South American Atmosphere Predates the Industrial Revolution by 240 Y. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(8): 2349-2354. <https://doi.org/10.1073/pnas.1421119112>
- Vidonish, J. E., Zygourakis, K., Masiello, C. A., Sabadell, G., & Alvarez, P. J. J. (2016). Thermal Treatment of Hydrocarbon-Impacted Soils: A Review of Technology Innovation for Sustainable Remediation. *Engineering*, 2(4), 426–437. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2016.04.005>
- Vršanská, M., Voběrková, S., Jiménez Jiménez, A., Strmiska, V., & Adam, V. (2018). Preparation and Optimisation of Cross-Linked Enzyme Aggregates Using Native Isolate White Rot Fungi *Trametes versicolor* and *Fomes fomentarius* for the Decolourisation of Synthetic Dyes. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(1), 23. <https://doi.org/10.3390/ijerph15010023>
- Zalasiewicz, J.A.N., Williams, M., Steffen, W. & Crutzen, P. (2010). The New World of the Anthropocene. *Environmental Science and Technology*, 44(7): 2228–2231. <https://doi.org/10.1021/es903118j>
- Zamani, J., Hajabbasi, M. A., & Alaie, E. (2015). The effect of steam sterilization of a petroleum-contaminated soil on PAH concentration and maize (*Zea mays* L.) growth. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(8), 93-104.
- Zhang, B., Zhou, J., Li, Q., Gan, B., Peng, W., Zhang, X., ... & Li, X. (2019). Manganese affects the growth and metabolism of *Ganoderma lucidum* based on LC-MS analysis. *PeerJ*, 7: e6846. <https://doi.org/10.7717/peerj.6846>



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

CAPÍTULO

III



8. CONCLUSIÓN

Este estudio confirma que los HPB, particularmente *P. sanguineus* y *G. multipileum*, tienen la capacidad de crecer en suelos de textura franco-limosa contaminado con hidrocarburos de fracción pesada. A pesar del reto que implicó establecer los %(P/P) de bagazo de caña para este tipo de suelo se determinó que disminuir la cantidad de bagazo sería difícil llevar a cabo el crecimiento micelial ya que se generaba la formación lodos, provocando la reducción de porosidad en el suelo y por ende la disminución del paso de la oxigenación.

Es por ello que fueron establecidos tres porcentajes (15%, 25% y 35% P/P), para evaluar el crecimiento micelial más significativo. Ambas especies presentaron un alto crecimiento micelial en bagazo al 25% (P/P) en suelo sin contaminar; *P. sanguineus* estuvo casi a la par de *G. multipileum*, en cambio *G. multipileum* presentó una alta tasa de crecimiento.

Por otra parte, en la evaluación del crecimiento en suelo contaminado *P. sanguineus* estuvo casi a la par de *G. multipileum*, pero este último presentó un alto crecimiento. *P. sanguineus* a pesar de haber sido descartada, puede ser una alternativa para remediar hidrocarburos de fracción pesada.

Por último, el empleo de *G. multipileum* en la degradación de HTP, el estudio demostró que puede degradar hidrocarburos de fracción pesada y reducirlo en un lapso de 45 días de 40,000 a 31,000 ppm y de acuerdo al tiempo de vida media solo le tomaría 154 días reducirlo a la mitad de su concentración inicial. Por otra parte, el fraccionamiento SARA reveló que las fracciones saturadas y aromáticas estaban siendo degradadas, lo cual se ha reportado en una variedad de estudios que los hongos tienden a degradar más estas fracciones.

No obstante, para la fracción de resinas y asfaltenos reveló que estas aumentaban conforme transcurría el tiempo. Esto se ha reportado en algunos estudios ya que estas fracciones se ven enriquecidas conforme se degradan la fracción de saturados y aromáticos. Es por ello que se recurrió al cálculo del IRAP ya que este parámetro revela la cantidad de compuestos polares, y efectivamente los valores reportados superaban el 300% del IRAP, indicando una alta presencia de compuesto polares. Y esto era notorio en el porcentaje de biodegradación, ya que para estas fracciones se obtenían porcentajes negativos. A pesar de obtenerse estos resultados también se demostró que *G. mutipileum* tiene la capacidad de reducir la repelencia al agua, pero en cantidades muy bajas.



9. RECOMENDACIONES

- Debido a la cantidad de residuos agroindustriales que se generan en nuestra región, se recomienda el uso de otros residuos agroindustriales locales de la región, que no son aprovechados de manera adecuada, por la mala gestión de residuos.
- Elaborar programas para el aprovechamiento de los residuos agroindustriales.
- Realizar estudios bioquímicos a los desechos agroindustriales que evalúen la cantidad de lignina, celulosa y hemicelulosa que contienen.
- Ampliar la unidad experimental de crecimiento de ambas especies para conocer hasta qué punto pueden generar un cuerpo fructífero, en suelo contaminado con hidrocarburos de fracción pesada.
- Aumentar los días de exposición de *G. multipileum* al suelo contaminado con hidrocarburos de fracción pesada cuantificar la degradación de la fracción de saturados y aromáticos.
- Los valores negativos obtenidos en el porcentaje de biodegradación de resinas y asfáltenos demostraron que *G. multipileum* aumentaba su concentración mientras degradaba las fracciones de saturados y aromáticos. Por tal razón, se recomienda no emplearlos para degradar estas fracciones.
- Se recomienda el empleo de *G. multipileum* para la disminución de la repelencia en suelo.
- Realizar estudios que relacionen los parámetros fisicoquímicos con la degradación de los hidrocarburos de fracción pesada, para conocer si existieron cambios en dichos parámetros antes, durante y después de la degradación.
- Se recomienda realizar estudios bioquímicos que identifiquen las enzimas involucradas en la degradación de los hidrocarburos de fracción pesada y reportar los resultados.



10. REFERENCIAS

- Abdel-Hamid, A. M., Solbiati, J. O., & Cann, I. K. O. (2013). Insights into Lignin Degradation and its Potential Industrial Applications. *Advances in Applied Microbiology*, 1–28. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-407679-2.00001-6>
- Adams, R. H., Guzmán Osorio, F. J., & Zavala Cruz, J. (2008). Water repellency in oil contaminated sandy and clayey soils. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 5(4), 445–454. <https://doi.org/10.1007/bf03326040>
- Adaskaveg J.E., Gilbertson R.L., & Blanchette R.A. (1990). Comparative studies of delignification caused by *Ganoderma* species. *Applied and Environmental Microbiology.*, 56, 1932–1943. <https://doi.org/10.1128/aem.56.6.1932-1943.1990>
- Adongbede, E. M., & Sanni, R. O. (2014). Biodegradation of engine oil by *Agaricus campestris* (a white rot fungus). *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 5(7). <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000262>
- Agarry, S. E., Aremu, M. O., & Aworanti, O. A. (2013). Kinetic modelling and half-life study on enhanced soil bioremediation of bonny light crude oil amended with crop and animal-derived organic wastes. *J Pet Environ Biotechnol*, 4(02), 137. <https://doi.org/10.4172/2157-7463.1000137>
- Agarry, S. E., Oghenejoboh, K. M., Solomon, B. O. (2015). Kinetic modelling and half life study of adsorptive bioremediation of soil artificially contaminated with bonny light crude oil. *Journal of Ecological Engineering*, 16(3), 1-13. <https://doi.org/10.12911/22998993/2799>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 1999. Toxicological profile for total 809 petroleum hydrocarbons (TPH). *Toxicol. profile Total Pet. Hydrocarb. (TPH)*.
- Agrawal, N., Verma, P., & Shahi, S. K. (2018). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (phenanthrene and pyrene) by the ligninolytic fungi *Ganoderma lucidum* isolated from the hardwood stump. *Bioresources and Bioprocessing*, 5(1), 11.
- Akmaz, S., Iscan, O., Gurkaynak, M. A., & Yasar, M. (2011). The Structural Characterization of Saturate, Aromatic, Resin, and Asphaltene Fractions of Batiraman Crude Oil.



- Almendo-Candel, M. B., Lucas, I. G., Navarro-Pedreño, J., & Zorpas, A. A. (2018). Physical properties of soils affected by the use of agricultural waste. *Agricultural waste and residues*, 2(1), 77-99. <https://doi.org/10.5772/intechopen.77993>
- Annuar, M. S. M., Adnan, S., Vikineswary, S., & Chisti, Y. (2009). Kinetics and Energetics of Azo Dye Decolorization by *Pycnoporus sanguineus*. *Water, Air, and Soil Pollution*, 202(1-4), 179–188.
- Arun, A., & Eyini, M. (2011). Comparative studies on lignin and polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by basidiomycetes fungi. *Bioresource Technology*, 102(17), 8063–8070.
- Arun, A., Raja, P. P., Arthi, R., Ananthi, M., Kumar, K. S., & Eyini, M. (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) biodegradation by basidiomycetes fungi, *Pseudomonas* isolate, and their cocultures: comparative in vivo and in silico approach. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 151(2-3), 132-142.
- Ashoori, S., Sharifi, M., Masoumi, M., & Mohammad Salehi, M. (2017). The relationship between SARA fractions and crude oil stability. *Egyptian Journal of Petroleum*, 26(1), 209–213. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2016.04.002>
- ASTM (2006). D287-92 standard test method for API gravity of crude petroleum and petroleum products. International American Society for Testing and Materials.
- Backes, E., Kato, C. G., de Oliveira Junior, V. A., Uber, T. M., dos Santos, L. F. O., Corrêa, R. C. G., ... & Peralta, R. M. (2023). Overproduction of Laccase by *Trametes versicolor* and *Pycnoporus sanguineus* in Farnesol-Pineapple Waste Solid Fermentation. *Fermentation*, 9(2), 188. <https://doi.org/10.3390/fermentation9020188>
- Bamforth, S. M., & Singleton, I. (2005). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 80(7), 723–736.
- Bellere, A. D. (2018). Mycelial growth of *Ganoderma curtissii* in locally indigenous media. *KnE Social Sciences*, 118-124. <https://doi.org/10.18502/kss.v3i6.2377>



- Benavides López de Mesa J., Quintero Vizcaíno G, Guevara A L. Jaimes Cáceres D C, Gutiérrez S M. 2006. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova*. 4(5): 82-90.
- Beškoski, V. P., Gojgić-Cvijović, G., Milić, J., Ilić, M., Miletić, S., Šolević, T., & Vrvic, M. M. (2011). Ex situ bioremediation of a soil contaminated by mazut (heavy residual fuel oil)—A field experiment. *Chemosphere*, 83(1), 34-40. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.01.020>
- Blanchette, R. A. (1995). Degradation of the lignocellulose complex in wood. *Canadian Journal of Botany*, 73(S1), 999–1010. <https://doi.org/10.1139/b95-350>
- Blumenstein, I. O., Krooss, B. M., di Primio, R., Rottke, W., Müller, E., Westerlage, C., & Littke, R. (2007). Biodegradation in numerical basin modelling: a case study from the Gifhorn Trough, N-Germany. *International Journal of Earth Sciences*, 97(5), 1115–1129. <https://doi.org/10.1007/s00531-007-0272-1>
- Bogale, T. T. (2020). Biotechnological applications of white rot fungi: a review. *GSC Advanced Research and Reviews*, 5(2), 097-103.
- Bowles, J. E. (2012). *Engineering Properties of Soils and their Measurements* (4th ed). Singapur: McGraw Hill.
- BP - British Petroleum (2012) *Statistical Review of World Energy* June 2012. London, UK. 48 p.
- Brevik, E. C., Fenton, T. E., & Jaynes, D. B. (2012). The use of soil electrical conductivity to investigate soil homogeneity in Story County, Iowa, USA. *Soil Horizons*, 53(5), 50-54.
- Camacho-Morales, R. L., Gerardo-Gerardo, J. L., Guillén Navarro, K., & Sánchez, J. E. (2017). Producción de enzimas ligninolíticas durante la degradación del herbicida paraquat por hongos de la pudrición blanca. *Revista Argentina de Microbiología*, 49(2),
- Caravaca, F., & Roldán, A. (2003). Assessing changes in physical and biological properties in a soil contaminated by oil sludges under semiarid Mediterranean conditions. *Geoderma*, 117(1-2), 53–61. [https://doi.org/10.1016/s0016-7061\(03\)00118-6](https://doi.org/10.1016/s0016-7061(03)00118-6)



- Carpentier, B., 2007. Method of evaluating the biodegradation of hydrocarbons trapped in a geologic structure. US Patent Application 20070007203A1.
- Castro Rodríguez, D. J., Gutiérrez Benítez, O., Casals Pérez, E., Demichela, M., Godio, A., & Chiampo, F. (2022). Bioremediation of hydrocarbon-polluted soil: evaluation of different operative parameters. *Applied Sciences*, 12(4), 2012. <https://doi.org/10.3390/app12042012>
- Castro, F., Forero, D., Ramírez, J. & Reina, M. (2014). Evaluación de la contribución económica del sector de hidrocarburos colombiano frente a diversos escenarios de producción. FEDESARROLLO para la Unidad de Planeación Minero-Energética – UPME.
- Caumette, G., Lienemann, C.-P., Merdrignac, I., Bouyssiere, B., & Lobinski, R. (2009). Element speciation analysis of petroleum and related materials. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 24(3), 263. <https://doi.org/doi:10.1039/b817888g>
- Cébron A, Cortet J, Criquet S, Biaz A, Calvert V, Caupert C, Pernin C Leyval C (2011) Biological functioning of PAH-polluted and thermal desorption-treated soils assessed by fauna and microbial bioindicators. *Research in Microbiology* 162(9): 896-907.
- Chen, B., Wang, Y., & Hu, D. (2010). Biosorption and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous solutions by a consortium of white-rot fungi. *Journal of Hazardous Materials*, 179(1-3), 845–851
- Chiu, S.-W., Gao, T., Chan, C. S.-S., & Ho, C. K.-M. (2009). Removal of spilled petroleum in industrial soils by spent compost of mushroom *Pleurotus pulmonarius*. *Chemosphere*, 75(6), 837–842. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.044>
- Christian V, Shrivastava R, Shukla D, Modi HA, Vyas BR. (2005). Degradation of xenobiotic compounds by lignin-degrading white-rot fungi: enzymology and mechanisms involved. *Indian Journal of Experimental Biology*, 43(4), 301-12.
- CNH (2014). Derrames y fugas: reporte de derrames de petróleo crudo al primer semestre de 2014. Comisión Nacional de Hidrocarburos.
- Cruz-Muñoz, R., Piña-Guzmán, A. B., Yáñez-Fernández, J., Toro, V. D., Bautista-Baños, S., & Villanueva Arce, R. (2015). Producción de pigmentos de *Pycnoporus sanguineus* en medio de cultivo sólido. *Agrociencia*, 49(4), 347-359.



