

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA



EVALUACIÓN DE UNA ESTRATEGIA DE BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS
DE PÁRAMO AFECTADOS POR INCENDIO MEDIANTE CONSORCIOS DE
MICROORGANISMOS NATIVOS DEL PARQUE NACIONAL CAYAMBE
COCA.

PLAN DE TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO/A EN INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

AUTOR/A:

FARINANGO COLCHA JOMAYRA ANDREINA
LÓPEZ JÁCOME TATIANA ELIZABETH

DIRECTOR:

Ing. SANTIAGO ZARATE. MSc.

Ibarra – Ecuador
2022

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES

ESCUELA DE INGENIERIA EN
BIOTECNOLOGÍA

**“EVALUACIÓN DE UNA ESTRATEGIA DE BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS DE PÁRAMO
AFECTADOS POR INCENDIO MEDIANTE CONSORCIOS DE MICROORGANISMOS
NATIVOS DEL PARQUE NACIONAL CAYAMBE COCA”,**

Trabajo de grado revisado por el Comité Asesor, por lo cual se autoriza su presentación como
requisito parcial para obtener Título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

APROBADO:

Ing. Santiago Zarate MSc.

DIRECTOR



FIRMA

Ing. Carla Sandoval MSc.

MIEMBRO TRIBUNAL



FIRMA

Biol. Sania Ortega MSc.

MIEMBRO TRIBUNAL



FIRMA



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN
A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1004145056		
APELLIDOS Y NOMBRES:	López Jácome Tatiana Elizabeth		
DIRECCIÓN:	Chaltura, calle Obispo Mosquera y Abdón Calderón		
EMAIL:	telopezj@utn.edu.ec		
TELÉFONO FIJO:	2533016	TELÉFONO MÓVIL:	0967092803
DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1726296567		
APELLIDOS Y NOMBRES:	Farinango Colcha Jomayra Andreina		
DIRECCIÓN:	Cayambe, Ayora Comunidad Santo Domingo número 1, Barrio Central		
EMAIL:	jafarinangoc@utn.edu.ec		
TELÉFONO FIJO:	2148092	TELÉFONO MÓVIL:	0968989330

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	Evaluación de una estrategia de biorremediación de suelos de páramo afectados por incendio mediante consorcios de microorganismos nativos del Parque Nacional Cayambe Coca
AUTOR (ES):	Farinango Andreina, López Tatiana
FECHA: DD/MM/AAAA	03/08/2022
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
TITULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera en Biotecnología
ASESOR /DIRECTOR:	Ing. Santiago Zarate MSc.

2. CONSTANCIAS

Los autores (es) manifiesta (n) que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es (son) el (los) titular (es) de los derechos patrimoniales, por lo que asume (n) la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá (n) en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los ocho días del mes de noviembre de 2022

LAS AUTORAS:



.....
Farinango Colcha Jomayra Andreina

C.I: 172629656-7



.....
López Jácome Tatiana Elizabeth

C.I: 100414505-6

AGRADECIMIENTO

Queremos expresar nuestra gratitud a Dios, quien con su bendición llena siempre nuestra vida y a toda nuestra familia por estar siempre presentes. Nuestro profundo agradecimiento a todas las autoridades y miembros del proyecto de Cooperación Internacional BIOGEEC por confiar en nosotros y darnos la oportunidad de realizar todo el proceso investigativo bajo su dirección y financiamiento.

De igual manera nuestro agradecimiento a los docentes y técnicos de laboratorio de la Carrera de Ingeniería en Biotecnología en especial a nuestro director y asesoras de tesis quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que podamos crecer día a día como profesionales, gracias a cada uno de ustedes por su paciencia, dedicación y apoyo incondicional. A compañeros y amigos que compartieron esta etapa de nuestras vidas. Finalmente queremos expresar el más grande y sincero agradecimiento al Ing. Santiago Zárate principal colaborador durante todo este proceso, quien con su dirección, conocimiento, enseñanza y colaboración permitió el desarrollo de este trabajo y del proyecto BIOGEEC-UTN.

