

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS

**DEGRADACION DE DIESEL B5 POR HONGOS DE
SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS**

PRESENTADO POR:

Br. NINFA MONTOYA QUISPE

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO**

ASESOR:

Dra. MARTHA NATIVIDAD MOSTAJO
ZAVALETA

CUSCO – PERÚ

2026



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el Asesor Martha Natividad Mostajo Zavaleta
..... quien aplica el software de detección de similitud al
trabajo de investigación/tesis titulada: DEGRADACIÓN DE DIESEL B5 POR
HONGOS DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS

Presentado por: Ninfa Montoya Quispe DNI N° 71977189;
presentado por: DNI N°:
Para optar el título Profesional/Grado Académico de BIÓLOGO

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el
Software de Similitud, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de
Similitud en la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 9 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	☒
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	☐
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	☐

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 24 de Agosto de 2026

Martha Natividad Mostajo Zavaleta
Firma

Post firma MARtha NATividad Mostajo Zavaleta

Nro. de DNI 23926260

ORCID del Asesor 0000-0002-4350-9283

Se adjunta:

- Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
- Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: oid: 27259: 616134354

NINFA MONTOYA QUISPE

DEGRADACION DE DIESEL B5 POR HONGOS DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS (1).pdf

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:616134354

Fecha de entrega

21 ago 2026, 6:33 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

21 ago 2026, 6:43 p.m. GMT-5

Nombre del archivo

DEGRADACION DE DIESEL B5 POR HONGOS DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS (1).pdf

Tamaño del archivo

7.2 MB

135 páginas

23.295 palabras

124.664 caracteres

9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 8 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 8%  Fuentes de Internet
- 3%  Publicaciones
- 6%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
52 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

INDICE

RESUMEN	I
INTRODUCCIÓN	II
PROBLEMA	IV
JUSTIFICACIÓN	VI
OBJETIVOS.....	VII
HIPÓTESIS.....	VIII
VARIABLES.....	VIII
1. MARCO TEÓRICO	10
1.1. Antecedentes.....	10
1.2. Marco Conceptual.....	16
1.2.1. Hidrocarburos	16
1.2.2. Diésel	17
1.2.3. Contaminación Ambiental por Hidrocarburos.....	18
1.2.4. Degradación de Hidrocarburos por Hongos.....	19
1.2.5. Género Trichoderma	22
1.2.5.1. Taxonomía y características generales	22
1.2.5.2. Morfología Macroscópica y microscópica.....	23
1.2.5.3. Características fisiológicas.....	23
1.2.5.4. Metabolismo energético y biosíntesis de compuestos	

bioactivos	24
1.2.5.5. Aplicación en biorremediación de suelos contaminados	25
1.2.6. Género <i>Mortierella</i>	25
1.2.6.1. Taxonomía y características generales	25
1.2.6.2. Morfología Macroscópica y microscópica	26
1.2.6.3. Metabolismo.....	26
1.2.6.4. Aplicación en biorremediación de suelos contaminados	27
1.2.7. Género <i>Fusarium</i>	27
1.2.7.1. Taxonomía y características generales	27
1.2.7.2. Morfología Macroscópica y microscópica.....	28
1.2.7.3. Características Fisiológicas	29
1.2.7.4. Metabolismo y metabolitos secundarios.....	29
1.2.7.5. Aplicación en biorremediación de suelos contaminados	30
1.2.8. Género <i>Chaetomium</i>	31
1.2.8.1. Taxonomía y características generales	31
1.2.8.2. Morfología Macroscópica y microscópica.....	31
1.2.8.3. Características fisiológicas.....	32
1.2.8.4. Metabolitos secundarios.....	32
1.2.8.5. Aplicación en biorremediación de suelos contaminados	33
2. MATERIALES Y METODOLOGIA	34

2.1.	Área de Procedencia de la Muestra	34
2.2.	Área de Procesamiento	34
2.3.	Materiales	34
2.3.1.	Muestra	34
2.3.2.	Materiales de Campo	34
2.3.3.	Materiales de vidrio	35
2.3.4.	Reactivos y medios de cultivo.	35
2.3.5.	Materiales de Bioseguridad	36
2.3.6.	Otros	36
2.4.	Metodología.	37
2.4.1.	Tipo de Investigación	37
2.4.2.	Enfoque	37
2.4.3.	Métodos y Fundamentos	37
2.4.3.1.	Determinación de los puntos de muestreo	37
2.4.3.2.	Obtención de muestras de suelo de talleres mecánicos	38
2.4.3.3.	Aislamiento de Hongos de suelos contaminados por hidrocarburos	38
2.4.3.4.	Selección de las Cepas de Hongos con Mayor Crecimiento Radial y Tolerancia a Diferentes Concentraciones de Diésel B5	40
2.4.3.5.	Identificación de Cepas de Hongos hasta Género	41
2.4.3.6.	Determinación de la Eficiencia de Degradación de Diésel B5 en terrarios experimentales	42

2.4.3.6.1.	Pretratamiento del suelo	42
2.4.3.6.2.	Diseño experimental	43
2.4.3.6.3.	Preparación del inóculo	44
2.4.3.6.4.	Medición de los parámetros del terrario.	45
2.5.	Análisis Estadísticos	46
3.	RESULTADOS Y DISCUSION	47
3.1.	Aislamiento de Hongos a partir de Suelos Contaminados con Hidrocarburos	47
3.2.	Selección de las Cepas de Hongos con Mayor Crecimiento Radial y Tolerancia en Agar Suplementado a Diferentes Porcentajes de Diésel B5.	48
3.2.1.	<i>Análisis de crecimiento de las cepas fúngicas en presencia de diésel B5</i>	49
3.2.2.	<i>Análisis de Tolerancia de las cepas fúngicas en presencia de diésel B5</i>	52
3.3.	Identificación de las Cepas de Hongos hasta Género.....	56
3.4.	Determinación de la Eficiencia de Degradación de Diésel B5 por Hongos Seleccionados en Terrarios Experimentales	58
4.	DISCUSION	60
5.	CONCLUSIONES.....	66
	RECOMENDACIONES.....	67
	BIBLIOGRAFÍA.....	68
	ANEXOS.....	79

ANEXO 02	97
ANEXO 03	101
ANEXO 04	117

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Operacionalización de variables.....	IX
Tabla 2 Descripción de los tratamientos empleados para la evaluación de la degradación de diésel B5.....	44
Tabla 3 Prueba de esfericidad Mauchly.....	49
Tabla 4 Comparaciones Post Hoc (HSD de Tukey) del Crecimiento Promedio entre las Cepas de Hongos.....	51
Tabla 5 Comparaciones Post Hoc (HSD de Tukey) del Crecimiento Promedio en Función del Porcentaje de Diésel B5HSD Tukey ^{a,b}	52
Tabla 6 Prueba de esfericidad de Mauchly para el Efecto del Tiempo en la Tolerancia al Diésel B5	53
Tabla 7 Comparaciones Post Hoc (HSD de Tukey) de la Tolerancia Promedio al Diésel B5 entre las Cepas	54
Tabla 8 Comparaciones Post Hoc (HSD de Tukey) de la Tolerancia Promedio al Diésel B5 en Función del Porcentaje de Diésel.....	55
Tabla 9 Caracterización macroscópica de los géneros aislados	56
Tabla 10 Caracterización microscópica de las cepas de hongos.....	57
Tabla 11 Prueba post hoc Tukey b del porcentaje de degradación	58
Tabla 12 Procedencia y Crecimiento Radial de las Cepas Fúngicas en Diésel B5 al 2%.....	79
Tabla 13 Características Fisicoquímicas de las Muestras de Suelo de Talleres Mecánicos de San Sebastián - Cusco.....	80
Tabla 14 Crecimiento (cm) de Cepas Fúngicas Seleccionadas en Agar Suplementado con 5% de Diésel B5.....	81

Tabla 15 Crecimiento (cm) de Cepas Fúngicas Seleccionadas en Agar Suplementado con 10% de Diésel B5.....	83
Tabla 16 Crecimiento (cm) de Cepas Fúngicas Seleccionadas en Agar Suplementado con 15% de Diésel B5.....	84
Tabla 17 Crecimiento (cm) de Cepas Fúngicas Seleccionadas en Agar MMI con 0% de Diésel B5.....	85
Tabla 18 Resultados del Análisis de Efectos Intra-Sujetos para el Crecimiento a lo Largo del Tiempo en Función de las Cepas y el Porcentaje de Diésel B5.....	86
Tabla 19 Resultados del Análisis de Efectos Intersujetos para el Crecimiento en Función de las Cepas y el Porcentaje de Diésel B5.....	87
Tabla 20 Tolerancia de <i>Trichoderma</i> sp1 (Cepa C1) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.....	88
Tabla 21 Tolerancia de <i>Mortierella</i> sp1 (Cepa C4) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.....	88
Tabla 22 Tolerancia de <i>Fusarium</i> sp1 (Cepa C14) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.....	89
Tabla 23 Tolerancia de <i>Fusarium</i> sp2 (Cepa C19) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.....	90
Tabla 24 Tolerancia de <i>Trichoderma</i> sp2 (Cepa C23) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.....	90
Tabla 25 Tolerancia de <i>Fusarium</i> sp3 (Cepa C30) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.....	91
Tabla 26 Tolerancia de <i>Mortierella</i> sp2 (Cepa C19) a Diferentes Concentraciones de Diésel	

B5.....	91
Tabla 27 Resultados de las Pruebas de Efectos Intrassujetos para la Tolerancia al Diésel B5 a lo Largo del Tiempo en Función de las Cepas y el Porcentaje de Diésel.....	92
Tabla 28 Resultados del Análisis de Efectos Inter-Sujetos para la Tolerancia al Diésel B5 en Función de las Cepas y el Porcentaje de Diésel.....	93
Tabla 29 Prueba de Normalidad del Porcentaje de Degradación de Diésel B5	94
Tabla 30 Prueba de ANOVA para el Porcentaje de Degradación de Diésel B5 por Tratamiento.....	94
Tabla 31 pH promedio semanal de las cepas Durante el Ensayo de Degradación.....	95
Tabla 32 Humedad promedio semanal de las cepas Durante el Ensayo de Degradación.....	96
Tabla 33 Preparación de agar Medio Mínimo Mineral con diésel B5	124

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Esquema del procedimiento de diluciones seriadas para el aislamiento de microorganismos a partir de suelo contaminado con hidrocarburos.....	39
Figura 2 Aplicación de los tratamientos en las 15 unidades experimentales.....	43
Figura 3 Porcentaje de aislamientos de hongos de los talleres mecánicos 1 y 2 de San Sebastián.....	47
Figura 4 Distribución porcentual de cepas fúngicas aisladas según su crecimiento radial en medio MMI suplementado con 2% de diésel B5.....	48
Figura 5 Porcentajes de degradación de diésel B5 por tratamiento	59
Figura 6 Vista macroscópica y microscópica del género <i>Trichoderma</i> sp1.....	97
Figura 7 Vista macroscópica y microscópica del género <i>Mortierella</i> sp1	97
Figura 8 Vista macroscópica y microscópica del género <i>Fusarium</i> sp1	98
Figura 9 Vista macroscópica y microscópica del género <i>Fusarium</i> sp2	98
Figura 10 Vista macroscópica y microscópica del género <i>Trichoderma</i> sp2.....	99
Figura 11 Vista macroscópica y microscópica del género <i>Chaetomium</i>	99
Figura 12 Vista macroscópica y microscópica del género <i>Fusarium</i> sp3	100
Figura 13 Vista macroscópica y microscópica del género <i>Mortierella</i> sp2	100

RESUMEN

La investigación evaluó la eficiencia de degradación de diésel B5 por hongos de suelos contaminados con hidrocarburos, de dos talleres mecánicos del distrito de San Sebastián, provincia y departamento del Cusco, 2023. Para el aislamiento, se empleó el método de diluciones seriadas y siembra por incorporación en Medio Agar Extracto de Malta (AEM), e incubada 25°C por 5 días. Se seleccionaron cepas con mayor crecimiento radial y la tolerancia se realizó en agar con Medio Mineral Inorgánico (MMI) suplementado con diésel B5 en concentraciones crecientes (5%, 10% y 15%). Posteriormente, se identificaron a nivel de género, mediante el método de observación macroscópica y microscópica. Asimismo, se evaluó la capacidad degradativa de las cepas en terrarios experimentales, mediante la medición de hidrocarburos totales del petróleo (TPH) por cromatografía de gases (EPA 8015). Como conclusión, se logró aislar 39 cepas de hongos, de las cuales siete presentaron mayor crecimiento y tolerancia. Las cepas *Trichoderma sp1*, *Trichoderma sp2* y *Mortierella sp2* alcanzaron las medias máximas de crecimiento radial de 6.95 cm, 7.00 cm y 6.36 cm, respectivamente; y tolerancias promedio de 92%, 87.32% y 96.2%. Identificándose cuatro géneros de hongos: *Trichoderma*, *Fusarium*, *Mortierella* y *Chaetomium* capaces de tolerar y crecer en MMI con diésel B5. Finalmente, en los ensayos de degradación en terrarios, el consorcio conformado por tres cepas *Trichoderma sp1*, *Trichoderma sp2* y *Mortierella sp2* obtuvo la mayor eficiencia de degradación de (TPH) con un (39.40%), seguido de las cepas de *Trichoderma sp2* (36.20%), *Trichoderma sp1* (34.83%) y *Mortierella sp2* (33.50%).

Palabras clave: Contaminación del suelo, Diésel B5, Degradación de hidrocarburos, Cepas de hongos.

INTRODUCCIÓN

Los hidrocarburos son compuestos formados a partir de restos orgánicos que se han depositado y transformado a lo largo de millones de años. Se encuentran tanto en los fondos oceánicos como bajo la superficie terrestre y están constituidos por cadenas de carbono e hidrógeno, cuyas propiedades y densidades varían según su estructura. Este recurso es ampliamente demandado en los ámbitos industrial, comercial y doméstico. (Tamayo et al., 2015). Además, se caracterizan por tener diferentes pesos moleculares y estructura diversa, los cuales se clasifican en: Fracción ligera de C_5 a C_{10} (gas licuado de petróleo, gasolina), fracción media C_{11} a C_{28} (kerosene, turbosina, diésel, gasóleo) y fracción pesada C_{29} a C_{40} (lubricantes, parafinas, combustóleo pesado, asfaltos, etc), (Ministerio del Ambiente, 2017).

Para el año 2023 el consumo mundial diario de petróleo fue de 102 millones de barriles y se estimó 103 millones de barriles de petróleo diarios en el 2024, según la Agencia Internacional de Energía 2023. La producción de petróleo en el Perú ascendió a 38.6 mil barriles de petróleo por día (MBPD) en el 2024, frente a 37.6 mil barriles de petróleo por día en el 2023 (Sociedad Nacional de Minería Petróleo y Energía 2024).

Es así que, que en los procesos de extracción y comercialización de hidrocarburos, en ocasiones se generan derrames accidentales que representan serias amenazas para el ambiente como: la pérdida de biodiversidad y alteraciones físico-químicas del suelo; por ello son considerados como impactos ambientales negativos de difícil remediación o mitigación según (Ministerio de Energía y Minas 2012).

Existen diferentes técnicas de remediación tales como las físicas, químicas y biológicas; y en esta última se emplean organismos vivos (plantas, invertebrados, hongos, bacterias, levaduras

y otros) capaces de transformar los productos tóxicos en inocuos para de esta manera recuperar suelos contaminados (Benavides et al. 2006).

La degradación de hidrocarburos por hongos ocurre mediante un complejo enzimático conformado por peroxidasas, como la lignina peroxidasa, la fenoloxidasa, la lacasa y otras oxidasas, entre ellas la superóxido dismutasa y la glioxal oxidasa. La elevada capacidad oxidante de estas enzimas les confiere la capacidad de transformar una amplia variedad de compuestos orgánicos polinucleares y xenobióticos (Araujo et al., 2016). Como consecuencia, diversos hongos aislados de suelos contaminados con hidrocarburos han demostrado una alta capacidad de biodegradación. Tales como, la cepa *Trichoderma sp.* alcanzó un 87,5 % de remoción de petróleo crudo (Fernández, 2021). Asimismo, los géneros *Penicillium*, *Absidia* y *Mortierella* fueron capaces de degradar fracciones de aldehídos, alquinos y anhídridos (Solís, 2005). Del mismo modo, el género *Aspergillus sp.* HP-031, aislado de suelos contaminados con hidrocarburos, presentó una eficiencia del 73 % en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH), además de mostrar una baja toxicidad para el suelo (Contreras, 2017).

Por lo tanto, en la presente investigación se evaluó la capacidad de degradación de diésel B5 por hongos de suelos contaminados con hidrocarburos.

PROBLEMA

El diésel B5 es un combustible ampliamente utilizado en el transporte, la maquinaria pesada y diversas actividades industriales, cuyo vertimiento constituye una importante fuente de contaminación ambiental. Cuando este combustible es liberado al suelo, ocasiona alteraciones físicas, químicas y biológicas, como la pérdida de cobertura vegetal, la inhibición del intercambio catiónico, la alteración de los procesos biogeoquímicos, la contaminación de la napa freática, así como variaciones en el pH y la humedad del suelo. Además, la exposición a sus compuestos puede generar efectos mutagénicos, teratogénicos y carcinogénicos en los seres humanos (Mastrandea et al., 2005).

En el Perú se han registrado diversos accidentes asociados al derrame de diésel que evidencian el riesgo ambiental de este combustible. Uno de los casos más representativos ocurrió en el año 2009 en la Quebrada del Toro (Arequipa), donde el vuelco de un camión cisterna provocó el vertimiento de más de 9 000 galones de diésel D2, contaminando los suelos adyacentes a la carretera, dicho accidente estuvo asociado, aparentemente, al mal estado de la vía terrestre, demostrando cómo las fallas en la infraestructura de transporte pueden generar eventos de contaminación de gran magnitud Rodríguez (2009).

Además de los derrames accidentales durante el transporte, el vertimiento de diésel también ocurre durante las actividades de almacenamiento y mantenimiento vehicular. Según la Asociación Automotriz del Perú (2021), en el país operan aproximadamente 78 000 talleres mecánicos, sin considerar aquellos que funcionan de manera informal. Muchos de estos establecimientos carecen de sistemas adecuados para el manejo y disposición final de residuos de combustibles, favoreciendo el vertimiento de diésel al suelo, al sistema de alcantarillado y a los

cuerpos de agua. En la ciudad del Cusco, donde circulan aproximadamente 115 000 vehículos (Gerencia de Tránsito, Vialidad y Transporte – Cusco, 2016), el elevado consumo de diésel incrementa el riesgo de contaminación ambiental cuando este combustible no es gestionado adecuadamente.

Por ello se formula las siguientes preguntas:

Pregunta general:

¿Cuál es la capacidad de degradación de diésel B5 por cepas de hongos de suelos contaminados con hidrocarburos?

Preguntas específicas:

¿Cuántas cepas de hongos se aislaron de suelos contaminados con hidrocarburos?

¿Qué cepas de hongos tienen crecimiento radial y fueron tolerantes a diferentes porcentajes de diésel B5?

¿A qué géneros de hongos pertenecieron las cepas seleccionadas?

¿Cuál es la eficiencia de degradación del diésel B5 por las cepas de hongos seleccionados en terrarios experimentales?

JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo de investigación busca contribuir a solucionar problemas ambientales en sitios contaminados con hidrocarburos, mediante el uso de cepas de hongos autóctonas con alta eficiencia en la degradación de diésel B5. Estas cepas podrían aplicarse en diversas técnicas de biorremediación para la recuperación de suelos impactados, evitando la magnificación del contaminante, así como la polución de áreas aledañas y de otros recursos como el aire, el agua, la flora y la fauna. Además, estas técnicas presentan un bajo costo económico y un menor impacto ambiental en comparación con las técnicas físico-químicas convencionales

La degradación de compuestos tóxicos mediante el uso de cepas de hongos autóctonos es de gran importancia para mitigar problemas ambientales, además de constituir una alternativa frente a las problemáticas causadas en el subsector de los hidrocarburos durante los procesos de extracción y comercialización de derivados del petróleo crudo, así como para reducir los efectos de la inadecuada disposición de residuos petrolíferos por parte de talleres mecánicos en las ciudades.

Por tanto, es importante determinar qué cepas de hongos son eficientes en la degradación de hidrocarburos derivados del petróleo, con la finalidad de ser utilizados en la remoción de contaminantes presentes en suelos expuestos a concentraciones tóxicas de diésel B5 (Moreno et al. 2004).

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la capacidad degradación de diésel B5 por hongos de suelos contaminados con hidrocarburos.

Objetivos Específicos

1. Aislar hongos de suelos contaminados con hidrocarburos
2. Seleccionar cepas de hongos con mayor crecimiento radial y tolerancia en agar suplementado a diferentes porcentajes de diésel B5
3. Identificar hasta género las cepas de hongos seleccionadas.
4. Determinar la eficiencia de degradación de diésel B5 por las cepas de hongos seleccionadas en terrarios experimentales.

HIPÓTESIS

Las cepas de hongos aislados de suelos contaminados con hidrocarburos tienen efecto en la degradación de diésel B5.

VARIABLES

Variables Independientes:

- Efecto de las cepas de hongos.

Variable Dependiente:

- Porcentaje de degradación de diésel B5.
- Crecimiento radial
- Tolerancia de diésel B5

Tabla 1*Operacionalización de variables*

Criterios	Efecto de las cepas	Crecimiento radial	Tolerancia al diésel B5	Porcentaje de degradación de diésel B5
Tipo de variable	Independiente	Dependiente	Dependiente	Dependiente
Naturaleza	Cualitativa nominal	Cuantitativa continua	Cuantitativa continua	Cuantitativa continua
Nivel de medición	Nominal	razón	razón	razón
Indicador	Porcentaje de degradación	Diámetro del micelio en medio MMI con diferentes concentraciones de diésel	Porcentaje de crecimiento radial en diésel respecto al medio sin diésel	Diferencia de la concentración Inicial y final TPH (Total Petroleum Hydrocarbons)
Unidad de medida	porcentaje	Centímetros (cm)	Porcentaje (%)	mg/kg de hidrocarburos residuales
Instrumento	Cromatografía de gases	Vernier milimetrada	Cálculo derivado de mediciones de crecimiento radial	Cromatografía de gases (GC), método EPA 8015
Dimensión	Biológica	Fisiológica	Fisiológica	Química ambiental
Definición operacional	Efecto de las cepas en la degradación de diésel	Se mide el crecimiento radial en medio MMI con 0%, 5%, 10% y 15% de diésel.	Se calcula como: (Crec. en medio con diésel/Crec. En medio sin diésel) *100	Se mide la diferencia entre concentración inicial y final de TPH después de 90 días

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

Antecedentes Internacionales

Solis (2005) Aisló 240 cepas fúngicas a partir de suelos contaminados y no contaminados con hidrocarburos, muestreados a profundidades de 20 y 40 cm. Estas cepas fueron sembradas en medio mínimo mineral sólido y líquido suplementados con petróleo al 1% en el que evaluaron su crecimiento y peso micelial en 20 días a una temperatura de 23 °C. Finalmente logró identificar 15 géneros de hongos siendo la más abundante *Penicillium* (130 cepas), *Absidia* (32 cepas) y *Mortierella* (29 cepas). De estos, se seleccionaron 3 cepas del género *Penicillium* Dd225y *Mortierella* (Dd202 y Dd219). Estas cepas lograron degradar fracciones entre 2850 cm⁻¹ y 1800 cm⁻¹ pertenecientes a los alquinos, aldehídos y anhídridos y las frecuencias entre 1510-1 cm y 1000 cm⁻¹ que pertenecen a los grupos aromáticos, alquílicos y alcanos.

Reyes (2013) demostró que la bioestimulación mediante la adición de nutrientes y cáscara de plátano optimizó el desarrollo microbiano, logrando una eficiencia del 93 % en la degradación de diésel. Asimismo, se observó que los microorganismos nativos presentes en suelos contaminados constituyen una alternativa eficaz para reducir la concentración del contaminante, siempre que su actividad metabólica sea adecuadamente estimulada.

