



The Biologist (Lima)



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

BIOREMEDIATOR EFFECT OF FILAMENTOUS FUNGI OF *CITRUS X SINENSIS* IN SOIL CONTAMINATED WITH GASOLINE


EFFECTO BIORREMEDIADOR DE LOS HONGOS FILAMENTOSOS DE *CITRUS X SINENSIS* EN SUELO CONTAMINADO CON GASOLINA


Angela Cánepa-Carbajal^{1*}, Camila de la Cruz¹ & César Lozano-Lévano¹

¹ Laboratorio de Microbiología. Empresa NINDECYT. Lima, Perú.

* Corresponding author: nindecyt@gmail.com / acanepa2@gmail.com

Angela Cánepa-Carbajal:  <https://orcid.org/0000-0003-1165-1637>

Camila de la Cruz-Leytón:  <https://orcid.org/0000-0003-4955-0639>

César Lozano-Lévano:  <https://orcid.org/0000-0002-5275-538X>

ABSTRACT

Hydrocarbon contamination is one of the main causes of infertility in areas, leaving very critical levels for the ecosystem, reaching the point of being considered as one of the most concurrent problems due to the uncontrolled management of these by the industrial and productive sectors. That is why new strategies have been formulated as a more reliable alternative in situations of response to hydrocarbon spills, with bioremediation with fungi and bacteria being the most efficient strategy. That is why this study aimed to determine the bioremediation effect of filamentous fungi (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Geotrichum*, and *Rhizopus*) in soil contaminated with 90 octane gasoline (Petroil Gasolina Premium). For this study, 6 kg of soil contaminated with 50 mL, 150 mL, and 300 mL of 90 octane gasoline was used, along with four treatments X1 (*Penicillium*, *Geotrichum*, and *Rhizopus*), X2 (*Aspergillus*, and *Penicillium*), X3 (*Penicillium*, and *Geotrichum*) and X4 (*Penicillium*), said fungi were isolated from the fruit *Citrus x sinensis* (L.) Osbeck, 1765, and grown on wheat, rice, CPD, and Wheat + *Penicillium* media respectively. 500 mg of each consortium was inoculated to the treatments and then 250 g of already inoculated contaminated soil was dispersed to form the specimens. At 25 days after inoculation, the final quantity of hydrocarbons in the collected soil was established, determining that the four treatments act as bioremediators, with the average bioremediation of treatment X1 being 43.61%, X2 34.65%, X3 57.23% and X4 55.71%; treatment X3 being the most effective, but X4M3 had the highest percentage of all treatments with 72.06%. Thus, it was concluded that treatment with filamentous fungi *Citrus x sinensis* does have a bioremedial action in soils contaminated with gasoline.

Keywords: Bioremediation – contaminated soil – consortium of filamentous fungi

Este artículo es publicado por la revista *The Biologist (Lima)* de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original.

DOI: <https://doi.org/10.62430/rtb20242221824>



RESUMEN

La contaminación por hidrocarburos es una de las principales causas de la infertilidad de áreas, dejando niveles muy críticos para el ecosistema, llegando a considerarse como uno de los problemas más concurrentes por el incontrolado manejo de estos de parte del sector industrial y productivo. Es por ello que se han formulado nuevas estrategias como una alternativa más confiable en situaciones de respuesta a derrames de hidrocarburos, siendo la biorremediación con hongos y bacterias la estrategia más eficiente. Es por ello por lo que en este estudio tuvo como objetivo determinar el efecto biorremediador de los hongos filamentosos (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Geotrichum*, y *Rhizopus*) en el suelo contaminado con Gasolina de 90 octanos (Petroil Gasolina Premiun). Para este estudio se usó 6 kg de suelo contaminado con 50 mL, 150 mL y 300 mL de gasolina de 90 octanos, junto con cuatro tratamientos X1 (*Penicillium*, *Geotrichum* y, *Rhizopus*), X2 (*Aspergillus*, *Penicillium*), X3 (*Penicillium*, y *Geotrichum*) y X4 (*Penicillium*), dichos hongos fueron aislados de la fruta *Citrus x sinensis* (L.) Osbeck, 1765 y cultivados en medio de trigo, arroz, CPD y Trigo + *Penicillium* respectivamente. Se inocularon 500 mg de cada consorcio a los tratamientos y luego se dispersó 250 g de suelo contaminado ya inoculado formando los ejemplares. A los 25 días de inoculado, se estableció la cantidad de hidrocarburos finales del suelo recolectado, determinando que los cuatro tratamientos actúan como biorremediadores, siendo el promedio de biorremediación del tratamiento X1 con 43,61%, el X2 con 34,65%, el X3 con 57,23% y el X4 con 55,71%; siendo el tratamiento X3 el más eficaz, pero el X4M3 tuvo el mayor porcentaje de todos los tratamientos con 72.06%. Concluyendo así, que el tratamiento con los hongos filamentosos de *Citrus x sinensis* si presenta una acción biorremediadora en suelos contaminados con gasolina.