Jomayra Andreina Farinango Colcha

Tatiana Elizabeth López Jácome

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios quien ha sido mi guía, fortaleza en todo este proceso de formación universitaria. A mis padres Iván y Gloria quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía. A mis hermanas Yadira y Glorita por su cariño y sus palabras de aliento, por estar conmigo y cuidar de Amanda.

A Amanda por transformar mi vida por completo, por ser mi más grande motivo y alimentar de amor mi corazón. Al escuchar tu dulce vocecita pronunciando el nombre que me diste ¡mamá!, porque eres la razón para luchar y seguir adelante.

Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer por su amistad, apoyo, ánimo y compañía en las diferentes etapas de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y eternamente en mi corazón por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Todos mis esfuerzos logros y objetivos por cumplir se los dedico a ustedes. Gracias por tanto y por todo.

Andre

DEDICATORIA

Mi tesis está dedicada para Dios ya que en los días en los que pensaba que no podía más él me dio la fortaleza y sabiduría para continuar.

A mi madre que desde el Cielo guía mi camino y cuida cada día de mi vida. A mi hermana Cecilia Jácome que sacrificó sus noches de sueño por brindarme su cuidado, amor y siempre estar para mí. A mis sobrinos Alexandra, Erick y Andrés que son motivo para esforzarme en ser un buen ejemplo a nivel personal y profesional.

A mi familia y amigos que compartieron junto a mi día a día está hermosa travesía desde el inicio hasta el final de mi carrera. Y a todos mis maestros quienes han forjado mi camino y me han dirigido por el sendero correcto.

Finalmente, a una persona muy especial que ha sido fundamental en este proceso, no ha sido sencillo culminar con éxito este proyecto, sin embargo, siempre fuiste muy motivador, me decías que lo lograría perfectamente. Me ayudaste hasta donde te era posible, incluso más que eso. Gracias Amor.

Tati

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
CAPÍTULO I.....	17
1 INTRODUCCIÓN	17
1.1 Antecedentes	17
1.2 Planteamiento del problema.....	20
1.3 Justificación	21
1.4 Pregunta directriz	22
1.5 Objetivos	23
1.5.1 <i>Objetivo general.</i>	23
1.5.2 <i>Objetivos específicos</i>	23
1.6 Hipótesis	23
CAPÍTULO II.....	24
2 MARCO TEÓRICO.....	24
2.1 Páramo	24
2.1.1 <i>Generalidades</i>	24
2.1.2 <i>Parque Nacional Cayambe Coca</i>	24
2.1.3 <i>Biodiversidad de los páramos</i>	25
2.1.4 <i>Servicios ecosistémicos</i>	26
2.2 Suelo de Páramo	27
2.2.1 <i>Propiedades fisicoquímicas de los suelos de páramo</i>	27
2.2.2 <i>Propiedades biológicas y microbiológicas</i>	29
2.3 Actividades antropogénicas	30
2.3.1 <i>Agricultura y ganadería</i>	30
2.3.2 <i>Incendio en los Páramos</i>	31
2.4 Biorremediación de Suelos	35
2.4.1 <i>Tipos de biorremediación</i>	37
2.5 Estrategias de laboratorio para evaluar metodologías de biorremediación	42
2.5.1 <i>Actividad enzimática</i>	43