Lee et al. (2014) investigaron el desempeño biotecnológico de 150 cepas de hongos de pudrición blanca, evaluando su capacidad en la reacción del ácido gálico, la decoloración de tintes, la producción de enzimas ligninolíticas y la tolerancia a cuatro hidrocarburos poliaromáticos (HAP): fenantreno, antraceno, fluoranteno y pireno. De estas cepas, seis

presentaron una alta capacidad oxidativa frente al ácido gálico y fueron seleccionadas para pruebas de degradación, en las cuales lograron degradar tanto los cuatro HAP individuales como en mezclas. Por otro lado, las cepas seleccionadas mediante pruebas de tolerancia también degradaron HAP, aunque con porcentajes menores en comparación con las pruebas de ácido gálico. Esto sugiere que la prueba de reacción con ácido gálico puede ser utilizada como un criterio de selección para hongos con capacidad degradadora de HAP. Además, se demostró que *Peniophora incarnata* KUC8836 y *Phlebia brevispora* KUC9033 degradaron significativamente los cuatro hidrocarburos poliaromáticos, destacándose como posibles candidatas para la biorremediación de compuestos xenobióticos en el ambiente.

Maddela et al. (2015) aislaron hongos filamentosos a partir de suelos contaminados con petróleo en Ecuador, identificando cepas pertenecientes al género *Geomyces*. La eficiencia degradativa de estas cepas fue evaluada mediante un ensayo in vitro durante un periodo de treinta días, utilizando medio selectivo y microcosmos de suelo. Los resultados mostraron porcentajes de degradación del 77.3 % y 79.9 % para diésel, y del 43.4 % y 24.0 % para petróleo crudo, correspondientes a las cepas 1 y 2, respectivamente. Además, se evaluó un consorcio conformado por ambas cepas, que logró una degradación del 79.9 % del petróleo crudo en el mismo periodo. Estas cepas se consideran potenciales candidatas para la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos.

Simister et al. (2015), aislaron tres especies de hongos pertenecientes al género *Ascomycota* a partir de arena contaminada con petróleo, en medio de cuarzo aceitado a 20 °C, 30°C y 40 °C. El proceso de degradación de petróleo no estuvo relacionado con las especies de

hongos o la temperatura y todos fueron capaces de degradar compuestos derivados de petróleo, así también los de cadena corta alcanos C₁₈ en un porcentaje de 90-99%, cadena larga de alcanos C₁₉-C₃₆ con un porcentaje de 7 – 87%, pristano (89 a 98%), fitano (70 a 91%) e Hidrocarburos poliaromáticos en un porcentaje de (42–84%). Así también no encontraron diferencia significativa a ciertas temperaturas vs las especies, sin embargo podrían existir otros factores ambientales, como el porcentaje de nutrientes, siendo indispensable para el desarrollo de los hongos y puedan tener un impacto significativo en la degradación de aceite y en general la capacidad de prosperar y degradar el petróleo en diferentes entornos.

Garcia et al. (2017) Lograron aislar e identificar 9 cepas fungicas, siendo *Alternaria sp.*, *Aspergillus fumigatum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium sp*, *Phoma sp.* y *Rhizopus sp.* , estos fueron sometidos a ensayos de tolerancia siendo, *Aspergillus niger* el que obtuvo un mejor desarrollo en medio Sabouraud suplementado con aceite dielectrico usado al 20 % por un periodo de 72 horas a temperatura ambiente y 200 ppm de bifenilos policlorados (PCBs) en caldo extracto de malta durante 30 dias a 25 – 30 °C.

Vásquez et al. (2017) Lograron aislar a partir de suelos contaminados de la ex refinería 18 de marzo, cuatro cepas de hongos pertenecientes a los géneros de *Penicillium*, *Fusarium* y *Aspergillus*, estos presentaron capacidad hidrocarbonoclasta al demostrar su desarrollo en medio mineral suplementado con queroseno al 4%, así también obtuvieron un porcentaje de degradabilidad del 70.5 %; 50.83 %; 50.83 % y 73.5 % por parte de las cepas H1, H2, H4 y H9

respectivamente, perteneciendo estas dos últimas al género de *Aspergillus*, la evaluación se realizó por un periodo de 120 horas y una temperatura de 30 °C.

Chaparro (2019) aisló 19 cepas de hongos pertenecientes a los géneros *Rhodotorula* sp., *Phialophora* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Chaetomium* sp., *Botrytis* sp., *Aspergillus* sp. y *Acremonium* sp., a partir de fibras vegetales contaminadas por petróleo. Estas fibras presentaban un crecimiento visible de hongos. Las cepas fueron expuestas a concentraciones crecientes de petróleo (1 %, 2 %, 5 %, 10 % y 15 %) para evaluar su tolerancia. El género *Aspergillus* mostró el mejor desarrollo, con crecimiento sostenido incluso a la concentración del 15 % de petróleo.

García-Hernández et al. (2020) analizaron la capacidad de los hongos de podredumbre blanca para degradar contaminantes aromáticos mediante una revisión documental. Determinaron que su sistema enzimático exocelular (lacasas y peroxidasas) degrada eficientemente compuestos complejos como hidrocarburos y plaguicidas. Concluyeron que estos organismos son clave para la biorremediación ambiental.

Di Clemente (2021) Demostraron que, *Coriopsis rigida* LPSC 232 y *Grammothele subargentea* LPSC 436, tienen la capacidad para tolerar hidrocarburos poliaromáticos bajo ciertas condiciones, incluyendo los materiales complejos del Barro fondo de pileta, estos hongos bajo ciertas condiciones y en presencia de hidrocarburos específicos, alteran los procesos de síntesis de ácidos grasos y glucólisis así como la remoción y/o mineralización de compuestos tóxicos, así también indicaron que el tratamiento de bioaumentación con *C.rigida* LPSC 232 y *G.subargentea* LPSC 436 promueve la biodisponibilidad de nutrientes y contaminantes a la microbiota nativa a través del micelio fúngico.

Nurshafiqah, Nabila, Ahmad y Nur (2023) aislaron e identificaron cuatro cepas de hongos a partir de suelos contaminados con hidrocarburos: *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus westerdijkiae*, *Curvularia lunata* y *Chaetomium globosum*. Mediante ensayos con el indicador 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP), demostraron la capacidad de estas cepas para utilizar y degradar hidrocarburos en un periodo de 48 a 72 horas.

Antecedentes Nacionales.

Contreras (2017) aisló 221 cepas de hongos filamentosos en agar Bushnell Haas suplementado con petróleo al 1 %, identificando 15 géneros como: (*Cunninghamella*, 12,6%, *Aspergillus* 11,3 %, *Penicillium* y *Paecilomyces* 10,8 %, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Syncephalastrum*, *Periconia*, *Fusarium*, *Monila*, *Cladosporium* y *Bipolaris* 2,2%). Todos estos géneros a excepción de *Helminthosporium* demostraron ser hidrocarbonoclásticos ya que en los ensayos presentaron valores altos de biomasa que oscilan entre 1,78 a 1,95 gr. Los suelos tratados con *Aspergillus sp.* HP-031 tuvieron una eficiencia del 73% en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo a los 3 meses de iniciado el experimento.

Ugaz (2018) logró aislar 110 microorganismos, el 56.36% fueron bacterias en medio Tripticasa Soya TSA y el 43.63% fueron hongos en agar papa dextrosa PDA. 77 microorganismos demostraron capacidad hidrocarbonoclásticos, siendo el 62.33% bacterias y 37.66 hongos, además, son productores de surfactantes. El rendimiento de surfactante en función a la biomasa de *Pseudmona sp.* 6. Fue del 83 % lo que indica ser potencial para biorremediar ambientes dañados con petróleo.

Cerna (2018) demostró que los suelos tratados con *Penicillium janthinellum* a una concentración de 40%, 0% y 10% logró obtener una disminución de hidrocarburos totales de petróleo a razón de 25%, 23% y 19% respectivamente en un periodo de 35 días.

León, et al. (2020) lograron aislar *Aspergillus niger* a partir de suelos contaminados con petróleo. El diseño experimental consistió en el uso de suelo estéril franco-arenoso el cual fue contaminado con 180 mg de hexadecano (HxD)/g de suelo y las esporas de *Aspergillus niger* las cuales fueron inmovilizadas en alginato de calcio, este ensayo fue realizado a temperatura ambiente de 30 °C $\pm$ 2 °C por 12 días y las intensidades de corriente eléctrica usada fue de 5 mA, 10 mA y 15mA. Demostrando que la intensidad de corriente óptima para la disminución de hexadecano por esporas de *Aspergillus niger* inmovilizado en alginato de calcio es de 10 mA, siendo la electrobiodegradación hasta un 99,83 % de hexadecano.

Fernandez (2021) logró aislar e identificar *Trichoderma sp.* a partir de tiraderos de desechos de petróleo. Esta cepa fue sometida a diferentes concentraciones de petróleo al 2, 4, 6%, obteniendo un mayor crecimiento a la concentración del 4% de petróleo crudo. En el ensayo de biorremoción de petróleo crudo, *Trichoderma sp* removió hasta un 87.50 % de petróleo crudo al 4 % en un medio líquido. En el bioensayo con *Daphnia pulex* demostró que en una dosis letal media de 0,1%, mostrando que el crudo de petróleo es muy toxico incluso en concentraciones bajas.

1.2. Marco Conceptual

1.2.1. *Hidrocarburos.*

Los hidrocarburos son la fuente principal de energía para las actividades industriales, comerciales y domésticas. Están formados en su estructura por átomos de hidrogeno y carbono, además en mínimas proporciones de elementos como: oxígeno, trazas de metales, azufre y nitrógeno formando cadenas cortas, largas o cíclicas en su estructura, este recurso finito se ha formado a través de miles de años por los procesos de descomposición de restos orgánicos, encontrándose depositado bajo la superficie terrestre y fondos marinos, en las formas de crudo, gas o petróleo (Ministerio de Energía y Minas, 2015).

Los hidrocarburos se clasifican en aromáticos y alifáticos. Los alifáticos presentan cadenas de alcanos alquenos, alquinos y cicloalifáticos. También se presentan hidrocarburos no saturados (aromáticos). La insolubilidad de los alcanos en agua se debe a su baja polaridad (Chang & Overby, 2021). Así también se presentan hidrocarburos mono aromáticos que poseen un anillo bencénico, dialquilados, benceno, tolueno, etilbenceno y xileno (BTEx), los diaromáticos que presentan por lo menos dos anillos bencénicos y poliaromáticos formados por más de dos anillos bencénicos; también se encuentran hidrocarburos aromáticos que contienen anillos heterocíclicos con nitrógeno denominados carbazoles o azufre (tiofenos, dibenzotiofenos) (Viñas, 2005).

En la industria petrolera la actividad principal es el procesamiento o refinación de los hidrocarburos (petróleo crudo o LGN) para ser transformados en productos comerciales derivado como el gas licuado de petróleo GLP, gasolinas, combustible pesado, gasóleo diésel, etc. El

proceso de refinación consiste en separar mediante calor los diversos hidrocarburos posteriormente son mezclados con componentes para otorgarles especificaciones técnicas exigidas por el país para finalmente ser comercializados (Tamayo et al., 2015). Este proceso ocurre en las torres de destilación, donde los líquidos y los vapores son separados en fracciones de acuerdo al peso molecular y temperatura de ebullición. Dentro de las fracciones ligeras, se tienen a las gasolinas y gas licuado de petróleo, vaporizan y suben hasta la parte superior de la torre y finalmente condensan. Las fracciones medias, como el kerosene y el diésel, se quedan en la parte media, los líquidos pesados y gasóleos ligeros primarios, son separadas más abajo, mientras que los más pesados se quedan en el fondo (Zárate, 2014)

1.2.2. Diésel.

El diésel es un derivado del petróleo clasificado dentro de la fracción media, ya que está compuesto por hidrocarburos con cadenas de entre 10 y 22 átomos de carbono (C_{10} a C_{22}), presentando un punto de ebullición y un peso específico más altos que los de la gasolina. En su estructura contiene elementos como azufre (400 ppm), compuestos aromáticos (8% p/p) y compuestos saturados (33% m/m) (Viñas, 2005).

Según la U.S. Energy Information Administration, el diésel B5 se define como un combustible compuesto por destilados y aceite residual utilizado para la automoción. Debido a su impacto ambiental, desde el año 2010 y mediante la R.M. N° 139-2012-MEM/DM, se prohibió la comercialización de diésel B5 con concentraciones superiores a 50 ppm de azufre en regiones como El Callao, Lima, Cusco, Arequipa, Madre de Dios y Puno (Tamayo et al., 2015).

Asimismo, el azufre presente en el diésel se convierte en óxidos de azufre durante los procesos de combustión, los cuales al entrar en contacto con la humedad del aire se transforman en ácido sulfúrico. Sumado a la liberación de óxidos nitrosos debido al nitrógeno, estos gases son los principales causantes del fenómeno de la “lluvia ácida” (Zárate, 2014).

En el Perú, hasta marzo del 2024 el combustible diésel fue de mayor uso, alrededor de 60.96 % del total de combustibles empleados en las diversas actividades económicas (Osinerghmin 2024). El uso de este combustible es de gran importancia en el sector transporte, minero e industrial. Asimismo, cabe señalar que los motores que utilizan diésel tienen mayor eficiencia en comparación con los motores que usan gasolina como carburante, ya que aprovechan el 35% de la energía liberada por combustión, a diferencia de los motores a gasolina que no superan el 25% de aprovechamiento (Ron, 2012).

1.2.3. Contaminación Ambiental por Hidrocarburos.

Las refinerías de petróleo a nivel mundial extraen derivados que son producidos y transportados para ser usados en diferentes actividades: industriales, comerciales y domésticas. Inevitablemente durante el proceso de extracción y comercialización se generan derrames de petróleo que contaminan el suelo, afectando a la biodiversidad en el ambiente pese a los cuidados que se tienen. En el Perú no se cuenta con información estadística sobre los accidentes, extensión y ubicación exacta de las áreas impactadas (Buendía, 2012). Las afecciones que causa a nivel de suelo son: variabilidad en la estructura y bioprocesos que genera disminución de la biodiversidad debido a que el petróleo presenta compuestos tóxicos que afectan a animales, humanos y plantas. Así también, en las poblaciones de microorganismos que son parte esencial en los procesos

biogeoquímicos edáficos y en los humanos promueve enfermedades carcinogénicas y teratogénicas (Mastrandea et al., 2005).

Un suelo contaminado es aquel cuyas características biológicas, físicas y químicas han sido impactadas negativamente por la polución antropogénica, en concentraciones tales que representan riesgos para el ser humano y su entorno (Mastrandea et al., 2005). Los suelos contaminados con hidrocarburos y derivados no son aptos para el desarrollo agrícola o de urbanización, siendo así que, compromete también las napas freáticas imposibilitando el uso de este recurso para el consumo humano. Es por ello que es importante la recuperación y tratamiento de suelos contaminados. El principal efecto negativo que representa es que impide la aireación de los poros del suelo, lo que conlleva a la alteración de los procesos físico químicos, evaporación y filtración acuosa; todo esto dependiendo del tipo de hidrocarburo vertido, además de los factores ambientales como: humedad, temperatura, y textura del suelo; de lo cual dependerá el tiempo de recuperación y la toxicidad a largo plazo (Benavides et al 2006).

1.2.4. Degradación de Hidrocarburos por Hongos

Los hongos se caracterizan por carecer del pigmento de la clorofila, tallos, hojas y raíces, la pared celular está compuesta de glucanos y quitina, son saprofitos, heterotróficos y parásitos, forman micelios para conectar los nutrientes presentes en el suelo; también, son importante en el ciclo del N y C; además son descomponedores de materia orgánica y residuos de difícil degradación, según (Micología: Microbiología Ambiental, 2017)

La degradación de compuestos tóxicos por microorganismos es una alternativa biológica para la eliminación de los hidrocarburos poliaromáticos en ambientes terrestres y acuáticos, siendo el principal proceso de descontaminación natural (Viñas, 2005).

La eliminación de sustancias se realiza principalmente por procesos enzimáticos que forman parte de las rutas metabólicas de los microorganismos. Este proceso es rentable, ecológico y eficiente en comparación con tratamientos físico-químicos convencionales. Los hidrocarburos simples (C_1 - C_{15}), alcoholes, fenoles, ácidos, aminas, amidas, etc se biodegradan con mayor facilidad. A diferencia de los bifenilos policlorados (PCB), los colorantes, pesticidas y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) son sustancias recalcitrantes (Cota-Ruiz et al., 2018).

Las reacciones iniciales del metabolismo aeróbico de los Hidrocarburos poliaromáticos, es característico de los hongos la incorporación de un átomo de oxígeno mediante una monooxigenasa que contiene el citocromo P-450, y la transformación a trans-dihidrodióles. En este proceso de transformación se forman metabolitos más solubles, para su posterior eliminación (proceso de detoxificación). Los hongos lignolíticos pueden degradar Hidrocarburos poliaromáticos mediante las enzimas como la lignina (Viñas, 2005).

Los hongos, son capaces de mineralizar los hidrocarburos de petróleo para obtener compuestos más simples como agua y dióxido de carbono; es por ello que son útiles para tratamientos de descontaminación o remoción de contaminantes. “Estos organismos presentan: un complejo enzimático que participan en el proceso degradativo, como las peroxidasas dependiente de Manganese (MnP); lignina peroxidasa (LiP), una fenoloxidasa que contiene

principalmente cobre, lacasa y otras oxidasas como las superóxidodismutasa y la glioxal oxidasa. La alta capacidad oxidante de estas enzimas le confiere la capacidad de degradar variedad de compuestos orgánicos polinucleares y compuestos xenobióticos ; por ejemplo: pesticidas, hidrocarburos aromáticos (fenantreno, pireno y benzo-pireno), compuestos orgánicos clorados (cloroanilinas, bifenilospoliclorados , pentaclorofenoles,) azocolorantes, entre otros” (De Lorenzo, V. 1994, Minowa, T.S., Yokoyama, T., Okakura, 1995, Bezalel, L.Y., Hadar, C. E., Cerniglia 1996 citado por Araujo, et al 2016).

“Los hongos lignolíticos inicia su degradación con la acción del sistema hidrolítico el cual transforma macromoléculas por acción de las hidrolasas producidas, seguidamente el sistema oxidativo lignolítico, responsable de la degradación de varios contaminantes, entre ellos los Hidrocarburos poliaromáticos (HPA). La estructura irregular de la molécula de lignina hace posible la degradación de compuestos, debido a su producción de enzimas con baja especificidad de sustrato” (Rubilar O, Diez M, Gianfreda L 2008 y Sánchez C 2009, citado por Petit A. et al 2013).

Ciertos hongos son capaces de transformar materiales contaminantes como el petróleo en productos inocuos como son los géneros de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Acremonium*, *Botrytis*, *Chaetomium*, *Mucor*, *Mortierella*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Rhodotorula*, entre otros. Estos son de importancia para los procesos de recuperación de áreas degradadas o pasivos ambientales (Chaparro 2019).

1.2.5. Género *Trichoderma*

1.2.5.1. Taxonomía y características generales

En 1794, Persoon describió el género *Trichoderma* hasta el momento aún se profundiza en este aspecto, por otro lado el portal de Index Fungorum (2017) citado por Hernández, Arias, Rosique y Pacheco en el (2018) presenta la taxonomía del genero *Trichoderma* de la siguiente forma.

Reino: Fungi

División: Ascomycota.

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocraceae

Género: *Trichoderma*

El género *Trichoderma* agrupa hongos filamentosos que se encuentran comúnmente en suelos y materia orgánica en descomposición. Son conocidos por su rápido crecimiento y alta esporulación, que les permite colonizar y adaptarse a diversos ambientes. El rango de temperatura óptima de desarrollo se encuentra entre 25 y 30 °C. El rango de pH favorable para su crecimiento está entre 5.0 y 7.0, y una humedad relativa alta entre (40 - 90%) facilita su desarrollo (Cavalcante et al., 2025; Morán-Diez et al., 2020).

1.2.5.2. Morfología Macroscópica y microscópica

En condiciones de laboratorio, *Trichoderma* forma colonias de crecimiento en medios como PDA (Papa Dextrosa Agar), alcanza una longitud de entre 7.0 y 8.5 cm en 3 a 5 días. Las colonias tienen un color verde intenso o verde oscuro conforme avanza la esporulación (Thokala et al., 2021).

Microscópicamente, sus conidióforos son ramificados irregularmente, con algunas ramas dispuestas en verticilos. Las fialidas varían de forma: en algunas especies pueden ser ampuliformes (forma de botella), mientras que en otras son laginiformes o subuladas. Las conidias, que son los esporos asexuales, pueden ser subglobosas, obovoides o elipsoidales, con una superficie lisa, midiendo entre 2.5 y 3.0 μm de largo. Además, muchas especies producen clamidosporas de forma globosa, terminales o intercalares, de entre 4.0 y 8.0 μm de diámetro, lo que les permite resistir condiciones ambientales desfavorables (Thokala et al., 2021; Zhang et al., 2022).

1.2.5.3. Características fisiológicas.

Desde el punto de vista fisiológico, *Trichoderma* es un hongo aerobio facultativo que obtiene energía principalmente por respiración aeróbica. Además, emplea mecanismos como el micoparasitismo, la antibiosis y la competencia por nutrientes, lo que lo convierte en un agente efectivo para el control biológico y la biorremediación (Infante et al., 2009; Morán-Diez et al., 2020).

1.2.5.4. Metabolismo energético y biosíntesis de compuestos bioactivos

En este contexto, resulta fundamental comprender las rutas metabólicas que sustentan su desarrollo y capacidad adaptativa. El género *Trichoderma* presenta rutas metabólicas primarias bien organizadas, que comprenden procesos anabólicos y catabólicos fundamentales para su desarrollo y adaptación ecológica. Durante la fase de crecimiento activo, predominan las rutas anabólicas, responsables de la síntesis de metabolitos primarios como aminoácidos, ácidos nucleicos, lípidos y polisacáridos, indispensables para la construcción y mantenimiento de las estructuras celulares (Chen et al., 2018). Paralelamente, se activan rutas catabólicas, como la glucólisis, en la que la glucosa se convierte en piruvato y posteriormente en acetil-CoA, el cual ingresa al ciclo de Krebs. Este proceso genera NADH y FADH₂, que alimentan la cadena de transporte electrónico mitocondrial, permitiendo la síntesis eficiente de ATP mediante fosforilación oxidativa (Morán-Diez et al., 2020).

Además, este hongo exhibe una notable versatilidad en el uso de fuentes de carbono. Algunas cepas están adaptadas a la degradación de polisacáridos complejos como la celulosa, mientras que otras utilizan de forma más eficiente azúcares simples, en función de su ecología y el entorno en el que se desarrollan (Morán-Diez et al., 2020). Bajo condiciones de estrés o competencia, *Trichoderma* puede activar vías fermentativas y el metabolismo secundario, generando compuestos bioactivos derivados de rutas como la de los policétidos o terpenos. Entre estos metabolitos destacan las alamethicinas, el harzianolide, el harzianopyridone y el ácido koningic, los cuales poseen propiedades antifúngicas, antibacterianas y promotoras del crecimiento vegetal (Guzmán-Guzmán et al., 2025).

1.2.5.5. Aplicación en biorremediación de suelos contaminados

Diversas especies del género *Trichoderma* han mostrado capacidad para degradar hidrocarburos saturados y aromáticos, incluyendo hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) como fenantreno, pireno y benzo[a]pireno. Por ejemplo, cepas como *T. asperellum* H15 presentan tolerancia a compuestos de bajo y alto peso molecular, utilizando enzimas como lacasa, peroxidasa y catecol 1,2-dioxigenasa para romper estructuras aromáticas complejas (Zafra et al., 2015). Además, se ha reportado que *Trichoderma* contribuye a la biorremediación de suelos contaminados con petróleo mediante la producción de enzimas oxidativas extracelulares, como polifenoloxidasas y lignina peroxidasa, facilitando la degradación de contaminantes orgánicos (Argumedo-Delira et al., 2009).

