

## Eficiencia de *Bacillus sp.* y *Aspergillus sp.* en la Degradación de Hidrocarburos



Revista EIA  
ISSN 1794-1237  
e-ISSN 2463-0950  
Año XIX/ Volumen 22/ Edición N.43  
Enero - junio 2025  
Reia4334 pp. 1-23

Publicación científica semestral  
Universidad EIA, Envigado, Colombia

✉ LUCERO KASSANDRA LAIME - CORNEJO<sup>1</sup>  
DANEIBA HATSI NEYRA - ENCINAS<sup>1</sup>  
FERNANDO ANTONIO SERNAQUE – AUCCAHUASI<sup>1</sup>

1. Universidad Cesar Vallejo, Perú

### PARA CITAR ESTE ARTÍCULO / TO REFERENCE THIS ARTICLE /

Laime-Cornejo, L. K.; Neyra-Encinas, D.  
H. y Sernaque-Auccahuasi, F. A  
Eficiencia de *Bacillus sp.* y  
*Aspergillus sp.* en la Degradación de  
Hidrocarburos

Revista EIA, 22(43), Reia4334 pp. 1-23  
<https://doi.org/10.24050/reia.v22i43.1759>

✉ *Autor de correspondencia:* Correa  
Laime-Cornejo, L. K.  
Ingeniera Ambiental  
Correo electrónico:  
laimec@ucvvirtual.edu.pe

**Recibido:** 02-01-2024  
**Aceptado:** 10-12-2024  
**Disponible online:** 01-01-2025

### Resumen

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la eficiencia de la bacteria *Bacillus subtilis* y el hongo *Aspergillus niger* en la degradación de hidrocarburos en Arequipa, 2023, con este enfoque se realizó bajo un tipo de investigación aplicada, con un diseño de investigación experimental puro. Se tomo en cuenta estos aspectos, con el uso de pruebas de laboratorio para poder establecer que tan eficiente fue proceso de degradación de hidrocarburos en 3 muestras: 1 estado solo bacteria, 1 estado solo hongo y 1 estado de la combinación de ambos, en pruebas por triplicado siendo un total de 9 pruebas. Se determino que a través del análisis de varianza de un factor en este caso como único factor el tiempo y a través de Prueba de Tukey lo cual permitieron descubrir que los resultados de las pruebas son significativos, es decir, se determino necesario rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alternativa. Las muestras de bacterias a 72 horas mostraron una degradación de un 99.77% del hidrocarburo, mientras que los hongos a 72 horas mostraron una degradación de un 100% a diferencia de los microorganismos en conjunto que a las 48 horas mostraron 100% de degradación del hidrocarburo (Gasolina)

**Palabras clave:** eficiencia, degradación, bacillus subtilis, aspergillus niger, hidrocarburos, prueba estadística.

# Efficiency of *Bacillus Sp.* and *Aspergillus Sp.* in the Degradation of Hydrocarbons

## Abstract

The objective of this research was to evaluate the efficiency of the bacteria *Bacillus subtilis* and the fungus *Aspergillus niger* in the degradation of hydrocarbons in Arequipa, 2023, with this approach it was carried out under a type of applied research, with a pure experimental research design. These aspects were taken into account, with the use of laboratory tests to establish how efficient the hydrocarbon degradation process was in 3 samples: 1 state only bacteria, 1 state only fungus and 1 state of the combination of both, in tests. in triplicate, making a total of 9 tests. It was determined that through the analysis of variance of a factor in this case as the only factor, time and through Tukey's Test, which allowed us to discover that the results of the tests are significant, that is, it was determined necessary to reject the null hypothesis and accept the alternative hypothesis. The bacteria samples at 72 hours showed a degradation of 99.77% of the hydrocarbon, while the fungi at 72 hours showed a degradation of 100% unlike the microorganisms as a whole that at 48 hours showed 100% degradation of the hydrocarbon. (Gasoline)

**Keywords:** efficiency, degradation, bacillus subtilis, aspergillus niger, hydrocarbons, statistical test.

## 1. Introducción

La creciente demanda y dependencia de los recursos de hidrocarburos ha provocado un aumento en las actividades de exploración, producción y transporte de combustible y gas (Stepanova et al. 2022), lo cual, desafortunadamente, ha resultado en numerosos incidentes de derrames de hidrocarburos (Hale y Sandberg 2020), como el reciente desastre ecológico en el mar de Perú.

Los derrames de hidrocarburos representan una amenaza global considerable, con daños significativos a los ecosistemas y comunidades humanas resultantes de diversos incidentes (Yates y Bakker 2019). Los factores contribuyentes son numerosos, incluyendo fallas en la infraestructura, mantenimiento inadecuado

y ausencia de protocolos de seguridad eficaces (Kheirabadi H. et al. 2018; Bordoff J. y McCormick 2020; Wright et al. 2022; Naggea y Miller 2023; Alves et al. 2016; Cozzarelli et al. 2017; Caporusso, Gallo y Tarantino 2022; Thomas et al. 2020)

En relación con la contaminación, los derrames liberan grandes volúmenes de hidrocarburos que pueden persistir en el medio ambiente durante periodos prolongados. Estos hidrocarburos pueden ser tóxicos para una amplia gama de organismos, desde aves hasta mamíferos marinos y peces, y pueden degradar los hábitats marinos y costeros (McCauley et al. 2016; Fiorello et al. 2021). Los hidrocarburos también pueden tener efectos a largo plazo en los ecosistemas, alterando la cadena alimentaria y afectando a las poblaciones de animales a largo plazo (McCauley et al. 2016; Fiorello et al. 2021; Zhong et al. 2018; Ukhurebor et al. 2021).

Desde el punto de vista social y económico, las comunidades que dependen de los recursos marinos y costeros pueden verse seriamente afectadas, ya que los derrames pueden ocasionar la muerte de especies marinas, reducir el turismo y afectar actividades recreativas (Zhong et al. 2018; Ukhurebor et al. 2021). Los esfuerzos de limpieza pueden ser costosos y tomar tiempo, exacerbando aún más los impactos económicos (Mahrul et al. 2018; Mohr y Gade 2022).

## 2. Materiales y Metodos

### ***Etapa N°1 Preparación de Material y cultivo de Microorganismos***

Se realizó el auto clavado de los materiales que son el matraz de 200 ml. conjunto las placas Petri. Las muestras microbiológicas fueron trabajadas en diferentes envases, siendo una característica común a todos ellos que sean estériles y con cierre a prueba de fugas

Para preparar el medio para la bacteria se uso el agar nutritivo, se disolvieron 8 gramos de agar nutritivo en agua destilada y se llevó a ebullición para asegurar su completa disolución. Luego, se autoclavó durante 20 minutos a 121°C y 1.5 atmósferas de presión. Posteriormente, se procedió a verter el agar nutritivo en tubos de

ensayo aprovechando que el medio estaba a una temperatura de 35 a 36 grados Celsius. Finalmente, se llevó a cabo otro flameado para eliminar posibles contaminantes que pudieran haber caído en el medio.

Para preparar el medio para el hongo se usó el agar nutritivo, se comenzó disolviendo 39 g en un litro de agua destilada permitiendo así el reposo durante 10 a 15 minutos. Luego, se calentó la mezcla, asegurando su agitación con frecuencia, hasta que alcance el punto de ebullición. Esto tomó aproximadamente 1 minuto de tiempo para garantizar una completa disolución. Después de este paso, se procedió a la esterilización del medio en una autoclave a 121°C con una presión de 15 lbs durante 15 minutos. Una vez que el medio estuvo esterilizado, se enfrió la solución a una temperatura de alrededor de 45°C antes de verterla en placas Petri estériles siguiendo la técnica apropiada.