2.5.2	<i>Supervivencia microbiana</i>	43
2.5.3	<i>Respiración del suelo (Emisión de CO₂)</i>	44
2.5.4	<i>Reactores para biorremediación de suelo contaminado</i>	44
2.6	Restauración de Áreas Quemadas en Ecuador	46
2.7	Proyecto BIOGEEC	47
CAPÍTULO III		49
3	METODOLOGÍA	49
3.1	Descripción del área de estudio	49
3.2	Muestreo	50
3.2.1	<i>Muestras simples</i>	51
3.3	Análisis físicoquímico de suelo	52
3.3.1	<i>Muestras compuestas</i>	52
3.3.2	<i>Parámetros evaluados</i>	52
3.4	Aislamiento de microorganismos	52
3.4.1	<i>Aislamiento de bacterias</i>	53
3.4.2	<i>Aislamiento de hongos</i>	53
3.5	Biorremediación de suelo quemado.....	54
3.5.1	<i>Diseño y construcción de un prototipo de biorreactor</i>	54
3.5.2	<i>Simulación del incendio en muestras de suelo de páramo prístino.</i>	57
3.5.3	<i>Bioestimulación</i>	57
3.5.4	<i>Bioaumentación</i>	58
3.5.5	<i>Tratamiento combinado</i>	59
3.5.6	<i>Aplicación de los tratamientos de biorremediación en biorreactores</i>	59
3.6	Parámetros físicoquímicos y microbiológicos para evaluar metodologías de biorremediación	59
3.6.1	<i>Humedad</i>	60
3.6.2	<i>Supervivencia microbiana</i>	61
3.6.3	<i>Actividad enzimática</i>	61
3.7	Análisis estadístico	63
CAPÍTULO IV		65
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	65
4.1	Análisis físicoquímico de suelo de páramo prístino y afectado por incendio..	65
4.2	Aislamiento de microorganismos de suelos de páramo prístinos y afectados por incendio.....	68
4.2.1	<i>Aislamiento de bacterias</i>	68

4.2.2	<i>Aislamiento de hongos</i>	72
4.3	Evaluación de metodologías de biorremediación	77
4.3.1	<i>Crecimiento del consorcio microbiano para la estrategia de bioaumentación</i>	77
4.1.1	<i>Evaluación de estrategias de biorremediación en reactores anaerobio..</i>	80
4.1.2	<i>Evaluación de estrategias de biorremediación en reactores aerobios</i>	86
4.4	Elaboración de una guía didáctica	92
	CAPÍTULO V	95
	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	95
5.1	Conclusiones	95
5.2	Recomendaciones	95
	REFERENCIAS	99

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	
Factores que influyen en los procesos de degradación de xenobióticos en el suelo.	37
Figura 2	
Mapa ubicación plots páramo prístino y quemado	50
Figura 3	
Diagrama para muestreo de suelo distribuido en cuadrantes para cada parcela.....	51
Figura 4	
Muestreo de suelo por diagonal para muestras simples en cuadrantes.....	51
Figura 5	
Diseño y construcción del biorreactor para tratamientos de biorremediación con sus diferentes partes: a) Entrada de agua, b) Conector trampa de CO ₂ , c) Trampa de CO ₂ , d) Suelo y e) Columna del biorreactor.....	56
Figura 6	
Crecimiento en diferentes medios de cultivo pseudomonas y actinomicetos en UFC/g de bacterias aisladas de suelo de páramo prístino y quemado A) a las 24 horas, B) a las 48 horas y C) a las 72 horas.....	70
Figura 7	
Microscopía de bacterias seleccionadas para bioaumentación, observadas a 100X.	72
Figura 8	
Imágenes microscópicas de colonias fúngicas visualizadas a los 15 días de incubación, cultivadas en medio PDA y Malta.....	76
Figura 9	
Cinética de crecimiento de bacterias medidas en escala de McFarland (cel/ml) A) Pseudomonas B) actinomicetos	78
Figura 10	
A) Actividad glucosidasa y B) Actividad fosfatasa evaluada en tratamientos de recuperación de suelo de páramo.....	84
Figura 11	
pH evaluado en tratamientos de recuperación de suelo de páramo.....	85
Figura 12	
Humedad evaluada en tratamientos de recuperación de suelo de páramo.	86
Figura 13	
Supervivencia microbiana en suelo de páramo evaluada en reactores aerobios.	87
Figura 14	
A y B Actividad glucosidasa de suelo de páramo evaluada en tratamientos de recuperación de suelo de páramo.....	88
Figura 15	
A y B Actividad fosfatasa de suelo de páramo evaluada en tratamientos de recuperación de suelo de páramo.....	89