1.2.6. Género *Mortierella*

1.2.6.1. Taxonomía y características generales

El género *Mortierella* agrupa hongos filamentosos, saprofitos descomponedores de materia orgánica. Tradicionalmente ha sido clasificado dentro del filo *Zygomycota*, sin embargo estudios filogenéticos recientes han reubicado al género dentro de un grupo más específico, cabe señalar que esta clasificación se basa en el análisis molecular multigénico (Hoffmann, Voigt, & Kirk, 2011; Voigt et al., 2013). Además, este género agrupa más de 85 especies descritas, aunque estudios moleculares sugieren que la diversidad podría ser mayor (Voigt et al., 2013).

Reino: Fungi

Phylum: Mortierellomycota

Subfilo: Mortierellomycotina

Orden: Mortierellales

Familia: Mortierellaceae

Género: *Mortierella*

1.2.6.2. Morfología Macroscópica y microscópica

En condiciones de laboratorio, *Mortierella* inicialmente forma colonias de crecimiento blancas, posteriormente se tornan grisáceas a amarillentas. Su textura es algodonosa o aterciopelada, con reverso blanco o amarillento. Crecen a temperaturas entre 20–28 °C y, por lo general (Mares Ponce de León et al., 2018).

Este género presenta hifas hialinas, mayormente sin septos en etapas jóvenes y con septación irregular en maduras. Los esporangióforos son erectos, simples y se estrechan hacia el ápice. Los esporangios terminales son globosos, multispórados y sin columela. Las esporangiosporas son hialinas y ovaladas. Algunas especies forman clamidósporas y ocasionalmente zigosporas (Mares-Ponce de León et al., 2018; Wagner et al., 2013; Watanabe, 2010)

1.2.6.3. Metabolismo

Muchas especies pertenecientes al género *Mortierella* destaca por su capacidad de producir ácidos grasos poliinsaturados, mediante la conversión de azúcares y fuentes de carbono

en lípidos, bajo diferentes condiciones de fermentación (Rayaroth et al., 2016). En la misma línea, se ha reportado que algunas especies de *Mortierella* acumulan ácidos araquidónico, gamma-linolénico, eicosapentaenoico y docosahexaenoico en el micelio (Dedyukhina et al., 2014), compuestos que están involucrados en la inducción de resistencia a fitopatógenos en plantas de importancia agrícola (Zlotek and Wojcik, 2014).

1.2.6.4. Aplicación en biorremediación de suelos contaminados

El género *Mortierella* es conocido principalmente por la producción de lípidos, sin embargo, tiene potencial en procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. En Nigeria, la cepa *Mortierella sp.* B1002F, aislada de suelos con residuos petroleros, utilizó el crudo como única fuente de carbono, creciendo en medio mineral mínimo a pH 5 y 28 °C, con máximo crecimiento a los 14 días cuando se añadió una fuente de nitrógeno orgánico (Okougbo, De, & Bello, 2015; 2016). Asimismo, *Mortierella* ha sido identificada como un componente activo dentro de las comunidades microbianas en suelos afectados por diésel y biodiésel, contribuyendo a las etapas iniciales de la descomposición de hidrocarburos, alcanzando tasas de mineralización mayores al 48 %. Aunque no es el género predominante en procesos de biorremediación, su capacidad de tolerar en ambientes contaminados y su metabolismo adaptable lo convierten en un candidato importante para investigaciones futuras (Mihășan et al., 2020).

1.2.7. Género *Fusarium*

1.2.7.1. Taxonomía y características generales.

En 1809, Link describió por primera vez a *Fusarium* bajo el nombre *Fusisporium*. Tiempo después, Wollenweber y Reinking refinaron la clasificación según sus características morfológicas

(Nelson et al., 1994). Actualmente se reconocen más de 300 especies, sin embargo, existe un número de especies, que no pueden ser distinguidas por sus caracteres morfológicos, por ello se están realizando identificación por métodos moleculares moleculares (O'Donnell, 1996). Según Hoong et al. (2000) y Leslie and Summerell (2006), la clasificación de *Fusarium* se ubica en:

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium*

1.2.7.2. Morfología Macroscópica y microscópica

Las especies del género *Fusarium* presentan colonias de textura algodonosa o lanosa, con una variedad de colores, que varían entre rosado, blanco, marrón, púrpura, amarillo o anaranjado, dependiendo de la cepa y las condiciones ambientales del cultivo (Amuzu et al., 2024).

Microscópicamente, el género *Fusarium* se caracteriza por la presencia de macroconidios hialinos, multicelulares con 3 a 5 septos, alargados y curvados de forma de medialuna. Además tienen células apicales puntiagudas y basales en forma de pie, lo cual es un rasgo distintivo del género. Además, muchas especies producen también microconidios unicelulares o con un solo septo, son más pequeños y pueden agruparse en falsas cadenas. Las clamidosporas poseen una

doble pared gruesa, lisa o rugosa; de manera aislada, en pareja o en grupo. Las hifas son hialinas, septadas y ramificadas (Jacquat et al., 2025).

1.2.7.3. Características Fisiológicas

Las especies del género de *Fusarium* tienen una fisiología adaptable. El rango de temperatura óptimo para su desarrollo está entre 25 a 30 °C. El pH óptimo tiende a ser neutro o ligeramente ácido. Las fuentes de carbono (glucosa, celulosa, almidón) y de nitrógeno (nitratos, aminoácidos) influyen en su tasa de crecimiento y en la producción de toxinas (Amuzu et al., 2024).

Además, se ha observado que factores epigenéticos regulan el comportamiento fisiológico del hongo. La eliminación del gen que codifica FvHP1 en *F. verticillioides* resultó en la disminución de la virulencia, menor producción de toxinas y un crecimiento alterado, lo que evidencia el papel de la regulación génica epigenética en la fisiología de este hongo (Jacquat et al. 2025).

1.2.7.4. Metabolismo y metabolitos secundarios

Las especies de *Fusarium* son ampliamente conocidas por su capacidad de producir metabolitos secundarios, incluyendo gran variedad de micotoxinas, muchas de las cuales tienen efectos adversos en animales, humanos y plantas. Entre ellas destacan las fumonisinas, tricotecenos, zearalenona, ácido fusárico, beauvericina, entre otras. Además estas sustancias cumplen funciones en la patogenicidad y la competencia ecológica (Amuzu et al., 2024).

Fueron reportados más de 270 metabolitos secundarios identificados en al menos 21 especies de *Fusarium*, entre los cuales se encontraron compuestos nitrogenados, poliquétidos, terpenoides, esteroides y compuestos fenólicos. Estos metabolitos presentan diversas actividades biológicas como antifúngica, antibacteriana, citotóxica, antiinflamatoria y fitotóxica (Amuzu et al., 2024).

En cuanto a la regulación del metabolismo secundario, se demostró que *Fusarium verticillioides* posee una proteína epigenética denominada FvHP1 (proteína de heterocromatina 1) que influye directamente en la biosíntesis de la fumonisina B1, un potente micotóxico, además de afectar el crecimiento micelial y la virulencia del hongo (Jacquat et al. 2025).

1.2.7.5. Aplicación en biorremediación de suelos contaminados

El género *Fusarium*, conocido por su diversidad metabólica y adaptabilidad ambiental, ha demostrado un potencial significativo en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos alifáticos y aromáticos. Su capacidad de producir biosurfactantes (compuestos que facilitan la solubilización y emulsificación de los hidrocarburos), aumentan su biodisponibilidad y degradación Jacquat et al. (2025).

Fusarium sp. F092 ha demostrado degradar hasta un 98 % de hidrocarburos alifáticos de cadena larga en condiciones de alta salinidad, lo que lo hace útil para ambientes costeros o marinos contaminados (Hidayat & Tachibana, 2012). Por otro lado, *Fusarium equiseti* ha sido identificado como un degradador eficiente de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), especialmente aquellos de bajo peso molecular, alcanzando reducciones superiores al 90 % en condiciones de laboratorio (Sharma et al., 2023), entre otros.

1.2.8. Género *Chaetomium*

1.2.8.1. Taxonomía y características generales.

Kunze en 1817 describió al género *Chaetomium* estableciéndose como un grupo de hongos ampliamente distribuidos. En la actualidad se han descrito más de 400 especies, sin embargo 273 especies se consideran aceptadas según el Index Fungorum Partnership (2019) (Wang et al., 2019) Según Ericksson, 2002) clasifica el género de *Chaetomium* en los siguiente.

Reino: Fungi

Filo: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Sordariales

Familia: Chaetomiaceae

Género: *Chaetomium*

1.2.8.2. Morfología Macroscópica y microscópica

Las colonias del género *Chaetomium* presentan un crecimiento rápido, aunque en medios Agar Extracto de Malta (MEA) pueden alcanzar cerca de 40 mm en 10 días. Su textura es algodonosa o lanosa, el color de la colonia varía entre pardo, oliva o gris, siendo capaz de producir exudados o pigmentos, generalmente carecen de olor (Von Arx et al., 1986).

Microscópicamente este género *Chaetomium* se caracteriza por la presencia de ascomas (peritecios) de color oscuro. Las formas de los ascomas son muy variadas, incluyendo estructuras globosas, subglobosas, piriformes, ovoides, obovoides, ampliamente elipsoidales o ampuliformes

(Von Arx et al., 1986 Los ascomas están cubiertos por pelos peridiales o setas distintivas (extensiones hifales especializadas) que varían en forma (rectos, curvados, ondulados, espiralados, ramificados, etc.), lo cual es una característica importante para la diferenciación de especies (Rodríguez, 2002). Las ascosporas son unicelulares, son incoloras cuando son jóvenes a marrón o gris oliváceo al madurar. Son translúcidas y presentan uno o dos poros germinativos.

Las ascosporas no presentan ornamentaciones y se liberan pasivamente en forma de masas negruzcas amorfas (Von Arx et al., 1986).

1.2.8.3. Características fisiológicas.

El género *Chaetomium* es reconocido como un hongo aerobio saprófito, con una gran capacidad de desarrollarse en ambientes ricos en celulosa y materiales orgánicos (Wang et al., 2019; Wang et al., 2016). Su estrategia fisiológica clave para la descomposición de estructuras complejas como la lignina, se basa en la secreción de un complejo enzimático oxidorreductor extracelular como lacasa, manganeso peroxidasa, xilenas y celulasas (Longoni et al., 2012; Larrondo & Calvo, 1987).

1.2.8.4. Metabolitos secundarios

El género de *Chaetomium* ha generado interés significativo como fuente de compuestos bioactivos multifacéticos, con más de 500 metabolitos secundarios aislados que exhiben una amplia gama de efectos bioactivos Dwibedi et al., (2023).

Las especies como *C. globosum*, *C. cupreum*, *C. elatum*, y *C. indicum* (Dwibedi et al., 2023), generan compuestos aislados pertenecientes a diversas clases

estructurales, siendo las principales las Chaetoglobosinas, las Epipolitiiodioxopiperazinas, (Dwibedi et al., 2023). Siendo de mayor relevancia las Chaetoglobosinas, que son micotoxinas reconocidas por la elevada toxicidad y la actividad citotóxica que presentan (Dwibedi et al., 2023). Se ha documentado más de 100 metabolitos secundarios específicos con propiedades bioactivas significativas, como actividades Antitumoral y Citotóxica (anticancerígena) (Wang et al., 2016; Dwibedi et al., 2023). actividad Antimalárica e Inhibitorias de Enzimas (Dwibedi et al., 2023). Además exhibe potencial en biocontrol, con actividades antifúngicas, antibacterianas, antioxidantes y antiinflamatorias (Wang et al., 2016).

1.2.8.5. Aplicación en biorremediación de suelos contaminados

Especies del género *Chaetomium* han sido aisladas de muestras de petróleo crudo adsorbido en fibras vegetales (Llerena & Mendoza, 2020), lo que confirma su presencia activa y tolerancia en ambientes contaminados. Además, *Chaetomium sp.* es un hongo con potencial para la biorremediación de ecosistemas afectados por derrames de petróleo (Barrios San Martín, 2011).

2. MATERIALES Y METODOLOGIA

2.1. Área de Procedencia de la Muestra

Las muestras de suelos contaminados con hidrocarburos para el aislamiento de hongos degradadores de diésel B5 fueron muestreados en dos talleres mecánicos del distrito de San Sebastián, provincia de Cusco, departamento de Cusco, en las coordenadas UTM 8501944 N; 184643 E, a una altitud de 3275 msnm y UTM 8501946 N; 184643 E y una altitud de 3272 msnm. Los talleres mecánicos tienen un tiempo de funcionamiento de 5 años a más.

La muestra de suelo para los tratamientos experimentales, se obtuvo de un área de cultivo en el distrito Maras, provincia de Urubamba, del departamento del Cusco, UTM 8523814 N, 808201 E, a una altitud de 3480 msnm.

2.2. Área de Procesamiento

EL trabajo de investigación se realizó en el laboratorio Ecología y Medio Ambiente C- - 302 de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

2.3. Materiales

2.3.1. Muestra

- 2 kg de muestras de suelo contaminado con hidrocarburos procedente de 2 talleres mecánicos, a 1 kg/ taller.
- 20 Kg de muestra de suelo procedente de área de cultivo de Maras.

2.3.2. Materiales de Campo.

- Bolsas plásticas de polietileno.

- GPS (Garmin 64 S).
- Materiales de Laboratorio
- Equipos
- Termómetro Digital de Suelo (Boeco).
- Termo-higrómetro (Boeco).
- Balanza Analítica de precisión (Explorer).
- pH-metro (Schott).
- Microscopio óptico electrónico (Leica).
- Horno Pasteur (Binder).
- Incubadora (Selecta).
- Autoclave (Austester).

2.3.3. *Materiales de vidrio*

- Placas Petri de 90 mm x 15 mm.
- Probetas volumétricas de 100 ml.
- Frascos de vidrio de 250 ml, 500 ml y 1000ml
- Pipetas 5ml, 10ml.
- Viales de 50ml.

2.3.4. *Reactivos y medios de cultivo.*

- Agar – Agar (Himedia).
- Agar Extracto de Malta (Himedia)
- Diésel B5.

- Cloruro de calcio.
- Cloruro de potasio.
- Fosfato diácido de potasio.
- Sulfato de amonio.
- Sulfato de magnesio heptahidratado.

2.3.5. *Materiales de bioseguridad*

- Guantes quirúrgicos.
- Mascarilla.
- Guardapolvo
- Gorra.

2.3.6. *Otros*

- Algodón.
- Asas y agujas de siembra.
- Detergente.
- Gradillas.
- Alcohol.
- Lejía.
- Mechero Bunsen.
- Papel Kraft
- Bandejas.

2.4. Metodología.

2.4.1. Tipo de Investigación

La investigación es de tipo experimental, se evaluó la eficiencia de degradación de diésel B5 por cepas de hongos aislados de suelos contaminados con hidrocarburos a nivel de laboratorio.

2.4.2. Enfoque

El trabajo a desarrollar es de carácter cuantitativo, cualitativo y transversal.

2.4.3. Métodos y Fundamentos

2.4.3.1. Determinación de los puntos de muestreo

Para la recolección de muestras de suelo se inició con la determinación de los puntos de muestreo. Se seleccionaron dos (02) talleres mecánicos ubicados en el distrito de San Sebastián, provincia del Cusco, debido a la actividad frecuente relacionada con el uso y derrame de hidrocarburos. La elección de los puntos de muestreo se realizó mediante un enfoque no probabilístico, priorizando zonas con evidencia visual de contaminación, como manchas oscuras, residuos oleosos visibles y áreas de trabajo donde se realizan mantenimientos o reparaciones de motores MINAM (2014).

Cada punto fue georreferenciado utilizando un dispositivo GPS Garmin, registrándose las siguientes coordenadas: Taller 1 – Punto A: UTM 8501944 N; 184643 E, a una altitud de 3275 msnm. Y Taller 2 – Punto B: UTM 8501946 N; 184643 E, a una altitud de 3272 msnm.

2.4.3.2. Obtención de muestras de suelo de talleres mecánicos

Una vez establecidos los puntos de muestreo, se procedió a la recolección de las muestras de suelo contaminado con hidrocarburos provenientes de talleres mecánicos. Antes de la extracción, se retiraron los residuos superficiales presentes en el área, tales como hojarasca, papeles, plásticos, palos y otros materiales.

Posteriormente, en cada punto de muestreo se extrajeron aproximadamente 1000 g de suelo a una profundidad de 15 cm, utilizando una paleta estéril para evitar contaminaciones durante el procedimiento. Las muestras recolectadas fueron almacenadas en bolsas de polipropileno de primer uso, debidamente etiquetadas, siguiendo los lineamientos establecidos por el MINAM (2014). Luego, las muestras fueron trasladadas al laboratorio de la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco en un cooler acondicionado con gelpack, manteniéndose a una temperatura de 4 °C (EPA, 1996). Una vez en el laboratorio, se realizó el proceso de homogenización mediante el método de cuarteo en cruz, con la finalidad de obtener una submuestra representativa del material recolectado (INIA, 2009). Finalmente, a partir de esta submuestra se separaron las fracciones necesarias para los procedimientos posteriores.

2.4.3.3. Aislamiento de Hongos de suelos contaminados con hidrocarburos.

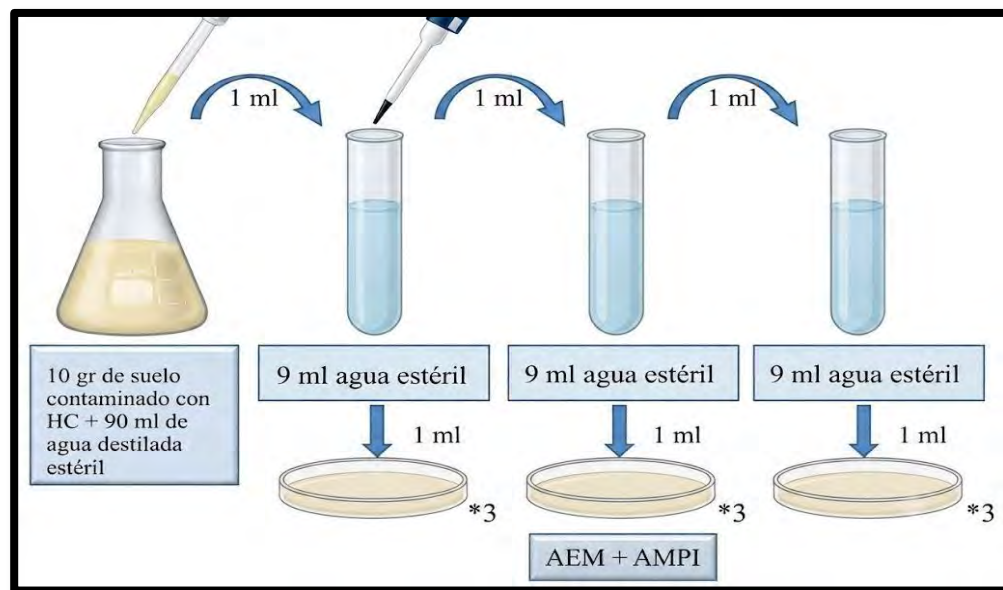
El aislamiento se llevó a cabo mediante el método de diluciones sucesivas o seriadas.

Para ello se tomaron 10 g de muestra de suelo, se colocaron en un frasco de 250 ml que contenía 90 ml de agua destilada estéril. Seguidamente se agitó en un vortex por 5 minutos para obtener una mezcla homogénea y se realizaron diluciones seriadas hasta obtener la dilución 10^{-3} .

Con ayuda de una pipeta estéril se extrajo 1 ml de muestra de cada dilución, que se depositó en un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril y así sucesivamente hasta llegar a la dilución 10^{-3} . A partir de cada dilución, se sembró 1 ml de muestra por triplicado en Placas Petri con Agar Extracto de Malta (AEM) (HIMEDIA) adicionando ampicilina como antibiótico para inhibir el crecimiento bacteriano. La mezcla se homogenizó manualmente hasta la solidificación del agar. Finalmente, las placas se incubaron a 25 °C por 3 a 5 días, hasta detectar la formación de colonias fúngicas, adaptado de (Solís, 2005 y Fernandez, 2021).

Figura 1

Esquema del procedimiento de diluciones seriadas para el aislamiento de microorganismos a partir de suelo contaminado con hidrocarburos.



2.4.3.4. Selección de las Cepas de Hongos con Mayor Crecimiento Radial y

Tolerancia a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.

Previo a la selección, las cepas aisladas y puras se sembraron en medio mineral inorgánico (MMI) suplementado con diésel B5 al 2 % y se incubaron a 25 °C durante 14 días. Las cepas que se desarrollaron en este medio selectivo, considerándolas potencialmente degradadoras de diésel B5 y fueron sometidas posteriormente a concentraciones más altas de diésel B5, para seleccionar a las cepas y evaluar el porcentaje de degradación de diésel B5 en suelos (Baldrian & Gabriel, 1997, como se citó en Solís, 2005).

- Para evaluar el crecimiento, se cuantificó la extensión radial (cm) de las colonias de las cepas tolerantes a diésel B5 al 5%, 10% y 15%. Para ello, se inocularon fragmentos de micelio de 5 mm de diámetro de cada cultivo fresco en placas con medio agar mineral inorgánico suplementado con diésel B5 y el control (MMI sin diésel B5) por triplicado e incubados a una temperatura de 25°C. El diámetro del crecimiento de cada cepa de hongo se midió cada 24 horas durante 5 días. (Baldrian & Gabriel, 1997, como se citó en Solís, 2005; Fernández, 2021).
- Para evaluar la tolerancia de las cepas al diésel B5, se empleó un enfoque escalonado, iniciando con MMI suplementado al 5% de diésel B5. Las cepas que mostraron un crecimiento superior a 3 cm fueron transferidas secuencialmente a medios MMI con concentraciones crecientes de 10% y 15% de diésel B5. En cada etapa de suplementación, se inocularon fragmentos de micelio de 5 mm de diámetro provenientes de cultivos frescos en placas de agar MMI suplementadas

con diésel B5 y ampicilina, con el fin de inhibir el crecimiento bacteriano. Paralelamente, cada cepa se sembró por triplicado en placas de MMI sin diésel B5, utilizadas como control. Todas las placas fueron incubadas a 25 °C durante 5 días, y el crecimiento de las colonias se registró periódicamente (Fernández, 2021). La tolerancia se determinó comparando los diámetros promedio de las colonias en presencia y ausencia del hidrocarburo, según la ecuación sugerida por Lee et al., 2014. Además, este proceso permite evaluar la capacidad adaptativa de las cepas a concentraciones crecientes del contaminante, lo cual es importante para su potencial uso en biorremediación (Lee et al., 2014).

$$Tolerancia = \left[\frac{\text{diámetro del crecimiento fúngico}}{\text{Diámetro de crecimiento control}} \right] \times 100\%$$

2.4.3.5. Identificación de Cepas de Hongos hasta Género.

Las cepas de hongos que resultaron tolerantes al 10% de hidrocarburos tras las pruebas de selección se caracterizaron mediante análisis macroscópicos y microscópicos. El análisis macroscópico comprendió la evaluación de las características de crecimiento de la colonia en medio de cultivo. Para ello, las cepas se cultivaron en agar extracto de malta a 25 °C durante 5 días, determinándose el color, la textura y la forma de la colonia. El análisis microscópico se centró en la morfología y color de las células, el tipo de hifas, la presencia o ausencia de septos, esporas y estructuras de fructificación (conidióforo o esporangio), siguiendo el manual de identificación de Watanabe (Watanabe, 2010).