- Cupul, W. C., Abarca, G. H., Vázquez, R. R., Salmones, D., Hernández, R. G., & Gutiérrez, E. A. (2014). Response of ligninolytic macrofungi to the herbicide atrazine: dose-response bioassays. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(4), 348–357.
- Dávila, G., & Vázquez, D. R. (2006). Enzimas ligninolíticas fúngicas para fines ambientales. *Mensaje bioquímico*, 30(1), 29-55.
- De Oliveira, R. A., Ramos, M. M., & de Aquino, L. A. (2015). Irrigation Management. *Sugarcane*, 161–183. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-802239-9.00008-6>
- De Porto Macedo, A. J., de Souza Kirsch, L., Palheta, R. A., Putzke, J., & Teixeira, M. F. S. CRESCIMENTO MICELIAL DE *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. EM RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS DISPONÍVEIS NA AMAZÔNIA. *Caderno de Pesquisa, Série Biologia*, 23(3), 16. <https://doi.org/10.17058/cp.v23i2.4384>
- Del Cerro, C., Erickson, E., Dong, T., Wong, A. R., Eder, E. K., Purvine, S. O., ... & Salvachúa, D. (2021). Intracellular pathways for lignin catabolism in white-rot fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(9), e2017381118.
- Dence, C.W. and Lin, S.Y. (1992) *Methods in lignin chemistry*. Springer-Verlag, Berlin, 3-19.
- Dhailappan, A., Arumugam, A., Rajendran, G., & Ravichandran, M. (2022). A dualistic approach to investigate the remedial potential and edible property of *Pleurotus ostreatus* on hydrocarbon-contaminated soil. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 10(3), 70-78. <https://doi.org/10.7324/JABB.2022.100310>
- Días, R. L. (2012). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos en clima frío y templado. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de la Plata, Facultad de Ciencias Exactas, Departamento de Ciencias Biologicas. pp 245.
- Díaz, J. C. Q. (2011). Revisión: degradación de plaguicidas mediante hongos de la pudrición blanca de la madera. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 64(1), 5867-5882.
- Díaz-Ramírez, I. J., Ramírez-Saad, H., Gutiérrez-Rojas, M., & Favela-Torres, E. (2003). Biodegradation of Maya crude oil fractions by bacterial strains and a defined mixed culture isolated from *Cyperus laxus* rhizosphere soil in a contaminated site. *Canadian Journal of Microbiology*, 49(12), 755–761. <https://doi.org/10.1139/w03-098>



- Díaz-Ramírez, I., Escalante-Espinosa, E., Schroeder, R. A., Fócil-Monterrubio, R., & Ramírez-Saad, H. (2013). Hydrocarbon biodegradation potential of native and exogenous microbial inocula in Mexican tropical soils. *Biodegradation of hazardous and special products*, 155178. <http://dx.doi.org/10.5772/56233>
- Dickson, U. J., Coffey, Mi., Mortimer, R., Di Bonito, M., & Ray, N. (2019). Mycoremediation of Petroleum Contaminated Soils: Progress, Prospects and Perspectives. *Environmental Science: Processes & Impacts*. <https://doi.org/10.1039/c9em00101h>
- Dulay, R. M. R., & Damaso Jr, E. J. (2020). The successful cultivation of Philippine wild mushroom *Pycnoporus sanguineus* (BIL7137) using rice straw and sawdust-based substrate. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 8(5), 72-77. <https://doi.org/10.7324/JABB.2020.80509>
- Echavarría, J. O., Benavides, A. I. V., & Díaz, J. C. Q. (2011). Decoloración de aguas residuales textiles utilizando el hongo ligninolítico anamorfo R1 de *Bjerkandera* sp. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, (57), 85-93.
- Eggen, T., & Majcherczyk, A. (1998). Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in contaminated soil by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41(2), 111-117.
- Ellouze, M., & Sayadi, S. (2016). White-Rot Fungi and their Enzymes as a Biotechnological Tool for Xenobiotic Bioremediation. *Management of Hazardous Wastes*. <https://doi.org/10.5772/64145>
- Fakher, S., Ahdaya, M., Elturki, M., & Imqam, A. (2019). Critical review of asphaltene properties and factors impacting its stability in crude oil. *Journal of Petroleum Exploration and Production Technology*, 10(3), 1183–1200. <https://doi.org/10.1007/s13202-019-00811-5>
- FAO. (2009). *Guía para la descripción de suelos*. Roma, Italia.
- Fernández, C., Llobregat, M., Jiménez, B., Altomare, V., & Labrador, H. (2008). Biodegradación de asfalteno y resinas por microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo. *Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela*, 23(4), 7-15.



- Fletcher, I. A. (2019). Effect of temperature and growth media on mycelium growth of *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma lucidum* Strains. *Cohesive journal of microbiology and infectious disease*, 2(5). <https://doi.org/10.31031/CJMI.2019.02.000549>
- Fritsche, W. and Hofrichter, M. (2000). *Aerobic Degradation by Microorganisms*. In: J. Klein and H. Rehm, ed., *Biotechnology: Environmental Processes II*, Volume 11b, 2nd ed. Weinheim, Germany.
- Gaitán-Hernández, R., & Salmenes, D. (2015). Uso de residuos lignocelulósicos para optimizar la producción de inóculo y la formación de carpóforos del hongo comestible *Lentinula boryana*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(7), 1639-1652.
- García-López E., Zavala-Cruz J. y Palma-López D.J. (2006). Caracterización de las comunidades vegetales en un área afectada por derrames de hidrocarburos. *Terra Latinoamericana* 24 (1), 17-26.
- Gaskin, S. E., & Bentham, R. H. (2010). Rhizoremediation of hydrocarbon contaminated soil using Australian native grasses. *Science of The Total Environment*, 408(17), 3683–3688.
- Gaskin, S., Soole, K., & Bentham, R. (2008). Screening of Australian Native Grasses for Rhizoremediation of Aliphatic Hydrocarbon-Contaminated Soil. *International Journal of Phytoremediation*, 10(5), 378–389.
- González R.G.A. (1995). Impacto ambiental de la industria petrolera en el estado de Tabasco. Tesis Ingeniero Agrónomo Fitotecnista. Escuela de Ciencias Agronómicas Campus V. Universidad Autónoma de Chiapas. Villaflores, Chiapas. 101 p.
- González-Barrios, J. L., González-Cervantes, G., & Chávez-Ramírez, E. (2012). Porosidad del suelo en tres superficies típicas de la cuenca alta del río Nazas. *Tecnología y ciencias del agua*, 3(1), 21-32.
- Gothwal, R., & Shashidhar, T. (2014). Antibiotic Pollution in the Environment: A Review. *CLEAN - Soil, Air, Water*, 43(4), 479–489.
- Grelska, A., & Noszczyńska, M. (2020). White rot fungi can be a promising tool for removal of bisphenol A, bisphenol S, and nonylphenol from wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10382-2>



- Grigoriev, I. V., Cullen, D., Goodwin, S. B., Hibbett, D., Jeffries, T. W., Kubicek, C. P., ... & Baker, S. E. (2011). Fueling the future with fungal genomics. *Mycology*, 2(3), 192-209. <https://doi.org/10.1080/21501203.2011.584577>
- Grigoriev, I. V., Nikitin, R., Haridas, S., Kuo, A., Ohm, R., Otilar, R., ... & Shabalov, I. (2014). MycoCosm portal: gearing up for 1000 fungal genomes. *Nucleic acids research*, 42(D1), D699-D704. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1183>
- Guo, X., Peng, Z., Huang, D., Xu, P., Zeng, G., Zhou, S., ... Li, T. (2018). Biotransformation of cadmium-sulfamethazine combined pollutant in aqueous environments: *Phanerochaete chrysosporium* bring cautious optimism. *Chemical Engineering Journal*, 347, 74–83. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.04.089>
- Hall, J., Soole, K., & Bentham, R. (2011). Hydrocarbon Phytoremediation in the Family Fabacea—A Review. *International Journal of Phytoremediation*, 13(4), 317–332.
- Hamzah, A., Phan, C.-W., Yong, P.-H., & Mohd Ridzuan, N. H. (2014). Oil Palm Empty Fruit Bunch and Sugarcane Bagasse Enhance the Bioremediation of Soil Artificially Polluted by Crude Oil. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 23(7), 751–762.
- Hassaine, A., & Bordjiba, O. (2018). Removal of hydrocarbons from liquid media by *Aspergillus niger* van Tieghem. *Acta Ecologica Sinica*.
- Hatakka, A. (1994). Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role from in lignin degradation. *FEMS microbiology reviews*, 13(2-3), 125-135.
- Hatten, J., & Liles, G. (2019). A “healthy” balance – The role of physical and chemical properties in maintaining forest soil function in a changing world. *Developments in Soil Science*, 373–396. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63998-1.00015-x>
- Hentati, O., Lachhab, R., Ayadi, M., & Ksibi, M. (2013). Toxicity assessment for petroleum-contaminated soil using terrestrial invertebrates and plant bioassays. *Environmental monitoring and assessment*, 185(4), 2989-2998.
- Hernández-Rosas, J. C., & Sánchez Meraz, J. A. (2021). Evaluación del cultivo in vitro de una cepa mexicana de *Ganoderma lucidum*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 23(2), 36-40. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v23n2.97143>



- Hewelke, E., & Gozdowski, D. (2020). Hydrophysical properties of sandy clay contaminated by petroleum hydrocarbon. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(9), 9697-9706. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07627-5>
- Hewelke, E., & Gozdowski, D. (2020). Hydrophysical properties of sandy clay contaminated by petroleum hydrocarbon. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(9), 9697-9706.
- Hewelke, E., Szatyłowicz, J., Hewelke, P., Gnatowski, T., & Aghalarov, R. (2018). The impact of diesel oil pollution on the hydrophobicity and CO₂ efflux of forest soils. *Water, Air, & Soil Pollution*, 229, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3720-6>
- Hewelke, E., Szatyłowicz, J., Hewelke, P., Gnatowski, T., & Aghalarov, R. (2018). The impact of diesel oil pollution on the hydrophobicity and CO₂ efflux of forest soils. *Water, Air, & Soil Pollution*, 229, 1-11.
- Hidayat, A., & Tachibana, S. (2012). Biodegradation of aliphatic hydrocarbon in three types of crude oil by *Fusarium* sp. F 092 under stress with artificial sea water. *Journal of Environmental Science and Technology*, 5(1), 64-73. <https://doi.org/10.3923/jest.2012.64.73>
- Hidayat, A., & Tachibana, S. (2013). Crude oil and n-octadecane degradation under saline conditions by *Fusarium* sp., F092. *Journal of Environmental Science and Technology*, 6(1), 29-40. <https://doi.org/10.3923/jest.2013.29.40>
- Hou, L., Ji, D., Dong, W., Yuan, L., Zhang, F., Li, Y., & Zang, L. (2020). The Synergistic Action of Electro-Fenton and White-Rot Fungi in the Degradation of Lignin. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. <https://doi.org/doi:10.3389/fbioe.2020.00099>
- Hsieh, C., & Yang, F. C. (2004). Reusing soy residue for the solid-state fermentation of *Ganoderma lucidum*. *Bioresource Technology*, 91(1), 105-109. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00157-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00157-3)
- Indoria, A. K., Sharma, K. L., & Reddy, K. S. (2020). Hydraulic properties of soil under warming climate. *Climate Change and Soil Interactions*, 473-508. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818032-7.00018-7>



- Infante, C., & García, F. A. M. (2012). Evaluación de la toxicidad en desechos y suelos petrolizados empleando semillas de *Lactuca sativa* L. *Interciencia*, 37(10), 782-788.
- Jackson, C., Thompson, J. & Kolka, R. (2014). 2. Wetland Soils, Hydrology, and Geomorphology. In D. Batzer & R. Sharitz (Ed.), *Ecology of Freshwater and Estuarine Wetlands* (pp. 23-60). Berkeley: University of California Press. <https://doi.org/10.1525/9780520959118-004>
- Jayasinghe, C., Imtiaj, A., Lee, G. W., Im, K. H., Hur, H., Lee, M. W., ... Lee, T.-S. (2008). Degradation of Three Aromatic Dyes by White Rot Fungi and the Production of Lignolytic Enzymes. *Mycobiology*, 36(2), 114. <https://doi.org/10.4489/myco.2008.36.2.114>
- Jo, W. S., Cho, Y. J., Cho, D. H., Park, S. D., Yoo, Y. B., & Seok, S. J. (2009). Culture conditions for the mycelial growth of *Ganoderma applanatum*. *Mycobiology*, 37(2), 94-102. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2009.37.2.094>
- Jurado, M., Martínez, À. T., Martínez, M. J., & Saparrat, M. C. N. (2011). Application of White-Rot Fungi in Transformation, Detoxification, or Revalorization of Agriculture Wastes. *Comprehensive Biotechnology*, 595–603. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-088504-9.00398-6>
- Kachlishvili, E., Asatiani, M., Kobakhidze, A., & Elisashvili, V. (2016). Trinitrotoluene and mandarin peels selectively affect lignin-modifying enzyme production in white-rot basidiomycetes. *SpringerPlus*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1895-0>
- Karevan, A., Zirrahi, M., & Hassanzadeh, H. (2022). Standardized High-performance liquid chromatography to replace conventional methods for determination of saturate, aromatic, resin, and asphaltene (SARA) fractions. *ACS omega*, 7(22), 18897-18903. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01880>
- Kathiravan, A., & Gnanadoss, J. J. (2021). White-rot fungi-mediated bioremediation as a sustainable method for xenobiotic degradation. *Environmental and Experimental Biology*, 19(3), 103-119. <https://doi.org/10.22364/eeb.19.11>
- Keshmirizadeh, E., Shobeirian, S., & Memariani, M. (2013). Determination of Saturates, Aromatics, Resins and Asphaltenes (SARA) Fractions in Iran Crude oil Sample with