Dentro del cultivo de la bacteria y el hongo se recogieron muestras de las bacterias *Bacillus subtilis* para su aislamiento, y se transportaron asépticamente a 4°C al laboratorio. Los aislados bacterianos se identificaron en base a los esquemas taxonómicos y se caracterizarán mediante pruebas bioquímicas estándar. La tinción de Gram y las pruebas bioquímicas se realizarán utilizando técnicas morfológicas y bioquímicas y se utilizarán el esquema taxonómico del manual de bacteriología determinativa

Las bacterias se enumeraron mediante la técnica de placa extendida, mediante la inoculación de 0,1 ml de muestra diluida en serie en placas de agar nutritivo (NA). Las placas de agar sangre fueron incubadas a 35 ± 2°C durante 24-48 horas

Para el caso del hongo se utilizó la técnica de microscopía para identificar los aislamientos de los hongos. Los aislamientos de los hongos se caracterizaron utilizando características de cultivo como el tipo de micelio, tamaño, el color y el tipo de esporas, así también como las características microscópicas y macroscópicas de las esporas. La identificación de aislamientos fúngicos se logró comparando sus características (Paraguay-Delgado 2020).

Se preparó una suspensión de esporas, la cual se utilizó para realizar los inóculos en el medio de cultivo. Para ello el hongo fue

sembrado en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, al cual previamente se le agregaron 50 ml de PDA, se incubó durante 7 días a 28 °C. Posteriormente se agregaron 100 ml de agua destilada a temperatura ambiente y se agitó cuidadosamente durante 5 min con ayuda de agitador magnético.

Las colonias formadas se contaron y se expresaron como UFC/g. Se obtuvieron los cultivos puros mediante subcultivos repetidos y se mantuvieron en agar inclinado para su posterior caracterización e identificación.

### ***Etapa N°2 Ensayo Cuantitativo***

La preparación de material se realizó en el laboratorio el lavado del material de trabajo en el ambiente correspondiente, posterior a ello se inició con el pesado del polvo del caldo nutritivo (DIFCO) 4 gramos en la balanza electrónica de tal manera que sea exacta la preparación de este, en frasco de 500 mililitros disolviendo el polvo de caldo nutritivo con el agua destilada, se utilizaron 2 frascos de esta solución haciendo un total de 1000 mililitros, esto cerca de un mechero bunsen para tener el ambiente esterilizado, se empezó a disolver hasta que la solución sea homogénea. Al finalizar este fue enviado a la autoclave por 20 min a una temperatura de 120 c° y después se dejó enfriar por una hora a temperatura ambiente.

Teniendo ya el caldo nutritivo a temperatura ambiente, con una probeta de 100 ml se separó en 10 frascos de vidrio.

Con una pipeta de 1 ml y un pipeteador se procedió a extraer 0.5 ml de gasolina y con sumo cuidado sin tocar la boca de los frascos con la punta de la pipeta se depositó los 0.5 ml de gasolina en cada frasco de 100 ml. De caldo nutritivo, y cerrar rápidamente el frasco para evitar la destilación del hidrocarburo, para tener una concentración ideal para la muestra, esto cerca con mucho cuidado al mechero Bunsen para mantener el ambiente estéril.

Posterior a ello con una pipeta de 10 ml. de igual manera con un pipeteador se procedió a sacar con cuidado de 4 ml de suero fisiológico en 10 tubos de ensayo (3 tubos para el hongo, 3 tubos para la bacteria, 3 tubos para en conjunto y uno para el blanco) se los dejo en la gradilla.

Al terminar este paso con asas de siembra estériles y descartables de 10u se procedió a destapar las placas con el agar y siembra de las bacterias y hongos. A continuación, con movimientos suaves del asa se procedió a sacar las bacterias (asada), cada asada se colocó en las paredes de los tubos de ensayo con suero fisiológico y se procedió a enturbiar en 3 tubos de ensayo, lo mismo para el caso de hongos y luego para el caso en conjunto.

Una vez que se obtuvo los resultados con la concentración ideal de microorganismos se procedió a la inoculación de cada tubo de ensayo a cada frasco de 100 ml con gasolina y estos después colocarlos al homogeneizador a movimientos de 140 rpm. por 20 minutos dejando un frasco de 100 ml sin inocular como blanco para nuestras lecturas en el espectrofotómetro.

**Tabla 1.** Lectura de Datos en el espectrofotómetro

Concentracion 0.9 UFC	BACTERIA				HONGO				BACTERIA + HONGO			
	0	24	48	72	0	24	48	72	0	24	48	72
<b>Rpt 1</b>	0.0768	0.1003	0.0925	0	0.0820	0.1273	0.1132	0	0.1516	0.0371	0	0
<b>Rpt 2</b>	0.1174	0.1873	0.085	0.0034	0.1104	0.2270	0.1257	0	0.1831	0.0744	0	0
<b>Rpt 3</b>	0.0942	0.0937	0.0325	0	0.0683	0.0994	0.0822	0	0.1723	0.0584	0.0084	0
<b>Promedio residual de gas</b>	0.0961	0.1271	0.0700	0.0011	0.0869	0.1512	0.1070	0.0000	0.1690	0.0566	0.0028	0.0000
<b>Promedio degradacion de gas</b>	0.4039	0.3729	0.4300	0.4989	0.4131	0.3488	0.3930	0.5000	0.3310	0.4434	0.4972	0.5000

### 3. Resultados

*Determinar el tipo de microorganismo que es más eficiente en la degradación de hidrocarburos (gasolina) en laboratorio.*

En este trabajo se detallan los tratamientos de los microorganismos junto con sus tres repeticiones, especificando las horas de evaluación para cada repetición., en donde se puede observar en las tablas 5; 6, que en los tres casos se hizo el Análisis de Varianza dando como valor

crítico de F es de 4.2565 dando como valor p es 0.029, que es menor que el nivel de significancia estándar de 0.05, para un intervalo de confianza del 95%. Al analizar las varianzas, es evidente que los microorganismos se desarrollaron normalmente, ya que se observa una clara evidencia de degradación del hidrocarburo (gasolina). Asimismo, se percibe que, en los tratamientos en función de la cantidad de microorganismos y las horas de evaluación, se obtuvieron resultados del residuo de gasolina que permaneció en los frascos después de llevar a cabo el tratamiento.

Tras el análisis de las lecturas del espectrofotómetro para el caso de las bacterias, se concluyó que, al periodo de 72 horas, se observaron resultados prácticamente nulos en las tres repeticiones, indicando una inactividad completa del microorganismo. Esta ausencia de actividad bacteriana sugiere que el microorganismo ha perdido su viabilidad, lo que se traduce en la ausencia de la gasolina en el medio.

Continuando con el análisis de las lecturas del espectrofotómetro con los hongos se concluye que, al periodo de 72 horas, se obtuvieron resultados carentes de actividad en las tres repeticiones, evidenciando la completa inactividad del microorganismo, lo cual indica la ausencia de gasolina en el medio.

Finalmente, el análisis de las lecturas espectrofotométricas obtenidas mediante la coexistencia de bacterias y hongos durante el periodo de 48 horas, se registró una notable falta de actividad microbiana, indicando la ausencia de gasolina en el medio. Por consiguiente, se llega a la conclusión de que la eficiencia en la degradación de gasolina es mayor cuando bacterias y hongos se encuentran en un mismo entorno, en comparación con su desempeño de manera individual.