2.4.3.6. Determinación de la Eficiencia de Degradación de Diésel B5 en terrarios experimentales.

2.4.3.6.1. Pretratamiento del suelo

Para los tratamientos experimentales se empleó suelo de labranza de textura franca (16.6% arcilla, 33.3% limo, 50% arena) y pH 7.7, favorable para microorganismos (Informe 07, Anexo 2). Dicho suelo se obtuvo mediante un muestreo aleatorio en un terreno de labranza de 100 m², a una profundidad de 30 cm (MINAM, 2014). Se recolectaron 20 kg de suelo para los tratamientos experimentales. Es importante mencionar que el terreno de origen no presentaba antecedentes de contaminación con hidrocarburos. Posteriormente, se eliminaron elementos como piedras, restos vegetales y ramas. El suelo se secó y desagregó hasta obtener partículas de aproximadamente 2 – 3.00 mm de diámetro. Este proceso favoreció un ambiente aeróbico y aseguró una distribución homogénea del diésel B5, minimizando la formación de agregados en los tratamientos (Gómez et al., 2009). El suelo utilizado se esterilizó en autoclave a 121 °C y 1.5 kg/cm² de presión durante 4 horas (Gómez et al., 2009). La esterilidad se verificó añadiendo 5 g de suelo suspendidos en una solución salina estéril al 0.85 %, sembrando la suspensión en agar nutritivo y observando la presencia o ausencia de crecimiento del hongo a las 24 horas (Escalante, 2002).

Posteriormente el suelo usado para los tratamientos, se contaminó con diésel B5 al 20% del peso seco (Hernández et al., 2014), el pH inicial del suelo contaminado fue de 8.072.

2.4.3.6.2. Diseño experimental.

Para evaluar la degradación de diésel B5 por cepas fúngicas aisladas, se empleó un diseño completamente aleatorizado (DCA) de un solo factor. Este diseño, permitió evaluar el efecto del factor cepas sobre la eficiencia de degradación de diésel B5 al comparar la capacidad degradadora de cepas individuales frente a un consorcio y un control abiótico.

El factor cepas se evaluó en cinco tratamientos (tres cepas individuales, un consorcio y un control abiótico). Los tratamientos se establecieron por triplicado, resultando en un total de 15 unidades experimentales (5×3). La unidad experimental consistió en recipientes (26 cm x 16 cm x 8 cm) conteniendo 1 kg de suelo estéril, contaminado con diésel B5 al 20% p/p (174 ml). Se prepararon quince unidades experimentales, asignándose los tratamientos mediante el método de números aleatorizados. Se detalla el contenido de cada tratamiento en la (figura 2).

Figura 2

Aplicación de los tratamientos en las 15 unidades experimentales.

T4	T3	T2	T5	T4
T5	T3	T1	T4	T2
T1	T1	T2	T3	T5

Tabla 2

Descripción de los tratamientos empleados para la evaluación de la degradación de diésel B5.

Tratamiento	contenido
Control (Ri)	1000 g de Suelo + Diésel B5 174ml + Agua 240 ml
Tratamientos 1	1000 g de suelo + Diésel B5 174 ml + <i>Trichoderma sp1</i> 250 ml + Agua 240 ml
Tratamiento 2	1000 g de suelo + Diésel B5 174 ml + <i>Trichoderma sp2</i> 250 ml + Agua 240 ml
Tratamiento 3	1000 g de suelo + Diésel B5 174 ml + <i>Mortirella sp2</i> 250 ml + Agua 240 ml
Consorcio (C)	1000 g de suelo + Diésel B5 (20%) + <i>Trichoderma sp1</i> , <i>Trichoderma sp2</i> y <i>Mortirella sp2</i> , fúngico 250 ml + Agua 240 ml

Las unidades experimentales se incubaron por 90 días bajo condiciones ambientales controladas de temperatura ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) y humedad relativa (55 %) (Hernández et al., 2014).

2.4.3.6.3. Preparación del inóculo:

El inóculo se obtuvo de un cultivo de 7 días de crecimiento en placas de Petri con Agar Extracto de Malta, incubados a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, posteriormente se le agregó 10 mL de solución salina estéril (NaCl 0,85% p/v) a la superficie de cada placa para la resuspensión de las esporas. El líquido conteniendo las esporas se transfirió a un matraz Erlenmeyer de 250 mL con 50 mL de agua destilada estéril y 1% de Tween 20 agente tensioactivo utilizado para facilitar la suspensión de las esporas. La suspensión se homogenizó y se procedió al recuento de esporas en la cámara Neubauer. Se realizó diluciones hasta obtener una concentración de 10^8 esporas por mL. (Corrales et al., 2012).

2.4.3.6.4. Medida de los parámetros del terrario.

- **Medida de la humedad**

La humedad fue medida por el método gravimétrico que consiste en pesar 10 gr de muestra y colocarlos al horno a 105°C por 24 horas, posteriormente se pesa la muestra seca para hacer los cálculos (Fernandez et al., 2006). La medición de este parámetro se realizó cada 7 días procurando mantener una humedad de 55 % +- 2% por cada terrario experimental (Buendía, 2012).

- **Medida del pH.**

Para la determinación del pH se utilizó el método del potenciómetro con una relación de 1:10 (Wiliard et al., 1974; Bates, 1983). Para ello se procedió a pesar 3 gr de muestra de suelo que fue diluido en 30 ml de agua destilada, se agitó la solución por varios minutos y se dejó reposar por 5 minutos, seguidamente se coloca los electrodos del potenciómetro para realizar las lecturas (Fernandez et al., 2006), este procedimiento se realizó cada 7 días (Buendía, 2012).

- **Medida de Hidrocarburos Totales de Petróleo**

La concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH) en los tratamientos se midió al inicio y a los 90 días mediante el método EPA 8015 C, Rev 3 (Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007) en el laboratorio de Servicios Analíticos Generales S.A.C. Las muestras (250 g) se obtuvieron por el método del cuarteo de los terrarios, posteriormente fueron depositados en frascos estériles oscuros debidamente etiquetados y se enviaron en un cooler para su análisis.

Obtenidos los resultados, se determinará la Eficiencia de degradación del hidrocarburo según (Llanos, 2012) de diésel B5 mediante la siguiente fórmula:

$$E = \left[\frac{Si - Sf}{Si} \right] \times 100$$

Dónde:

E: Eficiencia de degradación de hidrocarburo (%)

Si: Concentración inicial de hidrocarburos totales de petróleo TPH

Sf: Concentración final de hidrocarburos totales de petróleo TPH

2.5. Análisis Estadísticos:

La normalidad de los datos se verificó mediante la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. Posteriormente, se evaluó la significancia de las diferencias entre los tratamientos utilizando la prueba de ANOVA, dado que esta es apropiada cuando se cumple el supuesto de normalidad. Para identificar qué tratamientos presentaban diferencias significativas entre sí, se realizaron pruebas Tukey. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software SPSS versión 27 y PAST 4.0.

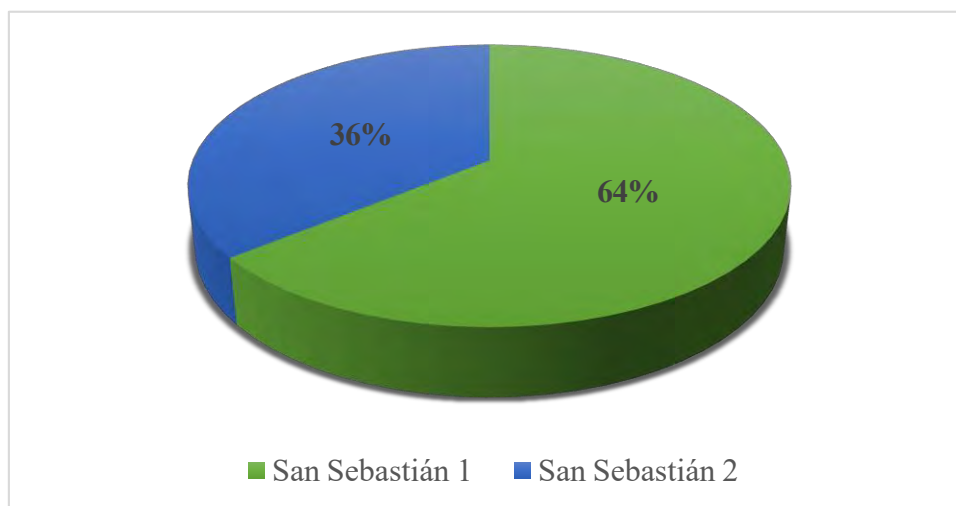
3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Aislamiento de Hongos a partir de Suelos Contaminados con Hidrocarburos.

Se aislaron 39 cepas de hongos de suelos contaminados con hidrocarburos que fueron recolectados en dos talleres mecánicos en San Sebastián, Cusco, con 10 y 12 años de funcionamiento respectivamente. La distribución de las cepas aisladas por cada taller se detalla en la (Tabla 12, ver anexo). La figura 3 presenta la distribución porcentual de las cepas de hongos, donde: el 64.1% (25 cepas) se obtuvieron del segundo taller y el 35.9% (14 cepas) del primero.

Figura 3

Porcentaje de aislamientos de hongos de los talleres mecánicos 1 y 2 de San Sebastián.



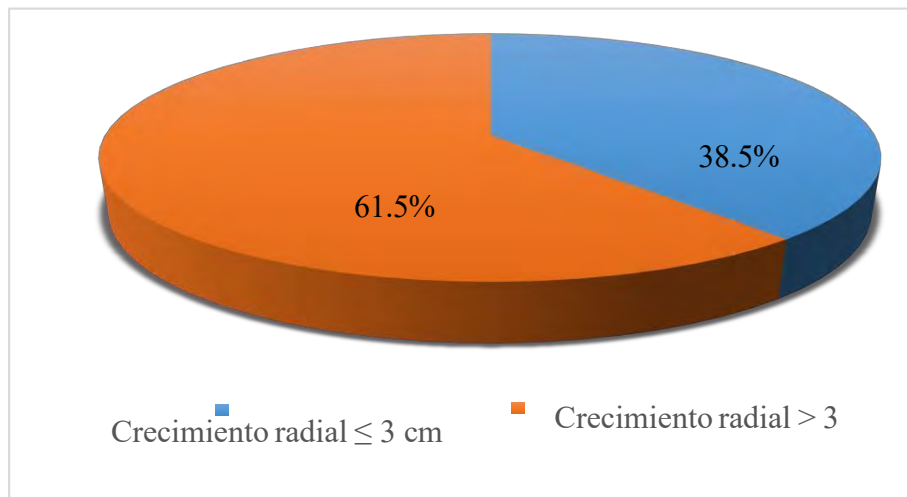
Las características organolépticas que presentan estos suelos son: color negro grisáceo y con olor a hidrocarburos. Adicionalmente se observaron el vertimiento de residuos de diversos derivados de hidrocarburos como aceite de carro, gasolinas y petróleo. Las características físico y químicas de estos suelos se presentan en la (Tabla 13, Anexo), revelando un pH de 7.9 y 8.1.

3.2. Selección de las Cepas de Hongos con Mayor Crecimiento Radial y Tolerancia en Agar Suplementado a Diferentes Porcentajes de Diésel B5.

La figura 4 muestra que, a partir de las 39 cepas de hongos aislados, el 61.5% de cepas (24 cepas), presentaron un crecimiento radial mayor a 3 cm, mientras que el 38.5% (15 cepas) mostraron un crecimiento radial igual e inferior a 3 cm en Medio Mínimo Mineral Inorgánico (MMI) al 2% de diésel B5.

Figura 4

Distribución porcentual de cepas fúngicas aisladas según su crecimiento radial en medio MMI suplementado con 2% de diésel B5..



Las cepas que presentaron un crecimiento superior a 3 cm (24 cepas), se sometieron a siembras en MMI con 0%, 5%, 10% y 15% de diésel B5 (Tabla 14, 15, 16 y 17, ver anexo). De este grupo, 9 cepas mostraron un crecimiento radial mayor a 3 cm en MMI al 5% de diésel B5; y de estas, 8 cepas mantuvieron un crecimiento similar en MMI al 10% de diésel B5; y finalmente,

7 de estas últimas cepas presentaron un crecimiento radial superior a 3 cm en MMI al 15% de diésel B5.

3.2.1. *Análisis de crecimiento de las cepas fúngicas en presencia de diésel B5.*

Para evaluar el efecto del tiempo (días), las cepas y el porcentaje de diésel sobre el crecimiento, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) con medidas repetidas. La variable dependiente fue el crecimiento, medido de forma longitudinal durante cinco días. Las cepas y los niveles de diésel constituyeron los factores intersujetos.

La prueba de esfericidad de Mauchly observada en la Tabla 3, resultó significativa, con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.001$), indicando el incumplimiento del supuesto de esfericidad para el efecto intra-sujetos (días). En consecuencia, para la interpretación de los efectos relacionados con el tiempo, se aplicaron las correcciones de Greenhouse-Geisser ($\epsilon=0.789$) y Huynh-Feldt.

Tabla 3

Prueba de esfericidad Mauchly

Medida: CRECIMIENTO							
Efecto intra-sujetos	W de Mauchly	Aprox. Chi-cuadrado	gl	Sig.	Épsilon ^b		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Límite inferior
DIAS	0,518	35,783	9	0,000	,789	1,000	0,250

El análisis de varianza con medidas repetidas con la prueba de efectos intrasujetos (Tabla 18, ver anexo) reveló un efecto significativo del tiempo sobre el crecimiento [$F(3.157) = 12547.754$; $p < 0.001$; $\eta^2 = 0.996$], indicando que el crecimiento varió

significativamente a *parcial* lo largo de los días. Además, se halló una interacción significativa entre días y cepas [$F(18.944) = 565.310$; $p < 0.001$; $\eta^2 = 0.984$], así como entre días y el porcentaje de diésel [$F(9.472) = 55.448$; $p < 0.001$; $\eta^2 = 0.748$], y una interacción triple significativa entre tiempo x cepas y Porcentaje de diésel B5 [$F(56.832) = 35.695$; $p < 0.001$; $\eta^2 = 0.920$]. Las comparaciones por pares mostraron un incremento significativo del crecimiento en cada día ($p < 0.001$) lo que evidencia un incremento sostenido y significativo del crecimiento en cada uno de los días evaluados.

En cuanto a los efectos intersujetos (Tabla 19, ver anexo), se encontraron diferencias significativas entre las cepas [$F(6) = 2686.335$; $p < 0.001$; $\eta^2_{\text{parcial}} = 0.997$], indicando que el tipo de cepa influye significativamente en el nivel de crecimiento. De igual modo, el porcentaje de diésel presentó un efecto significativo [$F(3) = 145.720$; $p < 0.001$; $\eta^2_{\text{parcial}} = 0.886$], lo que sugiere que distintos niveles de diésel afectan de manera *parcial* diferenciada el crecimiento radial de las cepas.

La interacción entre cepas y porcentaje de diésel también fue significativa [$F(18) = 54.415$; $p < 0.001$; $\eta^2 = 0.946$], revelando que el efecto del diésel sobre el crecimiento *parcial* depende de la cepa utilizada.

El análisis post hoc mediante el test HSD de Tukey presentada en la Tabla 4, identificó cuatro subconjuntos homogéneos de cepas. Las cepas C19, C14 y C30 presentaron los menores valores de crecimiento promedio, mientras que las cepas C1 y C23 alcanzaron los valores más altos (7.005 cm y 6.950 cm, respectivamente), siendo estadísticamente superiores al resto ($p < 0.05$).

Tabla 4

Comparaciones Post Hoc (HSD de Tukey) del Crecimiento Promedio entre las Cepas de Hongos

HSD Tukey^{a,b}

cepas	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
C19	12	2,20667			
C14	12	2,21667			
C30	12	2,32167			
C4	12		5,47833		
C35	12			6,36500	
C1	12				6,95000
C23	12				7,00500
Sig.		,533	1,000	1,000	,975

Respecto al porcentaje de diésel, presentado en la Tabla 5, también se identificaron cuatro subconjuntos homogéneos. El mayor crecimiento se observó en la condición sin diésel (0%), con un promedio de 5.10095 cm, mientras que el menor crecimiento ocurrió con 15% de diésel (4.13714 cm), evidenciando un patrón inversamente proporcional entre concentración de diésel y crecimiento.

Tabla 5

Comparaciones Post Hoc (HSD de Tukey) del Crecimiento Promedio en Función del porcentaje de Diésel B5

HSD Tukey ^{a,b}		Subconjunto			
diesel	N	1	2	3	4
15%	21	4,13714			
5%	21		4,56857		
10%	21			4,78952	
0%	21				5,10095
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

3.2.2. Análisis de Tolerancia de las cepas fúngicas en presencia de diésel B5

La tolerancia fue evaluada mediante la fórmula de Índice de tolerancia que se presentan en las (tablas 20 al 26, ver anexo). Se evaluó la tolerancia de las cepas al diésel B5 a lo largo de cinco días mediante un análisis de varianza con medidas repetidas. La variable fue registrada en cinco días y se consideraron como factores intersujetos las cepas (siete niveles) y los porcentajes de diésel (cuatro niveles).

La prueba de esfericidad de Mauchly ($p < 0.001$) resultó significativa, lo cual indica que no se cumplió este supuesto, presentado en la Tabla 6. Por tanto, se aplicaron las correcciones de Greenhouse-Geisser ($\varepsilon = 0.589$) y Huynh-Feldt para ajustar los grados de libertad en los análisis posteriores.

Tabla 6*Prueba de esfericidad de Mauchly para el Efecto del Tiempo en la Tolerancia al Diésel B5*

Medida: TOLERANCIA							
Efecto intra- sujetos	W de Mauchly	Aprox. Chi- cuadrado	gl	Sig.	Épsilon ^b		
					Greenhouse- Geisser	Huynh- Feldt	Límite inferior
DIAS	,261	73,198	9	,000	,589	,913	,250

El análisis de efectos intrasujetos (Tabla 27, ver anexo) reveló un efecto significativo del tiempo sobre la tolerancia [$F(2.36) = 368.99$, $p < 0.001$], así como interacciones significativas entre el tiempo y las cepas [$F(14.14) = 12.01$, $p < 0.001$], entre el tiempo y el porcentaje de diésel [$F(7.07) = 51.57$, $p < 0.001$], y una interacción triple entre tiempo, cepas y porcentaje de diésel [$F(42.41) = 6.80$, $p < 0.001$]. Estos resultados indican que la tolerancia varió significativamente a lo largo del tiempo, y esta variación dependió tanto de la cepa como de la concentración de diésel.

Respecto a los efectos intersujetos (Tabla 28, ver anexo), se encontró que las cepas generaron diferencias significativas en los niveles de tolerancia [$F(6) = 15.587$; $p < 0.001$; $\eta^2 = 0.625$], indicando que no todas las cepas presentan el mismo nivel promedio de tolerancia. Asimismo, los porcentajes de diésel presentaron un efecto altamente significativo [$F(3) = 85.443$; $p < 0.001$; $\eta^2 = 0.824$], con una clara tendencia: a mayor concentración de diésel, menor tolerancia observada. Además, se encontró una interacción

significativa entre cepas y porcentaje de diésel [$F(18) = 9.430$; $p < 0.001$; $\eta^2 = 0.752$], lo cual sugiere que la respuesta de tolerancia frente al diésel depende del tipo de cepa empleada.

El análisis post hoc mediante el test de Tukey (Tabla 7) identificó varios subconjuntos homogéneos de cepas. La cepa C4 presentó el menor nivel de tolerancia promedio (0.796), mientras que la cepa C35 presentó el valor más alto (0.962). La cepa C1 también se ubicó en el grupo de mayor tolerancia, aunque estadísticamente se distingue de C35. Estas diferencias fueron significativas según el agrupamiento formado ($p < 0.05$).

Tabla 7

Comparaciones Post Hoc (HSD de Tukey) de la Tolerancia Promedio al Diésel B5 entre las Cepas

HSD Tukey^{a,b}

cepas	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
C4	12	,79600			
C19	12		,85983		
C30	12		,86350	,86350	
C23	12		,87317	,87317	
C14	12		,89000	,89000	
C1	12			,91700	,91700
C35	12				,96217
Sig.		1,000	,663	,075	,201

Respecto al porcentaje de diésel, se observaron también cuatro subconjuntos diferenciados. La mayor tolerancia se registró en el tratamiento con 0% de diésel (1.000), y la menor tolerancia en el tratamiento con 15% de diésel (0.781). Las diferencias entre todos los

niveles de diésel fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$), reflejando una disminución progresiva de la tolerancia con el aumento del contenido de diésel.

Tabla 8

*Comparaciones Post Hoc (HSD de Tukey) de la Tolerancia Promedio al Diésel B5
en Función del Porcentaje de Diésel*

HSD Tukey^{a,b}

diesel	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
15%	21	,78133			
5%	21		,85086		
10%	21			,88876	
0%	21				1,00000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

3.4. Identificación hasta Género de las cepas de Hongos Seleccionadas.

Las cepas que se desarrollaron en MMI con 10% de diésel B5, fueron identificadas como los géneros *Trichoderma*, *Fusarium*, *Mortierella* y *Chaetomium*. En las tablas 9 y 10 se presenta un resumen de las características macroscópicas y microscópicas de éstas.

Tabla 9

Caracterización macroscópica de los géneros aislados.

CEPAS	Color	Textura	Superficie	Forma
<i>Trichoderma</i> <i>sp.</i>	Verde oscuro/ verde claro/ blanquecino	Lanosa	Opaca y rugosa	Circular , formando anillos
<i>Fusarium sp</i>	Blanco/ Rosaceo	Algodonosa, terciopelada	Brillante y opaca/ lisa y rugosa	Circular, e Irregular.
<i>Mortierella</i> <i>sp</i>	Blanco/ Crema en el centro un color verde oscuro a claro	Algodonosa.	opaca/ rugosa	Circular e irregular.
<i>Chaetomium</i> <i>sp.</i>	Marrón	Lanosa.	opaca/ rugosa presentan exudados de color marrón oscuro	Irregular.

Nota. Ver anexo 02 fotografías macroscópicas

Tabla 10

Caracterización microscópica de las cepas de hongos.

Género	Tipo de esporas (forma y color)	Estructura esporógena (tipo)	Estructuras distintivas	Hifas	Fiálides / Ascosporas
<i>Trichoderma</i> sp.	Conidios elipsoidales u ovoides, hialinos a verdosos, dispuestos en cadenillas.	Conidióforos ramificados en verticilos, hialinos.	—	Septadas, hialinas, ramificadas.	Fiálides ampuliformes o cilíndricas, con base estrecha.
<i>Fusarium</i> sp.	Microconidios ovoides (1-2 células); macroconidios fusiformes, multicelulares, hialinos.	Conidióforos simples hialinos.	No tiene clamidosporas intercaladas o terminales.	Septadas, hialinas, ramificadas.	— (no presenta fiálides).
<i>Mortierella</i> sp.	Esporangiosporas esféricas a elipsoidales, hialinas.	Esporangióforos simples, terminados en esporangios globosos.	Esporangios terminales con pared delgada, típicamente hialinos.	(no septadas).	— (no tiene fiálides ni ascosporas).
<i>Chaetomium</i> sp.	Ascosporas elipsoidales, marrones, dentro de ascas (sexual).	Peritecios globosos con ostiolo.	Ascas multiesporadas dentro de peritecios; no produce estructuras asexuales visibles.	Septadas, marrones.	Ascosporas marrones.

Nota. Ver anexo 02 fotografías microscópicas.

3.5. Determinación de la Eficiencia de Degradación de Diésel B5 por las Cepas de Hongos Seleccionados en Terrarios Experimentales.

Los resultados de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH) (Anexo 3), se calcularon con la fórmula de eficiencia de degradación. Posteriormente, se evaluó la distribución normal de los datos (Tabla 29, anexo 1), y homocedasticidad seguido del análisis de varianza (ANOVA) de un factor para determinar si existen diferencias significativas en el porcentaje de degradación de diésel B5 entre los diferentes tratamientos. Los resultados del ANOVA (Tabla 30, anexo 1) indicaron un efecto significativo del factor tratamiento sobre el porcentaje de degradación con un $p < 0.001$, con un nivel de confianza del 95%.