- Chromatography Methods: Study of the Geochemical Parameters. *Journal of Applied Chemical Research*, 7(4), 15-24. <https://doi.org/20.1001.1.20083815.2013.7.4.2.1>
- Kijpornyongpan, T., Schwartz, A., Yaguchi, A., & Salvachúa, D. (2022). Systems biology-guided understanding of white-rot fungi for biotechnological applications: A review. *Iscience*, 25(7), 104640. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104640>
- Kirk, T. K., & Farrell, R. L. (1987). Enzymatic "combustion": the microbial degradation of lignin. *Annual Reviews in Microbiology*, 41(1), 465-501.
- Kirkham, M. B. (2005). Field Capacity, Wilting Point, Available Water, and the Non-Limiting Water Range. *Principles of Soil and Plant Water Relations*, 101–115. <https://doi.org/10.1016/b978-012409751-3/50008-6>
- Korcan, S. E., Ciğerci, İ.H., Konuk, M. (2013). White-Rot Fungi in Bioremediation. In: Goltapeh, E., Danesh, Y., Varma, A. (eds) *Fungi as Bioremediators*. *Soil Biology*, vol 32. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-33811-3_16
- Koutrotsios, G., Patsou, M., Mitsou, E. K., Bekiaris, G., Kotsou, M., Tarantilis, P. A., ... & Zervakis, G. I. (2019). Valorization of olive by-products as substrates for the cultivation of *Ganoderma lucidum* and *Pleurotus ostreatus* mushrooms with enhanced functional and prebiotic properties. *Catalysts*, 9(6), 537. <https://doi.org/10.3390/catal9060537>
- Kristanti, R. A., Hadibarata, T., Toyama, T., Tanaka, Y., & Mori, K. (2011). Bioremediation of crude oil by white rot fungi *Polyporus* sp. S133. *Journal of microbiology and biotechnology*, 21(9), 995-1000. <https://doi.org/10.4014/jmb.1105.05047>
- Kumar, R., Negi, S., Sharma, P., Prasher, I. B., Chaudhary, S., Dhau, J. S., & Umar, A. (2018). Wastewater cleanup using *Phlebia acerina* fungi: An insight into mycoremediation. *Journal of environmental management*, 228, 130-139.
- Labanjun, S. M. (2005). Growth of *pcynoporus* spp. in different environmental condition [Investigacion final, Universiti Malaysia Sarawak]. UNIMAS Institutional Repository. <https://ir.unimas.my/id/eprint/16339/>
- Lee, A. H., Lee, H., Heo, Y. M., Lim, Y. W., Kim, C. M., Kim, G. H., ... & Kim, J. J. (2020). A proposed stepwise screening framework for the selection of polycyclic aromatic



- hydrocarbon (PAH)-degrading white rot fungi. *Bioprocess and biosystems engineering*, 43, 767-783. <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02272-w>
- Lee, H., Jang, Y., Choi, Y. S., Kim, M. J., Lee, J., Lee, H., ... & Kim, J. J. (2014). Biotechnological procedures to select white rot fungi for the degradation of PAHs. *Journal of microbiological methods*, 97, 56-62.
- León Y., De Sisto A., Inojosa Y., Malaver N. y Naranjo-Briceño L. (2009). Identificación de biocatalizadores potenciales para la remediación de desechos petrolizados de la faja petrolífera del Orinoco. *RET 1 (1)*, 12-25.
- Liao, Y., Geng, A., & Huang, H. (2009). The influence of biodegradation on resins and asphaltenes in the Liaohe Basin. *Organic Geochemistry*, 40(3), 312-320. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2008.12.006>
- Low, J. Y., Abdullah, N., & Vikineswary, S. (2009). Evaluation of support materials for immobilization of *Pycnoporus sanguineus* mycelia for laccase production and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Res J Environ Sci*, 3(3), 357-366.
- Lozano-Rivas, W. A. (2016). *Suelos: guía de prácticas simplificadas en campo y laboratorio*. Colombia: Universidad Piloto de Colombia.
- Maganhotto de Souza Silva, C. M., Soares de Melo, I., & Roberto de Oliveira, P. (2005). Ligninolytic enzyme production by *Ganoderma* spp. *Enzyme and Microbial Technology*, 37(3), 324–329. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.12.007>
- Marco-Urrea, E., Pérez Trujillo, M., Vicent, T., & Caminal, G. (2009). Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor*. *Chemosphere*, 74(6), 765–772.
- Marín-García, D. C., Adams, R. H., & Hernández-Barajas, R. (2015). Effect of crude petroleum on water repellency in a clayey alluvial soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13(1), 55–64. <https://doi.org/10.1007/s13762-015-0838-6>
- Martínez, A. T., Camarero, S., Ruiz-Dueñas, F. J., & Martínez, M. J. (2018). Biological lignin degradation. In Beckam, G.T. (Ed), *Lignin valorization: emerging approaches* (pp.



199-225) Royal Society of Chemistry Publishing.

<https://doi.org/10.1039/9781788010351-00199>

Mauricio Gutiérrez, A., Jiménez Salgado, T., Tapia Hernández, A., Cavazos Arroyo, J., & Pérez Armendáriz, B. (2014). Biodegradation of hydrocarbons exploiting spent substrate from *Pleurotus ostreatus* in agricultural soils. *African Journal of Biotechnology*, 13(33).

Mendelssohn, I. A., Andersen, G. L., Baltz, D. M., Caffey, R. H., Carman, K. R., Fleeger, J. W., ... & Rozas, L. P. (2012). Oil impacts on coastal wetlands: implications for the Mississippi River Delta ecosystem after the Deepwater Horizon oil spill. *BioScience*, 62(6): 562-574.

Mendoza, W. C., Dulay, R. M. R., Valentino, M. J. G., & Reyes, R. G. (2020). Mycelial biomass and biological activities of Philippine mushroom *Pycnoporus sanguineus* in time-course submerged culture. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 8(5), 88-93. <https://doi.org/10.7324/JABB.2020.80512>

Mobilian, C. and Craft, C. B. (2022). Wetland Soils: Physical and Chemical Properties and Biogeochemical Processes. In: Thomas Mehner and Klement Tockner (Eds), *Encyclopedia of Inland Waters* (2nd ed., Vol 3, pp. 157 – 168). Editorial Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819166-8.00049-9>

Mohammadi-Sichani, M., Assadi, M. M., Farazmand, A., Kianirad, M., Ahadi, A. M., & Hadian-Ghahderijani, H. (2019). Ability of *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma lucidum* compost in biodegradation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(5), 2313-2320. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1636-0>

Montejo-Mayo, W., Días-Rivera, E., Martínez-Pacheco, M., Munro-Rojas, A., Ambriz-Parra, E., & Velázquez-Becerra, C. (2021). Inhibitory Effect of N, N-Dimethylhexadecylamine on the Growth of White-Rot Fungus *Trametes versicolor* (L.) in Wood. *Phyton*, 90(1), 193. <https://doi.org/10.32604/phyton.2020.011402>

Morales-Bautista, C. M., Adams, R. H., Hernández-Barajas, J. R., Lobato-García, C. E., & Torres-Torres, J. G. (2016). Characterization of fresh and weathered petroleum for potential impacts to soil fertility. *International journal of environmental science and technology*, 13, 2689-2696.



- Moreno, C. M., González, A., & Blanco, M. J. (2004). Tratamientos biológicos de suelos contaminados: contaminación por hidrocarburos. Aplicaciones de hongos en tratamientos de biorrecuperación. *Revista Iberoamericana de Micología*, 21(1): 103-120.
- Munusamy, U., Sabaratnam, V., Muniandy, S., Abdullah, N., Pandey, A., & Jones, E. B. G. (2008). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by laccase of *Pycnoporus sanguineus* and toxicity evaluation of treated PAH. *Biotechnology*, 7(4), 669-677.
- Nimmo, J. R. (2013). Porosity and Pore Size Distribution. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.05265-9>
- Ñústez Cuartas, D. C., Paredes Cuervo, D., & Cubillos Vargas, J. (2014). Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, 37(1): 20-29.
- Ogbo, E. M., & Okhuoya, J. A. (2008). Biodegradation of aliphatic, aromatic, resinic and asphaltic fractions of crude oil contaminated soils by *Pleurotus tuber-regium* Fr. Singer-a white rot fungus. *African Journal of Biotechnology*, 7(23), 4291. <https://doi.org/10.5897/AJB08.347>
- Ordoñez Burbano, Didier Erlinton, Abella Medina, Camilo Andrés, Echeverry Tamayo, Alejandra, Paz Lasprilla, Laura Marcela, & Benítez-Campo, Neyla. (2018). Biodegradación de hidrocarburos alifáticos saturados por microorganismos aislados de suelo contaminado con derivados del petróleo. *Revista de Ciencias*, 22(2), 33-44.
- Orfánus, T., Bedrna, Z., Lichner, L., Hallett, P. D., Kňava, K., & Sebiň, M. (2008). Spatial variability of water repellency in pine forest soil. *Soil and Water Research*, 3(10), S123-S129. <https://doi.org/10.17221/11/2008-SWR>
- Ortiz O.M. (2009). *Historia de la explotación petrolera en Tabasco 1900-1960*. 1a. ed. PEMEX. UJAT. México, D.F. 457 p.



- Ortíz-Maya, J., Escalante-Espinosa, E., Fócil-Monterrubio, R. L., Ramírez-Saad, H. C., & Díaz Ramírez, I. J. (2017). Dinámica de poblaciones bacterianas y actividad deshidrogenasa durante la biorremediación de suelo recién contaminado e intemperizado con hidrocarburos. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 33(2), 237-246.
- Ortiz-Salinas R., Cram S. y Sommer I. (2012). Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en suelos de la llanura aluvial baja del estado de Tabasco, México. *Revista Universidad y Ciencia* 28 (2), 131-144.
- Oviedo Chávez, A. C., & Vinuesa Galárraga, J. C. (2020). Residuos lignocelulósicos y sus usos: una revisión. *InfoANALÍTICA*, 8(1),133–147. <https://doi.org/10.26807/ia.vi.174>
- Özkara, A., & AKYIL, D. (2018). Environmental Pollution and the Effects of the Pollutants on the Ecosystem. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 11(2), 11-17.
- 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.
- Pepper, I. L., & Gentry, T. J. (2015). Earth Environments. *Environmental Microbiology*, 59–88. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-394626-3.00004-1>
- Pérez-Armendariz, B., Loera-Corral, O., Fernandez-Linares, L., Esparza-Garcia, F., & Rodriguez-Vazquez, R. (2004). Biostimulation of micro-organisms from sugarcane bagasse pith for the removal of weathered hydrocarbon from soil. *Letters in Applied Microbiology*, 38(5), 373–377. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2004.01502.x>
- Pérez-Armendáriz, B., Martínez-Carrera, D., Calixto-Mosqueda, M., Alba, J., & Rodríguez-Vázquez, R. (2010). Filamentous fungi remove weathered hydrocarbons from polluted soil of tropical México. *Revista Internacional de contaminación ambiental*, 26(3), 193-199.
- Pernía B., Demey J.R., Inojosa Y. y Naranjo L. (2012). Biodiversidad y potencial hidrocarbonoclastico de hongos aislados de crudo y sus derivados: Un meta-análisis. *Rev. Latinoam. Biotecnol. Amb. Algal.* 3 (1), 1-40.



- Pinkus-Rendón M.J. y Contreras-Sánchez A. (2012). Impacto socioambiental de la industria petrolera en Tabasco: el caso de la Chontalapa. *Revista LiminaR Estudios Sociales y Humanísticos* 10 (2), 122-144.
- Plohl, K., Leskovsek, H., & Bricelj, M. (2002). Biological degradation of motor oil in water. *Acta Chimica Slovenica*, 49(2): 279-290.
- Pointing, S. (2001). Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied microbiology and biotechnology*, 57(1-2), 20-33.
- Pointing, S. (2001). Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied microbiology and biotechnology*, 57(1-2), 20-33.
- Ponce Andrade, G. I., Vázquez Duhalt, R., Rodríguez Vázquez, R., Medina Ramírez, I. E., Lozano Álvarez, J. A., & Jáuregui Rincón, J. (2012). Evidencia de la biodegradación de resinas fenólicas con hongos ligninolíticos por microscopía electrónica de barrido. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 28(2), 159-166.
- Portz, T. M., Thaísa, M. M., Stangarlin, J. R., & Kuhn, O. J. (2022). Substrate with lignocellulosic residues for *pycnoporus sanguineus* cultivation. *Revista Caatinga*, 35(2), 243-253. <https://doi.org/10.1590/1983-21252022v35n201rc>
- PROFEPA (2011). Análisis Nacional de Emergencias Ambientales.
- Punnapayak, H., Prasongsuk, S., Messner, K., Danmek, K., & Lotrakul, P. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation by laccase from a tropical white rot fungus *Ganoderma lucidum*. *African Journal of Biotechnology*, 8(21).
- Rahman, Z. A., Hamzah, U., Taha, M. R., Ithnain, N. S., & Ahmad, N. (2010). Influence of oil contamination on geotechnical properties of basaltic residual soil. *American journal of applied sciences*, 7(7), 954–961. <https://doi.org/10.3844/ajassp.2010.954.961>
- Rai, R. K., Singh, V. P., & Upadhyay, A. (2017). Soil Analysis. Planning and Evaluation of Irrigation Projects, 505–523. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811748-4.00017-0>
- Rakhmatullin, I., Efimov, S., Tyurin, V., Gafurov, M., Al-Muntaser, A., Varfolomeev, M., & Klochkov, V. (2020). Qualitative and quantitative analysis of heavy crude oil samples



- and their SARA fractions with ^{13}C nuclear magnetic resonance. *Processes*, 8(8), 995.
- Reyes, F. A., Daza, C. E., & Rondón, H. A. (2012). Determinación de las fracciones SARA de asfaltos colombianos envejecidos al medio ambiente empleando Cromatografía Líquida en Columna. *Revista EIA*, 9(17), 47-56.
- Rivera-Cruz MC (2011) Bacterias y hongos en suelos contaminados con petróleo crudo en Tabasco. En: Gamboa MA, Rojas HR (eds). Volumen 1. 1a. ed. Recursos genéticos microbianos en la Zona Golfo-Sureste de México. SUBNAGERM. CICY. UADY. SAGARPA. México, D.F. pp: 78-87.
- Rodríguez-Delgado, M., Orona-Navar, C., García-Morales, R., Hernandez-Luna, C., Parra, R., Mahlknecht, J., & Ornelas-Soto, N. (2016). Biotransformation kinetics of pharmaceutical and industrial micropollutants in groundwaters by a laccase cocktail from *Pycnoporus sanguineus* CS43 fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 108, 34-41.
- Rojo, F., 2009. Degradation of alkanes by bacteria: minireview. *Environmental Microbiology* 11(10), 2477–2490.
- Romero-Hernández, L., Velez, P., Betanzo-Gutiérrez, I., Camacho-López, M. D., Vázquez-Duhalt, R., & Riquelme, M. (2021). Extra-heavy crude oil degradation by *Alternaria* sp. isolated from deep-sea sediments of the Gulf of Mexico. *Applied Sciences*, 11(13), 6090. <https://doi.org/10.3390/app11136090>
- Roy, J. L., & McGill, W. B. (1998). Characterization of disaggregated nonwetttable surface soils found at old crude oil spill sites. *Canadian Journal of Soil Science*, 78(2), 331–344. <https://doi.org/10.4141/s97-039>
- Ruggiero MA, Gordon DP, Orrell TM, Bailly N, Bourgoïn T, Brusca RC, et al. (2015) A Higher Level Classification of All Living Organisms. *PLoS ONE* 10(4): e0119248
- Saibaba–Reddy, E. and Rama-Sastri, K. (2002). Measurement of Engineering Properties of Soils. (2002). India: New Age International (P) Limited.
- Sandoval Herazo, E. J., & Lizardi Jiménez, M. A. (2019). Hidrocarburos: contaminación en el Caribe mexicano. *Revista Digital Universitaria*, 20(1).