Palabras clave: Biorremediación – suelo contaminado – consorcio de hongos filamentosos

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el mal manejo de los hidrocarburos y pesticidas artificiales de parte del sector industrial y productivo llegan a perjudicar de manera prolongada el ambiente y su entorno (Fernández, 2018; Rodríguez *et al.*, 2019; Rodríguez & Rodríguez, 2020; Tiodar *et al.*, 2021; Melo, 2022), llevando al empobrecimiento de las zonas aledañas, generando secuelas de manera continua en el sector productivo, para que finalmente produzcan acumulaciones mayores originando variaciones en la temperatura, humedad y pH disminuyendo la riqueza de la zona agrícola, causando la infertilidad del suelo (Cerna-Apaza, 2018; Rico-Cerda *et al.*, 2020). Algunos métodos de remediación, como la incineración, han sido seriamente cuestionadas, debido a que, puede llegar a producir un efecto negativo en los cultivos y resurgimiento de la fertilidad del suelo; es por ello por lo que, algunos países han considerado nuevas estrategias de remediación utilizando organismos (Arao *et al.*, 2010; Nwankwegu & Onwosi, 2017).

A nivel del Perú aún no se han considerado la biorremediación, como principal alternativa, pero algunos científicos han elaborado proyectos con diferentes biotecnologías para mejorar y recuperar las áreas contaminadas por estas sustancias tóxicas mencionadas

anteriormente, como el uso de la remediación por atenuación natural mejorada y la bioestimulación añadiendo nutrientes o aceptor de electrones (Fernández, 2018).

Los hongos filamentosos contribuyen a la degradación de la materia orgánica por mecanismos bioquímicos y fisiológicos, permitiéndose absorber hidrocarburos y componentes esenciales por medio de sus micelios, los cuales pueden ser utilizados para procedimientos biotecnológicos con propósitos ambientales y agrícolas (Alonso, 2012; Alberti *et al.*, 2017; Manna *et al.*, 2020; Oshiquiri *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2020; Adjedje *et al.*, 2021; Delsarte *et al.*, 2021; Anzueto *et al.*, 2024).

La extracción de los hongos filamentosos de una fruta como *Citrus* se da por medio de la colecta de los frutos en estado de pudrición, las lesiones mostradas se raspan con una cuchilla para luego sembrarla en Agar Sabouraud-glucosa con cloranfenicol o estreptomycin y penicilina. Se incuban a 28°C por 15 días y se obtiene las colonias de los hongos aislados, los cuales se identifican por medio de su macro y micro morfología. Los hongos aislados son cultivados en Agar papa dextrosa para inducir a la esporulación y observar el crecimiento de los hongos (Aguirre-Carbajal & Proaño-Tuma, 2020).