Figura 16	
Humedad de suelo de páramo evaluado en reactores aerobios.	91
Figura 17	
Evaluación de pH de suelo de páramo evaluado en reactores aerobios	91
Figura 18	
Portada de la guía didáctica	94

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	
Valores de las propiedades fisicoquímicas de tres tipos de suelo de páramo.....	28
Tabla 2	
Características fisicoquímicas de suelo de Páramo El Ángel.....	29
Tabla 3	
Focos activos de fuegos (%) y área afectada (%) en los principales biomas en Colombia, Ecuador y Perú	32
Tabla 4	
Métodos más usados en biorremediación de suelos	36
Tabla 5	
Factores que influyen en los procesos de biorremediación.	36
Tabla 6	
Microorganismos usados en estudios de bioaumentación de suelos.	38
Tabla 7	
Nutrientes usados en estudios de bioestimulación de suelo.	39
Tabla 8	
Comparación de ventajas y desventajas de los métodos de bioaumentación y bioestimulación de tratamientos en suelo.....	41
Tabla 9	
Número de incendios forestales y hectáreas quemadas.....	46
Tabla 10	
Materiales considerados para la construcción del prototipo de biorreactor, características y ejemplos de uso	54
Tabla 11	
Tabla de costos por cada material para construcción de biorreactor	55
Tabla 12	
Valores del análisis físico químico en las muestras de suelo de páramo prístino (plot 1, plot 2 y plot 3), páramo quemado (plot 4) y suelo de páramo simulado el incendio.	65
Tabla 13	
Códigos de los aislados fúngicos correspondientes a los diferentes puntos de muestreo.	72
Tabla 14	
Tasa específica de crecimiento de bacterias A) pseudomonas y B) actinomicetos respectivamente empleadas en el tratamiento de bioaumentación	78

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1

Tabla de decisión para determinar el tipo de material para la construcción del prototipo de biorreactor..... 96

Anexo 2

Cálculo de la descompensación o déficit de nitrógeno en el suelo de páramo simulado el incendio 97

RESUMEN

Los incendios forestales representan una gran amenaza para el ecosistema de páramo, a menudo arrasan grandes extensiones de tierra cada año. Los incendios afectan directamente al suelo produciendo efectos negativos en la composición y dinámica del mismo por lo que se han desarrollado varias técnicas para la recuperación del suelo como la biorremediación, una tecnología prometedora. En la presente investigación, se comparó las propiedades fisicoquímicas de suelo de páramo prístino y quemado. Además, se evaluó el uso de técnicas de biorremediación *ex situ* para la restauración del suelo después de un incendio simulado. Las estrategias estudiadas fueron la bioaumentación que combinó el uso de cepas *Pseudomonas* y actinomicetos aisladas de suelo de páramo prístino. Asimismo, se evaluó la bioestimulación añadiendo NH_4NO_3 como fuente de nitrógeno con el fin de promover la actividad microbiana en el suelo. Finalmente, se combinó los dos tratamientos. Los parámetros de monitoreo de remediación fueron pH, actividad enzimática, supervivencia microbiana y emisión de CO_2 . El análisis fisicoquímico determinó la disminución de nitrógeno en suelo afectado por incendio, evidenciando una descompensación de nutrientes causada por el fuego. Además, existieron diferencias significativas para la carga bacteriana entre los tres tiempos evaluados (24, 48 y 72h) en los diferentes Plots, siendo el Plot 1 (bosque de *Polylepis*) el que mostró mayor crecimiento mientras que, el Plot 4 (pajonal quemado) presentó un menor crecimiento de bacterias. En cuanto a la evaluación de estrategias de biorremediación al medir la emisión de CO_2 no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Los resultados indican que los incendios afectan tanto a las propiedades fisicoquímicas como microbiológicas, disminuyendo los micro y macronutrientes que afectan el desarrollo y crecimiento de las bacterias del suelo.