La prueba post hoc de Tukey B (Tabla 9) reveló diferencias significativas entre el tratamiento Control Ri con los demás tratamientos con hongos. La media del porcentaje de degradación del tratamiento Control (Ri) (13.53%) fue significativamente menor en comparación con las medias de los tratamientos C35 (33.50%), C1 (34.83%), C23 (36.20%) y el Consorcio (39.40%). Por otro lado, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de degradación entre los tratamientos C35, C1, C23 y el Consorcio.

Tabla 11

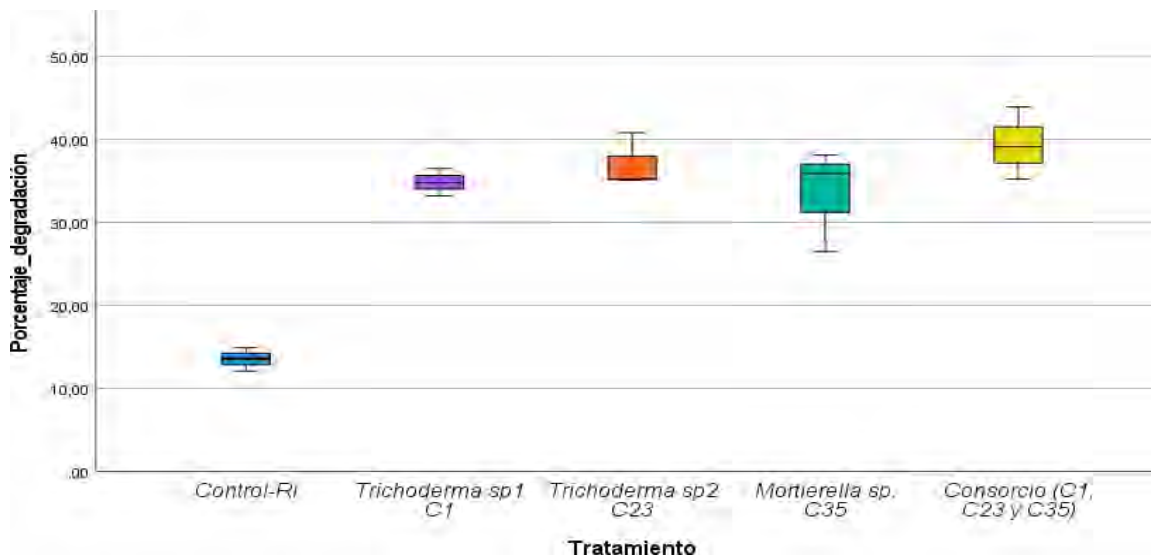
Prueba post hoc Tukey b del porcentaje de degradación

Tukey B ^a			
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Ri	3	13,5333	
C35	3		33,5000
C1	3		34,8333
C23	3		36,2000
Consorcio	3		39,4000

La representación de los porcentajes de degradación por tratamiento en la Figura 5 ilustra claramente las diferencias observadas en el análisis estadístico. El diagrama de cajas del tratamiento Control (Ri) se sitúa notablemente más abajo que los diagramas correspondientes a las cepas individuales (C1, C23, C35) y el Consorcio, confirmando su menor efectividad en la degradación de diésel B5.

Figura 5

Porcentajes de degradación de diésel B5 por tratamiento.



Durante los 90 días del ensayo se monitorearon el pH y la humedad (Tabla 31y 32 anexos). La humedad promedio registrada en los tratamientos osciló entre 46.1% y 56%, y el pH 7.3 a 8.4.

4. DISCUSION

Se aislaron 39 cepas de hongos de suelos de talleres mecánicos, una cifra mayor en comparación con los hallazgos de Petit et al. (2013), quienes aislaron 10 cepas, aunque fue menor en comparación al amplio aislamiento de 221 cepas reportado por Contreras (2017), lo que resalta la variabilidad en el aislamiento según la metodología, las fuentes de contaminación y ubicación geográfica. El pH de los suelos de los talleres mecánicos en este estudio fue de 7.9 y 8.1, lo cual se alinea con el rango óptimo para el crecimiento de hongos degradadores de hidrocarburos como lo indican Fernández (2021) y Cecotti et al. (2015), cuyos valores de pH estuvieron entre 6 y 8; sugiriendo un ambiente favorable para el desarrollo de microorganismos con capacidad de mineralización de hidrocarburos.

De las 39 cepas de hongos aislados, el 61.5% (24) cepas de hongos demostraron un crecimiento radial ≥ 3 cm a 9 cm en medio MMI con 2% de diésel B5. Este criterio de selección concuerda con las investigaciones de Solis (2005), quien aisló 240 cepas fúngicas y seleccionó 24 cepas con un crecimiento radial de 3.3 a 7 cm. Estas 24 cepas se sometieron a siembras en MMI con 0%, 5%, 10% y 15% de diésel B5. De este grupo el 29.12 % (7 cepas) presentaron un crecimiento radial superior a 3 cm en MMI en todos los porcentajes de diésel B5. De manera similar, Fernandez (2021) sembró cepas de hongos en medio PDA suplementado con petróleo al 2%, 4% y 6% donde las cepas mostraron un crecimiento superior a 3 cm.

El análisis de varianza con medidas repetidas demostró que el tiempo, porcentajes de diésel y tipo de cepas influyen en el crecimiento radial de las cepas de hongos analizadas. El análisis del test HSD de Tukey identificó cuatro subconjuntos homogéneos de cepas. Las cepas C19, C14 y C30 presentaron una media radial de 2.2 cm que son los menores valores de crecimiento promedio; mientras que las cepas *Trichoderma sp2* C23, *Trichoderma sp1* C1, y

Mortierella sp2 C35 alcanzaron los valores más altos (7.005 cm, 6.950 cm y 6.36 cm respectivamente) en medio MMI con 5%,10% y 15% de diésel B5, además este es estadísticamente superior al resto ($p < 0.05$). Esto es proporcional a la capacidad de crecimiento de *Trichoderma sp* en medios suplementados con petróleo crudo, alcanzando un crecimiento de 9 cm y 7.8 cm a los 8 días de incubación en medio PDA 4% y 6% de petróleo según lo reportado por Fernández (2021) y el notable desarrollo de las especies de *Aspergillus niger* (8.5 cm) *A. flavus* 8.28 cm y *A terreus* 7.35 cm en medios con hidrocarburos al 2% durante 10 días observado por Medina et al. (2014).

El porcentaje óptimo de crecimiento de las cepas de hongos se dio en medio MMI con diésel al 10% y presentó un valor promedio de 4,78952 cm en crecimiento radial, seguido de 4,56857 cm en MMI con 5% de diesel B5 y el menor crecimiento radial de las cepas se presentó en el MMI con 15% de diésel (4.13714 cm), lo cual evidenció un patrón inversamente proporcional entre concentración de diésel y crecimiento. Por otro lado, Fernandez (2021) indicó que el porcentaje óptimo para el crecimiento de las cepas de *Trichoderma sp* fue en medio PDA al 4% de petróleo.

En cuanto a la tolerancia al diésel B5, el análisis de varianza con medidas repetidas demostró que el tiempo, porcentajes de diésel y tipo de cepas influyen en la tolerancia de las cepas de hongos analizados. El análisis mediante el test de Tukey determinó que la cepa *Mortierella sp1* (C4) presentó el menor nivel de tolerancia promedio (79.6%), en comparación a la cepa *Mortierella sp2* (C35) que presentó el valor más alto de tolerancia (96.2%). La cepa de *Trichoderma sp1* (C1) se ubicó en el grupo de mayor tolerancia con (91.7%). Diversos estudios señalan que la tolerancia de *Trichoderma spp.* a diversos contaminantes orgánicos es de hasta el 60% en 30 días según (Manikandan et al., 2011). Las cepas con tolerancias menores fueron:

Fusarium sp1 (C14) (89%), *Trichoderma sp2* (87.32%), *Fusarium sp3* C30 con un (86.35%), *Fusarium sp2* C19 (85.98) de tolerancia. Estos resultados de alta tolerancia concuerdan con la identificación de varias especies fúngicas con tolerancia superior al 90% a hidrocarburos poliaromáticos de acuerdo a Lee et al. (2013) y la alta tasa de tolerancia 81% reportada por Di Clemente (2021) para *Peniophora albobadia*.

Las cepas identificadas corresponden a cuatro géneros: *Trichoderma*, *Mortierella*, *Fusarium* y *Chaetomium*. Estos resultados son consistentes con investigaciones previas de Valenzuela, Solís, Martínez & Pinochet (2006) quienes identificaron seis géneros de hongos (*Aspergillus*, *Acremonium*, *Beauveria*, *Fusarium*, *Mortierella*, *Mucor* y *Penicillium*), de manera similar, Pérez, Uriarte & Gazo (2020) identificaron cepas de los géneros *Aspergillus* y *Fusarium*. Asimismo, Petit et al. (2013) también identificó seis géneros fúngicos, incluyendo *Aspergillus*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium* y *Trichoderma*. En la misma línea, Jasme et al. (2023) identificaron especies de *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus westerdijkiae*, *Curvularia lunata* y *Chaetomium globosum*. Estos resultados refuerzan la importancia de los géneros identificados en este estudio, especialmente *Trichoderma*, *Fusarium*, *Mortierella* y *Chaetomium*, por su capacidad de tolerancia y adaptación a ambientes contaminados con hidrocarburos.

Para el análisis de eficiencia de degradación de diésel B5 en terrarios experimentales, el suelo mezclado con diésel B5 presentó un pH inicial de 8.072 un rango similar al utilizado por Medina, García & Paricaguán (2014) en estudios de biorremediación de suelos contaminados con petróleo presentando valores de pH 7.7 y 7.8; condición que favorece al desarrollo de microorganismos existentes en el suelo. Estos terrarios fueron incubados a una temperatura constante 25 ± 1 °C, según (Van Hamme et al., 2003), la temperatura óptima para la biodegradación de hidrocarburos se sitúa entre 20 °C y 30 °C.

Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) revelaron una diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de degradación de diésel B5 entre los tratamientos experimentales ($p = 0.001$, nivel de confianza del 95%). La prueba de Tukey b evidenció una degradación significativamente superior en todos los tratamientos con hongos en comparación con el control. El consorcio de las cepas fúngicas *Trichoderma* sp1, *Trichoderma* sp2 y *Mortierella* sp2 (C1, C3 y C35) demostró mayor degradación promedio (39.40%), seguido por *Trichoderma* sp2 (36.20%), *Trichoderma* sp1 (34.83%) y *Mortierella* sp2 (33.50%) en los suelos de los terrarios experimentales con 134312.3 mg/Kg de HTP inicial. El control (Ri) presentó la menor degradación promedio (13.53%), y la menor variabilidad, lo que confirma la efectividad de los tratamientos con hongos. Los porcentajes de degradación obtenidos en este estudio son comparables con los reportados por Loayza, (2017) quien indicó que la eficiencia en la degradación de hidrocarburos por *Trichoderma harzianum* fue de 32.76% en suelos contaminados con 5080 mg/kg de suelo; asimismo, Muñoz, (2016) indicó que *Trichoderma* spp., registró un 98.3% de degradación, con TPH inicial de 42070.3 mg/kg en suelo. Por otra parte, Cruz & Lincango, (2021) evidenciaron que a una concentración de 40000 mg/kg de suelo contaminado con diésel se logró un porcentaje de remoción de 18,63% con *Trichoderma* sp. La degradación observada con *Mortierella* sp2 (33.50%) se relaciona con la capacidad de especies de *Mortierella* para degradar fracciones de petróleo, como lo demostró Valenzuela et al. (2006) donde evidenciaron las fracciones de petróleo degradadas, correspondiente a (alcanos insaturados y saturados, alquilos y aromáticos).

En los tratamientos se observó una tendencia a la neutralización del pH en los tratamientos con hongos ya que oscilo de 7.3 a 8.1, acercándose al rango óptimo para la biodegradación de acuerdo a lo reportado por Cecotti, Morelli & Copotelli, (2015), quienes

indicaron que los suelos con un pH de 6 y 8 son óptimos para la mineralización de los hidrocarburos; sin embargo, Dibble y Bartha ,(1979) reportaron el suelo con un pH de 7.4 - 7.8, acercándose a pH óptimos para los procesos de biodegradación de hidrocarburos como el diésel. Los hongos filamentosos como *Trichoderma* y *Mortierella* es esencialmente aeróbico y la degradación se lleva a cabo mediante la activación de dos sistemas enzimáticos principales. Primero, los hongos atacan los alcanos alifáticos (la mediante la hidroxilación terminal, una reacción catalizada por el sistema Citocromo P450 (CYP450) García-Hernández et al., (2020).

Este paso transforma el alcano en un ácido graso que puede ser mineralizado intracelularmente a Acetil-CoA a través de la ruta de la Beta-Oxidación. Para degradar los compuestos aromáticos recalcitrantes, los hongos emplean el Sistema Enzimático Ligninolítico (SELL), que incluye enzimas como la Lacasa y la Manganese Peroxidasa (MnP) García-Hernández et al., (2020). La actividad de estas enzimas ligninolíticas es crucial para la detoxificación final del diésel, pero generalmente requiere condiciones de pH 5.0 García-Hernández et al., (2020). La tendencia observada hacia la neutralidad en el pH (7.3 a 8.1) en los tratamientos fúngicos puede ser causada por el metabolismo celular, ya que la asimilación de nitrato (NO_3^-) como fuente de nitrógeno provoca la liberación de iones hidroxilo (OH^-) al medio, induciendo la alcalinización y manteniendo el pH en un rango favorable para la producción de biomasa y la degradación de alcanos Herrero et al., (2019). Por ende, se puede inferir que las cepas seleccionadas para el ensayo realizaron efectivamente procesos de degradación de diésel B5 mientras que la humedad se mantuvo dentro del rango favorable de 46% a 56% para la degradación microbiana sugerido por Viñas (2005), indicando que las tasas óptimas para degradación se dan cuando la saturación de agua en el suelo oscila entre 30% a

90%, y según Pardo et al. (2004) indican que la degradación de TPH se da a temperaturas de entre 15°C a 47°C y humedad del 40% a 60%.

5. CONCLUSIONES

1. Se lograron aislar 39 cepas de hongos de suelos contaminados con hidrocarburos de talleres mecánicos del distrito de San Sebastián, Cusco. De estas, el 64.1% de cepas de hongos se obtuvo del taller 2 de San Sebastián, y el 35.9% de cepas de hongos provinieron del taller 1.
2. El análisis estadístico (ANOVA de medidas repetidas, ($p < 0.05$) determinó que las cepas *Trichoderma sp2* (C23), *Trichoderma sp1* (C1) y *Mortierella sp2* (C35) obtuvieron los mayores promedios de crecimiento radial (7.00 cm, 6.95 cm y 6.36 cm, respectivamente) en medios Mínimo Mineral Inorgánico suplementados con diésel B5 (5%, 10% y 15%),. Asimismo, estas tres cepas destacaron por su elevada tolerancia al contaminante, alcanzando porcentajes del 96.2% (*Mortierella sp2* C35), 91.7% (*Trichoderma sp1* C1) y 87.3% (*Trichoderma sp2* C23).
3. Se identificaron cuatro géneros de hongos los cuales fueron *Trichoderma*, *Mortierella*, *Fusarium* y *Chaetomium*.
4. Los ensayos de degradación en terrarios experimentales demostraron que la aplicación de los hongos incrementó significativamente la remoción de diésel B5 respecto al control ($p < 0.001$, IC = 95%). El consorcio fúngico (*Trichoderma sp1*, *Trichoderma sp2* y *Mortierella sp2*) alcanzó la mayor eficiencia media de degradación con un 39.40%, seguido por las cepas individuales de *Trichoderma sp2* (36.20%), *Trichoderma sp1* (34.83%) y *Mortierella sp2* (33.50%), superando estadísticamente al tratamiento Control Ri (13.53%), el uso del consorcio promovió el mayor nivel de remoción del contaminante.

RECOMENDACIONES

1. Se sugiere avanzar en la línea investigativa desarrollada, implementando estudios de biorremediación a escala piloto y, posteriormente, pruebas in situ, para evaluar la eficacia de los hongos en condiciones ambientales reales.
2. Se recomienda crear un banco de cepas fúngicas con tolerancia a altos niveles de hidrocarburos, que permita conservar, caracterizar y disponer de material biológico para futuros estudios de biorremediación.
3. Es aconsejable realizar la identificación molecular de los hongos que demostraron tolerancia a niveles elevados de diésel B5, con el fin de asegurar la correcta taxonomía y facilitar estudios posteriores sobre su potencial biotecnológico.
4. Se sugiere promover la correcta disposición y manejo de residuos de hidrocarburos en talleres mecánicos de la ciudad de Cusco, como medida preventiva y complementaria a la biorremediación, minimizando riesgos ambientales y para la salud pública.
5. A partir de la presente investigación, analizar los productos generados por los hongos durante la degradación de hidrocarburos para identificar posibles subproductos útiles o riesgos ambientales.

BIBLIOGRAFÍA

- Atlas M. & Bartha R. (2002). *Ecología Microbiana y microbiología ambiental*. Cuarta Edición. Addison Wesley. Nueva York – USA.
- Ameen, F., Moslem, M., Hadi, S., & Al-Sabri, A. E. (2016). Biodegradation of diesel fuel hydrocarbons by mangrove fungi from Red Sea Coast of Saudi Arabia. *Saudi journal of biological sciences*, 23(2), 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.04.005>
- Amuzu, S., Yang, Y., Jeyaram, K., Wu, J., & Zhang, H. (2024). *Fusarium species: Diversity, toxins, and physiological characteristics*. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 54(2), 123–134.
- Argumedo-Delira, R., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., López-Bucio, J., & Lara-Herrera, A. (2009). *Trichoderma spp. as bio-remediators of hydrocarbon-contaminated soils*. *Journal of Environmental Management*, 90, S331–S336. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2008.07.017>
- Alvarez, P., & Illman, W. (2006). *Bioremediation and natural attenuation: Process Fundamentals and Mathematical Models*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Araujo, José, Yegres, Francisco, Barreto, Guillermo, Antequera, A. Angel, Depool, Belkys, & Rojas, Yarubit. (2016). Biocatalizadores fúngicos hidrocarbonoclasticos del genero *Aspergillus* para la descontaminación de agua con Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (HPAs). *Revista Cubana de Química*, 28((2)), 703-735.
- Araujo, José, Yegres, Francisco, Barreto, Guillermo, Antequera, A. Angel, Depool, Belkys, & Rojas, Yarubit. (2016). Remoción de hidrocarburos policiclicos aromaticos de muestras de agua de la bahia de Amuay por hongos autoctonos del genero *Aspergillus*. *Revista Cubana de Química*, 28((2)), 703-735.
- Arrieta, O., Rivera, A., Arias, L., Benjamín, R., Ruiz, O., & Cardona, S. (2012). Biorremediación de un suelo con diesel mediante el uso de microorganismos autóctonos. *Gestión y Ambiente*, 27-39.

- Asociación Automotriz del Perú. (09 de Julio de 2021). Asociación Automotriz del Perú. Asociación Automotriz del Perú: <https://aap.org.pe/aap-mas-de-70000-talleres-mecanicos-necesitan-capacitacion-en-nuevas-tecnologias/>
- Baldrían, P. & Gabriel, J. (1997). Effect of heavy metals on the growth of selected wood-rotting basidiomycetes. *Folia Microbiol.* 42:521-523
- Barrios San Martín, E. (2011). Potencial de hongos en la biorremediación de ambientes marinos contaminados por petróleo crudo [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional del Santa].
- Benavides, J., Quintero, G., Guevara, A., Jaimes, D., Gutiérrez, S., & Miranda, J. (2006). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados de petróleo. Bogotá: Universidad Nacional de Cundinamarca.
- Buendía, H. (2012). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante compost de aserrín y estiércol. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Bustamante, G., & Silva, J. S. (2019). Efecto de la materia orgánica en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo en establecimiento de servicio. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Cabanillas, J., & Victor., P. (2015). Efecto de la bioaumentación y bioestimulación en la eficiencia de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Cavalcante, R. S., Lima, H. L. S., Almeida, J. R. M., Nascimento, R. F., Silva, D. G., & Campanha, R. B. (2025). Growth conditions and environmental adaptability of *Trichoderma* spp. *Applied Soil Ecology*, 193, 104656.
- Carrión, G. (2019). Alternativa para no quemar: Elaboración de compost. Lima: Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre.

- Castillo-Bertel, Marlon E.; Herrera-Franco, José G.; Acevedo-Barrios, Rosa L.; & Severiche Sierra, Carlos A. (2013). Evaluación Analítica Para La Determinación De Hidrocarburos Totales En Aguas Por Espectroscopia Infrarroja. *Revista Boliviana de Química*, 30(2),146-152.[fecha de Consulta 27 de Septiembre de 2022]. ISSN: 0250-5460. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=426339680007>
- Cerna Apaza, A. B. (2018). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos usando el hongo *Penicillium janthinellum* en los servicios generales de la UNALM-La Molina, 2018. Lima, Perú: Universidad Cesar Vallejo.
- Chang, R., & Overby, J. (2021). *Química*. 13a edición. Madrid: McGraw-Hill.
- Chaparro Giraldo, L. B. (2019). Estudio preliminar de la actividad degradadora a partir de hongos aislados de muestras de crudo adsorbidas en diferentes fibras vegetales. Bogotá: Universidad Libre.
- Chen, L., Zhang, J., Wang, Y., & Wei, D. (2018). Primary metabolic pathways of *Trichoderma reesei*: Insights from transcriptomics and metabolomics. *Biotechnology for Biofuels*, 11, 275. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1277-z>
- Contreras Mogollón, H. J. (2017). Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petroleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Cota-Ruiz, K., Nuñez-Gastelúm, J. A., Delgado-Rios, M., & Martinez-Martinez, A. (2019).BIORREMEDIACIÓN: ACTUALIDAD DE CONCEPTOS Y APLICACIONES.*Biotecnia*, 21(1), 37-44
- Curasi, N., & Luque, M. (2019). Efectividad de los bioestimuladores de compost, lombricompost y abono verde en la biorremediación de suelos contaminados con aceite automotriz. Juliaca : Universidad Nacional Unión .
- Daane, L., Harjono, I., Zylstra, G, Hggblom M. (2001) Isolation and characterization of polycyclic Aromatic hydrocarbondegrading bacteria associated with the Rhizosphere of salt Marsh plants. *Applied and Environmental Microbiology*; 67(6):2683-2691.

- Das, N., & Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An overview. Vellore- India: Biotechnology research international, Volume 2011, ID 941810,13pp.
- De La Torre, K. (6 de Noviembre de 2019). Mongabay: Periodismo Ambiental en Latinoamerica. Perú: los derrames de petróleo crónicos e incalculables de la Costa Norte: <https://es.mongabay.com/2019/11/peru-derrames-de-petroleo-en-el-mar/>
- Dedyukhina, E. G., Chistyakova, T. I., Arinbasarov, M. U., & Kamzolova, S. V. (2014). Production of polyunsaturated fatty acids by *Mortierella* species. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 50(3), 245–253.
- Escalante, R. M. (2002). Biodegradación de crudo de petróleo en terrarios. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Fernandez, G. (2021). Biorremoción de petróleo crudo mediante cepas de hongos nativos, aislados de tiraderos de hidrocarburos del Distrito de Cerro Colorado (Arequipa) y determinación de su toxicidad mediante bioensayo con *Daphnia pulex*. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín Arequipa.
- Fernandez, L., Rojas, N., Roldán, T., Ramirez, M., Zegarra, H., Uribe, R., . . . Arce, J. (2006). Manual de Técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Mexico D. F.: Instituto Mexicano del Petróleo.
- García Cuán, A., Medina Buelvas, A., & Lara Cobos, J. F. (2017). Aislamiento e identificación de hongos filamentosos tolerantes a aceites dieléctricos usados y los bifenilos policlorados PCBs de suelos contaminados. Barranquilla: Universidad Libre Seccional Barranquilla.
- García-Hernández, D., Sosa-Aguirre, C., & Sánchez-Yáñez, J. M. (2020). Degradación de aromáticos por hongos de la podredumbre blanca. *Química Viva*, 12(3), 288–304.
- Gomez, W., Gaviria, J., & Cardona, S. (2009). Evaluación de la Bioestimulación frente a la atenuación natural y la bioaumentación en un suelo contaminado con una mezcla de gasolina- diesel. *Redalyc*, 83-93.