Es por ello por lo que el presente estudio evalúa el efecto biorremediador de los hongos filamentosos de *Citrus x sinensis* (L.) en el suelo agrícola contaminado con gasolina de 90 octanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en las instalaciones del laboratorio de Microbiología de la empresa NINDECYT, Lima, Perú en el periodo de junio a octubre del 2022. La población del estudio se consideró el suelo agrícola del Biohuerto “Productores” (11°58'50”S 77°4'46”W), en las cuales se extrajeron de forma aleatoria 6 kg de este suelo para ser evaluadas; la gasolina usada fue adquirida del Grifo PRIMAX (11°58'38”S 77°4'40”W). Las naranjas *Citrus x sinensis* fueron obtenidas del mercado “Productores” (11°58'50”S 77°4'46”W) en las que se seleccionaron aquellas en etapa de pudrición (10 unidades). Estos tres establecimientos se encuentran en el distrito de Los Olivos, Lima, Perú.

Preparación de los medios de cultivo

Medio de cultivo CPD (Caldo Papa Dextrosa): Se hirvió tres papas amarillas sin cascara con 1L de agua potable. Luego, ½ L de agua de papa se filtró en un frasco de tapa rosca de 1L, y se agregó 10 g de dextrosa. Se autoclavó a 121°C por 20 min, luego al enfriar, se agregó 0,5 g de estreptomina (Estreptomax), para evitar que el medio se contamine con bacterias (Vargas, 2012; Vargas *et al.*, 2017).

Medio de Cultivo de semillas de trigo y arroz: Se seleccionó 125 g de semillas de trigo y 125 g de arroz, para posteriormente, enjuagar y dejar reposar 24 h. Luego se añadió 100 ml de H₂O₂ para su desinfección. Se escurrió el grano durante 2 h, se distribuyeron en dos frascos de tapa rosca de 1L y posteriormente se esterilizó a 121°C durante 20 min (Canal SporeWorld, 2021).

Medio de Cultivo de semillas de trigo y *Penicillium*: al medio de cultivo de semillas de trigo se le agregó 25 g de *Penicillium* aislado en medio Agar Sabouraud Dextrosa (SDA), para su proliferación.

Sembrado e identificación de los hongos

Se seleccionó la parte de las naranjas que se encontraban en etapa de pudrición para realizar un licuado y formar un concentrado de hongos. Luego se agregó 25 mL de dicho concentrado a cada medio de cultivo y se incubó a 25 °C por 10 a 15 días, al 6^{vo} y 12^{vo} día de incubación,

y se agitaron los granos para que el micelio se disperse. La observación e identificación de los hongos, se realizó mediante la técnica de observación directa y la técnica microscópica de la cinta adhesiva, colocando una gota de azul de lactofenol en un portaobjetos junto con 1cm² de cinta adhesiva con las esporas ya adheridas (Fernández, 2018), para luego utilizar el trabajo de Ochoa *et al.* (2007) como referencia en la identificación taxonómica.

Contaminación del suelo

Selección y Recolecta del suelo agrícola. Se seleccionó la muestra del biohuerto del mercado Productores 11°58'50”S 77°4'46”W para la cual se extrajo 6 kg (1,75kg por tratamiento) los cuales se colectaron en bolsas de 1kg.

Contaminación y Homogeneizado del suelo agrícola. Se compró gasolina comercial de 90 octanos y se distribuyó en tres diferentes concentraciones M1=50 mL, M2=150 mL y M3=300 mL rociando de manera uniforme a la muestra, y se homogeneizó por siete días con ayuda de una varilla, hasta que pueda penetrar al suelo completamente (Cerna-Apaza, 2018; Fernández, 2018).

Análisis de los parámetros fisicoquímicos pH y T°. Se utilizó un pHmetro digital (EZ-9901), para tomar la medida del pH y temperatura antes, durante y después de aplicar los tratamientos a cada repetición.

Análisis Inicial de la Cantidad de Hidrocarburos en el Suelo Recolectado. Se utilizó el método de Soxhlet según la metodología adaptada de Pons-Jiménez *et al.* (2011) y Cerna-Apaza (2018). Después del análisis, se distribuyeron 250 mg del suelo ya contaminado a cada recipiente de plástico (24 en total – 9 por tratamiento), para facilitar la inoculación de los hongos (Fernández, 2018; Cerna-Apaza, 2018).