CAPÍTULO I

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Los páramos andinos presentan actualmente un complejo régimen de disturbios naturales y antrópicos cuya base está en la utilización del fuego para el desarrollo de ganaderías extensivas e intensivas (Vargas & Mora, 2004). Los ecosistemas de páramo presentan una intensa degradación como resultado de la pérdida parcial o total de la cobertura vegetal. La utilización de los páramos andinos, bajo sistemas ganaderos y agrícolas han generado regímenes de disturbio con intensidades, magnitudes y frecuencias diferentes. Se tiene efectos puntuales en la composición, estructura y diversidad de la biota y del suelo. Adicionalmente, se altera la dinámica hídrica, los flujos de nutrientes y la capacidad regenerativa natural de este ecosistema (Tapia Zúñiga et al., 2017).

En este sentido, se ha realizado diferentes investigaciones sobre los incendios forestales determinando que afectan principalmente a los ecosistemas y ocasionan modificaciones en sus procesos ecológicos causando múltiples impactos (Aguirre Mendoza, 2017). Igualmente, Armenteras et al., (2020) muestra los grandes vacíos del conocimiento en la ecología del fuego de gran parte de los ecosistemas paramunos, en dicho estudio se exponen los avances en los patrones espaciales y temporales de los incendios, los efectos sobre los ecosistemas y las dinámicas post incendio. Otros estudios al respecto como el de Poulénard et al., (2001) se han llevado a cabo para evaluar el efecto del uso de la tierra (quema y labranza) sobre las propiedades hidrodinámicas del suelo.

Camargo et al., (2012) realizó una evaluación de las propiedades físicas y químicas de los suelos en áreas afectadas y no afectadas por el incendio inmediatamente después del suceso y luego de 2 años. Leon & Lasso, (2019) evaluaron la tolerancia al calor de las hojas de 21 especies de páramo alpino tropical considerando que el umbral de temperatura superior en los páramos rara vez se ha estudiado. Evidentemente, la composición de la comunidad aérea y la diversidad después de un incendio se han estudiado ampliamente, pero los efectos del fuego en las comunidades bacterianas del suelo permanecen en gran parte sin examinar a pesar del papel central de las bacterias en la recuperación y el funcionamiento de los ecosistemas (Durán et al., 2005). El calor de los incendios puede matar las bacterias del suelo, reduciendo la biomasa microbiana e

impactando directamente en la composición y diversidad de la comunidad bacteriana(Wang et al., 2012)

De los pocos estudios relacionados acerca del efecto del fuego en la microbiota del suelo Beltrán Pineda & Lizarazo, (2014) llevaron a cabo un diagnóstico microbiológico de suelos para evaluar el efecto de la quema sobre grupos cultivables de microorganismos. El objetivo de dicho estudio fue realizar el diagnóstico microbiológico de un suelo afectado por incendios forestales a los 12 meses de haberse producido el incendio y su comparación con un suelo no perturbado. Adicionalmente, Xiang et al.,(2014) evaluaron las respuestas de la comunidad bacteriana a los incendios forestales en las montañas de Greater Khingan en China. El fuego alteró la composición de la comunidad bacteriana del suelo y los incendios de alta intensidad disminuyeron significativamente la diversidad bacteriana 1 año después de la quema. Asimismo, Singh et al., (2021) evaluaron el impacto de los incendios forestales en las propiedades microbianas del suelo, la actividad enzimática y su relación con las propiedades fisicoquímicas del suelo en el advenimiento de los incendios forestales en los bosques de pinos y robles de la región de Garhwal de Uttarakhand Himalaya en la India. Obteniendo que, la biomasa microbiana del suelo, el carbono y el nitrógeno, la respiración basal del suelo y la actividad de la fosfatasa ácida disminuyeron, mientras que la actividad de la deshidrogenasa aumentó en los suelos quemados.