Por lo tanto, rechazamos la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alternante, Estos valores de la diferencia de medias en varias comparaciones dentro de la prueba Tukey nos dieron como valor p 0.0143 lo que es menor que el nivel de significancia estándar de 0.05, indicando la variabilidad en la degradación de la gasolina entre los grupos y periodos de tiempo.

<i>Prueba de Tukey</i>	
<i>Comparación</i>	<i>Diferencia de Medias</i>
BACTERIA vs. HONGO (48 horas)	0.0370
BACTERIA vs. Bacteria y hongo en conjunto (48 horas)	0.0672
HONGO vs. Bacteria y hongo en conjunto (48 horas)	0.1042
<i>Comparación</i>	<i>Diferencia de Medias</i>
BACTERIA vs. HONGO (72 horas)	0.0011
BACTERIA vs. Bacteria y hongo en conjunto (72 horas)	0.0011
HONGO vs. Bacteria y hongo en conjunto (72 horas)	0.0000
P-value = 0.0143	
<i>Fuente: Elaboración propia</i>	

***Determinar la estabilidad de los microorganismos para la degradación de hidrocarburos (gasolina) en condiciones de laboratorio.***

La cantidad de degradación por parte de los microorganismos con respecto a la gasolina se halló por la diferencia entre el residual y el inicial de ofrecido en cada tratamiento y repetición, sabiendo que se le ofreció en cada unidad experimental una muestra inicial de 0.5 ml de gasolina,

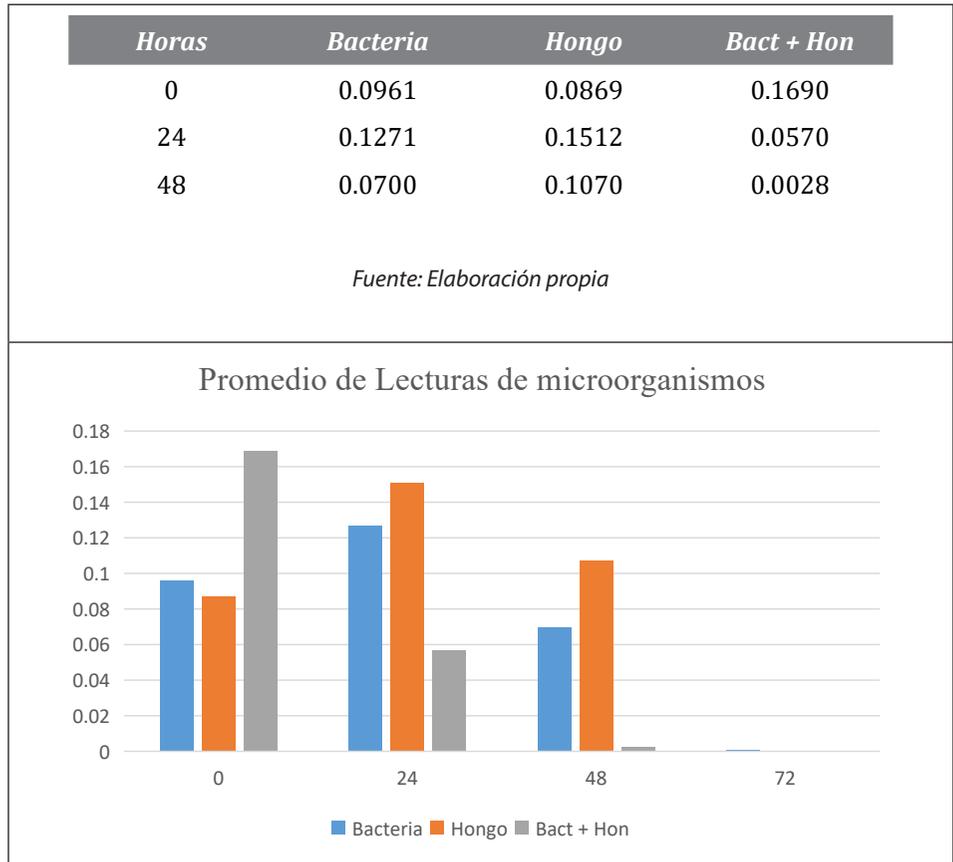
Según la evaluación de la estabilidad de absorbancia de las bacterias en este periodo de tiempo, se pudo examinar las variaciones en los valores de absorbancia registrados en diferentes intervalos. Una disminución constante en la absorbancia puede indicar cierta estabilidad en el comportamiento de las bacterias, de 0 horas a 24 horas-, Hubo un aumento en la absorbancia de 0.0961 a 0.1271. Esto nos indicó un aumento en la concentración de la bacteria o actividad metabólica durante este período, lo que infiere que hubo una degradación mayor de gasolina; de 24 horas a 48 horas, Se observó una disminución en la absorbancia de 0.1271 a 0.0700. Esto indico una reducción en la concentración de bacterias o cambios en la actividad bacteriana, en este caso la degradación de gasolina fue menor; de 48 horas a 72 horas, La absorbancia disminuyó aún más, alcanzando 0.0011. Esta disminución significativa indico una reducción sustancial en la concentración de las bacterias

o la inactividad bacteriana, en este caso llego al punto final de degradación por la falta de gasolina.

En el caso del Hongo, según la evaluación de la estabilidad de la absorbancia de los hongos a lo largo del tiempo, *de 0 horas a 24 horas*, Se evidenció un aumento en la absorbancia, pasando de 0.0869 a 0.1512. Este incremento sugiere la posibilidad de un aumento en la concentración del hongo o un aumento en la actividad metabólica durante este intervalo temporal. Por lo tanto, hay una mayor degradación de gasolina; *de 24 horas a 48 horas*; A pesar de la disminución en la absorbancia de 0.1512 a 0.1070, esta disminución no es tan pronunciada en comparación con las bacterias. No obstante, aún indica un cambio en la concentración de los hongos o posiblemente una reducción en la actividad metabólica. Por ultimo *de 48 horas a 72 horas*; Se observó una disminución significativa en la absorbancia, alcanzando el valor de 0.0000. Esta reducción sugirió una disminución sustancial en la concentración o la completa inactividad metabólica de los hongos por ya no encontrarse gasolina en el medio.