Inoculación de los consorcios de hongos en las muestras

La inoculación fue de manera directa, se distribuyó 500 mg de cada consorcio preparado a los tratamientos y luego se dispersó 250 g de suelo contaminado ya inoculado formando los ejemplares. A estos ejemplares se adicionó agua cada dos días para mantener las condiciones de humedad adecuadas para la biorremediación, adicionando la aireación del suelo después del respectivo riego.

Evaluación del suelo contaminado

A los 25 días de inoculado los consorcios, se determinó la cantidad de hidrocarburos finales del suelo recolectado,

volviendo a realizar el método de Soxhlet, desarrollando el mismo proceso que se hizo en el análisis inicial.

Análisis de Datos

Los datos obtenidos se analizaron con el programa estadístico Microsoft Excel. Cada conjunto de datos en la experimentación se recolectó en dos repeticiones y el resultado fue la media de dos grupos de datos usando ANOVA. Mientras que las diferencias estadísticas al 5% de nivel de significación se analizaron con la prueba de comparación múltiple de Tukey.

Aspectos éticos

En la elaboración del proyecto se utilizaron citas y referencias verídicas, además de que no hubo ninguna

modificación de los resultados obtenidos, por lo que ninguna información fue manipulada acorde al desarrollo del trabajo de investigación, se siguió correctamente los protocolos para el manejo de hidrocarburos y muestras contaminadas con ellos, así mismo, para la preparación de los medios de cultivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de los Hongos Filamentosos de *Citrus x sinensis*

Se identificaron cuatro géneros en total: *Geotrichum*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Aspergillus*.

Tabla 1. Género de hongos encontrados en los cuatro tipos de medios utilizados.

MEDIOS UTILIZADOS		HONGOS AISLADOS
X1	Cultivo de granos de <i>Triticum</i> sp.	<i>Geotrichum</i>
		<i>Penicillium</i>
		<i>Rhizopus</i>
X2	Cultivo de granos de <i>Oriza sativa</i>	<i>Aspergillus</i>
		<i>Penicillium</i>
X3	Caldo papa dextrosa (CPD)	<i>Penicillium</i>
		<i>Geotrichum</i>
X4	Cultivo de granos de <i>Triticum</i> sp. + 25 g de <i>Penicillium</i> sp. aislado	<i>Penicillium</i>

Estos resultados concuerdan con Contreras & Carreño (2018), quienes identificaron hongos filamentosos de suelos contaminados por hidrocarburo (petróleo) utilizando el agar Bushnell Haas–petróleo 1%, aislando 14 géneros, entre ellos *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp., siendo descritos como hongos hidrocarbonoclasticos. Ochoa *et al.* (2007) aislaron tres hongos de *Citrus x sinensis* utilizando el medio agar PDA, de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*.

En contrastación con los resultados, Huamán & Montalvo-Valencia (2019) identificaron dos géneros diferentes de hongos de *Citrus x sinensis*: *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp., aislaron estos hongos utilizando, como en este estudio, el agar PDA. De la misma manera, Cárdenas *et al.* (2022) identificaron hongos asociados a *Citrus x sinensis*, utilizando el agar PDA, aislando únicamente a *Trichoderma* sp.

Medida de Parámetros Físicoquímicos (pH y T°)

Analizando los resultados se puede observar que el pH antes de la biorremediación era más neutro (7,1-7,3) a comparación del pH final (7,5-7,7), obteniendo una variación de mínima entre la primera repetición con la segunda repetición; mientras que la temperatura no varía en cada repetición manteniendo 19,5°.

De acuerdo con esto, Campian (2018) que evaluó a *Penicillium* en la reducción de aceite dieléctrico en suelo, encontró que al final de los tratamientos el pH quedaba entre 7-7,18, mientras que la temperatura oscilaba entre 20,70° - 20,90°; ambos valores, tanto del pH como de la temperatura, permiten al suelo volver a tener la capacidad de cultivo; por lo que, los resultados son similares a nuestros resultados.