- Sanscartier, D., Zeeb, B., Koch, I., & Reimer, K. (2009). Bioremediation of diesel-contaminated soil by heated and humidified biopile system in cold climates. *Cold Regions Science and Technology*, 55(1), 167-173.
- Serrano, M.F., Torrado, L.M. & Pérez, D.D. (2013). Impacto de los derrames de crudo en las propiedades mecánicas de suelos arenosos. *Ciencia y Tecnología*. 11: 233-244.
- Shahi, A., Aydin, S., Ince, B., & Ince, O. (2016). The effects of white-rot fungi *Trametes versicolor* and *Bjerkandera adusta* on microbial community structure and functional genes during the bioaugmentation process following biostimulation practice of petroleum contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 114, 67–74.
- Sharma, V., & Jaitly, A. K. (2017). Optimization of growth of two wild species of *Pycnoporus* collected from foothill of uttarakhand. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 6(1), 91-94.
- Shittu, O. B., Alofe, F. V., Onawunmi, G. O., Ogundaini, A. O., & Tiwalade, T. A. (2005). Mycelial growth and antibacterial metabolite production by wild mushrooms. *African Journal of Biomedical Research*, 8(3), 157-162. <https://doi.org/10.4314/ajbr.v8i3.35744>
- Sims, J. L., Sims, R. C., & Matthews, J. E. (1990). Approach to bioremediation of contaminated soil. *Hazardous waste and hazardous materials*, 7(2), 117-149. Doi: <https://doi.org/10.1089/hwm.1990.7.117>
- Singh, B., Cattle, S. R., & Field, D. J. (2014). Edaphic Soil Science, Introduction to. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, 35–58. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-52512-3.00092-9>
- Spiegel, J., & Maystre, L. (2011). Control y prevención de la contaminación ambiental. *Oficina Internacional del Trabajo*. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. Ginebra, España. Pp. 55.1
- Stella, T., Covino, S., Čvančarová, M., Filipová, A., Petruccioli, M., D'Annibale, A., & Cajthaml, T. (2017). Bioremediation of long-term PCB-contaminated soil by white-rot fungi. *Journal of hazardous materials*, 324, 701-710.



- Stella, T., Covino, S., Čvančarová, M., Filipová, A., Petruccioli, M., D'Annibale, A., & Cajthaml, T. (2017). Bioremediation of long-term PCB-contaminated soil by white-rot fungi. *Journal of Hazardous Materials*, 324, 701–710. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.11.044>
- Subedi, K., Basnet, B. B., Panday, R., Neupane, M., & Tripathi, G. R. (2021). Optimization of growth conditions and biological activities of nepalese *Ganoderma lucidum* strain Philippine. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2021, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2021/4888979>
- Sun, L., Cao, X., Li, M., Zhang, X., Li, X. y Cui, Z. 2017. Enhanced Bioremediation of Lead-Contaminated Soil by *Solanum Nigrum L.* with *Mucor Circinelloides*. *Environmental Science and Pollution Research*, 24 (10): 9681-9689.
- Sutthisa, W., & Sanoamuang, N. (2017). Identification of *Pycnoporus coccineus* KKUPN1 and effect of colchicine treatment on growth and enzyme production. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 11(4), 1665-1673. DOI: <http://dx.doi.org/10.22207/JPAM.11.4.04>
- Taha, M., Shahsavari, E., Aburto-Medina, A., Foda, M. F., Clarke, B., Roddick, F., & Ball, A. S. (2018). Bioremediation of biosolids with *Phanerochaete chrysosporium* culture filtrates enhances the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Applied Soil Ecology*, 124, 163–170.
- Takawira, A., Gwenzi, W., & Nyamugafata, P. (2014). Does hydrocarbon contamination induce water repellency and changes in hydraulic properties in inherently wettable tropical sandy soils? *Geoderma*, 235-236, 279–289. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2014.07.023>
- Tale, K. S., & Ingole, S. (2015). A review on role of physico-chemical properties in soil quality. *Chemical Science Review and Letters*, 4(13), 57-66.
- Ten Have, R., & Teunissen, P. J. (2001). Oxidative mechanisms involved in lignin degradation by white-rot fungi. *Chemical reviews*, 101(11), 3397-3414.
- Thongkred, P., Lotrakul, P., Prasongsuk, S., Imai, T., & Punnapayak, H. (2011). Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a tropical isolate of *Pycnoporus coccineus* and its laccase. *ScienceAsia*, 37(3), 225-233.



- Ting, W. T. E., Yuan, S. Y., Wu, S. D., & Chang, B. V. (2011). Biodegradation of phenanthrene and pyrene by *Ganoderma lucidum*. *International biodeterioration & biodegradation*, 65(1), 238-242.
- Tišma, M., Zelić, B., & Vasić-Rački, Đ. (2010). White-rot fungi in phenols, dyes and other xenobiotics treatment—a brief review. *Croatian journal of food science and technology*, 2(2.), 34-47.
- Trujillo-Narcía A, Rivera-Cruz MC, Lagunes-Espinoza LC, Palma-López DJ, Soto-Sánchez S, Ramírez-Valverde G (2012) Efecto de la restauración de un Fluvisol contaminado con petróleo crudo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 28(4): 361-374.
- Tudela F. (1989). *La modernización forzada del trópico: el caso Tabasco. Proyecto integrado del Golfo*. 1a. ed. El Colegio de México. UNRISD-IFIAS-CINVESTAV México, D.F. 475 p.
- Uglietti, C., Gabrielli, P., Cooke, C.A., Vallelonga, P. y Thompson, L.G. (2015). Widespread Pollution of the South American Atmosphere Predates the Industrial Revolution by 240 Y. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(8): 2349-2354.
- Upadhyay, S., & Raghubanshi, A. S. (2020). Determinants of soil carbon dynamics in urban ecosystems. *Urban Ecology*, 299–314. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820730-7.00016-1>
- Uribe-Alvarez, C., Ayala, M., Perezgasga, L., Naranjo, L., Urbina, H., & Vazquez-Duhalt, R. (2011). First evidence of mineralization of petroleum asphaltene by a strain of *Neosartorya fischeri*. *Microbial Biotechnology*, 4(5), 663–672. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00269.x>
- Velásquez Arias, J. A. (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.
- Vera, X. C., Escobar, J. P., Montoya, M. M., & Pérez, M. D. S. Y. (2012). Hongos Nativos con Potencial Degradador de Tintes Industriales en el Valle de Aburrá, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 65(2), 6817-6827.



- Vidonish, J. E., Zygourakis, K., Masiello, C. A., Sabadell, G., & Alvarez, P. J. J. (2016). Thermal Treatment of Hydrocarbon-Impacted Soils: A Review of Technology Innovation for Sustainable Remediation. *Engineering*, 2(4), 426–437. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2016.04.005>
- Volke-Sepúlveda T, Velasco-Trejo J (2002) Tecnologías de remediación para suelos contaminados
- Vršanská, M., Voběrková, S., Jiménez Jiménez, A., Strmiska, V., & Adam, V. (2018). Preparation and Optimisation of Cross-Linked Enzyme Aggregates Using Native Isolate White Rot Fungi *Trametes versicolor* and *Fomes fomentarius* for the Decolourisation of Synthetic Dyes. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(1), 23. <https://doi.org/10.3390/ijerph15010023>
- West R.C., Psuty N.P. y Thom B.G. (1976). *Las tierras bajas de Tabasco en el sureste de México*. Gobierno del estado de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México. 199 p.
- Xiao, P., & Kondo, R. (2020). Biodegradation and biotransformation of pentachlorophenol by wood-decaying white rot fungus *Phlebia acanthocystis* TMIC34875. *Journal of Wood Science*, 66(1). <https://doi.org/10.1186/s10086-020-1849-6>
- Yateem, A., Balba, M. T., Al-Awadhi, N., & El-Nawawy, A. S. (1998). White rot fungi and their role in remediating oil-contaminated soil. *Environment International*, 24(1-2), 181–187. [https://doi.org/10.1016/s0160-4120\(97\)00134-7](https://doi.org/10.1016/s0160-4120(97)00134-7)
- Yu, Y., Liu, Y., & Wu, L. (2013). Sorption and degradation of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(6): 4261-4267.
- Zahed, M. A., Aziz, H. A., Isa, M. H., Mohajeri, L., Mohajeri, S., & Kutty, S. R. M. (2011). Kinetic modeling and half life study on bioremediation of crude oil dispersed by Corexit 9500. *Journal of Hazardous Materials*, 185(2-3), 1027–1031. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.10.009>
- Zalasiewicz, J.A.N., Williams, M., Steffen, W. y Crutzen, P. (2010). The New World of the Anthropocene. *Environmental Science and Technology*, 44(7): 2228–2231.



- Zamani, J., Hajabbasi, M. A., & Alaie, E. (2015). The effect of steam sterilization of a petroleum-contaminated soil on PAH concentration and maize (*Zea mays* L.) growth. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(8), 93-104.
- Zavala-Cruz, J., Gavi-Reyes, F., Adams-Schroeder, R. H., Ferrera-Cerrato, R., Palma-López, D. J., Vaquera-Huerta, H., & Domínguez-Ezquivel, J. M. (2005). Derrames de petróleo en suelos y adaptación de pastos tropicales en el activo Cinco Presidentes, Tabasco, México. *Terra latinoamericana*, 23(3), 293-302.
- Zdravkov, B., Čermák, J., Šefara, M., & Janků, J. (2007). Pore classification in the characterization of porous materials: A perspective. *Open Chemistry*, 5(2). <https://doi.org/10.2478/s11532-007-0017-9>
- Zervakis, G., Philippoussis, A., Ioannidou, S., & Diamantopoulou, P. (2001). Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia microbiologica*, 46, 231-234. <https://doi.org/10.1007/BF02818539>
- Zhang, B., Zhou, J., Li, Q., Gan, B., Peng, W., Zhang, X., ... & Li, X. (2019). Manganese affects the growth and metabolism of *Ganoderma lucidum* based on LC-MS analysis. *PeerJ*, 7: e6846. <https://doi.org/10.7717/peerj.6846>
- Zhang, C., Xu, T., Shi, H., & Wang, L. (2015). Physicochemical and pyrolysis properties of SARA fractions separated from asphalt binder. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 122(1), 241–249. <https://doi.org/10.1007/s10973-015-4700-3>
- Zhang, S., Ning, Y., Zhang, X., Zhao, Y., Yang, X., Wu, K., ... & Li, X. (2015). Contrasting characteristics of anthracene and pyrene degradation by wood rot fungus *Pycnoporus sanguineus* H1. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 105, 228-232.
- Zhang, Y., Jiang, M., Hu, X., Zhang, G., & Ma, L. (2005). Cloning and sequence analysis of a laccase gene from *Ganoderma lucidum*. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 21(5), 700-704.
- Zhao, Y., Yi, X., Li, M., Liu, L., & Ma, W. (2010). Biodegradation Kinetics of DDT in Soil under Different Environmental Conditions by Laccase Extract from White Rot Fungi. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 18(3), 486–492.



Zhou, X.-W., Cong, W.-R., Su, K.-Q., & Zhang, Y.-M. (2012). *Ligninolytic enzymes from Ganoderma spp: Current status and potential applications. Critical Reviews in Microbiology*, 39(4), 416–426. <https://doi.org/10.3109/1040841x.2012.722606>

Zhuo, R., & Fan, F. (2021). A comprehensive insight into the application of white rot fungi and their lignocellulolytic enzymes in the removal of organic pollutants. *Science of The Total Environment*, 778, 146132. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146132>

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México



11. ANEXOS

Anexo 1

Tabla 28. Cuadro de interpretación de la humedad del suelo por Rai et al., (2017), traducido.

Cuadro de Interpretación de la Humedad del Suelo			
Deficiencia de humedad del suelo	Textura moderadamente gruesa	Textura media	Textura Fina y Muy Fina
0	Al apretar, no aparece agua libre en el suelo, pero queda a mano el contorno húmedo de la bola.		
0 – 25	Forma una pelota débil, se rompe fácilmente cuando rebota en la mano. *	Forma una bola, es muy flexible y se desliza fácilmente. *	Se quita fácilmente entre el pulgar y el índice. *
25 – 50	Formará una bola, pero se deshace cuando rebota en la mano. *	Forma una bola y se desliza bajo presión. *	Forma una bola y se formará una cinta entre el pulgar y el índice. *
50 – 75	Parece seco, no formará una bola con la presión. *	Quebradizo, se mantiene unido por la presión. *	Algo flexible, se mueve bajo presión. *
75 – 100	Seco, suelto, fluye entre los dedos.	En polvo, se desmorona fácilmente	Duro, difícil de convertir en polvo

* Exprima firmemente un puñado de tierra para hacer la prueba de bola.