- Guzmán-Guzmán, P., González-López, C. I., & Martínez-Trujillo, M. (2025). Trichoderma as a producer of bioactive compounds in plant-microbe interactions. *Fungal Biology Reviews*, 39, 45–59.
- Hernández, A., Arias, M., Rosique, J., & Pacheco, J. (2018). Diversidad y taxonomía de hongos con potencial biotecnológico. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1), 33–45.
- Herrero, A., Flores, E., & Imperial, J. (2019). Nitrogen Assimilation in Bacteria. In T. M. Schmidt (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology* (pp. 280–300).
- Hidayat, A., & Tachibana, S. (2012). Biosurfactant-producing *Fusarium* sp. for degradation of hydrocarbons in hypersaline environments. *Biodegradation*, 23, 693–700.
- Ho, S. Y., Yeap, S. K., & Alitheen, N. B. (2007). Fatty acid profile of *Mortierella alpina* and its potential application. *Malaysian Journal of Microbiology*, 3(2), 19–23.
- Hoffmann, K., Voigt, K., & Kirk, P. M. (2011). *Mortierellomycotina* subphyl. nov., based on multigene genealogies. *Mycological Progress*, 10, 285–297.
- Hoong, S., Wong, W., & Salleh, B. (2000). Molecular classification of *Fusarium* species. *Mycopathologia*, 149, 33–41.
- Infante, C., Cárdenas, F., Rodríguez, M., & Valenzuela, M. (2009). Biocontrol potential of *Trichoderma* spp. against phytopathogens. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 27, 1–10.
- Jacquat, A. C., Pereira, S. B., & Vazquez, D. (2025). Epigenetic regulation and toxin biosynthesis in *Fusarium verticillioides*. *Mycotoxin Research*, 41, 77–91.
- Jerin, I., Rahi, M. S., Sultan, T., Islam, M. S., Sajib, S. A., Hoque, K. M. F., & Reza, M. A. (2021). Diesel degradation efficiency of *Enterobacter* sp., *Acinetobacter* sp., and *Cedecea* sp. isolated from petroleum waste dumping site: a bioremediation view point. *Archives of microbiology*, 203(8), 5075–5084. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02469-2>

- LA REPUBLICA. (09 de Mayo de 2016). Parque automotor de la ciudad de Cusco aumentó en 328% los últimos 10 años. Parque automotor de la ciudad de Cusco aumentó en 328% los últimos 10 años, pág. 5.
- Lee, H., Jang, Y., Choi, Y. S., Kim, M. J., Lee, J., Lee, H., Hong, J. H., Lee, Y. M., Kim, G. H., & Kim, J. J. (2014). Biotechnological procedures to select white rot fungi for the degradation of PAHs. *Journal of microbiological methods*, 97, 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.12.007>
- Larrondo, L. F., & Calvo, M. A. (1987). Enzymatic degradation of lignocellulosic materials by *Chaetomium*. *Biodegradation*, 7, 215–223.
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing.
- León Vargas, F. R., bardales Grández, K. M., Garcia Pérez, V., Moreno Eustaquio, W., Jara Herrera, C., & Perdiz Dávila, J. M. (2020). La intensidad eléctrica y la biorremediación de *Aspergillus niger* en suelos contaminados con hexadecano, en Loreto, Perú. *Ciencia Amazónica (Iquitos)*, 209-220.
- Li, H., Zhang, Z., He, C., & Duan, Y. (2020). Secondary metabolites of *Chaetomium* spp.: Chemistry and bioactivities. *Journal of Fungi*, 6(2), 55. <https://doi.org/10.3390/jof6020055>
- Llerena, J., & Mendoza, V. (2020). Aislamiento de hongos en suelos contaminados con petróleo crudo. *Revista Peruana de Biología*, 27(3), 317–324.
- Longoni, F. G., da Silva, T. M., de Souza, C. G. M., & Bracht, A. (2012). Extracellular enzyme production by *Chaetomium* sp. in lignin degradation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, 343–351.
- Maddela, N. R., Scalvenzi, L., Pérez, M., Montero, C., & Gooty, J. M. (2015). Efficiency of Indigenous Filamentous Fungi for Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons in Medium and Soil: Laboratory Study from Ecuador. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 95(3), 385–394. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1605-6>

- Mares Ponce de León, A., Morales Romero, M. A., & Martínez Hernández, S. (2018). Morfología y características de *Mortierella* spp. en laboratorio. *Revista Latinoamericana de Micología*, 30(2), 65–74.
- Mastrandea, C., Chichizola, C., Beatriz, L., Sánchez, H., Álvarez, H., & Andrea, G. (2005). Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. Buenos Aires, Argentina: *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 39(1)27-36.4
- Medina, J., García, F., & Paricaguán, B. (2014). Biodegradación de petróleo por microorganismos autóctonos en suelos contaminados provenientes de la bahía de Amuay del Estado Falcón. *Revista INGENIERÍA UC*, 21(1), 62-69.
- Micología: Microbiología Ambiental. (2017). Microbiología Ambiental. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco
- Mihășan, M., Macovei, A., Călugăr, A., & Niculaua, M. (2020). Microbial diversity in diesel-contaminated soils and bioremediation potential of *Mortierella*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 191, 110136
- Ministerio de Energía y Minas. (2015). Hidrocarburos en el Perú. Lima- Perú: Ministerio de Energía y Minas.
- Ministerio Nacional del Ambiente. (04 de Julio de 2017). Resolución Ministerial N° 182 - 2017- MINAM. Ministerio Nacional del Ambiente: https://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/07/Res_182-2017-MINAM.pdf
- Morán-Diez, E., Hermosa, R., & Monte, E. (2020). Metabolic versatility of *Trichoderma* spp. in biocontrol and bioremediation. *Biological Control*, 150, 104405.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Marasas, W. F. (1994). *Fusarium species: An illustrated manual for identification*. The Pennsylvania State University Press.
- Ministerio del Ambiente. (2014). Guía para el Muestreo de Suelos. Ministerio del Ambiente, Dirección General de Calidad Ambiental

- Nurshafiqah Jasme, Nabila Nasir, Ahmad Ramli Mohd Yahya, & Nur Asshifa Md Noh. (2023). Hydrocarbon-Degrading Fungi Isolated from Oil-Contaminated Sites in Northern Peninsular Malaysia. *Borneo International Journal of Biotechnology (BIJB)*, 3, 22–35. <https://doi.org/10.51200/bijb.v3i.4057>
(Original work published December 22, 2023)
- O'Donnell, K. (1996). Molecular phylogeny of *Fusarium* species based on ribosomal DNA. *Mycologia*, 88, 765–777.
- Okougbo, O. M., De, A. A., & Bello, Y. (2015). Biodegradation of petroleum hydrocarbons by *Mortierella* sp. B1002F isolated from contaminated soils. *Nigerian Journal of Microbiology*, 29, 3001–3011.
- Olson, J., Mills, G., Herbert, B., Morris, P. (1999) Biodegradation rates of separated diesel components. *Environ Toxicol Chem*;18(11):2448-53. Pandey, D., Daverey, A., &
- Persoon, C. H. (1794). *Observationes mycologicae*. Leipzig: J. G. Müller
- Petit A., K., Colina L., J., Yegres E., F., Moran G., H., & Richard-Yegres, N. (2013). iodegradación de hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) por hongos aislados de aguas contaminadas con petróleo, podredumbre blanca, y acíbar de Aloe vera. *Química Viva*., 12((3)), 288-304.
- PETROPERÚ S.A. (04 de Abril de 2019). Petroperú. Petroperú: <https://petroperu.com.pe/Docs/spa/files/productos/fds-db5-s50.pdf>
- Pino, N. J., Carvajal, S., Gallo, A., & Peñuela, G. (2012). Comparación entre bioestimulación y bioaumentación para la recuperación de suelos contaminados con diesel. *Scielo- Colombia*, 101-108.
- Rayaroth, M. P., Paulose, P. I., & Nair, A. J. (2016). Production of polyunsaturated fatty acids by *Mortierella* spp. using agro-industrial residues. *Journal of Oil Technology*, 13(4), 123–132.

- Reyes Cesar, A. (Noviembre de 2013). Estudio de la degradación de PHAs por hongos no lignolíticos aislados de suelos contaminados. Tlaxcala, México: Instituto Politecnico Nacional.
- Rodríguez, K. (2002). Caracterización taxonómica de especies de *Chaetomium* mediante morfología microscópica. *Boletín de Micología*, 17, 22–30.
- Samanez, E. (2008). Biodegradacion bacteriana por bioestimulación en suelos contaminados con petróleo crudo. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima: Tesis para optar grado de Magíster en Biotecnología.
- Sharma, A., Kumar, M., & Meena, S. (2023). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Fusarium* species. *Environmental Research*, 216, 114785
- Sierra Praeli, Y. (27 de Agosto de 2020). Mongabay: Periodismo Ambiental Independiente en Latinoamérica. Nuevo informe indica que más de 400 derrames de petróleo afectaron la Amazonía peruana: <https://es.mongabay.com/2020/08/informe-derrames-petroleo-amazonia-peruana/>
- Sierra Praeli, Y. (19 de Enero de 2022). MONGABAY. Derrame de más de 11 mil barriles de petróleo en el mar contamina fauna, playas y áreas protegidas en Perú: <https://es.mongabay.com/2022/01/derrame-de-6000-barriles-de-petroleo-en-el-mar-contamina-fauna-playas-y-areas-protegidas-en-peru/>
- Simister, R. L., Poutasse, C. M., Thurston, A. M., Reeve, J. L., Baker, M. C., & White, H. K. (2015). Degradation of oil by fungi isolated from Gulf of Mexico beaches. *Marine pollution bulletin*, 100(1), 327–333. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.08.029>
- Solis Mardones, L. P. (2005). Degradación de petróleo por hongos aislados de la XII región de Chile contaminado con hidrocarburos. Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Taipe, R. A., Amaro, L., & Armas, L. (2020). Evaluación de la remoción de hidrocarburos totales de petróleo fracción F2 y F3 en suelos contaminados mediante la aplicación de compost y *Zea mays* (maíz). Lima: Universidad Nacional del Callao.

- Tamayo, J., Salvador, J., Vásquez, A., & y De la Cruz, R. (2015). La industria de los hidrocarburos líquidos en el Perú: 20 años de aporte al desarrollo del país. Lima-Perú: Osinergmin.
- Thokala, M., Dey, A., & Dutta, A. (2021). Morphological identification and growth analysis of *Trichoderma* species from soil samples. *Mycology*, 12(3), 191–199.
- Ugaz Llontop, R. J. (2018). Micoorganismos aislados de borras de hidrocarburos en la refinería de Talara y su potencial para la biorremediación de suelo contaminado, marzo 2018. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Vázquez Martínez, A., Rodríguez Casasola, M. T., Cruz Mondragón, C., Ríos Leal, E., & Esparza García, F. J. (2017). Caracterización de hongos hidrocarbonoclastas aislados en un suelo contaminado. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, Vol. 4(1):58-64.
- Viñas, M. (2005) Biorremediación por suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotóxica. Departamento de Microbiología Barcelona. España.
- Voigt, K., Wolf, T., Ochsenreiter, K., Nagy, G., Kaerger, K., Shelest, E., ... & Hoffmann, K. (2013). Early-diverging fungal lineages and their adaptation to terrestrial environments. *Studies in Mycology*, 76, 1–18.
- Von Arx, J. A., Guarro, J., & Figueras, M. J. (1986). The ascomycete genus *Chaetomium*. *Beihefte zur Nova Hedwigia*, 84, 1–162.
- Watanabe, T. (2010). Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species (2.^a ed.). CRC Press.
- Zarate, A. (2014). Evaluación del impacto ambiental con diésel en las propiedades mecánicas de un suelo arcilloso. p 122
- Zafra, G., Absalón, A. E., & Cortés-Espinosa, D. V. (2015). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Trichoderma asperellum*. *Biodegradation*, 26, 623–635.
- Zhang, J., Wang, Y., Yang, L., & Huang, B. (2022). Microscopic characterization of *Trichoderma* spp. in various growth media. *Mycological Research*, 36, 212–221.

Złotek, U., & Wójcik, M. (2014). Effect of *Mortierella* spp. on plant resistance mechanisms.
Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus, 13(3), 143–152.

ANEXOS

Tabla 12

Procedencia y Crecimiento Radial de las Cepas Fúngicas en Diésel B5 al 2%

Nº Cepas	Código De Cepas	Procedencia De Taller.	Porc (%) Diesel B5	D Inicial (Cm) 00 Hr	Crecimiento Cm - 14 Dias
1	C-1	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	9 cm
2	C-2	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	2.2 cm
3	C-3	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	2.8 cm
4	C-4	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	9 cm
5	C-5	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	3.0 cm
6	C-6	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	6.3 cm
7	C-7	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	2.6 cm
8	C-8	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	2.9 cm
9	C-9	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	3.0 cm
10	C-10	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	3.1 cm
11	C-11	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	3 cm
12	C-12	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	5.7 cm
13	C-13	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	8 cm
14	C-14	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	8.8 cm
15	C-15	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	2 cm
16	C-16	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	8 cm
17	C-17	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	9 cm
18	C-18	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	7.8 cm
19	C-19	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	8.7 cm
20	C-20	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	9 cm
21	C-21	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	2.8 cm
22	C-22	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	3.5 cm
23	C-23	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	9 cm
24	C-24	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	9 cm
25	C-25	San Sebastián 2	2%	0.5 cm	2.6 cm
26	C-26	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	3 cm
27	C-27	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	3cm
28	C-28	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	5.6 cm
29	C-29	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	9 cm
30	C-30	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	9 cm
31	C-31	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	2.8 cm
32	C-32	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	1.9 cm

33	C-33	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	4 cm
34	C-34	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	6.6 cm
35	C-35	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	9 cm
36	C-36	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	3.1 cm
37	C-37	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	7.6 cm
38	C-38	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	3.2 cm
39	C-39	San Sebastián 1	2%	0.5 cm	3.0cm

Nota. La tabla detalla el código de la cepa, su procedencia, la concentración de diésel B5 en el medio, el diámetro inicial y final de la colonia (a los 14 días, 25°C), indicando su crecimiento en presencia de diésel B5.

Tabla 13

Características Fisicoquímicas de las Muestras de Suelo de Talleres Mecánicos de San Sebastián - Cusco

Características	Suelos de mecánica de San Sebastián 1	Suelos de mecánica de San Sebastián 2
Hora	9:30 a.m.	10:23 a.m.
Altitud	3272 msnm	3281 msnm
H°del suelo	53%	59%
pH suelo	7.9	8.1
Temperatura del suelo	17.9°C	18.7°C

Tabla 14*Crecimiento (cm) de Cepas Fúngicas Seleccionadas en Agar Suplementado con 5% de Diésel B5*

CÓDIGO DE CEPAS	PORC (%) DIESEL B5/ Placa 20 ml	D INICIAL (Cm) 00 hr	diametro (Cm)/24 Horas				
			24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr
C1-1	5%	0.5 cm	1,7	4,9	8,2	9	9
C1 -2	5%	0.5 cm	1,5	4,7	8	9	9
C1 -3	5%	0.5 cm	1,9	4,6	8	9	9
C4-1	5%	0.5 cm	1,2	3,8	6,9	9	9
C4-2	5%	0.5 cm	1,3	3,9	6,8	9	9
C4-3	5%	0.5 cm	1,5	4,3	7,4	9	9
C6-1	5%	0.5 cm	0,5	0,7	0,8	0,9	0,9
C6-2	5%	0.5 cm	0,5	0,8	0,9	0,9	0,9
C6-3	5%	0.5 cm	0,6	0,9	0,9	0,9	0,9
C10-1	5%	0.5 cm	0,5	1,7	1,7	1,7	1,7
C10-2	5%	0.5 cm	0,5	1,8	1,8	1,8	1,8
C10-3	5%	0.5 cm	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
C12-1	5%	0.5 cm	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7
C12-2	5%	0.5 cm	0,7	0,9	0,9	0,9	0,9
C12-3	5%	0.5 cm	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8
C13-1	5%	0.5 cm	0,7	1,3	1,5	1,8	1,8
C13-2	5%	0.5 cm	0,6	1,2	1,4	1,6	1,6
C13-3	5%	0.5 cm	0,7	1,3	1,4	1,6	1,6
C14-1	5%	0.5 cm	1	1,9	2,4	3	3,3
C14-2	5%	0.5 cm	0,9	1,8	2,4	2,9	3,1
C14-3	5%	0.5 cm	1	1,8	2,5	3	3
C16-1	5%	0.5 cm	0,7	1,7	2	2,2	2,5
C16-2	5%	0.5 cm	0,7	1,9	3	3,9	3,9
C16-3	5%	0.5 cm	0,8	1,8	2,1	2,2	2,4
C17-1	5%	0.5 cm	0,9	2	2,3	2,3	2,4
C17-2	5%	0.5 cm	1	2	2,3	3	3,2
C17-3	5%	0.5 cm	1	1,6	2,1	2,5	2,9
C18-1	5%	0.5 cm	0,7	1,3	1,5	1,8	1,8
C18-2	5%	0.5 cm	0,6	0,8	1	1,1	1,1
C18-3	5%	0.5 cm	0,7	0,9	1,2	1,2	1,2
C19-1	5%	0.5 cm	0,8	1,5	2,2	2,7	3,3
C19-2	5%	0.5 cm	1	1,9	2,4	2,8	3,4
C19-3	5%	0.5 cm	0,8	1,3	2,1	2,6	2,7
C20-1	5%	0.5 cm	0,8	1,4	1,9	2,4	2,7

C20-2	5%	0.5 cm	0,9	1,3	1,9	2,4	2,6
C20-3	5%	0.5 cm	0,7	1,4	1,6	2,1	2,3
C22-1	5%	0.5 cm	0,8	1,4	1,7	2	2,4
C22-2	5%	0.5 cm	0,9	1,7	2	2,3	2,8
C22-3	5%	0.5 cm	0,7	1,5	1,8	2,1	2,5
C23-1	5%	0.5 cm	2,1	5	8	9	9
C23-2	5%	0.5 cm	1,6	4,5	8	9	9
C23-3	5%	0.5 cm	1,7	5,9	8,3	9	9
C24-1	5%	0.5 cm	1	2,1	2,7	2,8	2,9
C24-2	5%	0.5 cm	0,9	2	2,3	2,6	2,8
C24-3	5%	0.5 cm	1	2,2	3	3,7	3,8
C28-1	5%	0.5 cm	0,7	1,9	2,3	2,6	2,8
C28-2	5%	0.5 cm	0,8	2,2	3	3,7	3,8
C28-3	5%	0.5 cm	0,7	1,7	2,1	2,5	2,5
C29-1	5%	0.5 cm	0,8	1,7	2,2	2,7	2,8
C29-2	5%	0.5 cm	0,7	1,3	2,2	2,6	2,7
C29-3	5%	0.5 cm	0,7	1,4	2,2	3,3	3,5
C30-1	5%	0.5 cm	0,8	1,5	2,5	3,2	3,6
C30-2	5%	0.5 cm	0,7	1,7	2,5	3,3	3,7
C30-3	5%	0.5 cm	0,8	1,5	2,6	3,5	3,7
C33-1	5%	0.5 cm	0,7	1,1	1,3	1,7	1,8
C33-2	5%	0.5 cm	0,7	1,5	1,7	2,1	2,1
C33-3	5%	0.5 cm	0,6	1,2	1,9	2,6	2,6
C34-1	5%	0.5 cm	0,7	1,3	1,9	2,5	2,7
C34-2	5%	0.5 cm	0,7	1,2	1,7	2,4	2,7
C34-3	5%	0.5 cm	0,8	1,4	2,5	3,1	3,5
C35-1	5%	0.5 cm	1,7	4,8	7,3	8,9	9
C35-2	5%	0.5 cm	1,6	4,2	6,4	7,9	9
C35-3	5%	0.5 cm	1,6	4,1	6,6	8,8	9
C36-1	5%	0.5 cm	0,7	1	1,2	1,8	1,8
C36-2	5%	0.5 cm	0,6	1,5	1,5	1,6	1,6
C36-3	5%	0.5 cm	0,7	1,1	1,4	1,6	1,6
C37-1	5%	0.5 cm	0,5	0,8	0,8	0,8	0,8
C37-2	5%	0.5 cm	0,5	0,9	0,9	0,9	0,9
C37-3	5%	0.5 cm	0,5	0,8	0,8	0,9	0,9
C38-1	5%	0.5 cm	0,7	1	1,2	1,5	1,9
C38-2	5%	0.5 cm	0,8	0,9	1,1	1,6	1,7
C38-3	5%	0.5 cm	0,8	1	1,3	1,5	1,8

Nota: Se seleccionaron las nueve cepas con mayor crecimiento para la siguiente etapa

Tabla 15

Crecimiento (cm) de Cepas Fúngicas Seleccionadas en Agar Suplementado con 10% de Diésel

B5

CÓDIGO DE CEPAS	PORC (%) DIESEL B5/ Placa 20 ml	D INICIAL (Cm) 00 hr	diametro (Cm)/24 Horas				
			24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr
C1	10%	0.5 cm	2,3	6	9	9	9
C1	10%	0.5 cm	2,2	6,5	9	9	9
C1	10%	0.5 cm	2,2	6	9	9	9
C4	10%	0.5 cm	1,4	4,4	7,6	9	9
C4	10%	0.5 cm	1,7	4,6	7,6	9	9
C4	10%	0.5 cm	1,5	4,6	7,5	9	9
C14	10%	0.5 cm	0,8	2	2,6	3,1	3,4
C14	10%	0.5 cm	1	1,6	2,1	2,6	3,1
C14	10%	0.5 cm	0,9	1,5	2	2,5	3
C19	10%	0.5 cm	1	1,8	2,3	2,6	3,1
C19	10%	0.5 cm	0,9	1,4	2	2,4	2,7
C19	10%	0.5 cm	1	2,2	2,8	3,2	3,6
C23	10%	0.5 cm	2,3	6	9	9	9
C23	10%	0.5 cm	1,6	5,1	9	9	9
C23	10%	0.5 cm	1,7	5,7	9	9	9
C24	10%	0.5 cm	1,1	2,2	2,5	2,7	2,9
C24	10%	0.5 cm	0,8	1	2,2	2,5	2,7
C24	10%	0.5 cm	1,1	2,1	2,4	2,5	2,6
C30	10%	0.5 cm	0,9	1,8	2,3	2,8	3
C30	10%	0.5 cm	0,8	1,6	2,2	2,6	3,1
C30	10%	0.5 cm	0,9	1,9	2,6	3,2	4
C35	10%	0.5 cm	2,1	5,5	8,2	9	9
C35	10%	0.5 cm	2	5	8	9	9
C35	10%	0.5 cm	2	4,8	7,9	9	9

Nota: Siete de las ocho cepas mostraron un mayor crecimiento y fueron seleccionadas para la siguiente etapa.

Tabla 16

Crecimiento (cm) de Cepas Fúngicas Seleccionadas en Agar Suplementado con 15% de Diésel

B5.