Para la recuperación de sitios afectados por incendios generalmente, se efectúan métodos físicos, químicos y biológicos. Sin embargo, los métodos físico químicos son comúnmente los más usados(Lim et al., 2014). La respuesta posterior al incendio para evitar la erosión del suelo incluye diferentes alternativas tales como eliminación de árboles quemados, instalación de barreras contra la erosión del suelo con materiales naturales o artificiales en la ladera y captación por ejemplo, represas de control, escalas, siembra, hidrosiembra, plantación de árboles o permitir que la naturaleza se recupere, lo que se denomina regeneración natural (López-Vicente et al., 2021). La remediación a través de sistemas biológicos es la más aceptada, por los bajos costos relativos asociados y por su sustentabilidad ambiental (Fernández et al., 2012; Tribedi et al., 2018)

En consecuencia, la biorremediación se ha convertido en uno de los campos de restauración ambiental de más rápido desarrollo (Widevoxhel, 2011). Entre las técnicas de biorremediación, la bioaumentación es la que exhibe el mayor potencial para la

limpieza del suelo (Lebeau, 2011). La remediación microbiana de compuestos es competente, económicamente viable y utiliza una amplia gama de microorganismos (Mishra et al., 2021). Se han realizado estudios relacionados a bioaumentación de suelos afectados por incendios (Pizarro et al., 2015) exploraron el uso de técnicas de biorremediación y rizorremediación para la restauración del suelo en una prueba a escala de campo en un ecosistema mediterráneo protegido después de un incendio controlado. En dicha investigación, se combinó el uso de cepas *Pseudomonas putida*, microbios cultivables autóctonos y gramíneas anuales, determinando que la estrategia de rizorremediación podría presentarse como una alternativa viable y rentable para el tratamiento de ecosistemas afectados por incendios.

En cuanto a bioestimulación Andreolli et al., (2015) comparó bioaumentación mediante la inoculación del suelo con una suspensión de *Trichoderma sp.* y bioestimulación mediante una formulación promotora del crecimiento microbiano añadida al suelo, con el fin de verificar la efectividad de estos métodos en la degradación de hidrocarburos tóxicos en un área forestal impactada por reciente incendio forestal en el norte de Italia. La bioestimulación resultó en una reducción del 70% para los compuestos de C₁₂₋₄₀ y del 100% para los hidrocarburos aromáticos policíclicos en 60 días. Sarkar et al., (2016) evaluó el alcance de la bioestimulación *in situ* para la biorremediación de lodos de refinería de petróleo, determinando que se podría lograr una tasa apreciable de biorremediación *in situ* mediante el suministro de fuentes adecuadas de N. Simpanen et al., (2016) compararon los tratamientos de bioestimulación, oxidación química y atenuación natural en condiciones naturales y a escala piloto durante un experimento de 16 meses para evaluar el método eficaz en la remediación de suelo contaminado con petróleo. La bioestimulación demostró ser el método más eficiente en la comparación de tratamientos de remediación de suelos *in situ* después de un accidente de derrame de petróleo. Del mismo modo se ha investigado la aplicación de la bioestimulación en la recuperación de suelos afectados por otros contaminantes como los herbicidas (Kanissery & Sims, 2011).

En Ecuador el Ministerio del Ambiente a través de las diferentes Direcciones Provinciales ejecuta el Plan de Prevención, Control de Incendios Forestales y Remediación de Áreas Afectadas en el Ecuador que se enfoca en la recuperación de áreas afectadas por los incendios en época seca. En la parte legal con la vigencia del Código

Orgánico Integral Penal se considera un delito provocar un incendio forestal y se sanciona este delito (piromanía) con prisión, según lo establece el artículo 246 del cuerpo legal (Cunalata & Sánchez, 2018).

1.2 Planteamiento del problema

El páramo es el mayor proveedor de agua para las regiones montañosas andinas de Venezuela, Colombia y Ecuador (Hofstede, 1995). Los ecosistemas de páramo tienen un valor biológico, hidrológico, social, económico y cultural. Sin embargo, están altamente amenazados por desastres naturales y antropogénicos como la quema y el pastoreo excesivo (Camacho, 2014). Según algunos investigadores pese a que los suelos de páramo contribuyen al equilibrio ecológico de la región, su composición es poco entendida (García y otros, 2019). Así por ejemplo, los páramos ecuatorianos han sido ampliamente estudiados respecto a fauna y flora, sin embargo, el suelo, su microbiota y el papel que éste desempeña dentro del ecosistema ha sido poco investigado (Valle et al., 2009). Asimismo, la biodiversidad que contienen los hace entornos interesantes para la bioprospección (Hofstede et al., 2014).