Análisis de la biorremediación de los hidrocarburos en el suelo agrícola

En la Tabla 2 se muestra el porcentaje de biorremediación

con los 4 tratamientos (X1, X2, X3, y X4) sobre las tres muestras problemas (M1=50 ml, M2=150 mL y M3=300 mL de gasolina); utilizando la siguiente fórmula:

$$\%Biorremediación = \frac{Hidrocarburos\ totales_{muestra} - Hidrocarburos\ totales_{repetición}}{Hidrocarburos\ totales_{muestra}}$$

Tabla 2. Porcentaje y promedio de remediación de los 4 tratamientos X1, X2, X3, y X4 aplicados a la muestra de suelo contaminado con gasolina 90 octanos.

Tratamientos	% Biorremediación	% Promedio de biorremediación
X1M1	39,88	
X1M2	30,21	43,61
X1M3	60,73	
X2M1	25,00	
X2M2	25,52	34,65
X2M3	53,44	
X3M1	60,12	
X3M2	49,22	57,23
X3M3	62,35	
X4M1	41,67	
X4M2	53,39	55,71
X4M3	72,06	

El porcentaje de mayor promedio de biorremediación fue el tratamiento X3 con *Penicillium* y *Geotrichum* para las tres muestras problema. Solo para M1, el porcentaje de biorremediación más elevado se obtuvo con el tratamiento X3 con 60,12%; así mismo para M2 y el M3 fue con el tratamiento X4 con *Penicillium* con 53,39% y 72,06%, respectivamente.

Se evaluó el análisis de varianza de un solo factor teniendo un F calculado de 34,281 con un F crítico de 2,816, encontrando así diferencias significativas entre tratamientos. Habiendo así una diferencia significativa de las medias entre los cuatro tratamientos, siendo el del tratamiento X4 de *Penicillium* spp. aislado, el de mayor porcentaje biorremediación.

Tabla 3. Valores de la prueba Tukey para los cuatro tratamientos aplicados.

HSD Tukey a CONSORCIO	N	Subconjunto para alfa = 0,05 1
X4	3	0,1383
X3	3	0,1493
X1	3	0,1876
X2	3	0,214
Sig.		0,588

De acuerdo con nuestros resultados, Cerna-Apaza (2018) trató suelo con dosis elevadas de hidrocarburos, con tres dosis (10%, 20% y 40%) de una especie de *Penicillium*, siendo este hongo encontrado en los cuatro tratamientos planteados en este trabajo; al igual que Campian (2018) en el que aplico tres tratamientos (10%, 20% y 30%) de *Penicillium* en suelo contaminado con aceite dieléctrico. En ambos trabajos, *Penicillium* cumple con la función de biorremediación, en ambos tratamientos, siendo 40% y 30% los de mejor eficacia.

También, Contreras & Carreño (2018) evaluó suelos contaminados con petróleo, utilizando 10 tipos de hongos considerados hidrocarboclasticos, entre ellos *Aspergillus* (encontrado en el tratamiento X2), *Penicillium* (encontrado en todos los tratamientos) y *Rhizopus* (encontrado en el tratamiento X1), fueron los que brindaron la mayor eficacia de biorremediación, con 52%, 27% y 13% de biorremediación, respectivamente; en el que *Aspergillus* alcanzo el 73% de eliminación de petróleo.

Por lo mismo, se concluye que los cuatro géneros de hongos aislados en el presente trabajo, tiene la característica de ser hidrocarbonoclasticos, lo que les da la característica de subsistir con hidrocarburos como su fuente de energía facilitando la mineralización de estos a través de compuestos orgánicos de enlaces fáciles de romper (Madsen, 1991), debido a su eficacia en la reducción de hidrocarburos como la gasolina. De estos hongos, el género *Penicillium* apareció en los cuatro tratamientos, pero el tratamiento X3 tuvo un promedio de biorremediación de 57,23%, aun así, el X4 en la muestra M3 el porcentaje mayor de 72,06%.