Anexo 2

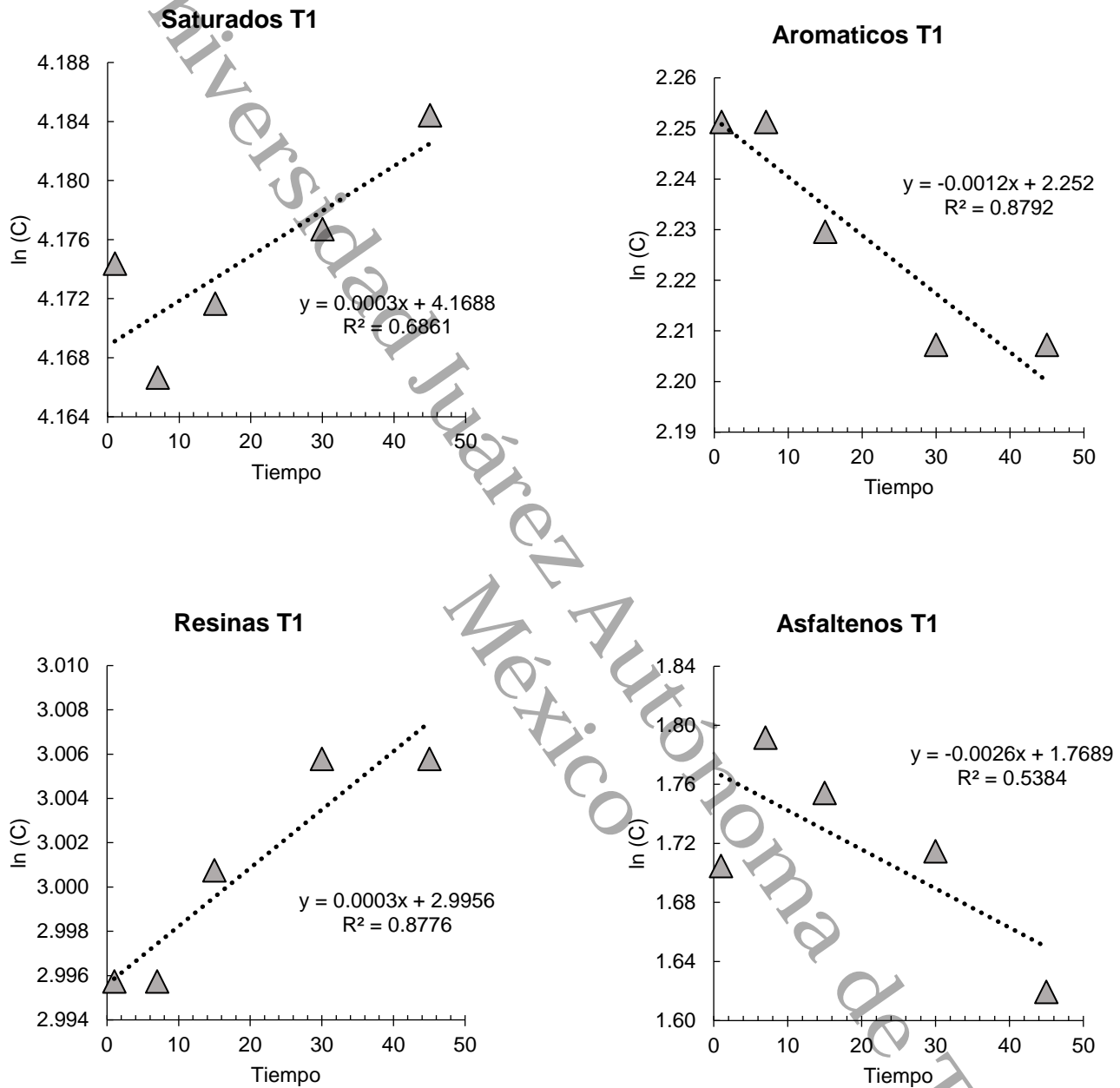


Figura 75. Reacción de primer orden de la forma $\ln(C)$ para cada fracción del tratamiento 1

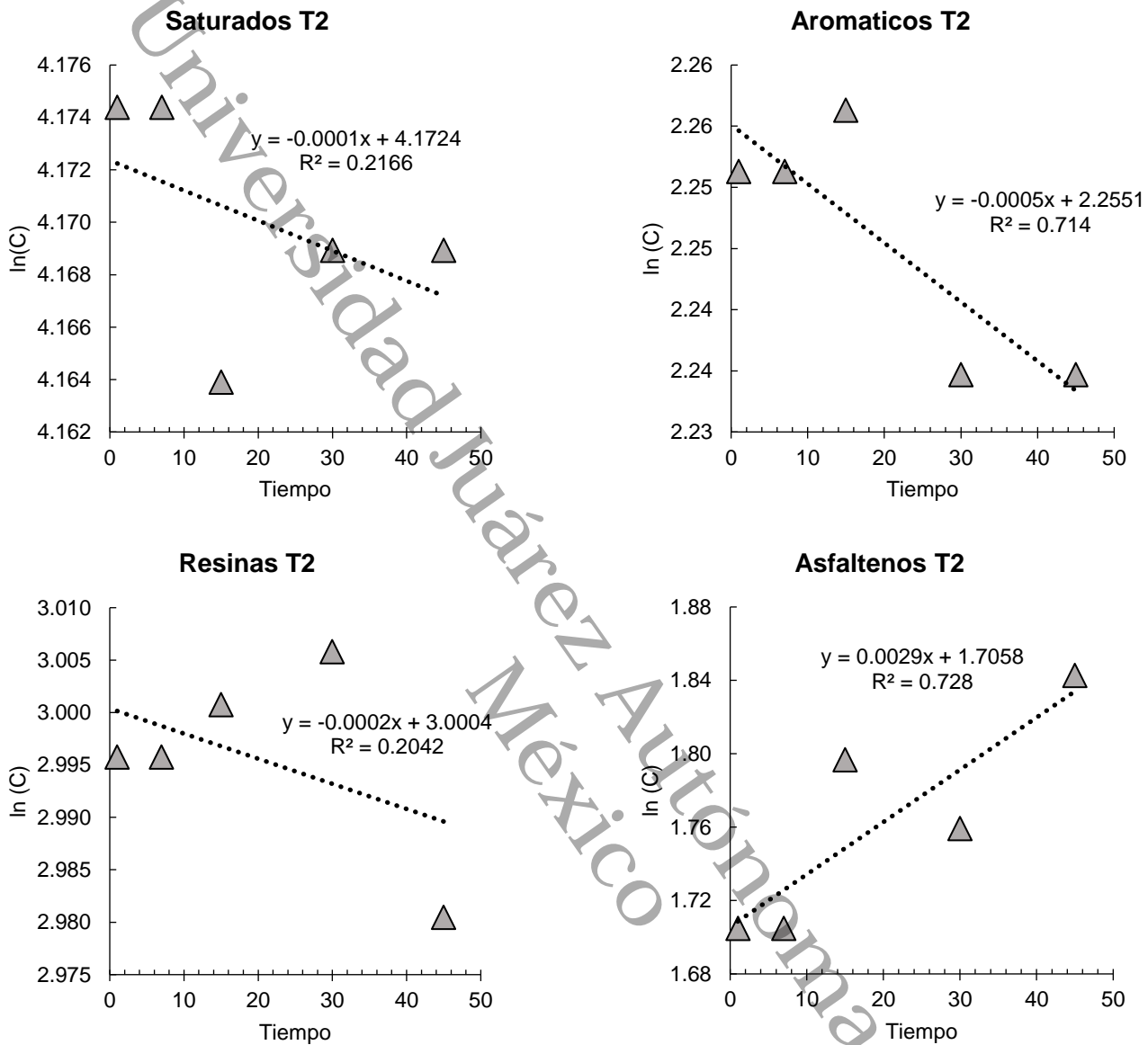


Figura 76. Reacción de primer orden de la forma $\ln(C)$ para cada fracción del tratamiento 2

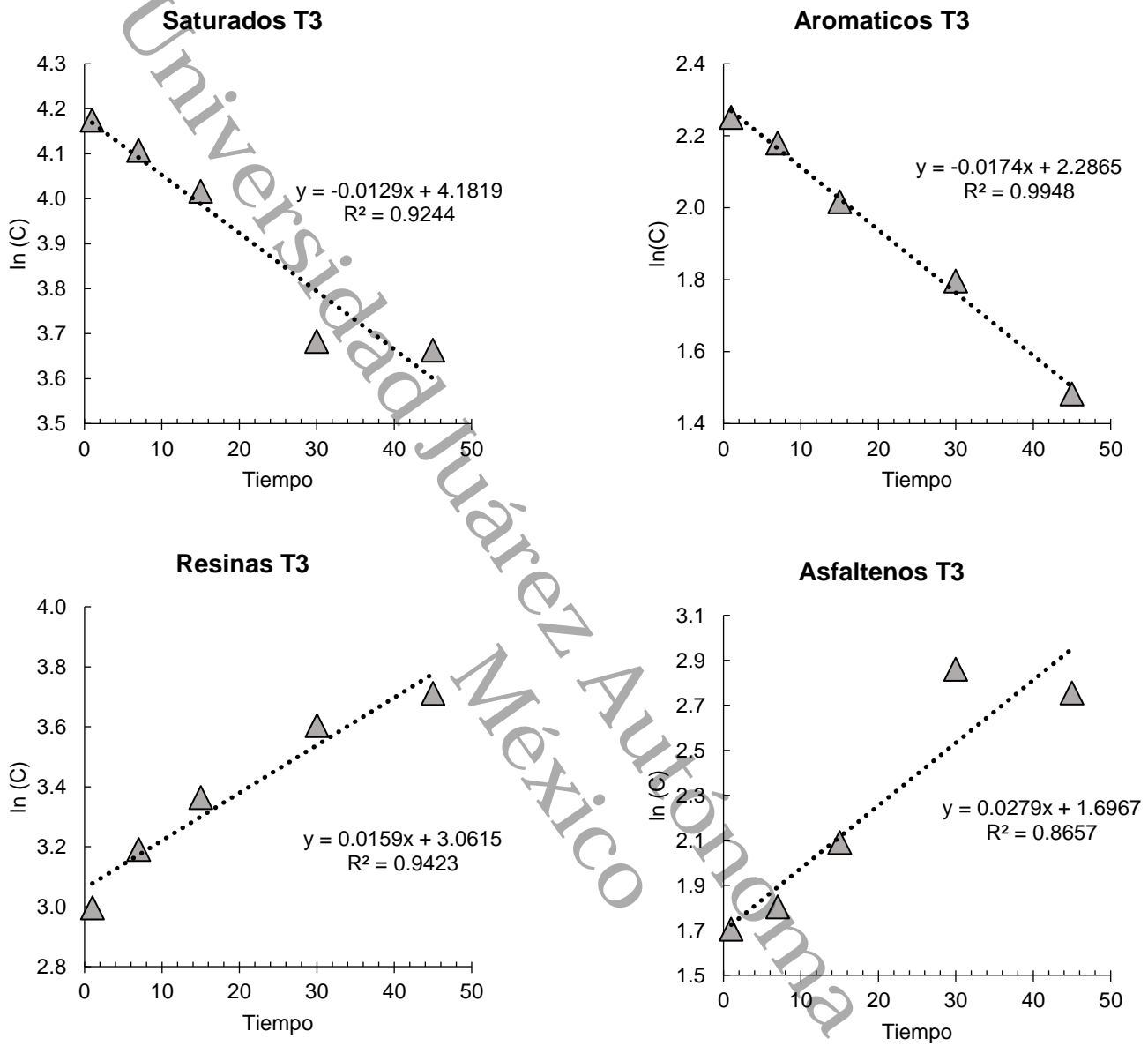


Figura 77. Reacción de primer orden de la forma $\ln(C)$ para cada fracción del tratamiento 3

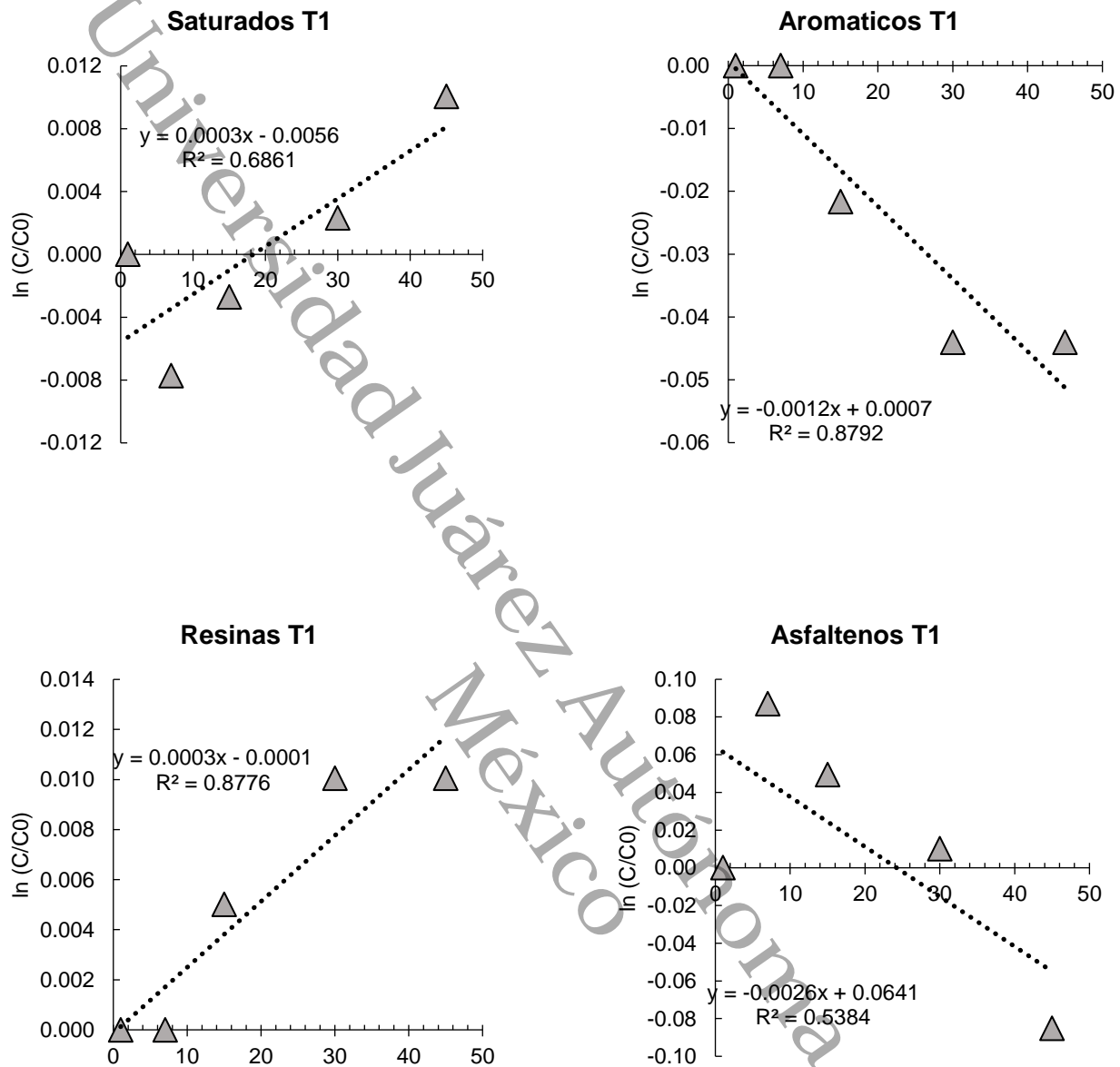


Figura 78. Reacción de primer orden de la forma $\ln(C/C_0)$ para cada fracción del tratamiento 1