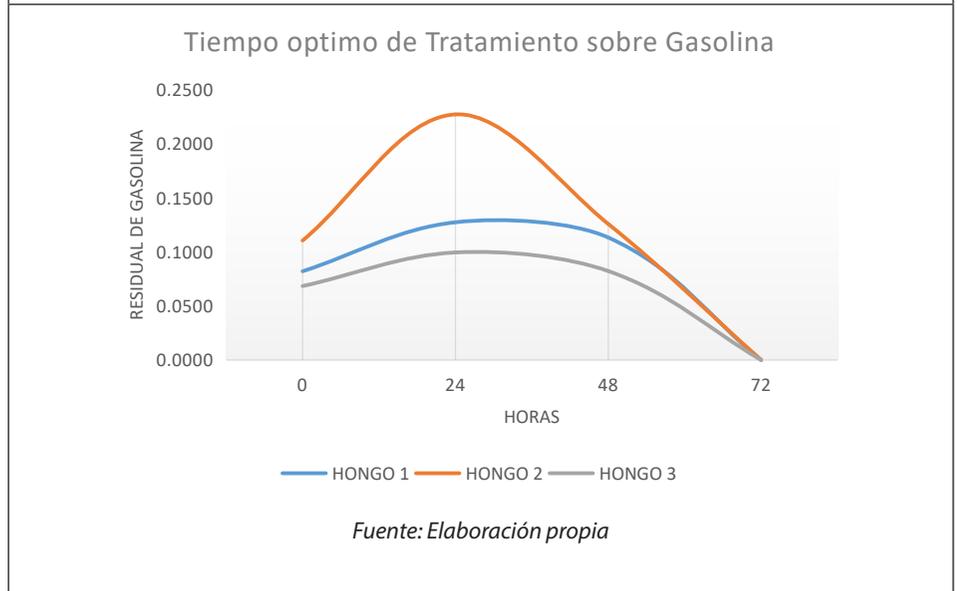
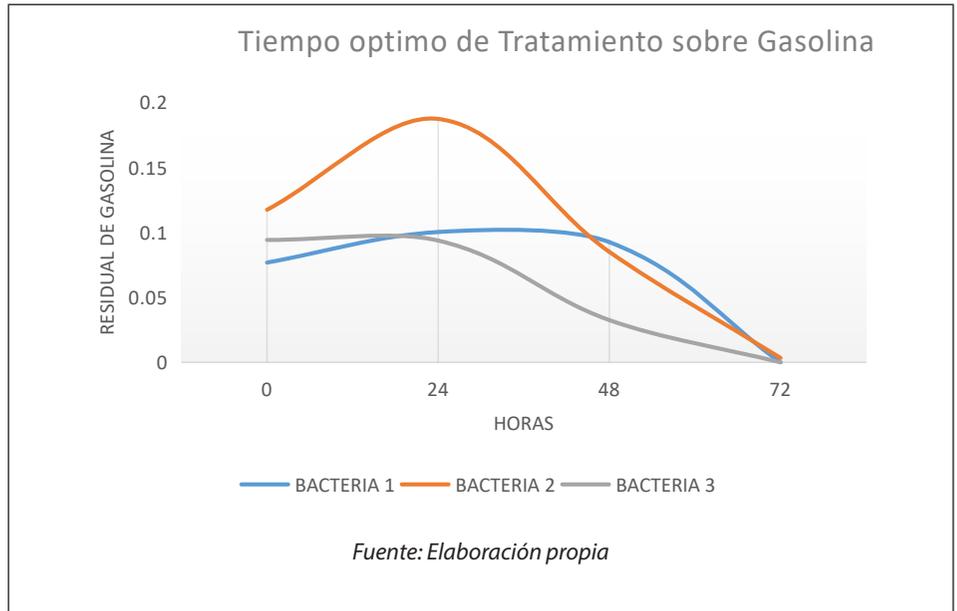
En el ensayo en conjunto de hongos y bacterias, se observó una marcada reducción en la absorbancia a lo largo del tiempo *de 0 horas*; La absorbancia inicial fue de 0.1690, *de 24 horas*; Se registró una disminución considerable en la absorbancia, alcanzando 0.0570, *de 48 horas*; La absorbancia descendió a 0.000 y por ultimo *de 72 horas*: La absorbancia alcanzó un valor de 0.00000

En consecuencia, la estabilidad de la absorbancia se puede fundamentar en la consistente disminución de los valores a lo largo de las diferentes etapas del ensayo. La reducción significativa, particularmente hacia las 48 horas y persistente hasta las 72 horas, se sugirió que el conjunto de hongos y bacterias logró degradar eficientemente la gasolina. Esta tendencia descendente indica una estabilidad en la capacidad de degradación del conjunto microbiano a lo largo del tiempo, evidenciando una eficacia sostenida en la eliminación de la sustancia analizada.



***Determinar el tiempo óptimo en la degradación para el hidrocarburo (gasolina) en el laboratorio***

Para el caso de las bacterias y hongos en forma individual dentro del análisis estadístico se pudo encontrar en las lecturas de las bacterias de 0 a 72 horas de evaluación que son resultados favorables a la degradación del hidrocarburo según la tabla 4, llegando a las 72 horas a su punto final de la degradación en ambos casos, Dentro del ensayo para el caso en conjunto de microorganismos sobre la gasolina, en las lecturas y dentro del análisis estadístico se puede observar que desde la hora 0 a las 24 horas hay un gran avance de degradación y que el punto final promedio de degradación fue a las 48 horas, Dentro del ensayo para el caso en conjunto de microorganismos sobre la gasolina, en las lecturas y dentro del análisis estadístico se puede observar que desde la hora 0 a las 24 horas hay un gran avance de degradación y que el punto final promedio de degradación fue a las 48 horas.



***Eficiencia de degradación.*****Tabla 9.** Degradación de Gasolina desde 0 horas hasta 72 horas

<i>Hora</i>	<i>Bacteria</i>	<i>Hongo</i>	<i>Bact + Hon</i>
0	0.4039	0.4131	0.3310
24	0.3729	0.3488	0.4434
48	0.4300	0.3930	0.5000
72	0.4989	0.5000	0.5000

Fuente: *Elaboración propia*

Se observa la reducción de la gasolina en cada hora evaluada, donde de forma independiente tuvo un punto final a las 72 horas y de forma en conjunto a las 48 horas su punto final de degradación de gasolina, esto se corrobora con los presentados de los resultados de la degradación de la gasolina.

Los resultados porcentuales de la eficiencia de la degradación de los microorganismos sobre la gasolina, tomando como base los promedios de la degradación y el residual.

***Resultado porcentual de la eficiencia de degradación de la gasolina por muestra***

<i>Hora</i>	<i>Bacteria</i>	<i>Hongo</i>	<i>Bact + Hon</i>
0	80.77	82.62	66.20
24	74.58	69.75	88.67
48	86.00	78.59	100.00
72	99.77	100.00	100.00

Fuente: *Elaboración propia*

Como se observa en el presente trabajo los resultados porcentuales el mínimo es de 66.20% y el máximo de 100 %. Por lo tanto, el tiempo optimo en la degradación de la gasolina fue fundamental, como se evidencia en la disminución significativa de la concentración de gasolina a lo largo del periodo de evaluación. Los resultados demuestran que el tiempo de evaluación desempeñó un papel determinante en la eficiencia del proceso de degradación.

#### 4. Discusiones

A partir de los resultados obtenidos en los ensayos con los microorganismos *Bacillus subtilis* y *Aspergillus Niger*, se evidenció un notorio desarrollo y crecimiento microbiano coincidiendo con la investigación de Agbaji, Nwaichi y Abu (2020) donde mencionan la importancia de crecimiento de los microorganismos en un medio de hidrocarburos. Esta observación apunta a un efecto degradativo, claramente proporcional al aumento de la población bacteriana, confirmando de manera contundente la utilidad propuesta para la biodegradación de hidrocarburos, con un énfasis particular en el caso de la gasolina, tal como lo respalda Musa et al. (2021).

Es esencial destacar que la combinación estratégica de diferentes microorganismos generó interacciones sinérgicas, potenciando así la eficacia del proceso de degradación. Esta colaboración entre los microorganismos se manifiesta en la mejora de sus capacidades individuales, ya sea mediante la producción de enzimas complementarias o la optimización del entorno microbiano. Este fenómeno transforma la relación entre la familia *Bacillus* y *Aspergillus* en una especie de simbiosis, como lo menciona Perera et al. (2021), que potencia la eficiencia de la degradación.