CÓDIGO DE CEPAS	PORC (%) DIESEL B5/ Placa 20 ml	D INICIAL (Cm) 00 hr	diámetro (Cm)/24 Horas				
			24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr
C1	15%	0.5 cm	1,6	5,9	9	9	9
C1	15%	0.5 cm	1,8	5,9	9	9	9
C1	15%	0.5 cm	1,8	5,7	9	9	9
C4	15%	0.5 cm	2	3	3,2	3,3	4
C4	15%	0.5 cm	1,9	2,4	2,5	2,8	3,8
C4	15%	0.5 cm	2	2,4	2,6	2,8	3,7
C14	15%	0.5 cm	0,8	1,5	1,9	2,9	3,1
C14	15%	0.5 cm	0,9	1,6	1,9	2,5	3
C14	15%	0.5 cm	0,8	1,6	2	2,4	2,9
C19	15%	0.5 cm	0,9	1,6	1,9	2,3	2,8
C19	15%	0.5 cm	0,9	1,6	2	2,5	2,9
C19	15%	0.5 cm	0,9	1,7	2,1	3	3,2
C23	15%	0.5 cm	1,8	5,9	9	9	9
C23	15%	0.5 cm	1,9	5,4	9	9	9
C23	15%	0.5 cm	1,4	5,2	9	9	9
C30	15%	0.5 cm	0,9	1,8	2,3	3,1	3,2
C30	15%	0.5 cm	0,9	1,6	1,8	2,2	3
C30	15%	0.5 cm	1	1,4	1,9	2,5	3,1
C35	15%	0.5 cm	1,7	4,5	7,2	9	9
C35	15%	0.5 cm	1,6	4,6	7	9	9
C35	15%	0.5 cm	2	4,8	7,5	9	9

Nota: Cuatro cepas C1, C4, C23 y C35 mostraron un mayor crecimiento y fueron seleccionadas

para los tratamientos en terrarios.

Tabla 17*Crecimiento (cm) de Cepas Fúngicas Seleccionadas en Agar MMI con 0% de Diésel B5*

CÓDIGO DE CEPAS	PORC (%) DIESEL B5/ Placa 20 ml	D INICIAL (Cm) 00 hr	diametro (Cm)/24 Horas				
			24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr
C1	0%	0,5	3,1	6,5	9	9	9
C1	0%	0,5	2,9	6,5	9	9	9
C1	0%	0,5	3,1	6,5	9	9	9
C4	0%	0,5	3,1	5,2	7,2	9	9
C4	0%	0,5	3	4,9	7,2	9	9
C4	0%	0,5	3	5,1	7,6	9	9
C14	0%	0,5	1,3	1,9	2,5	3,1	3,6
C14	0%	0,5	1,1	2,2	2,7	3,2	3,9
C14	0%	0,5	1,3	1,8	2,4	2,8	3,2
C19	0%	0,5	1,6	2	2,5	2,9	2,9
C19	0%	0,5	1,7	2,1	2,7	3	3,5
C19	0%	0,5	1,6	2	2,9	2,9	3,3
C23	0%	0,5	3,6	7,8	9	9	9
C23	0%	0,5	3,9	7,5	9	9	9
C23	0%	0,5	3,7	7,7	9	9	9
C30	0%	0,5	1,4	2,2	3	3,5	4,1
C30	0%	0,5	1,4	1,9	2,5	3	3,4
C30	0%	0,5	1,5	2	2,6	3,1	3,7
C35	0%	0,5	3	4,5	7	9	9
C35	0%	0,5	2,8	4,3	7	9	9
C35	0%	0,5	2,7	4,3	7	9	9

Tabla 18

Resultados del Análisis de Efectos Intra-Sujetos para el Crecimiento a lo Largo del Tiempo en Función de las Cepas y el Porcentaje de Diésel B5.

Medida: CRECIMIENTO										
Origen		Tipo III de suma de cuadrados		Media cuadrática		Eta parcial		Parámetro al sin centralidad		Potencia observada ^a
		gl		F	Sig.	cuadrado				
DIAS	Esfericidad asumida	1316,618	4	329,154	12547,75	,000	,996	50191,018		1,000
	Greenhouse-Geisser	1316,618	3,157	417,007	12547,75	,000	,996	39617,095		1,000
	Huynh-Feldt	1316,618	4,000	329,154	12547,75	,000	,996	50191,018		1,000
	Límite inferior	1316,618	1,000	1316,618	12547,75	,000	,996	12547,754		1,000
DIAS * cepas	Esfericidad asumida	355,903	24	14,829	565,310	,000	,984	13567,441		1,000
	Greenhouse-Geisser	355,903	18,944	18,787	565,310	,000	,984	10709,139		1,000
	Huynh-Feldt	355,903	24,000	14,829	565,310	,000	,984	13567,441		1,000
	Límite inferior	355,903	6,000	59,317	565,310	,000	,984	3391,860		1,000
DIAS * diesel	Esfericidad asumida	17,454	12	1,455	55,448	,000	,748	665,376		1,000
	Greenhouse-Geisser	17,454	9,472	1,843	55,448	,000	,748	525,199		1,000
	Huynh-Feldt	17,454	12,000	1,455	55,448	,000	,748	665,376		1,000
	Límite inferior	17,454	3,000	5,818	55,448	,000	,748	166,344		1,000
DIAS * cepas * diesel	Esfericidad asumida	67,417	72	,936	35,695	,000	,920	2570,006		1,000
	Greenhouse-Geisser	67,417	56,832	1,186	35,695	,000	,920	2028,573		1,000
	Huynh-Feldt	67,417	72,000	,936	35,695	,000	,920	2570,006		1,000
	Límite inferior	67,417	18,000	3,745	35,695	,000	,920	642,501		1,000
Error(DIAS)	Esfericidad asumida	5,876	224	,026						
	Greenhouse-Geisser	5,876	176,809	,033						
	Huynh-Feldt	5,876	224,000	,026						
	Límite inferior	5,876	56,000	,105						

a. Se ha calculado utilizando alpha = ,05

Tabla 19

Resultados del Análisis de Efectos Intersujetos para el Crecimiento en Función de las Cepas y el Porcentaje de Diésel B5

Medida: CRECIMIENTO

Variable transformada: Promedio

Origen	Tipo III de		Media		Parámetro			
	suma de	gl	cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado	sin centralidad	Potencia observada ^a
Intersección	9077,730	1	9077,730	76744,097	,000	,999	76744,097	1,000
cepas	1906,530	6	317,755	2686,335	,000	,997	16118,010	1,000
diesel	51,710	3	17,237	145,720	,000	,886	437,160	1,000
cepas * diesel	115,858	18	6,437	54,415	,000	,946	979,472	1,000
Error	6,624	56	,118					

a. Se ha calculado utilizando alpha = ,05

Tabla 20*Tolerancia de Trichoderma sp1 (Cepa C1) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.*

Cepa	% de Diésel B5	Crecimiento						Tolerancia				
		INICIO 00 Hr	Crecimiento					Tolerancia				
			24hr	48hr	72hr	96hr	120hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr
Control	0%	0,5	3,03	6,5	9	9	9	100%	100%	100%	100%	100%
C1	5%	0,5	1,7	4,73	8,07	9	9	56,11%	72,77%	89,67%	100,0%	100,0%
C1	10%	0,5	2,23	6,17	9	9	9	73,60%	94,92%	100,0%	100,0%	100,0%
C1	15%	0,5	1,73	5,83	9	9	9	57,10%	89,69%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 21*Tolerancia de Mortierella sp1 (Cepa C4) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.*

Código de Cepa	% de Diésel B5	INICIO 00 Hr	Horas					Tolerancia				
			24	48	72	96	120	Tolerancia				
			hr	hr	hr	hr	hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr
Control	0%	0.5 cm	3,03	5,07	7,33	9	9	100%	100%	100%	100%	100%
C4	5%	0.5 cm	1,33	4	7,03	9	9	43,89%	78,90%	95,91%	100,0%	100,0%
C4	10%	0.5 cm	1,53	4,53	7,57	9	9	50,50%	89,35%	103,27%	100,0%	100,0%
C4	15%	0.5 cm	1,97	2,6	2,77	2,97	3,83	65,02%	51,28%	37,79%	33,00%	42,56%

Tabla 22

Tolerancia de Fusarium sp1 (Cepa C14) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.

a												
Cepa	% de	INICIO	Crecimiento						Tolerancia			
	Diésel		_____									
			B5	00 Hr	24hr	48hr	72hr	96hr	120hr	24 hr	48 hr	72 hr
Control	0%	0.5 cm	1,23	1,97	2,53	3,03	3,57	100%	100%	100%	100%	100%
C14	5%	0.5 cm	0,97	1,83	2,43	2,97	3,13	78,86%	92,89%	96,05%	98,02%	87,68%
C14	10%	0.5 cm	0,9	1,7	2,23	2,73	3,17	73,17%	86,29%	88,14%	90,10%	88,80%
C14	15%	0.5 cm	0,83	1,57	1,93	2,6	3	67,48%	79,70%	76,28%	85,81%	84,03%

Tabla 23

Tolerancia de Fusarium sp2 (Cepa C19) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.

Código de Cepa	% de Diésel B5	INICIO 00 Hr	Crecimiento						Tolerancia			
			24hr	48hr	72hr	96hr	120hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr
Control	0%	0.5 cm	1,63	2,03	2,7	2,93	3,23	100%	100%	100%	100%	100%
C19	5%	0.5 cm	0,87	1,57	2,23	2,7	3,13	53,37%	77,34%	82,59%	92,15%	96,90%
C19	10%	0.5 cm	0,97	1,8	2,37	2,73	3,13	59,51%	88,67%	87,78%	93,17%	96,90%
C19	15%	0.5 cm	0,9	1,63	2	2,6	2,97	55,21%	80,30%	74,07%	88,74%	91,95%

Tabla 24

Tolerancia de Trichoderma sp2 (Cepa C23) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.

Cepa	% de Diésel B5	INIC IO 00 Hr	Crecimiento					Tolerancia				
			24hr	48hr	72hr	96hr	120hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr
Control	0%	0.5	3,73	7,67	9	9	9	100%	100%	100%	100%	100%
C23	5%	0.5	1,8	5,13	8,1	9	9	48,26%	66,88%	90,00%	100,0%	100,0%
C23	10%	0.5	1,87	5,6	9	9	9	50,13%	73,01%	100,0%	100,0%	100,0%
C23	15%	0.5	1,7	5,5	9	9	9	45,58%	71,71%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 25*Tolerancia de Fusarium sp3 (Cepa C30) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5.*

Código de Cepa	% de Diésel B5	INICIO 00 Hr	Crecimiento						Tolerancia			
			24hr	48hr	72hr	96hr	120hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr
Control	0%	0.5 cm	1,43	2,03	2,7	3,2	3,73	100%	100%	100%	100%	100%
C30	5%	0.5 cm	0,77	1,57	2,53	3,33	3,67	53,85%	77,34%	93,70%	104,06%	98,39%
C30	10%	0.5 cm	0,9	1,8	2,4	2,9	3,4	62,94%	88,67%	88,89%	90,63%	91,15%
C30	15%	0.5 cm	0,93	1,6	2	2,6	3,1	65,03%	78,82%	74,07%	81,25%	83,11%

Tabla 26*Tolerancia de Mortierella sp2 (Cepa C19) a Diferentes Concentraciones de Diésel B5*

Cepa	% de Diése l B5	INIC IO 00 Hr	Crecimiento						Tolerancia			
			24hr	48hr	72hr	96hr	120 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr
Control	0%	0.5	2,83	4,37	7	9	9	100%	100%	100%	100%	100%
C35	5%	0.5	1,63	4,37	6,77	8,53	9	57,60%	100,0%	96,71%	94,78%	100,0%
C35	10%	0.5	2,03	5,1	8,03	9	9	71,73%	116,7%	114,7%	100,0%	100,0%
C35	15%	0.5	1,77	4,63	7,23	9	9	62,54%	105,9%	103,2%	100,0%	100,0%
C35	20%	0.5	0,7	1,4	4,43	7,47	9	24,73%	32,04%	63,29%	83,00%	100,0%

Tabla 27

Resultados de las Pruebas de Efectos Intr Sujetos para la Tolerancia al Diésel B5 a lo Largo del Tiempo en Función de las Cepas y el Porcentaje de Diésel.

Medida: TOLERANCIA

Origen		Tipo III de suma de cuadrados gl		Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro sin centralidad	Potencia observada ^a
DIAS	Esfericidad asumida	3,813	4	,953	368,985	,000	,868	1475,941	1,000
	Greenhouse-Geisser	3,813	2,356	1,618	368,985	,000	,868	869,430	1,000
	Huynh-Feldt	3,813	3,652	1,044	368,985	,000	,868	1347,673	1,000
	Límite inferior	3,813	1,000	3,813	368,985	,000	,868	368,985	1,000
DIAS * cepas	Esfericidad asumida	,745	24	,031	12,008	,000	,563	288,202	1,000
	Greenhouse-Geisser	,745	14,138	,053	12,008	,000	,563	169,771	1,000
	Huynh-Feldt	,745	21,914	,034	12,008	,000	,563	263,155	1,000
	Límite inferior	,745	6,000	,124	12,008	,000	,563	72,050	1,000
DIAS * diesel	Esfericidad asumida	1,599	12	,133	51,571	,000	,734	618,852	1,000
	Greenhouse-Geisser	1,599	7,069	,226	51,571	,000	,734	364,546	1,000
	Huynh-Feldt	1,599	10,957	,146	51,571	,000	,734	565,070	1,000
	Límite inferior	1,599	3,000	,533	51,571	,000	,734	154,713	1,000
DIAS * cepas * diesel	Esfericidad asumida	1,264	72	,018	6,796	,000	,686	489,340	1,000
	Greenhouse-Geisser	1,264	42,413	,030	6,796	,000	,686	288,255	1,000
	Huynh-Feldt	1,264	65,743	,019	6,796	,000	,686	446,814	1,000
	Límite inferior	1,264	18,000	,070	6,796	,000	,686	122,335	1,000
Error(DIAS)	Esfericidad asumida	,579	224	,003					
	Greenhouse-Geisser	,579	131,951	,004					
	Huynh-Feldt	,579	204,533	,003					
	Límite inferior	,579	56,000	,010					

a. Se ha calculado utilizando alpha = ,05

Tabla 28

Resultados del Análisis de Efectos Inter-Sujetos para la Tolerancia al Diésel B5 en Función de las Cepas y el Porcentaje de Diésel

Medida: TOLERANCIA

Variable transformada: Promedio

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro sin centralidad	Potencia observada ^a
Intersección	325,424	1	325,424	31700,086	,000	,998	31700,086	1,000
cepas	,960	6	,160	15,587	,000	,625	93,525	1,000
diesel	2,631	3	,877	85,443	,000	,821	256,329	1,000
cepas * diesel	1,743	18	,097	9,430	,000	,752	169,742	1,000
Error	,575	56	,010					

a. Se ha calculado utilizando alpha = ,05

Tabla 29*Prueba de Normalidad del Porcentaje de Degradación de Diésel B5*

Pruebas de normalidad				
Shapiro-Wilk				
	Tratamiento	Estadístico	gl	Sig.
Porcentaje_degradación	Ri	,998	3	,921
	C1	1,000	3	,967
	C23	,773	3	,052
	C35	,886	3	,343
	Consorcio	,996	3	,886

a. Corrección de significación de Lilliefors

Tabla 30

Prueba de ANOVA para el Porcentaje de Degradación de Diésel B5 por Tratamiento

ANOVA					
Porcentaje_degradación					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1267,236	4	316,809	24,390	,000
Dentro de grupos	129,893	10	12,989		
Total	1397,129	14			

Tabla 31*pH promedio semanal de las cepas Durante el Ensayo de Degradación*

CONTROL	CEPA 1	CEPA 23	CEPA 35	CONSORCIO
8,4	7,68	8,11	8,11	8,06
8,31	8,03	7,98	8,36	8,11
8,154	8,02	7,92	7,86	7,75
8,01	7,4	7,37	7,3	7,33
8,2	8,015	7,95	7,94	8,09
8,24	8,27	8,429	8,44	8,24
8,001	8,17	8,22	8,39	8,22
8,25	8,41	8,34	8,29	8,22
8,34	8,14	8,18	8,15	8,15
8,44	8,38	8,06	8,38	8,34
8,038	8,026	7,6	7,81	7,95
8,016	7,994	7,898	8,123	7,949
7,88	8,104	8,073	7,993	7,925
8,25	8,305	8,24	8,23	8,01
PROMEDIO 8,1937	8,0674	8,0264	8,0982	8,0245

Tabla 32*Humedad promedio semanal de las cepas Durante el Ensayo de Degradación*

HUMEDAD DE CEPAS				
CONTROL	CEPA1	CEPA23	CEPA 35	CONSORCIO
23,0%	42,6%	41,0%	45,4%	42,2%
53,7%	54,4%	54,5%	54,6%	54,3%
42,8%	58,5%	53,6%	55,0%	60,0%
43,5%	53,0%	55,4%	55,7%	54,9%
45,9%	53,3%	53,9%	57,9%	58,7%
49,5%	55,6%	55,5%	56,4%	64,3%
46,7%	51,3%	51,0%	53,7%	59,8%
42,2%	49,1%	44,9%	53,4%	56,3%
52,9%	49,0%	50,0%	56,9%	56,7%
47,9%	47,0%	44,0%	50,6%	51,7%
53,0%	53,1%	63,3%	79,6%	79,6%
47,3%	44,0%	46,2%	45,5%	46,2%
48,2%	46,1%	49,1%	50,5%	47,3%
49,3%	47,0%	52,3%	57,3%	55,8%
PROMEDIO 46,1%	50,3%	51,0%	55,2%	56,3%