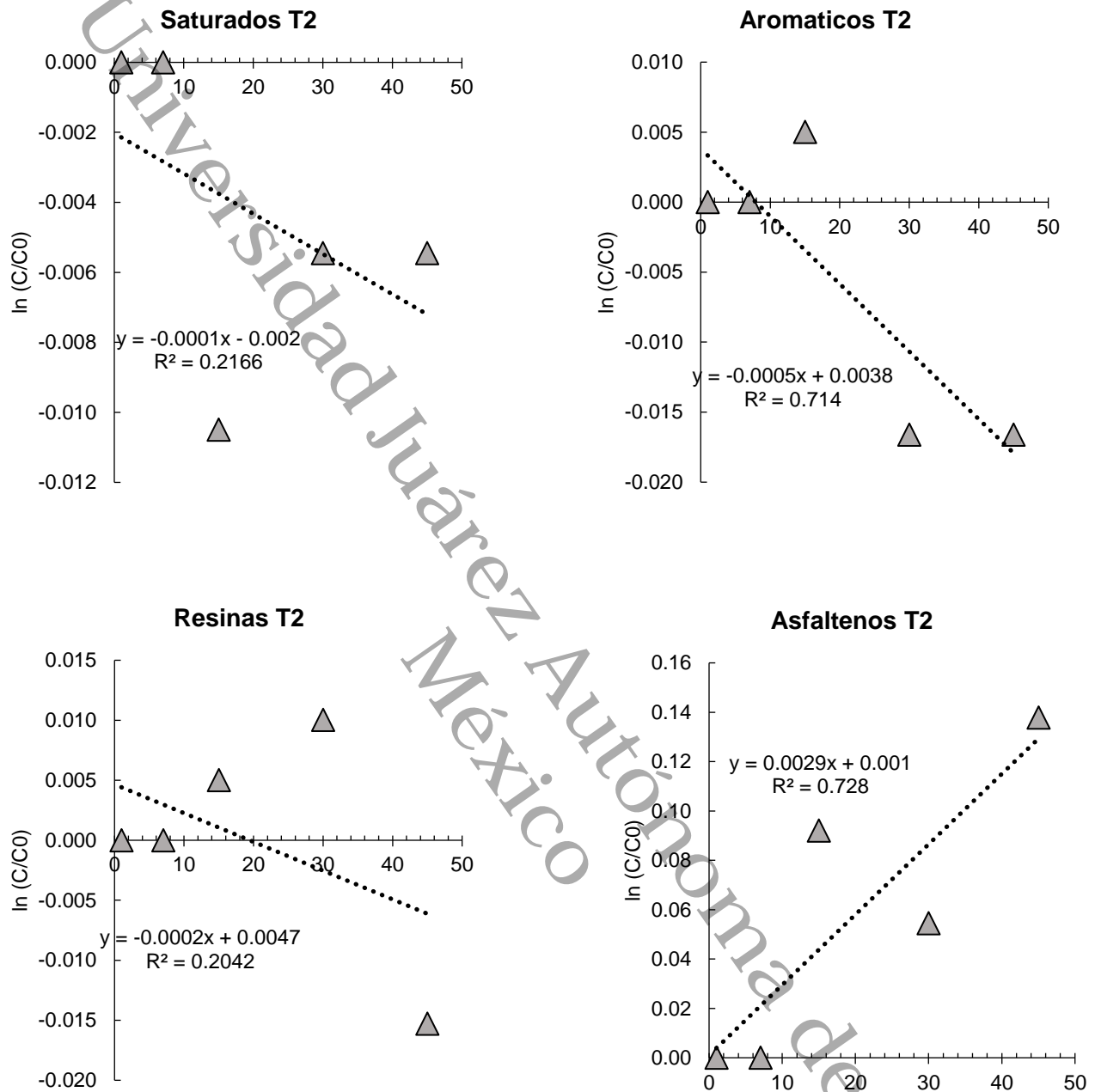


Figura 79. Reacción de primer orden de la forma $\ln(C/C_0)$ para cada fracción del tratamiento 2

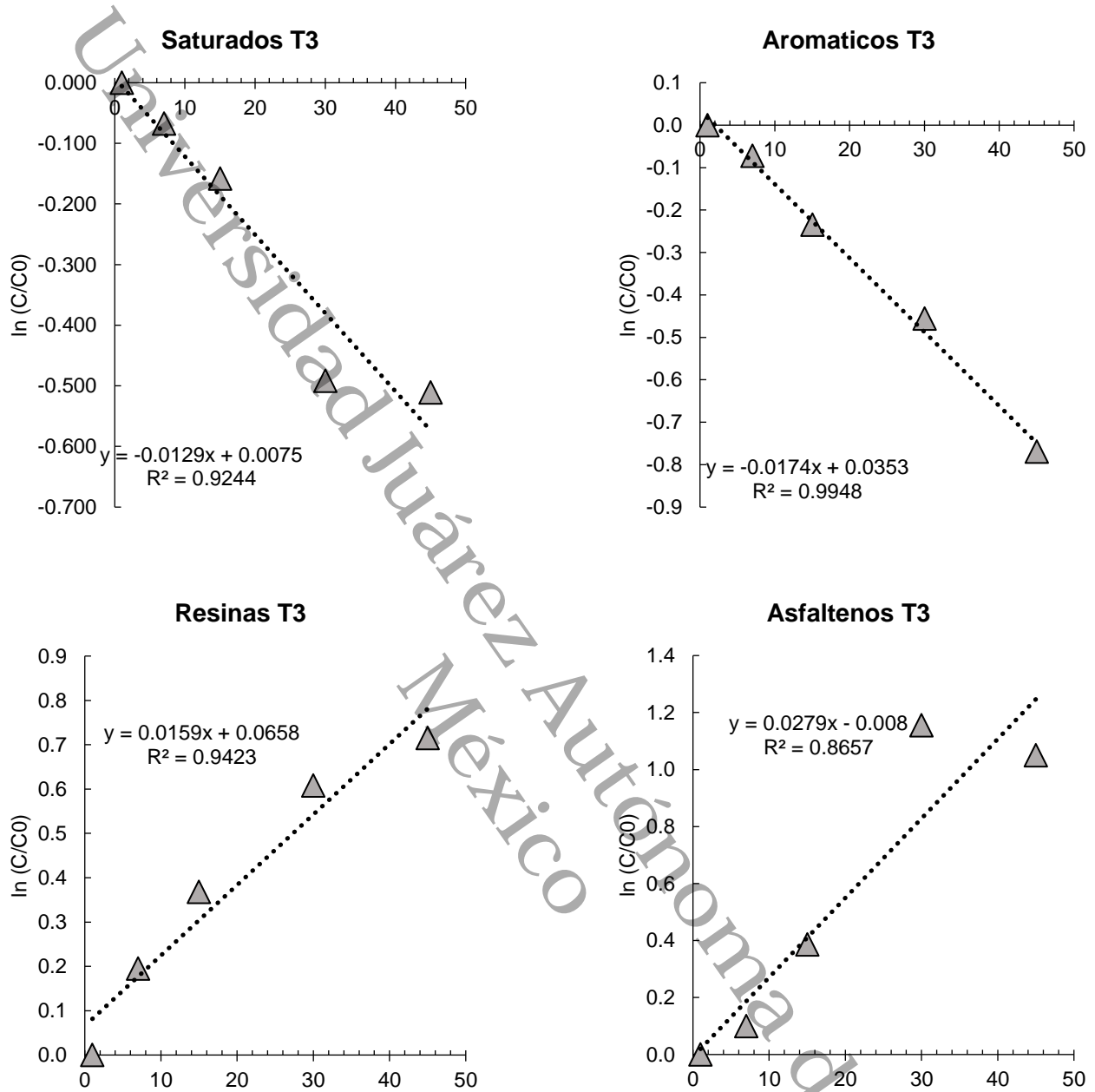


Figura 80. Reacción de primer orden de la forma $\ln(C/C_0)$ para cada fracción del tratamiento 3



Anexo 3

MECANISMO DE DEGRADACIÓN DE CONTAMINANTES Y DE HTP POR HONGOS DE LA PODREDUMBRE BLANCA

Los hongos de la podredumbre blanca son conocidos por degradar la madera en descomposición, sin embargo, se ha sabido que pueden degradar todo tipo de plantas; esta selectividad de los hongos hacia las plantas se debe a que en las paredes celulares se localizan dos polisacáridos muy importantes, que son la celulosa y hemicelulosa, que son la fuente de carbono y energía para el crecimiento del hongo. (Dávila & Vázquez, 2006; Kijpornyongpan *et al.*, 2022)

Sin embargo, para poder tener acceso a ellas deben degradar primeramente la lignina (Fig. 75). La función principal de la lignina es proveer resistencia, rigidez a las paredes celulares y tejidos de las plantas vasculares, además de proveer protección a los polisacáridos de la degradación microbiana en la pared celular. Es importante mencionar que la lignina es químicamente recalcitrante a la degradación por parte de la mayoría de los organismos debido a su compleja estructura. La lignina es un polímero heterogéneo amorfo, tridimensional, altamente complejo, altamente ramificado y se encuentra conformada por grupos funcionales como hidroxilos, metoxi, carbonilos, y estructuras aromáticas, unidas a una variedad de enlaces C-C y C-O, junto con otros compuestos fenólicos como alcohol p-hidroxicinámico, alcohol 4-hidroxi-3-metoxicinámico y el alcohol 3,5-dimetoxi-4-hidroxicinámico (Dávila & Vázquez, 2006; Abdel-Hamid *et al.*, 2013; Hou *et al.*, 2020).

Los HPB se caracterizan por poseer únicamente una de las dos formas o ambas para degradar la lignina, nombradas como degradación selectiva y no selectiva. Los selectivos son aquellos que remueven la lignina dejando intacta la valiosa celulosa y tienen mayor interés bio-industrial. Los no selectivos o también conocidos como simultáneos son aquellos que degradan todos los componentes del material vegetal (lignina, celulosa y hemicelulosa). Algunos ejemplos de HPB que degradan selectivamente bajo ciertas condiciones son, *Ceriporiopsis subvermispota*, *Dichomitus squalens*, *Phanerochaete chrysosporium* y *Phlebia radiata*. En cambio, para la degradación no selectiva se han mencionado a *Trametes versicolor* y *Fomes fomentarius* (Blanchette, 1995, Bogale, 2020)

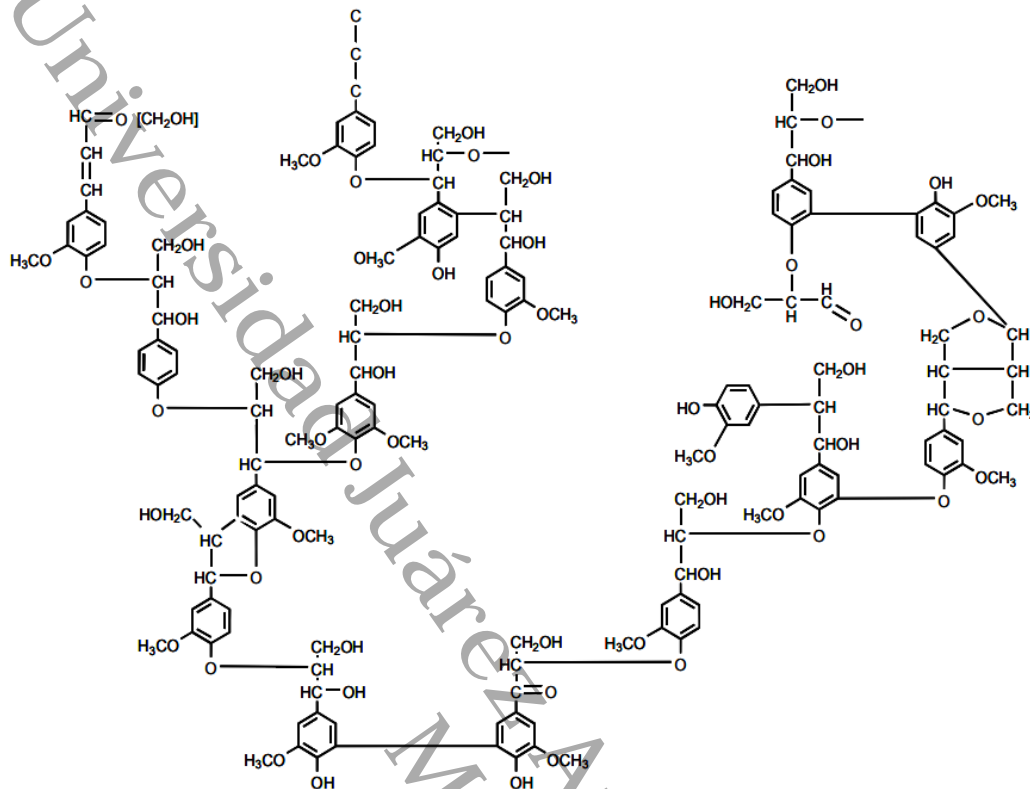


Figura 81. estructura parcial de la Lignina (Dávila y Vásquez, 2006)

Debido a la naturaleza compleja de la estructura y la variedad de enlaces químicos de la lignina, su degradación requiere la acción de varias enzimas, dichas enzimas deben ser extracelulares (Dávila y Vásquez, 2006; Abdel-Hamid *et al.*, 2013) (Fig. 76). Los HPB poseen la capacidad de secretar enzimas extracelulares, siendo este su mecanismo principal de degradación. Algunos autores como Grelska & Noszczyńska (2020), Kathiravan & Gnanadoss (2021), Bogale (2020), mencionan que sus tres enzimas principales son lignina-peroxidasa (LiP), Manganese – dependiente peroxidasa (MnP) y Lacasa (Lac), aunque autores como Abdel-Hamid *et al.* (2013) menciona que sus enzimas principales son lignina-peroxidasa, Manganese-dependiente peroxidasa y versátil-peroxidasa (VP), por otra parte, Kathiravan & Gnanadoss, 2021, mencionan que las enzimas más reconocidas en los HPB son las Lac y las MnP y las menos comunes son las LiP y VP, dichas enzimas pueden trabajar en conjunto o independientemente.

La enzima LiP oxida particularmente unidades de lignina no fenólicas; MnP se fija sobre unidades no fenólicas mediante la oxidación de Mn^{+2} a Mn^{+3} y VP comparten propiedades catalíticas con LiP y MnP, sin embargo, estas enzimas requieren H_2O_2 para desencadenar

su oxidación y activar su ciclo enzimático (Jurado *et al.*, 2011; Hou *et al.*, 2020). Por tal razón, entran en juego las siguientes enzimas como glicoxal oxidasa (GLOX), aril alcohol oxidasa (veratryl alcohol oxidasa; AAO), piranos 2-oxidasa (glucosa 1-oxidasa), celobiosa/quinona oxidoreductasa y celobiosa deshidrogenasa, estas enzimas apoyan en la degradación de la lignina, ya que reducen los radicales metoxi generados por LiP, MnP y Lac. Además de que, las enzimas glicoxal oxidasa, la glucosa oxidasa y la veratril alcohol oxidasa producen peróxido de hidrógeno (H_2O_2) requerido por las peroxidasas, ya que es el precursor del radical hidroxilo, el agente oxidante más fuerte producido por los HPB mediante la reacción de Haber-Weiss catalizada por hierro (Jurado *et al.*, 2011; Abdel-Hamid *et al.*, 2013). Dicho lo anterior los HPB mineralizan la lignina a CO_2 y H_2O y es degradado por la producción de H_2O_2 y el sistema enzimático celular (Hou *et al.*, 2020). Ver Figura 77.