El resultado de una degradación completa de la gasolina al 100% en 48 horas mediante la colaboración entre bacterias y hongos destaca la eficacia de la sinergia microbiana. La cooperación entre estos microorganismos puede crear un ambiente propicio para una degradación más rápida y completa al aprovechar sus habilidades complementarias. La compatibilidad y cooperación entre bacterias y hongos ofrecen una base para una estabilidad óptima

en la degradación. Sin embargo, la afirmación de Ule (2021) sobre la posible mayor efectividad de hongos individuales podría estar relacionada con la especificidad de ciertos hongos para descomponer compuestos particulares. Ambos enfoques podrían ser compatibles, dependiendo del contexto específico de la biorremediación y la naturaleza del contaminante objetivo. La colaboración entre bacterias y hongos podría ser más eficiente para ciertos contaminantes, mientras que la especialización de hongos individuales podría destacarse en otros escenarios. La efectividad de las estrategias de biorremediación también podría estar influenciada por factores ambientales y la presencia de otros compuestos.

La utilización de consorcios microbianos en la biodegradación de contaminantes representa un enfoque destacado debido a su capacidad comprobada para degradar hidrocarburos de manera más eficiente en comparación con los organismos individuales. Esta eficacia mejorada se atribuye a la diversidad de rutas metabólicas que diferentes microorganismos pueden emplear para descomponer los variados componentes de los hidrocarburos. Sin embargo, al examinar específicamente la estabilidad en la degradación de la gasolina, los resultados revelan un patrón interesante. Tanto la bacteria como el hongo muestran una estabilidad constante de manera individual hasta las 72 horas, momento en el cual se completa la degradación de la gasolina. Este hallazgo sugiere que, en condiciones individuales, estos microorganismos mantienen una eficacia constante durante un periodo de tiempo más prolongado. En contraste, en el ensayo conjunto de consorcio microbiano, se observa que a las 48 horas ya se ha completado la degradación total de la gasolina. Aunque la duración de la estabilidad es menor en el consorcio, la rapidez con la que se logra la degradación completa es notable. Este fenómeno puede deberse a las sinergias y complementariedades entre las actividades metabólicas de los distintos microorganismos en el consorcio coincidiendo con la investigación de Fuentes et al. (2014)

Si bien la estabilidad temporal es menor en el ensayo conjunto, la eficiencia en la degradación rápida sugiere que, a pesar de la duración más corta, el consorcio microbiano puede ser altamente efectivo en la eliminación temprana del contaminante. Esto plantea interrogantes

sobre la optimización del tiempo y la eficacia en la aplicación práctica de estrategias de degradación, donde la velocidad de degradación puede ser tan crucial como la estabilidad a largo plazo.

De acuerdo lo que menciona Ojewumi et al. (2018) sobre el efecto de degradación con hidrocarburos (gasolina), eficacia que puede variar dependiendo de si la gasolina ha sido tratado o no, esto no en su totalidad esta dicho por lo en el presente trabajo se utilizó un tipo de gasolina Regular de octanos (MON/RON) están en torno a 85/105, un tipo de gasolina que no ha sido tratado por lo que su uso es netamente para combustible.

Dentro de la investigación desarrollada la cual es de tipo aplicada es adecuada para abordar el problema ambiental específico de la degradación de hidrocarburos. Este enfoque busca generar conocimiento práctico y soluciones para problemas reales. Dentro de la metodología se respalda en teorías y conceptos previos de autores reconocidos en el campo Wright et al. (2022); Abbas et al. (2022), lo que fortalece la base teórica del estudio. Además de la elección de un diseño experimental puro es adecuada para evaluar la eficiencia de los microorganismos en la degradación de hidrocarburos. La utilización de una muestra al azar y la división en grupos de control y tratamiento permite controlar variables y aumentar la validez interna del estudio.

En cuanto a la concentración óptima, los datos revelan que una concentración de  $9 \times 10^8$  UFC de bacterias resulta en una degradación más efectiva de la gasolina según Hans Manchego (2021), esto es evidenciado para la bacteria y hongo por bajos residuos detectados en los tubos de ensayo. La prueba de t de Student respalda la significancia de esta concentración óptima, reforzando la robustez de los hallazgos. Al aplicar la prueba t, como lo señalan Hernández y Mendoza (2018), con el objetivo de evaluar si la eficiencia media de uno difiere significativamente de la del otro, los resultados obtenidos revelaron diferencias estadísticamente significativas. Dentro del rango aceptable de -2.44 a 2.44 para el valor crítico de t, los puntos estadísticos T se posicionaron, indicando de manera concluyente el rechazo de la hipótesis nula y la aceptación de la hipótesis alternativa. Esta última sugiere la presencia de eficacia y

estabilidad constante, confirmando así el impacto sustancial de los tratamientos sobre hidrocarburos.

Mediante la reactivación de las bacterias durante todo el proceso se pueden identificar su estabilidad a través del cultivo en cada placa petri evaluada, además se puede observar el desarrollo y crecimiento en los tubos de ensayo, a lo largo del tiempo. logrando así hacer gasolina turbidez, por lo que se puede ver que tiene un efecto degradativo porque crecen y se degradan dentro de la gasolina, que es lo que indico Musa et al. (2021) que ciertas especies demuestran un alto potencial para resistir, tolerar y degradar la gasolina.

Al determinar el tiempo óptimo de tratamientos y el número de horas evaluadas, los resultados mostraron que hubo diferencias estadísticamente significativas como valor crítico 2.44 y como resultados estadísticos T para el primer caso -0.30556877, para el segundo caso 0.34517322 y para el tercer caso 0.5758032. para todos los tratamientos evaluados, es decir, que el impacto de los tratamientos sobre la gasolina residual estuvo presente. Según la prueba comparativa de t. student el mejor tratamiento es en la repetición 2 con  $9 \times 10^8$  bacterias y hongos evaluar durante 48 horas, la cantidad residual es menor y el residuo restante de gasolina es más alto. Como dijo Odili et al. (2020) 94.2 %; 92.8 %, *Aspergillus niger* es eficiente en la degradación de hidrocarburo y por tanto, con útiles en la degradación mediante microorganismos.

En la determinación de la degradación de la gasolina por las bacterias y hongos, sabiendo que se le ofreció en cada unidad experimental en cada frasco de 0.5 ml de gasolina, con ello se inició el trabajo experimental, los resultados muestran el tratamiento con concentración de  $9 \times 10^8$  que degradaron la gasolina con respecto en la bacteria 0.5057, en el hongo 0.5178 y en la bacterias + hongo en conjunto a las 0.6264, a un promedio de 72 horas, con esto se corrobora los resultados de los residuales de la degradación de la gasolina. Musa et al. (2021) *Bacillus subtilis* y *Aspergillus Niger*, demostraron un alto potencial para degradar el aceite de motor.

En cuanto a la eficiencia de degradación de la gasolina por los microorganismos *Aspergillus Niger* y *Bacillus Subtilis* los resultados porcentuales el mínimo es de 66.20% y el máximo de 100 %. Por

lo tanto, el tiempo óptimo en la degradación de la gasolina fue fundamental, como se evidencia en la disminución significativa de la concentración de gasolina a lo largo del periodo de evaluación. Los resultados demuestran que el tiempo de evaluación desempeñó un papel determinante en la eficiencia del proceso de degradación. La colaboración entre la bacteria y el hongo en el trabajo conjunto se presenta como un factor clave para la rápida reducción de la gasolina. como dice Ule et al. (2021).investigaron el potencial de micoremediación de *Mucor racemosus* y *Aspergillus niger* para degradar hidrocarburos. Los resultados al día 56 mostraron que la eficacia de la biorremediación fue mayor con *Mucor racemosus* (8599.19mg/kg; 33.66%) en comparación con la combinación de *Mucor* y *Aspergillus* (8357.31mg/kg; 33.04%) y solo *Aspergillus* (8341.58mg/kg; 32.98%). El control, presentó una remediación mínima (81.06mg/kg; 0.32%). la biorremediación utilizando hongos individuales puede ser más efectiva que combinaciones de varios. Por lo tanto, se recomienda utilizar microorganismos individuales con alto potencial de biodegradación.