Author contributions: CRediT (Contributor Roles Taxonomy)

ACC = Angela Cánepa-Carbajal

CDL = Camila de la Cruz-Leyton

CLL = César Lozano-Lévano

Conceptualization: ACC, CDL

Data curation: CDL

Formal Analysis: ACC, CDL

Funding acquisition: ACC, CLL

Investigation: ACC, CDL

Methodology: ACC, CDL

Project administration: CDL, CLL

Resources: CLL

Software: CLL, ACC, CDL

Supervision: CLL, CDL

Validation: CDL, CLL

Visualization: CDL, CLL

Writing – original draft: ACC

Writing – review & editing: CDL

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adjedje, V. K., Schell, E., Wolf, Y. L., Laub, A., Weissenborn, M. J., & Binder, W. H. (2021). Enzymatic degradation of synthetic polyisoprenes via surfactant-free polymer emulsification. *Green Chemistry*, 23, 9433-9438.
- Aguirre-Carbajal, K. E., & Proaño-Tuma, K. I. (2020). *Evaluación de la actividad antifúngica de los aceites esenciales de Clinopodium tomentosum (Kunth) Govaerts., Tagetes minuta L., y Minthostachys mollis (Kunth) Griseb., para el control in vitro de Aspergillus niger y Fusarium oxysporum* (Trabajo de titulación, previo a la obtención del Título de Ingeniero en Biotecnología, Universidad de las Fuerzas Armadas). <https://repositoriobe.espe.edu.ec/server/api/core/bitstreams/1ad53665-c3da-488d-8e8f-b9adabc73a0f/content>
- Alberti, F., Foster, GD, & Bailey, AM (2017). Productos naturales a partir de hongos filamentosos y producción por expresión heteróloga. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101, 493-500.
- Alonso, R. (2012). *Proyecto de recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos*. (Proyecto final de carrera para optar el título Ingeniera técnica industrial). Universidad Autónoma de Barcelona.
- Anzueto, B. I. G., Ravelo, S. G. M., Mendoza, D. G., Zepeda, F. R., & Mejía, M. R. (2024). Reporte taxonómico de hongos filamentosos presentes en lodo residual de depuradora con potencial biotecnológico. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 11, 42-56.
- Arao, T., Ishikawa, S., Murakami, M., Abe, K., Maejima, Y., & Makino, T. (2010). Contaminación por metales pesados del suelo agrícola y contramedidas en Japón. *Paddy and water Environment*, 8, 247-257.
- Campian, D. (2018). *Reducción de aceite dieléctrico en el suelo contaminado utilizando las cepas de*