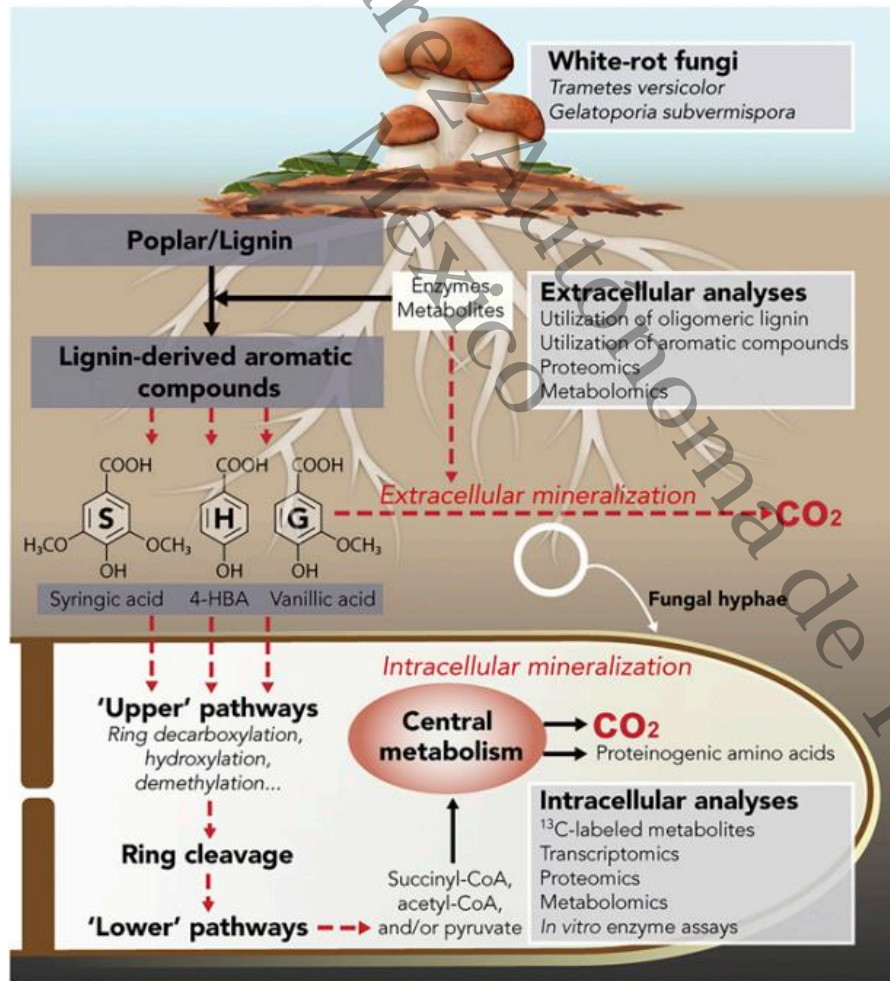


Figura 82. Ruta general de mineralización extracelular e intracelular de la lignina (Del Cerro *et al.*, 2020).



Las Lac catalizan la oxidación de una amplia gama de compuestos fenólicos, como polifenoles y fenoles metoxi-sustituidos, así como aminas aromáticas. Estas enzimas pertenecen a la familia de oxidasas multicobre azules, ya que contienen cuatro átomos de cobre catalíticos en su estructura molecular. Esta enzima se diferencia de las peroxidasas ya que no requiere de H_2O_2 para oxidar; las lacasas catalizan la reducción concomitante de cuatro electrones de O_2 molecular a dos moléculas de agua (Jurado *et al.*, 2011, Korcan *et al.*, 2013).

De acuerdo a Zhou *et al.* (2013) menciona que las enzimas más comunes producidas por *Ganoderma spp.* son LiP, MnP y Lac, sin embargo, puede existir la situación en que algunas cepas de *Ganoderma spp.* solo puedan secretar una o dos de las enzimas mencionadas. Esto lo confirma Adaskaveg *et al.* (1990) donde menciona que solo produjo Lac, bajos niveles de MnP y sin detección de la enzima LiP. Por otra parte, Zhang *et al.* (2005) evaluó 16 cepas de *Ganoderma spp.* y detectó la producción de Lac y peroxidasas. Maganhotto de Souza Silva *et al.* (2005) reportó que la especie *Ganoderma spp.* las cepas GASI3.4 y CCB209 produjeron LiP, MnP y Lac simultáneamente, mientras que las cepas CB364 y GASI2, solo produjeron Lac.

Los HPB han desarrollado un sistema único enzimático e inespecífico, debido a su modo de acción mediante la generación de radicales libres, es decir, las enzimas anteriormente mencionadas, le permite actuar catalíticamente sobre una diversidad de sustratos orgánicos. Esta característica no específica de los HPB ha demostrado la capacidad de transformar una variedad de contaminantes orgánicos, debido a que estos compuestos poseen una estructura similar a la lignina (Pointing, 2001; Dávila & Vázquez, 2006).

Las publicaciones han demostrado que los HPB son efectivos para degradar Antibióticos, tintes textiles sintéticos, hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA), dicloro difenil tricloroetano (DDT), Bifenilos policlorados (BPCs), penta clorofenoles (PCF), trinitrotolueno (TNT), pesticidas, polímeros sintéticos como los "plásticos", preservadores de madera, BTEX, Creosota, efluentes de la industria de papel en el blanqueamiento, herbicidas, Nylon (Pointing, 2001; Korcan *et al.*, 2013; Abdel-Hamid *et al.*, 2013; Ellouze & Sayadi 2016; Kachlishvili *et al.*, 2016; Stella *et al.*, 2017; Guo *et al.*, 2018; Vršanská *et al.*, 2018; Lee *et al.*, 2020; Xiao & Kondo 2020).

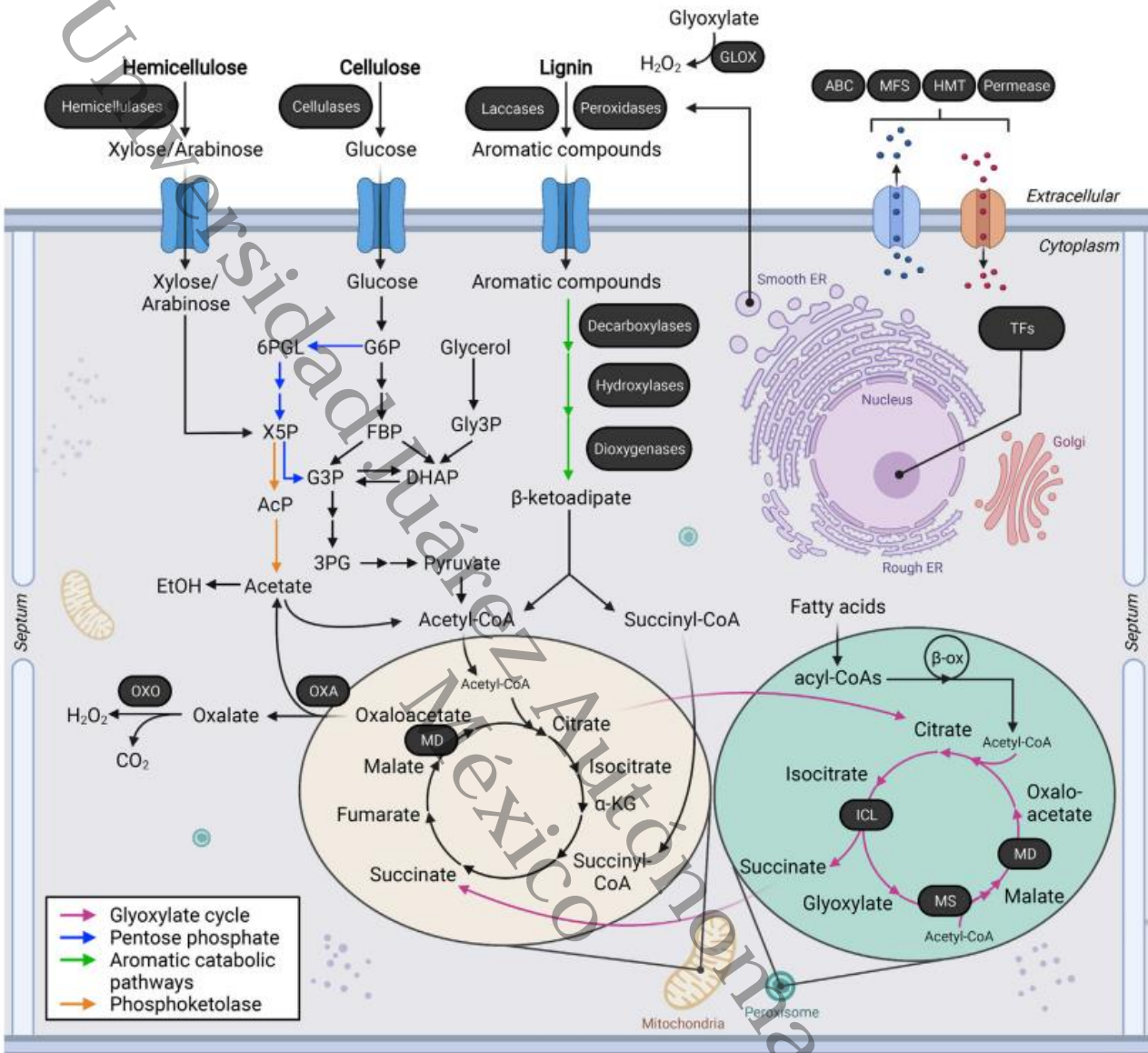


Figura 83. Rutas metabólicas propuestas en la degradación de lignina, celulosa y hemicelulosa (Kijpornyongpan *et al.*, 2022)

Por otra parte, también se han reportado de forma general los mecanismos de degradación de los contaminantes orgánicos, sin embargo, hay autores que también han reportado los mecanismos de degradación para un contaminante en particular. La Figura 78 representa el modelo de metabolismo de contaminantes orgánicos. Sin embargo, estas degradaciones pueden llevarse a cabo tanto en matrices de suelo, acuosas o medios de cultivo. Particularmente en el suelo, se sabe que los HPB no crecen directamente sobre el suelo, requieren de un material lignocelulósico (conocidos también como sustrato o residuos agroindustriales) para poder crecer, ya que aporta soporte, aireación y alimento al hongo.

Como se ha mencionado anteriormente, los estudios han propuesto una variedad de materiales como paja de arroz, desechos de algodón, salvado de trigo y arroz, paja triturada, mazorcas de maíz, harina de soja, paja de cereal, cortezas de pino, aserrín, pulpa de café y remolacha, entre otros (Dickson *et al.*, 2019, Oviedo & Vinueza, 2020).

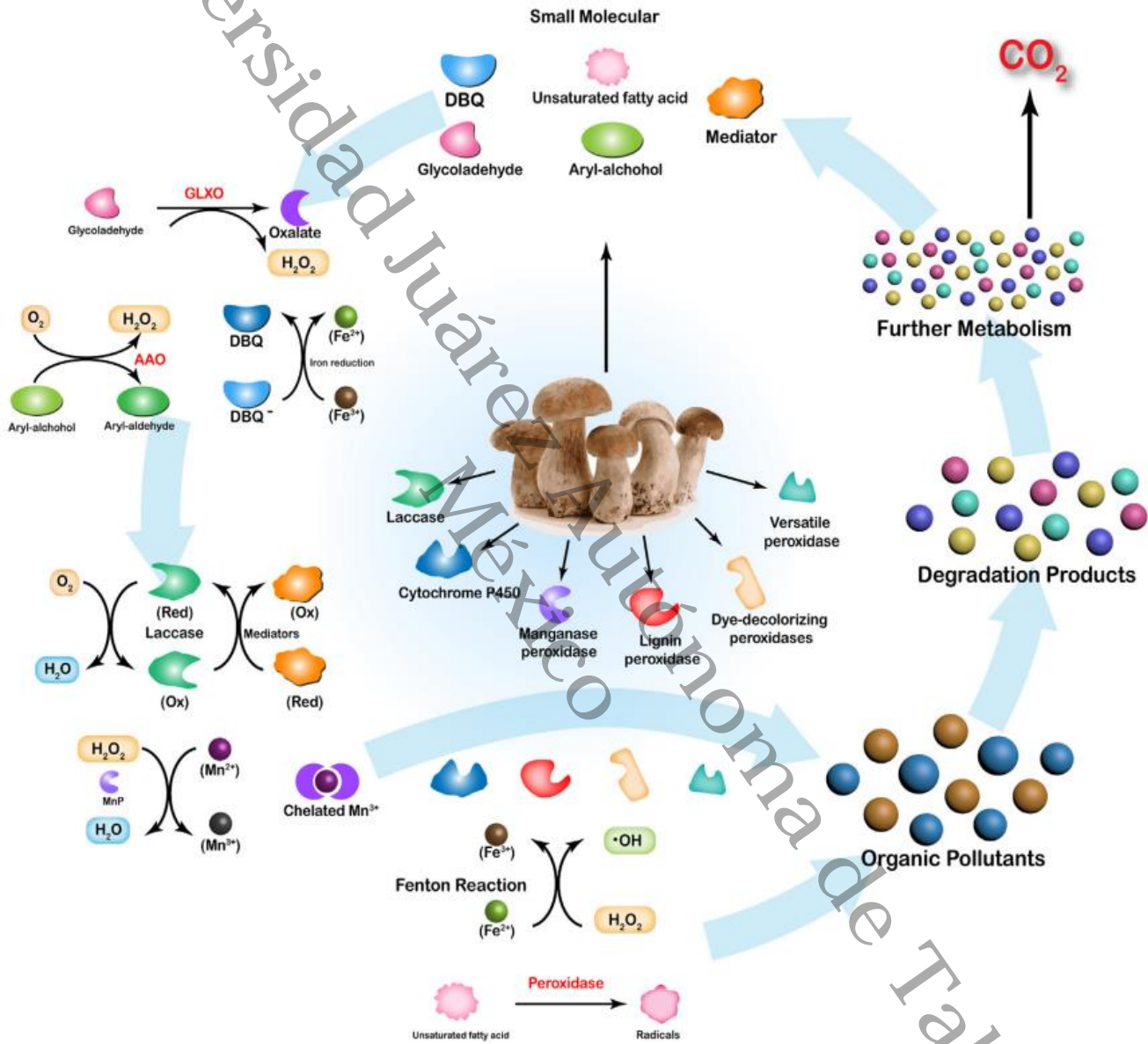


Figura 84. Degradación extracelular de contaminantes orgánicos por hongos de la podredumbre blanca (Zhuo & Fangfang, 2021)

Por otra parte, se han reportado los mecanismos de degradación de hidrocarburos en suelos. De acuerdo con Dickson et al. (2019) en la Figura 79 (traducido) se presenta el mecanismo de degradación de suelos contaminados con petróleo crudo.