Es especialmente notable que el tratamiento conjunto de bacterias y hongos demostró una eficiencia aún mayor en comparación con los tratamientos individuales, logrando una degradación completa de la gasolina en un tiempo promedio de 48 horas. Estos resultados respaldan la idea de Perera et al. (2021) que la colaboración sinérgica entre microorganismos puede potenciar la eficacia de la degradación, proporcionando una solución más rápida y efectiva

La evaluación de la estabilidad de degradación a lo largo del tiempo destaca la importancia crucial del factor temporal en el proceso de degradación de la gasolina. Mientras que las muestras tratadas exclusivamente con bacterias y hongos mostraron estabilidad en la degradación, la colaboración conjunta logró una degradación completa en un periodo significativamente más corto. Este resultado subraya la relevancia de considerar la variable temporal en el diseño de estrategias para la degradación de hidrocarburos.

La eficacia del tratamiento conjunto se atribuye a la sinergia entre bacterias y hongos, demostrando ser fundamental para lograr

una reducción rápida y efectiva de la gasolina. La eficiencia del 100% alcanzada en 48 horas refleja la actividad metabólica eficiente de los microorganismos seleccionados, resaltando la importancia de la cooperación microbiana en la optimización de la degradación.

El éxito en la degradación durante este breve periodo se atribuye a la capacidad de los microorganismos para descomponer eficazmente los componentes de la gasolina. La rápida acción conjunta de la bacteria y el hongo subraya la relevancia de la cooperación microbiana en la optimización de la eficiencia de la degradación.

## Bibliografía

- ABBAS, A.S., REFAE, R.I., AMIN, G.A. Y ELSAYED, T.R., 2022. Characterization And Potentials Of Microbial Community In Soil And Water Contaminated With Crude Oil In Egypt. *Egyptian Journal Of Chemistry*, Vol. 65, No. 8, ISSN 23570245. DOI 10.21608/Ejchem.2022.111269.5063.
- AGBAJI, J.E., NWAICHI, E.O. Y ABU, G.O., 2020. Optimization Of Bioremediation-Cocktail For Application In The Eco-Recovery Of Crude Oil Polluted Soil. *AAS Open Research*, Vol. 3, No. December, ISSN 25159321. DOI 10.12688/Aasopenres.13028.1.
- AL-JAWHARI, I.F.H., FLAYYIH, A.I. Y MOHAMMED, D.Q., 2022. Ability Of *Pseudomonas Aeruginosa* And *Bacillus Subtilis* To Remove Petroleum Hydrocarbons. *International Journal Of Life Science Research Archive*, Vol. 3, No. 2, DOI 10.53771/Ijlsra.2022.3.2.0120.
- ALVES, T.M., KOKINOUE, E., ZODIATIS, G., RADHAKRISHNAN, H., PANAGIOTAKIS, C. Y LARDNER, R., 2016. Multidisciplinary Oil Spill Modeling To Protect Coastal Communities And The Environment Of The Eastern Mediterranean Sea. *Scientific Reports* [En Línea], Vol. 6, No. 1, ISSN 2045-2322. DOI 10.1038/Srep36882. Disponible En: <https://www.nature.com/articles/srep36882>.
- AO, A. Y AK, A., 2018. Microbial Diversity Of Petroleum Polluted Soil At Ayetoro Community In Ilaje Riverine Oil Producing Areas Of Ondo State, Nigeria. *Progress In Petrochemical Science*, Vol. 1, No. 5, DOI 10.31031/Pps.2018.01.000525.
- BAIG, N. Y SALEH, T.A., 2019. Superhydrophobic Polypropylene Functionalized With Nanoparticles For Efficient Fast Static And Dynamic Separation Of Spilled Oil From Water. *Global Challenges* [En Línea], Vol. 3, No. 8, ISSN 2056-6646. DOI 10.1002/Gch2.201800115. Disponible En: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/Gch2.201800115>.

- BEKELE, G.K., GEBRIE, S.A., MEKONEN, E., FIDA, T.T., WOLDESEMAYAT, A.A., ABDA, E.M., TAFESSE, M. Y ASSEFA, F., 2022. Isolation And Characterization Of Diesel-Degrading Bacteria From Hydrocarbon-Contaminated Sites, Flower Farms, And Soda Lakes. *International Journal Of Microbiology*, Vol. 2022, ISSN 16879198. DOI 10.1155/2022/5655767.
- BORDOFF J. Y MCCORMICK, R., 2020. Oil Spill In North Carolina: Implications For The Pipeline Industry. .
- CAPORUSSO, G., GALLO, C. Y TARANTINO, E., 2022. Change Detection Analysis Using Sentinel-1 Satellite Data With SNAP And GEE Regarding Oil Spill In Venezuela. [En Línea]. S.L.: S.N., Pp. 387-404. Disponible En: [https://Link.Springer.Com/10.1007/978-3-031-10545-6\\_27](https://Link.Springer.Com/10.1007/978-3-031-10545-6_27).
- CHAPMAN, S.J., 2018. Review Of Discovering Statistics Using IBM SPSS Statistics, 4th Edition . *Journal Of Political Science Education*, Vol. 14, No. 1, ISSN 1551-2169. DOI 10.1080/15512169.2017.1366328.
- COZZARELLI, I.M., SKALAK, K.J., KENT, D.B., ENGLE, M.A., BENTHEM, A., MUMFORD, A.C., HAASE, K., FARAG, A., HARPER, D., NAGEL, S.C., IWANOWICZ, L.R., OREM, W.H., AKOB, D.M., JAESCHKE, J.B., GALLOWAY, J., KOHLER, M., STOLIKER, D.L. Y JOLLY, G.D., 2017. Environmental Signatures And Effects Of An Oil And Gas Wastewater Spill In The Williston Basin, North Dakota. *Science Of The Total Environment* [En Línea], Vol. 579, ISSN 00489697. DOI 10.1016/J.Scitotenv.2016.11.157. Disponible En: <https://Linkinghub.Elsevier.Com/Retrieve/Pii/S0048969716326201>.
- DOMÍNGUEZ, C. Y GÓNZALEZ, R., 2018. Metodología De La Investigación. Madrid: UNED.
- EPA, 2006. Guidance On Systematic Planning Using The Data Quality Objectives Process EPA QA / G-4. . S.L.:
- FIORIELLO, C. V., JODICE, P.G.R., LAMB, J., SATGÉ, Y., MILLS, K. Y ZICCARDI, M., 2021. POSTRELEASE SURVIVAL OF CALIFORNIA BROWN PELICANS (PELECANUS OCCIDENTALIS CALIFORNICUS) FOLLOWING OILING AND REHABILITATION AFTER THE REFUGIO OIL SPILL. *Journal Of Wildlife Diseases* [En Línea], Vol. 57, No. 3, ISSN 0090-3558. DOI 10.7589/JWD-D-20-00171. Disponible En: <https://Meridian.Allenpress.Com/Jwd/Article/57/3/590/464918/POSTRELEASE-SURVIVAL-OF-CALIFORNIA-BROWN-PELICANS>.
- FUENTES, S., MÉNDEZ, V., AGUILA, P. Y SEEGER, M., 2014. Bioremediation Of Petroleum Hydrocarbons: Catabolic Genes, Microbial Communities, And Applications. *Applied Microbiology And Biotechnology* [En Línea], Vol. 98, No. 11, ISSN 0175-7598. DOI 10.1007/S00253-014-5684-9. Disponible En: <http://Link.Springer.Com/10.1007/S00253-014-5684-9>.
- GONZALES, G.F., 2022. Derrame De Petróleo En Ventanilla, Callao, Enero Del 2022. *Revista De La Sociedad Peruana De Medicina Interna* [En Línea], Vol. 35, No. 1, ISSN 1609-7173. DOI 10.36393/Spmi.V35i1.658. Disponible En: <http://Revistamedicinainterna.Net/Index.Php/Spmi/Article/View/658>.