- Penicillium janthinellum* asociado con bagazo de la caña de azúcar en Shangrilla, Puente Piedra–2018 [Tesis para obtener el título profesional] Universidad Cesar Vallejo. https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/21085/Campian_ADT.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Canal SporeWorld (2021). *Cómo hacer MICELIO EN GRANO, SECRETOS que jamás cuentan*. [Archivo de Vídeo]. <https://www.youtube.com/watch?v=YELiQ5FlqWY>
- Cárdenas, J. C. G., Cruz, B. E. R., Ramírez, F. J. P., García, F. E., & García, E. P. V. (2022). Hongos asociados a la pudrición del tronco en cítricos. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 10, 147-154.
- Cerna-Apaza, B. A. (2018). *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos usando el hongo Penicillium janthinellum en los servicios generales de la UNALM–La Molina, 2018* [Tesis para obtener el título profesional] Universidad Cesar Vallejo.
- Contreras, H., & Carreño, C. (2018). Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1, 27-33
- Delsarte, I., Veignie, E., Landkocz, Y., & Rafin, C. (2021). Bioremediation performance of two telluric saprotrophic fungi, *Penicillium brasilianum* and *Fusarium solani*, in aged dioxin-contaminated soil microcosms. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 30, 743-756.
- Fernández, T. (2018). *Biorremediación con Penicillium spp, Phanerochaete spp y Trichoderma spp de suelos contaminados con DDT. Moyobamba–2016* [Tesis para obtener el título profesional] Universidad Nacional de San Martín. <https://tesis.unsm.edu.pe/bitstream/11458/2800/1/AMBIENTAL%20-%20Tania%20Marilyn%20Fernandez%20Brito.pdf>
- Huamán-Cruz, A., & Montalvo-Valencia, Y. (2019). *Caracterización morfológica de los hongos aislado desde la "mancha marrón" de la naranja (Citrus sinensis L.) variedad washington navel, en Kiteni, Cusco*. [Trabajo de investigación para obtener el título de bachiller] Universidad Católica Sedes Sapientiae. https://repositorio.uccs.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14095/689/Huaman_Montalvo_trabajo_investigacion_2019.pdf?sequence=6&isAllowed=y
- Madsen, E. (1991). Determining in situ biodegradation: Facts and challenges. *Environmental Science y Technology*, 25, 1663-1673.
- Manna, M.C., Sahu, A., De, N., Thakur, J.K., Mandal, A., Bhattacharjya, S., Ghosh, A., Mahmudur, R.M., Naidu, R., Bhan, S.U., Dakhli, R., Sharma, M.P., & Misra, R. (2020). Novel bio-filtration method for the removal of heavy metals from municipal solid waste. *Environmental Technology and Innovation*, 17, 100619.
- Melo, M. R. (2022). Riesgo ambiental por contaminación de hidrocarburos en la comunidad de Corapata, distrito de Pusi Puno. *Revista de Investigaciones*, 11, 177-192.
- Nwankwegu, A. S., & Onwosi, C. O. (2017). Bioremediation of gasoline contaminated agricultural soil by bioaugmentation. *Environmental Technology & Innovation*, 7, 1–11.
- Ochoa, J.L., Hernández-Montiel, L.G., Latisnere-Barragán, H., León de La Luz, J.L., & Larralde-Corona, CP. (2007). Aislamiento e identificación de hongos patógenos de naranja *Citrus sinensis* L. Osbeck cultivada en Baja California Sur, México. *Ciencia y Tecnología alimentaria*, 5, 352–359.
- Oshiquiri, L.H., Dos Santos, K.R.A., Ferreira Junior, S.A., Steindorff, A.S., Barbosa Filho, J.R., Marcolino, M.T., José, U.C., & Castro, G.R. (2020). *Trichoderma harzianum* transcriptome in response to cadmium exposure. *Fungal Genetics and Biology*, 134, 103281.
- Pons-Jiménez, M., Guerrero-Peña, A., Zavala-Cruz, J., & Alarcón, A. (2011). Extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo en suelos con características físicas y químicas diferentes. *Universidad y ciencia*, 27, 1-15.
- Rico-Cerda, J. L., Ignacio-De la Cruz, J. L., Mondragón-Reynel, P. G., & Sánchez-Yáñez, J. M. (2020). Recuperación de un suelo contaminado por una mezcla de hidrocarburos. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 11, 75-83.
- Rodríguez, V., & Rodríguez, B. (2020). Biorremediación de suelo de la chinampa ubicada en Cuemanco delegación Xochimilco, D.F contaminado con plaguicidas empleando *Penicillium* sp. *Bistua Revista de la facultad de Ciencias Básicas*, 17, 48-58.
- Rodríguez, N., McLaughlin, M., & Pennock, D. 2019. *La contaminación del suelo: una realidad oculta*.

- Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura FAO.
- Sun, J., Karupiah, V., & Chen, J. (2020). The mechanism of heavy metal absorption and biodegradation of organophosphorus pesticides by *Trichoderma*. (pp. 303-318). In: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier B.V.
- Tiodar, E., Vacar, C., & Podar, D. (2021). Phytoremediation and microorganisms-assisted phytoremediation of mercury-contaminated soils: challenges and perspectives. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18, 2435.
- Vargas, J. T., Rodríguez-Monroy, M., Meyer, M. L., Montes-Belmont, R., & Sepúlveda-Jiménez, G. (2017). *Trichoderma asperellum* ameliorates phytotoxic effects of copper in onion (*Allium cepa* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 136, 85-93.
- Vargas, M. (2012). *Caracterización de tres cepas de Beauveria brongniartii* (Saccardo) Petch y su virulencia en *Phthorimaea operculella* (Zeller) y *Symmetrischema tangolias* (Gyen). [Tesis de pregrado UNMSM]. https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/Tesis/Basic/vargas_fm/anexo.PDF

Received September 5, 2024.

Accepted November 5, 2024.