ANEXO 02

FIGURAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DE LA IDENTIFICACIÓN DE LAS CEPAS DE HONGOS

Figura 6

Vista macroscópica y microscópica del género Trichoderma sp1

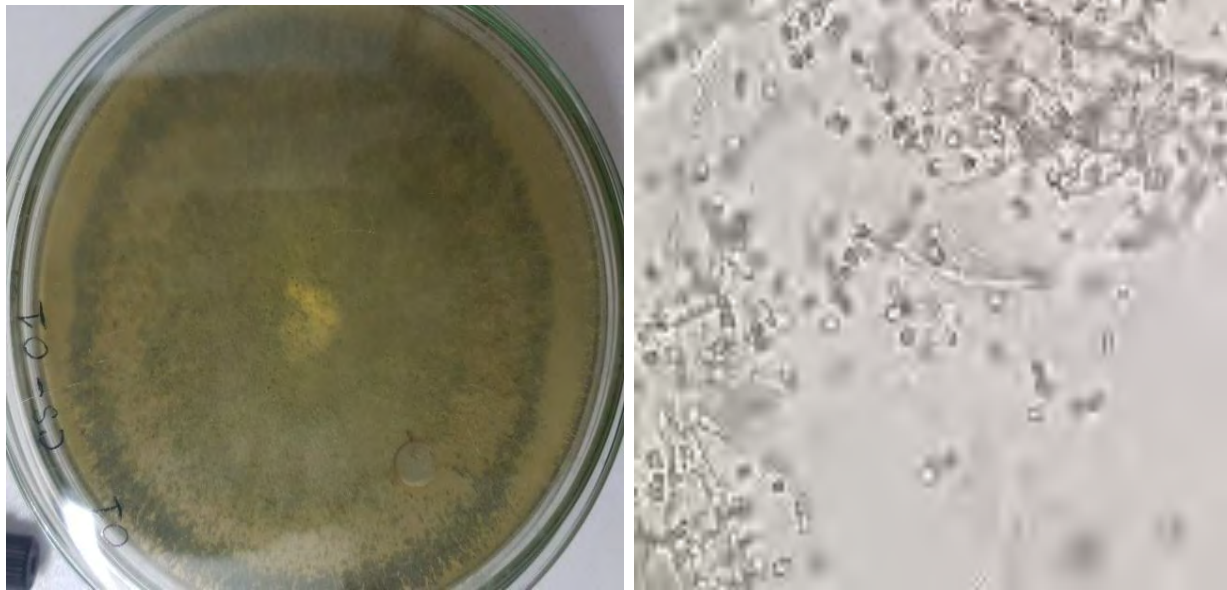


Figura 7

Vista macroscópica y microscópica del género Mortierella sp1

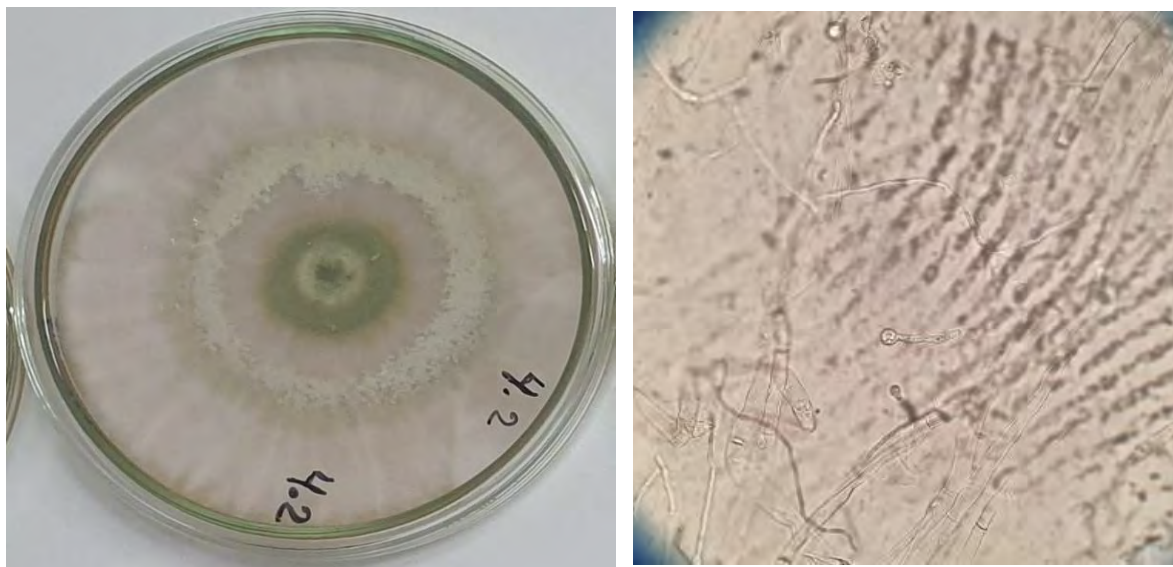


Figura 8

Vista macroscópica y microscópica del género Fusarium sp1

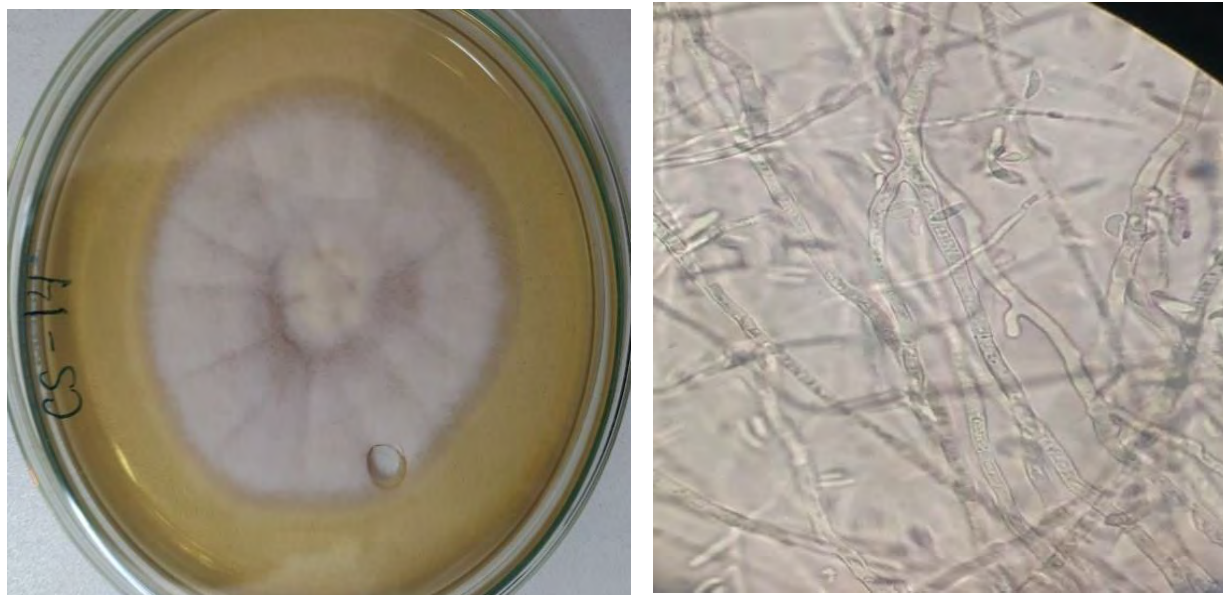


Figura 9

Vista macroscópica y microscópica del género Fusarium sp2

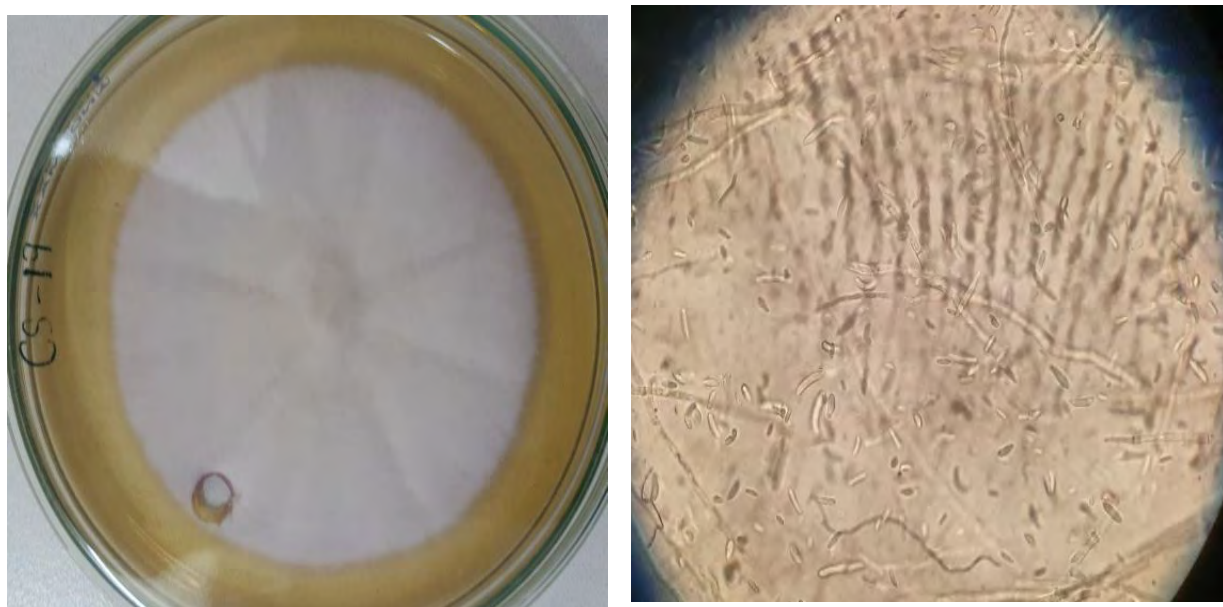


Figura 10

Vista macroscópica y microscópica del género Trichoderma sp2

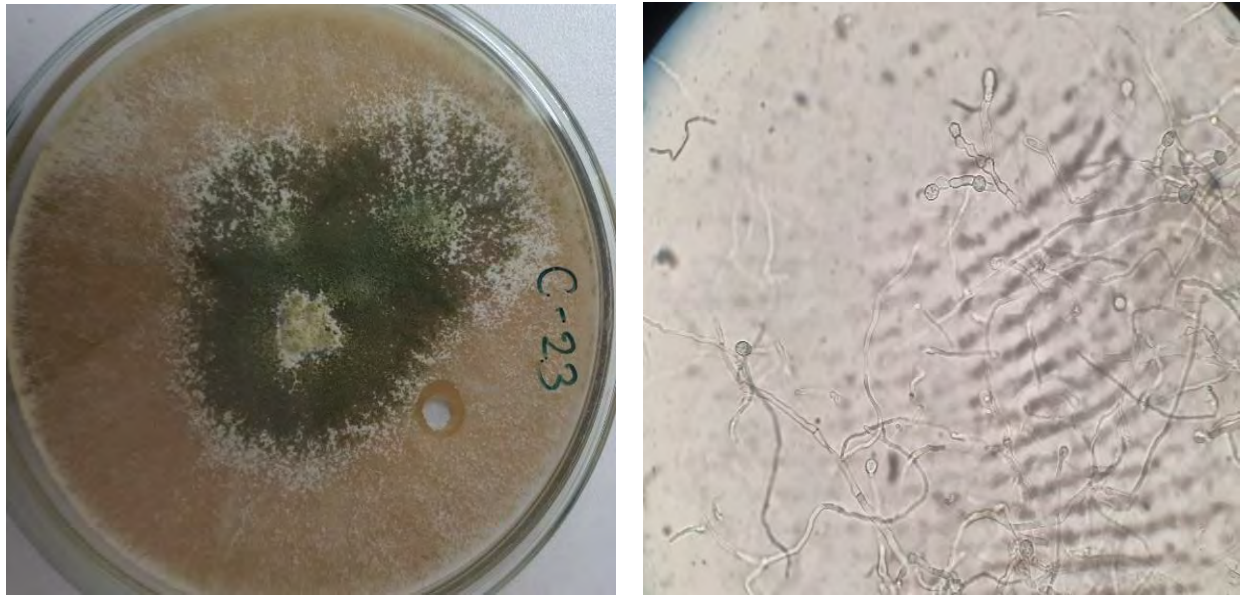


Figura 11

Vista macroscópica y microscópica del género Chaetomium



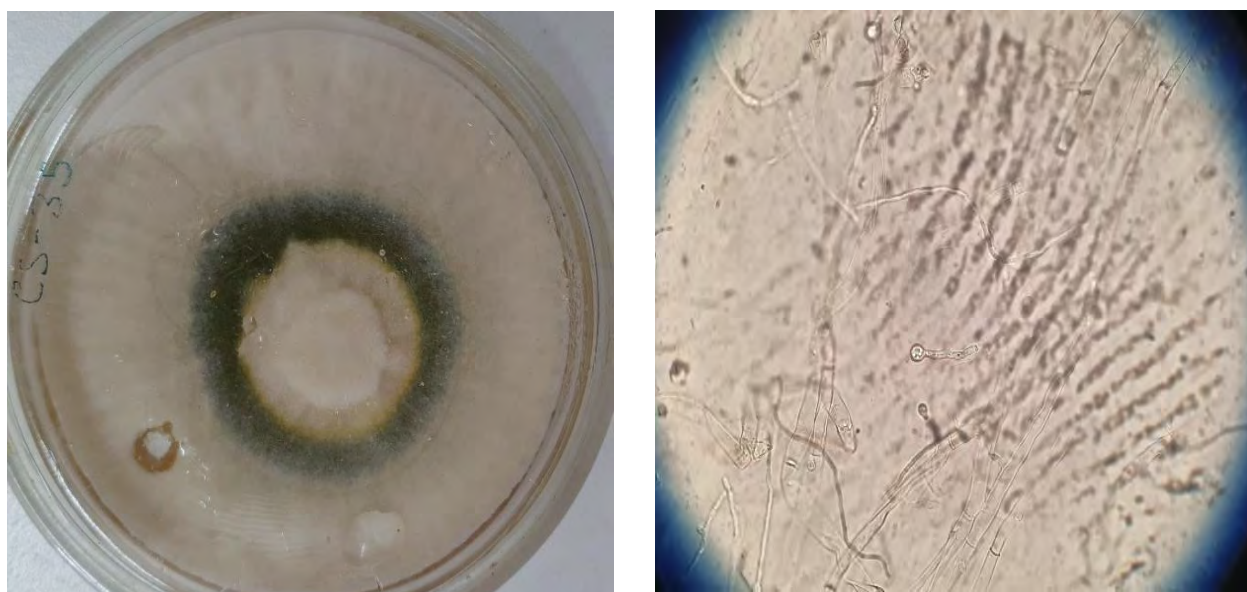
Figura 12

Vista macroscópica y microscópica del género Fusarium sp3



Figura 13

Vista macroscópica y microscópica del género Mortierella sp2



ANEXO 03

RESULTADOS DEL ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LA MUESTRA PROVENIENTE DE LABRANZA.



Lab. Catálisis y Absorbentes
Área de Físicoquímica.
Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME 007-2022/Lab. Catálisis y Adsorbentes-UNSAAC.

Solicitante : Bach. Ninfa Montoya Quispe
Tesis : "Eficiencia de Degradación del Diésel B5 por hongos aislados de suelos contaminados con hidrocarburos"
Nombre de la Muestra : Muestra de Suelos de labranza
Tipo de Análisis : Análisis Físicoquímico
Inicio de Análisis : 15/06/2022
Término de Análisis : 18/06/2022

RESULTADOS :

pH	7.7	
Conductividad	1043 μ S/cm	
Materia orgánica	4.89 %	
Potasio	112 mg/kg	
Fósforo	17 mg/kg	
Nitrógeno (nitratos)	11 mg/kg	
Calcio	523 mg/kg	
Magnesio	44 mg/kg	
Temperatura	19.2 °C	
Textura	Arcilla 16.6 %	Franco
	Limo 33.3 %	
	Arena 50.0 %	

De los resultados del que se da constancia.



RESULTADOS DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETROLEO A LOS 0 DÍAS



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1801037-2024 CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-02-23
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-02-23 AL 2024-03-06
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-02-19
MUESTREADO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.9	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Suelo
Matriz analizada	Suelo
Fecha de muestreo	2024-02-19
Hora de inicio de muestreo (h)	16:00
Condiciones de la muestra	Conservada
Código del Cliente	M-0
Código del Laboratorio	24021240
ENSAYOS ACREDITADOS ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)	
Ensayo	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg
Resultados	134312.3

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Resultados de campo proporcionados por el cliente		
Parámetro	Unidades	M-0
**Temperatura	°C	20
**Humedad	%	50

**Resultados proporcionados por el cliente, no forman parte del alcance de la acreditación INACAL-DA.

Lima, 07 de Marzo del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe

DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

Cod. FI 002 / Versión: 11 / FE: 06/2023

Este informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/mulvo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento solo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perechibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: 'firma válida', de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Maito de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima.

• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

RESULTADOS DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETROLEO A LOS 90 DÍAS



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1803919-2024 CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS RUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREADO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	LC	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.9	mg/kg

LC: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	08:23	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	RI-1	
Código del Laboratorio	24051633	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo-TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	116045.9

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe
DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

Este informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/multio de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al periodo de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: "Validez de firma: firma válida", de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: labanaliticos@sggperu.com si su informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ricos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clarinda María de Teller N° 2029 Urb. Chacra Ricos Norte - Lima.

• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804712-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hydrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007	1.9	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	08:30	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	Ri-2	
Código del Laboratorio	24051634	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hydrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	118103.6

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe
DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

Cod. FI 002 / Versión: 11/FE - 06/2023

Este Informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/multio de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente Informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al periodo de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: "firma válida", de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Turiel N° 2079 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima
• Central telefónica: (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1

EXPERTS
WORKING
FOR YOU



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804713-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hydrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007	1.9	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	08:37	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	Ri-3	
Código del Laboratorio	24051635	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hydrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	114339.5

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe

DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

Este Informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/multio de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente Informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al periodo de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: "firma válida", de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Turiel N° 2079 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima

• Central telefónica: (511) 425-8885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804714-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREADO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.9	mg/kg

L.C.: Límite de cuantificación.

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	08:41	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	CI-1	
Código del Laboratorio	24051636	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	87576.4

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe

DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

Este informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/multio de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: firma válida, de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima.

• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804715-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007	1.9	mg/kg

L.C.: Límite de cuantificación.

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	08:45	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	C1-2	
Código del Laboratorio	24051637	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	85228.5

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe
DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

Este informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/multio de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: firma válida, de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima.

• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804716-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREADO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007	1.9	mg/kg

L.C.: Límite de cuantificación.

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	08:49	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	CI-3	
Código del Laboratorio	24051638	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	89778.1

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe

DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

Este Informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/multio de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente Informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: firma válida, de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su Informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima.

• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804717-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007	1.9	mg/kg

L.C.: Límite de cuantificación.

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	08:53	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	C23-1	
Código del Laboratorio	24051639	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	87150.6

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe

DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

Este informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/multio de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: firma válida, de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima.

• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804718-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREADO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007	1.9	mg/kg

L.C.: Límite de cuantificación.

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	08:56	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	C23-2	
Código del Laboratorio	24051640	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	87037.9

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALÍTICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe

DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

Este informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/multio de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: firma válida, de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima.

• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804719-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREADO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007	1.9	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado		Suelo
Fecha de muestreo		2024-05-27
Hora de inicio de muestreo (h)		08:59
Condiciones de la muestra		Conservada
Código del Cliente		C23-3
Código del Laboratorio		24051641
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	82853.4

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe

DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

Este Informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/mutuo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras retenidas en el presente Informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al periodo de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: "firma válida", de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Tuma N° 2029 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima
• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804720-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hydrocarbons totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.9	mg/kg

L.C.: Límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	09:02	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	C35-1	
Código del Laboratorio	24051642	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hydrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	98733.3

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe
DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

Cod. FI 002 / Versión: 11/FE.: 06/2023

Este informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/muluo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: firma válida, de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ritos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ritos Norte - Lima.

• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

EXPERTS
WORKING
FOR YOU



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804721-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREADO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIO.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.9	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	09:05	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	C35-2	
Código del Laboratorio	24051643	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	83132.8

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe

DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

Cod. FI 002 / Versión: 11 / FE.: 06/2023

Este Informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/muluo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente Informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: firma válida, de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima.

• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

EXPERTS
WORKING
FOR YOU



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804722-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007	1.9	mg/kg

L.C.: Límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	09:07	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	C35-3	
Código del Laboratorio	24051644	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	86103.6

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe

DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

Este Informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/muluo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente Informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: firma válida, de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su Informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ritos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ritos Norte - Lima.

• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804723-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.9	mg/kg

L.C.: Límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	09:10	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	Ccs-1	
Código del Laboratorio	24051645	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	75387.6

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe

DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

Este Informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/multio de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente Informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: firma válida, de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su Informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ritos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ritos Norte - Lima.

• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 1804724-2024
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : MONTOYA QUISPE NINFA
DOMICILIO LEGAL : LAS ÑUSTAS N°11 - CUSCO - CUSCO - CUSCO
SOLICITADO POR : MONTOYA QUISPE NINFA
REFERENCIA : TESIS DE INVESTIGACIÓN
PROCEDENCIA : CUSCO
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2024-05-28
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2024-05-28 AL 2024-06-10
FECHA(S) DE MUESTREO : 2024-05-27
MUESTREO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.9	mg/kg

L.C.: Límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	
Fecha de muestreo	2024-05-27	
Hora de inicio de muestreo (h)	09:13	
Condiciones de la muestra	Conservada	
Código del Cliente	Cca-2	
Código del Laboratorio	24051646	
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)		
Ensayo	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₄₀)	mg/kg	87057.3

Resultados de Suelo reportados en base seca.

Lima, 24 de Junio del 2024.

ING. TELLO PAUCAR
MARILU
SERVICIOS ANALITICOS
GENERALES SAC
Firmado con www.tocapu.pe

DIRECTOR TÉCNICO DE LABORATORIO

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

Este informe de ensayo al estar en el marco de la acreditación del INACAL - DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/multio de los miembros firmantes de IAAC e ILAC.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego será eliminadas.

IMPORTANTE: • Este documento fue emitido con firma electrónica de valor legal en formato PDF. Debe solicitar su documento electrónico para verificar la autenticidad. Puedes comprobar la validez del mismo haciendo clic sobre la firma, saldrá un aviso: Validez de firma: firma válida, de no validarse el documento es falso. Notifique al correo: laboratorio@sagperu.com si su informe ha sido adulterado.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: INACAL-DA (Sede Lima 1): Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y INACAL-DA (Sede Lima 2): Pasaje Clorinda Matto de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima.

• Central telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1

ANEXO 04

1. TOMA DE MUESTRA DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS DEL TALLER MECÁNICO 1 DE SAN SEBASTIAN, PARA EL AISLAMIENTO DE HONGOS MICROSCÓPICOS.



2. TOMA DE MUESTRA DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS DEL TALLER MECÁNICO 2 DE SAN SEBASTIÁN, PARA EL AISLAMIENTO DE HONGOS MICROSCÓPICOS.



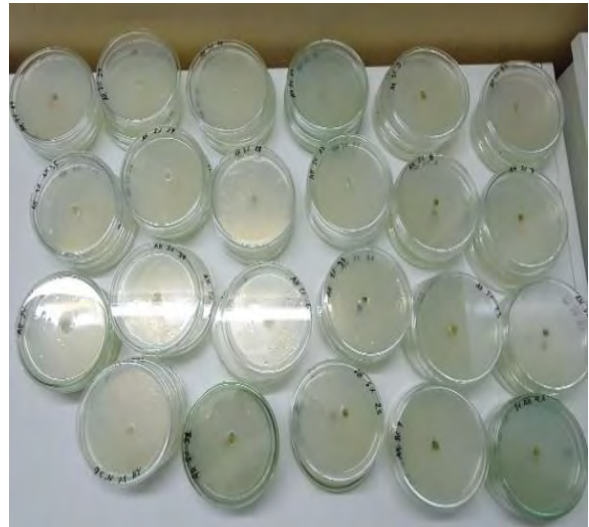
3. PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO PARA EL AISLAMIENTO DE HONGOS MICROSCÓPICOS



4. AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE LAS CEPAS DE HONGOS, PROVENIENTES DE TALLERES MECÁNICOS.



5. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO MMI SUPLEMENTADO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE DIÉSEL B5 PARA LA SIEMBRA DE LAS CEPAS DE HONGOS AISLADOS.



6. Evaluación Del Crecimiento De Las Cepas De Hongos A Diferentes Concentraciones De Diesel B5.



7. Preparación Del Inóculo Para Incorporar En Los Terrarios.



8. Pre Tratamiento Del Suelo De Labranza, Secado, Esterilizado Y Tamizado.



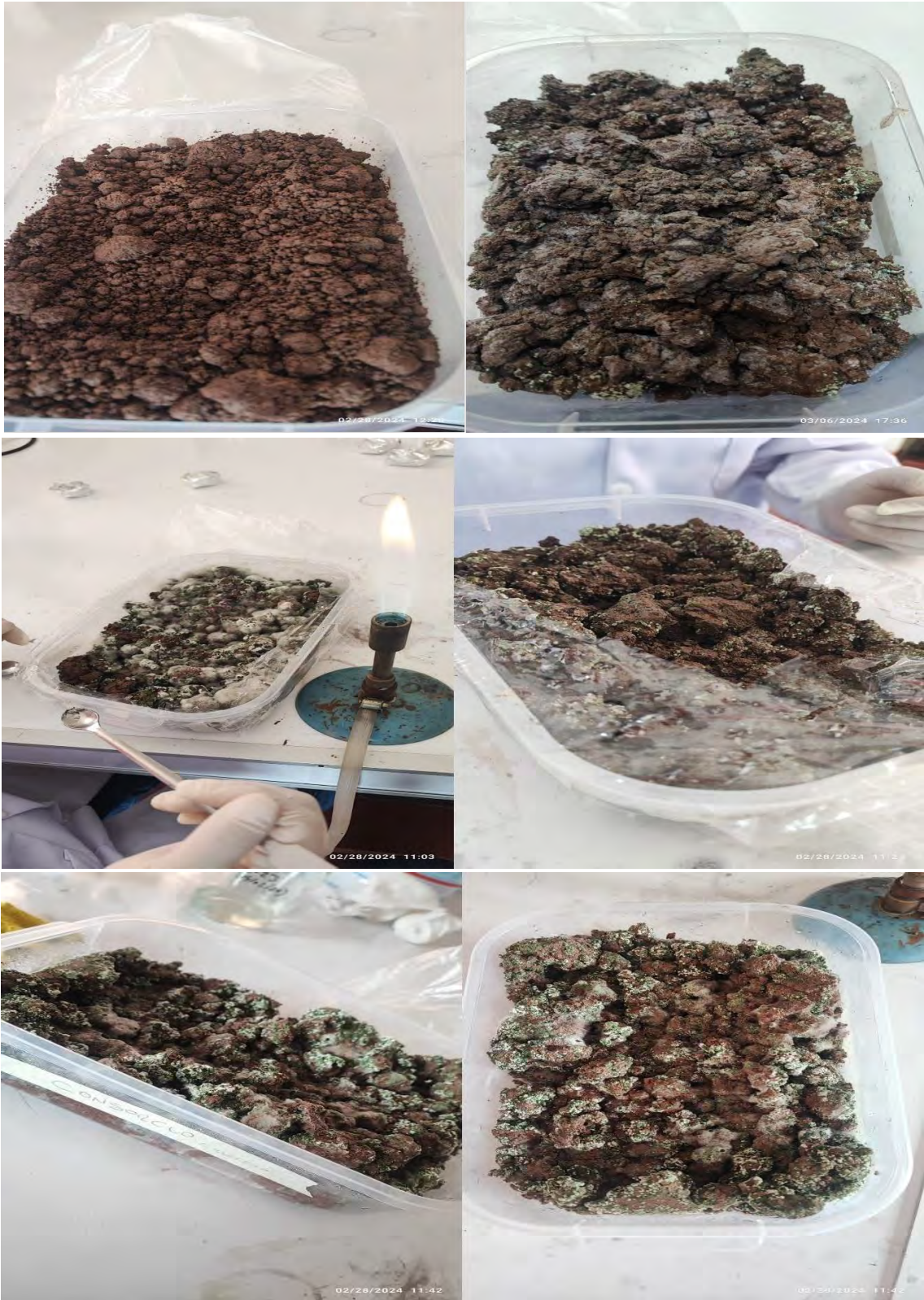
9. Incorporación de diésel B5 al suelo previamente tratado.



10. Medición de humedad y pH. A las muestras incubadas, semanalmente por 3 meses.



11. Monitoreo de los terrarios.



**12. ENVÍO DE MUESTRAS DE LOS TERRARIOS EXPERIMENTALES EN
CADENA DE FRÍO AL LABORATORIO SAG SERVICIOS ANALÍTICOS
GENERALES – LIMA.**



Tabla 33*Preparación de agar Medio Mínimo Mineral con diésel B5*

MEDIO MINIMO MINERAL	
Sales Minerales	Cantidad
CaCL(Cloruro de Calcio)	0.1 g
KCl (Cloruro de Potasio)	0.5 gr
KH ₂ PO ₄ (Fosfato diacodo de Potasio)	1 gr
(NH ₄) ₂ SO ₄ (Sulfato de Amonio)	0.5 gr
MgSO ₄ * H ₂ O (Sulfato de Magnesio Hepta-hidratado)	0.2 gr
Agar- Agar	18 gr
Agua destilada	1000ml
Diésel B5 al 2%	20 ml

Preparación: Primero, se preparó el medio mineral mínimo (MMI) mediante la adición de las sales previamente mencionadas, de acuerdo con las concentraciones establecidas. Los componentes fueron mezclados y agitados vigorosamente hasta obtener una preparación homogénea. Posteriormente, el medio fue sometido a esterilización en autoclave durante 20 minutos a 121 °C y 1 atm de presión, con la finalidad de eliminar posibles microorganismos contaminantes.

Una vez finalizado el proceso de esterilización, se procedió al plaqueo del medio. Durante esta etapa, se incorporó diésel B5 a cada placa hasta alcanzar una concentración final

del 2 %, considerando un volumen final de 20 mL por placa. De esta manera, se obtuvo el medio MMI suplementado con diésel B5, listo para su posterior utilización en el ensayo.