- HALE, R.P. Y SANDBERG, L.A., 2020. Oil, Heartbreak, And Manhood: A (Carbon) Ethnography Of Risk In The Norwegian Petroleum Industry. S.L.: Routledge.
- HERNÁNDEZ, R. Y MENDOZA, C., 2018. Metodología De La Investigación - Las Rutas Cuantitativa, Cualitativa Y Mixta [En Línea]. Ciudad De Mexico: S.N. ISBN 9781456223960. Disponible En: <https://www.ebooks7-24.com/443/?il=6443>,.
- KETA, M.N., BELLO, I.M., BAZATA, Y.A., KETA, J.N., AMINU, M., PATRICK, R.J. Y ALIERO, A.S., 2021. Biodegradation Of Crude Oil Contaminated Soils Using Fungal Species Biodegradation Of Crude Oil Contaminated Soils Using Fungal Species. , Vol. 8, No. August,
- KHEIRABADI H., GHASSEMI H., IRANI H. Y KOOLIVAND, A., 2018. Environmental Impacts Of The Sanchi Oil Tanker Collision Incident In The East China Sea. Environmental Science \& Technology,
- LEAL, L., 2008. Experimental Versus Correlational Research. Favorite Activities For The Teaching Of Psychology. [En Línea]. S.L.: S.N., Pp. 20-21. ISBN 1-4338-0349-6; 978-1-4338-0349-9. Disponible En: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=psych&AN=2008-06296-005&lang=es&site=ehost-live>.
- LEEK, J., PENG, R. Y ANDERSON, G., 2017. Design And Analysis Of Experiments. En: A. BISWAS, S. DATTA, J.P. FINE Y M.L. SEGAL (Eds.), Statistical Analysis Of Proteomics, Metabolomics, And Lipidomics Data Using Mass Spectrometry. S.L.: Springer, Pp. 15-45.
- LIU, S.-H., ZENG, G.-M., NIU, Q.-Y., LIU, Y., ZHOU, L., JIANG, L.-H., TAN, X., XU, P., ZHANG, C. Y CHENG, M., 2017. Bioremediation Mechanisms Of Combined Pollution Of Pahs And Heavy Metals By Bacteria And Fungi: A Mini Review. Bioresource Technology [En Línea], Vol. 224, ISSN 09608524. DOI 10.1016/J. Biortech.2016.11.095. Disponible En: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852416316169>.
- MAHRUL, M.F., RIDWAN, M., JUHARI, M. Y MUSTAFFA, M.I., 2018. Disputed Keystone XL Pipeline Project And Its Implications On Global Energy Security Scenario. Akademia Baru, Vol. 5,
- MANCHEGO, H. D. 2021 Bacteria *Bacillus Safensis* En La Degradación Sobre Hidrocarburos (Gasolina) En Laboratorio Arequipa 2021: Universidad Cesar Vallejo Disponible En: [https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/72826/Manchego\\_MHD-SD.Pdf?sequence=1&isallowed=Y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/72826/Manchego_MHD-SD.Pdf?sequence=1&isallowed=Y)
- MÁRQUEZ, S.B., 2019. Desarrollo De Nanomateriales/Nanofluidos Para Aplicaciones En Recobro Químico Mejorado De Petróleo. S.L.: Universidad De Granada.
- MCCAULEY, D.J., WOODS, P., SULLIVAN, B., BERGMAN, B., JABLONICKY, C., ROAN, A., HIRSHFIELD, M., BOERDER, K. Y WORM, B., 2016. Ending Hide And Seek At Sea. Science, Vol. 351, No. 6278,

- MOHR, V. Y GADE, M., 2022. Marine Oil Pollution In An Area Of High Economic Use: Statistical Analyses Of SAR Data From The Western Java Sea. *Remote Sensing*, Vol. 14, No. 4, ISSN 20724292. DOI 10.3390/Rs14040880.
- MOHSIN, M.Z., OMER, R., HUANG, J., MOHSIN, A., GUO, M., QIAN, J. Y ZHUANG, Y., 2021. Advances In Engineered Bacillus Subtilis Biofilms And Spores, And Their Applications In Bioremediation, Biocatalysis, And Biomaterials. *Synthetic And Systems Biotechnology* [En Línea], Vol. 6, No. 3, ISSN 2405805X. DOI 10.1016/J.Synbio.2021.07.002. Disponible En: [Https://Linkinghub.Elsevier.Com/Retrieve/Pii/S2405805X21000387](https://Linkinghub.Elsevier.Com/Retrieve/Pii/S2405805X21000387).
- MUSA, I.O., JOSHUA, U., IJAH, J. Y ABIOYE, O.P., 2021. Microbial Determination Of Hydrocarbon Polluted Soil In Some Parts Of Niger Microbial Determination Of Hydrocarbon Polluted Soil In Some Parts Of Niger State , Nigeria. , No. November,
- NAGGEA, J. Y MILLER, R., 2023. A Comparative Case Study Of Multistakeholder Responses Following Oil Spills In Pointe d'Esny, Mauritius, And Huntington Beach, California. *Ecology And Society* [En Línea], Vol. 28, No. 1, ISSN 1708-3087. DOI 10.5751/ES-13737-280124. Disponible En: <Https://Www.Ecologyandsociety.Org/Vol28/Iss1/Art24/>.
- NEDBAL, J., GAO, L. Y SUHLING, K., 2020. Bottom-Illuminated Orbital Shaker For Microalgae Cultivation. *Hardwarex*, Vol. 8, ISSN 24680672. DOI 10.1016/J.Ohx.2020.E00143.
- ODILI, U.C., IBRAHIM, F.B., SHAIBU-IMODAGBE, E.M. Y ATTA, H.I., 2020. Comparative Assessment Of Crude Oil Degradation By Monocillium Sp. And Aspergillus Niger. *Journal Of Applied Sciences And Environmental Management*, Vol. 24, No. 5, ISSN 1119-8362. DOI 10.4314/Jasem.V24i5.13.
- OJEWUMI, M.E., ANENIH, E.V., TAIWO, O.S., ADEKEYE, B.T., AWOLU, O.O. Y OJEWUMI, E.O., 2018. A Bioremediation Study Of Raw And Treated Crude Petroleum Oil Polluted Soil With Aspergillus Niger And Pseudomonas Aeruginosa. *Journal Of Ecological Engineering*, Vol. 19, No. 2, ISSN 22998993. DOI 10.12911/22998993/83564.
- PARAGUAY-DELGADO, F., 2020. Técnicas De Microscopía Electrónica Usadas En El Estudio De Nanopartículas. *Mundo Nano* [En Línea], Vol. 13, No. 25, Disponible En: <Https://Www.Scielo.Org/Mx/Pdf/Mn/V13n25/2448-5691-Mn-13-25-101.Pdf>.
- PARK, S., KIM, Y., LEE, W. Y NAM, C., 2022. Superhydrophobic Polypropylene Sorbent Derived From Discarded Face Masks: A Highly Efficient Adsorbent For Oil Spill Sorbent. *Chemosphere* [En Línea], Vol. 303, ISSN 00456535. DOI 10.1016/J.Chemosphere.2022.135186. Disponible En: <Https://Linkinghub.Elsevier.Com/Retrieve/Pii/S0045653522016794>.