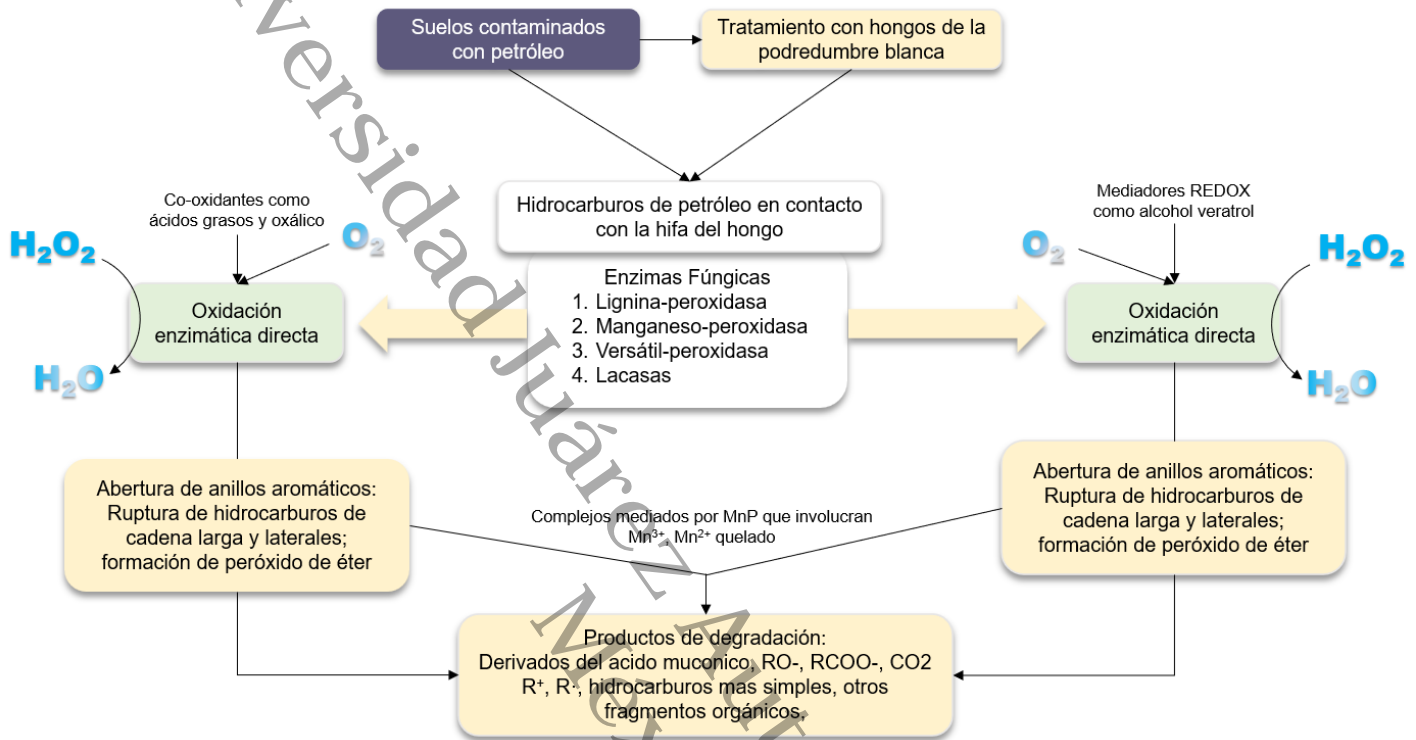


Figura 85. Mecanismo de degradación de hidrocarburos propuesto por Dickson et al. (2019).

Respecto a las fracciones SARA que conforman al petróleo crudo, para la fracción de saturados no se ha reportado un mecanismo gráfico de degradación empleando los HPB. Sin embargo, Hidayat & Tachibana (2012) describen la biodegradación de esta fracción empleando la especie *Fusarium sp.* (microhongo filamentoso e imperfecto); mencionan que el sistema intracelular metaboliza los contaminantes a través de reacciones catalizadas por citocromo P450 monooxigenasa y el epóxido hidrolasa para formar trans-dihidrodiol a través del óxido de areno. También, en la mayoría de los casos la biodegradación aeróbica de hidrocarburos alifáticos comienza con la adición de uno o ambos átomos de oxígeno diatómico mediante enzimas conocidas como monooxigenasas y dioxigenasas y luego la oxidación de grupos metilo extraterminales a alcohol primario y aldehídos, también el hidrocarburo alifático podría oxidarse a ácido graso y eliminarlo mediante el metabolismo de los ácidos grasos en los lípidos celulares.

Para el caso de la fracción aromática Korcan et al. (2012) reporta gráficamente el mecanismo de degradación (Fig. 80). Se puede observar de igual forma que transforma los contaminantes mediante la vía de citocromo P450 por oxido de areno como lo menciona Hidayat & Tachibana (2012).

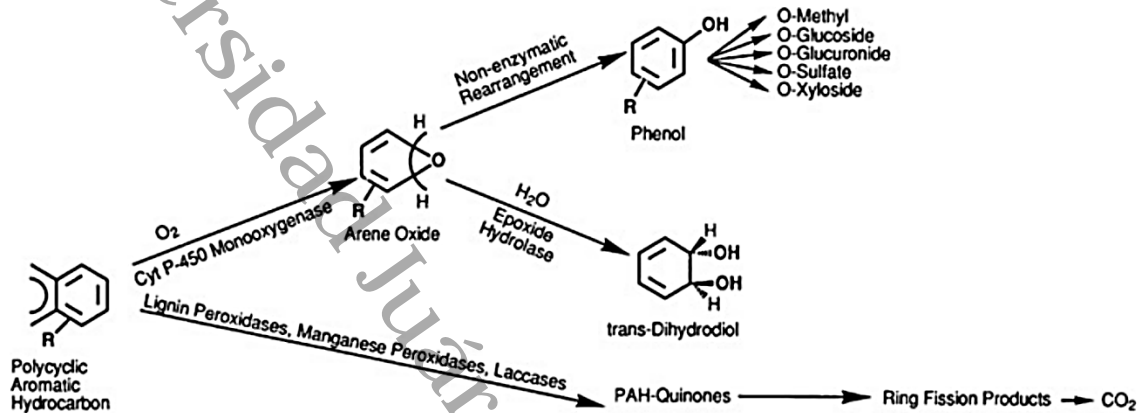


Figura 86. Mecanismo de degradación de hidrocarburos aromáticos (Christian et al., 2005)

Christian et al. (2005) menciona que los HPB oxidan los HPA a las correspondientes quinonas de los HPA y posteriormente los degradan aún más a CO_2 . La enzima citocromo P-450 monooxygenasa incorpora una molécula de O_2 en la molécula de los HPA para formar oxido de areno, posteriormente pasa por una isomerización espontanea para formar fenol, con posterior conjugación con sulfato, ácido glucurónico, glucosa o xilosa. La otra vía es la hidratación enzimática para formar trans-hidrodiol. Por otra parte, las peroxidadas (LiP, MnP, Lac) ionizan los compuestos aromáticos para formar radicales catiónicos arilos, que se oxidan aún más, para formar quinonas.

Para el caso de la fracción de resinas y asfáltenos, no se han reportado mecanismos de degradación. Como se ha mencionado anteriormente, los estudios han demostrado que las resinas y asfáltenos se ven enriquecidos a medida que se metabolizan los hidrocarburos saturados y aromáticos (Blumenstein *et al.*, 2007; Carpentier, 2007; Romero-Hernández *et al.*, 2021). Por otra parte, Fernández et al. (2008) menciona que el empleo de la actividad metabólica de microorganismos para transformar estas fracciones da como productos grupos ceto e hidroxilo. Sin embargo, para poder medir la degradación de resinas y asfáltenos lo hacen mediante la medida de producción de CO_2 (Uribe-Alvarez *et al.*, 2011).



Anexo 4

Declaración de Autoría y Originalidad

En la ciudad de Villahermosa, el día 29 del mes de mayo del año 2024, el que suscribe Samuel Guadalupe Cahuich Flores alumno del programa de Maestría en Ciencias Ambientales con numero de matricula 192G25010, adscrito a la División Académica de Ciencias Biológicas, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autor de la Tesis presentada para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Ambientales y titulada Micorremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos mediante el uso de hongos de la podredumbre blanca, dirigida por la Dra. Silvia Cappello García y la Dra. Sugey López Martínez.

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente

Villahermosa, Tabasco a 29 de mayo de 2024

Nombre y Firma

Samuel Guadalupe Cahuich Flores



Anexo 5

Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa, Tabasco a 29 de mayo de 2024



Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTOR y AUTORAS en la producción, creación y/o realización de la obra denominada Micorremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos mediante el uso de hongos de la podredumbre blanca.

Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES

		
Samuel Guadalupe Cahich Flores	Silvana Cappello S.	
ALUMNO	DIRECTORA	CODIRECTORA

TESTIGOS

	
Lilitiana Pampillón González	Manuel Antonio Guarcía Guarcía



Anexo 6

Portada Interior

Micorremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos mediante el uso de hongos de la podredumbre blanca

Cahuich-Flores Samuel Guadalupe¹, López-Martínez Sughey², Capello-García Silvia¹, Morales-Bautista Carlos Mario³, Ramírez-Álvarez Nancy⁴

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el crecimiento micelial in vitro y la degradación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) a 40,000 ppm de fracción pesada (18.7 ± 1.38 °API) en suelo empleando las especies *Ganoderma multipileum* y *Pycnoporus sanguineus*, utilizando bagazo de caña como fuente de energía. Se realizaron dos estudios preliminares: el primero evaluó el crecimiento micelial en suelo con diferentes proporciones de bagazo, mostrando un alto crecimiento al 25% (P/P). El segundo estudio evaluó el crecimiento en suelo contaminado con HTP a 40,000 ppm con bagazo de caña al 25% (P/P), ambos estudios se analizaron mediante una prueba de Kruskal-Wallis. Los resultados anteriores se emplearon para establecer 3 tratamientos y evaluar la cinética de degradación de HTP con respecto al tiempo (1, 7, 15, 30 y 45 días). También se evaluó la cinética de reacción de primer orden y los tiempos de vida media para los HTP y las fracciones SARA. Los resultados demostraron que ambas especies tienen la capacidad para crecer en suelo contaminado con hidrocarburo así como el potencial de degradar hidrocarburos de fracción pesada.

Palabras clave: suelo, hidrocarburos, micorremediación, cinética de primer orden, bagazo de caña.

¹División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, CP. 86100, Villahermosa, Tabasco, México.

²Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Mérida Av. Tecnológico S/N Km. 4.5 C.P. 97118, Mérida Yucatan.

³División Académica de Ciencias Básicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, CP. 86690, Cunduacán, Tabasco, México.

⁴Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California. C.P. 22860, Ensenada, Baja California, México.



Anexo 7

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de Tesis:	Micorremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos mediante el uso de hongos de la podredumbre blanca
Autor (a) o Autores (ras) de la Tesis:	Samuel Guadalupe Cahuich Flores Silvia Cappello García Sugey López Martínez
ORCID:	Cahuich-Flores S.G. https://orcid.org/0009-0008-1569-3766 Cappello-García S. https://orcid.org/0000-0003-1354-6304 López-Martínez S. https://orcid.org/0000-0002-3681-4001
Resumen de la Tesis:	<p>La contaminación por hidrocarburos hoy en día es uno de los problemas ambientales de mayor impacto, por ende, se ha propuesto la micorremediación como una alternativa para degradarlos, siendo los hongos de la podredumbre blanca (HPB) los más destacados. Dichos hongos se han reportado en una variedad de investigaciones debido a que poseen la capacidad enzimática para degradar efectivamente compuestos orgánicos. Por tal razón, el objetivo de este trabajo fue emplear las especies <i>Pycnoporus sanguineus</i> y <i>Ganoderma multipileum</i> para conocer el potencial de crecimiento micelial in vitro y de degradación de HTP a 40,000 ppm en un suelo, usando el bagazo de caña como fuente de energía. la metodología empleada consistió en aplicar dos estudios preliminares sucesivos; En el primer estudio se evaluó el crecimiento micelial en suelo con diferentes proporciones de bagazo al 15, 25 y 35</p>



	<p>% (P/P), los resultados mostraron un alto crecimiento al 25% (P/P). En el segundo estudio se evaluó el crecimiento en suelo contaminado con HTP a 40,000 ppm con bagazo de caña al 25% (P/P), los resultados revelaron que <i>G. multipileum</i> obtuvo un alto crecimiento micelial y una tasa de crecimiento con valores de 2.52 ± 0.1 cm/día y 0.73 cm/día, respectivamente, a comparación de <i>P. sanguineus</i> que obtuvo 2.43 ± 0.2 cm/día y 0.67 cm/día, respectivamente, esto dio pauta al descarte de <i>P. sanguineus</i>. Los resultados de los estudios preliminares se tomaron para la elaboración del diseño experimental empleando <i>G. multipileum</i> con bagazo de caña al 25% (P/P), para ello, se realizó un diseño completamente aleatorizado de dos factores con un arreglo de 3x4 por triplicado. El Factor A son los tratamientos (T1=suelo + bagazo, T2=suelo + bagazo + hidrocarburo y T3= suelo + bagazo + hidrocarburo + hongo) y el factor B los días de degradación de HTP (1, 7, 15, 30 y 45 días), posteriormente los datos fueron analizados mediante una prueba de Kruskal-Wallis. Se evaluó la cinética de degradación con respecto a los tiempos, la cinética de reacción de primer orden de la forma $\ln [c]$, y los tiempos de vida media para los HTP (Soxhlet) y las fracciones SARA (Columna de sílice).</p>
Palabras claves de la Tesis:	Hidrocarburos de fracción pesada, hongos de la podredumbre blanca, suelo, bagazo de caña, cinética de reacción de primer orden, tiempo de vida media
Referencias citadas:	204