- PERERA, M., CHINTHAKA, S.D.M., WIJAYARATHNA, C.D., WIJESUNDERA, S., SENEVIRATNE, G. Y JAYASENA, S., 2021. Reduction Of Lag In Crude Oil Degradation By *Aspergillus* When It Is In Synergy With *Bacillus* In Biofilm Mode. *Bioprocess And Biosystems Engineering* [En Línea], Vol. 44, No. 7, ISSN 1615-7591. DOI 10.1007/S00449-021-02534-6. Disponible En: <https://Link.Springer.Com/10.1007/S00449-021-02534-6>.
- PULIDO CAPURRO, V., ESCOBAR-MAMANI, F., ARANA BUSTAMANTE, C. Y OLIVERA CARHUAZ, E., 2022. Efectos Del Derrame De Petróleo En La Refinería La Pampilla En Las Costas Del Litoral Marino, Lima (Perú). *Revista De Investigaciones Altoandinas - Journal Of High Andean Research* [En Línea], Vol. 24, No. 1, ISSN 23068582. DOI 10.18271/Ria.2022.411. Disponible En: <https://Huajsapata.Unap.Edu.Pe/Index.Php/Ria/Article/View/411>.
- QADER, M.Q. Y SHEKHA, Y.A., 2023. Bioremediation Of Heavy Metals By Using *Aspergillus Niger* And *Candida Albicans*. *ZANCO Journal Of Pure And Applied Sciences*,
- REZANIA, S., PARK, J., RUPANI, P.F., DARAJEH, N., XU, X. Y SHAHROKHISHAHRAKI, R., 2019. Phytoremediation Potential And Control Of *Phragmites Australis* As A Green Phytomass: An Overview. *Environmental Science And Pollution Research* [En Línea], Vol. 26, No. 8, ISSN 0944-1344. DOI 10.1007/S11356-019-04300-4. Disponible En: [Http://Link.Springer.Com/10.1007/S11356-019-04300-4](http://Link.Springer.Com/10.1007/S11356-019-04300-4).
- RODRÍGUEZ, C. Y ALFARO, H., 2013. Metodología De Investigacion Cientifica Aplicado A La Ingenieria [En Línea]. S.L.: S.N. Disponible En: [Http://Www.Unac.Edu.Pe/Documentos/Organizacion/Vri/Cdcitra/Informes\\_Finales\\_Investigacion/IF\\_ABRIL\\_2012/IF\\_ALFARO RODRIGUEZ\\_FIEE.Pdf](http://Www.Unac.Edu.Pe/Documentos/Organizacion/Vri/Cdcitra/Informes_Finales_Investigacion/IF_ABRIL_2012/IF_ALFARO RODRIGUEZ_FIEE.Pdf).
- SÁNCHEZ-ROMERO, M.I., GARCÍA-LECHUZ MOYA, J.M., GONZÁLEZ LÓPEZ, J.J. Y ORTA MIRA, N., 2019. Recogida, Transporte Y Procesamiento General De Las Muestras En El Laboratorio De Microbiología. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica* [En Línea], Vol. 37, No. 2, ISSN 0213005X. DOI 10.1016/J.Eimc.2017.12.002. Disponible En: <https://Linkinghub.Elsevier.Com/Retrieve/Pii/S0213005X17303907>.
- SARDUY, Y., 2016. El Análisis De Datos Y Las Investigaciones Cuantitativa Y Cualitativa. *Revista Cubana*,
- SAZANOVA, K. V., FRANK-KAMENETSKAYA, O. V., VLASOV, D.Y., ZELENSKAYA, M.S., VLASOV, A.D., RUSAKOV, A. V. Y PETROVA, M.A., 2020. Carbonate And Oxalate Crystallization By Interaction Of Calcite Marble With *Bacillus Subtilis* And *Bacillus Subtilis*-*Aspergillus Niger* Association. *Crystals*, Vol. 10, No. 9, ISSN 20734352. DOI 10.3390/Cryst10090756.
- STEPANOVA, A.Y., GLADKOV, E.A., OSIPOVA, E.S., GLADKOVA, O.V. Y TERESHONOK, D.V., 2022. Bioremediation Of Soil From Petroleum Contamination. *Processes* [En Línea], Vol. 10, No. 6, ISSN 2227-9717. DOI 10.3390/Pr10061224. Disponible En: <https://Www.Mdpi.Com/2227-9717/10/6/1224>.

- THOMAS, G.E., CAMERON, T.C., CAMPO, P., CLARK, D.R., COULON, F., GREGSON, B.H., HEPBURN, L.J., MCGENITY, T.J., MILIOU, A., WHITBY, C. Y MCKEW, B.A., 2020. Bacterial Community Legacy Effects Following The Agia Zoni II Oil-Spill, Greece. *Frontiers In Microbiology* [En Línea], Vol. 11, ISSN 1664-302X. DOI 10.3389/Fmicb.2020.01706. Disponible En: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/Fmicb.2020.01706/full>.
- UKHUREBOR, K.E., ATHAR, H., ADETUNJI, C.O., AIGBE, U.O., ONYANCHA, R.B. Y ABIFARIN, O., 2021. Environmental Implications Of Petroleum Spillages In The Niger Delta Region Of Nigeria: A Review. *Journal Of Environmental Management* [En Línea], Vol. 293, ISSN 03014797. DOI 10.1016/J.jenvman.2021.112872. Disponible En: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301479721009348>.
- ULE, O., OGBONNA, D.N., OKPARANMA, R.N. Y NROR, R.R., 2021. Myco-Enhanced Bioremediation In Open Field Crude Oil Contaminated Soil Using *Mucor Racemosus* And *Aspergillus Niger*. *Current Journal Of Applied Science And Technology*, No. March, DOI 10.9734/Cjast/2021/V40i131241.
- WANG, D., LIN, Jiahui, LIN, Junzhang, WANG, W. Y LI, S., 2019. Biodegradation Of Petroleum Hydrocarbons By *Bacillus Subtilis* BL-27, A Strain With Weak Hydrophobicity. *Molecules*, Vol. 24, No. 17, ISSN 14203049. DOI 10.3390/Molecules24173021.
- WRIGHT, S.K., ALLAN, S., WILKIN, S.M. Y ZICCARDI, M., 2022. Oil Spills In The Arctic. *Arctic One Health* [En Línea]. Cham: Springer International Publishing, Pp. 159-192. Disponible En: [https://link.springer.com/10.1007/978-3-030-87853-5\\_7](https://link.springer.com/10.1007/978-3-030-87853-5_7).
- YATES, J.S. Y BAKKER, K., 2019. Debating The «Post» In Post-Extractive Economies: Considering The Role Of Oil And Gas In Newfoundland And Labrador's Imagined Futures. *The Extractive Industries And Society*,
- ZHONG, X., NIU, H., WU, Y., HANNAH, C., LI, S. Y KING, T., 2018. A Modeling Study On The Oil Spill Of M/V Marathassa In Vancouver Harbour. *Journal Of Marine Science And Engineering*, Vol. 6, No. 3, ISSN 20771312. DOI 10.3390/JMSE6030106.