Los incendios forestales son una de las actividades que más han afectado al ecosistema de páramo (Mrozik & Seget, 2010). La quema es usada como un mecanismo para remover la vegetación y preparar las tierras de cultivo además de la renovación de pastizales y el cambio del uso del suelo (Myers, 2006). El cambio del uso del suelo implica el aumento de la frontera agrícola para incorporar nuevos territorios, lo que conlleva a la reducción de los montes nativos como los páramos (Trucco, 2009). Los incendios pueden tener impactos negativos en la fertilidad del suelo, la biodiversidad, los recursos de la tierra, el calentamiento global y los bienes humanos, pero también pueden producirse efectos ambientales positivos, como la mejora de la regeneración forestal y el reciclaje de nutrientes. El impacto positivo o negativo del fuego en un ecosistema dependerá de varios factores, como, la gravedad del fuego, las condiciones climáticas, el tipo de suelo, las restricciones topográficas, el tipo de vegetación, las características del combustible y la humedad del suelo, entre otros (Tyagi et al, 2011).

Uno de los problemas que los páramos enfrentan después de una perturbación antropogénica como los incendios forestales, es su lenta recuperación. El ecosistema necesita varios años para recuperarse de una quema. Aunque al año ya se nota que la paja ha alcanzado su altura original, todavía demora muchos años más hasta encontrar su

estructura natural (Sarango et al., 2019). Los incendios severos, como los incendios forestales, generalmente tienen varios efectos negativos en el suelo. Causan una eliminación significativa de la materia orgánica, el deterioro de la estructura, una pérdida de nutrientes y alteración tanto de la cantidad como de la composición de las comunidades microbianas que viven en el suelo, facilita el crecimiento de especies invasoras, por lo tanto disminuye la funcionalidad del páramo (Aguirre Mendoza, 2017).

Para la recuperación de suelos afectados por incendios generalmente, se emplean técnicas de remediación convencionales y que aún se usan con frecuencia se basan en la excavación del suelo, el transporte y el tratamiento fuera del sitio (T. M. Vogel, 1996). Sin embargo, la remediación a través de sistemas biológicos es la más aceptada, por los bajos costos relativos asociados y por su sustentabilidad ambiental (Fernández et al., 2012). Con los avances en biotecnología el uso de herramientas biológicas para la limpieza de sitios contaminados es una opción muy atractiva (Segura et al., 2009). Es así que, la bioaumentación y la bioestimulación han sido estudiadas y aplicadas en la rehabilitación de suelos afectados por incendios, obteniéndose resultados promisorios que sugieren la aplicación y estudio de las mismas (Andreolli et al., 2015).

A nivel país se ejecuta el plan de prevención, control de incendios forestales y remediación de áreas afectadas que se enfoca en la recuperación de lugares afectados por los incendios en época seca y se cuenta con el Programa Socio Páramo mediante el cual se proporciona un incentivo económico para quienes se comprometan con la conservación y protección de bosques nativos (MAE, 2015). Sin embargo, dentro de este plan no se incluye la biorremediación como una alternativa para la recuperación de las áreas afectadas. Las actividades de remediación requieren pruebas de laboratorio como una guía hacia el éxito. Conjuntamente proporcionan información acerca de las condiciones y factores que actúan en el proceso. Por lo que sirven como base para estimar los costos y garantías de un proyecto (Garzón et al., 2017).

1.3 Justificación

El presente proyecto se enfoca en el ecosistema del páramo, los cuales poseen gran importancia para el desarrollo económico, natural y social del país. La importancia ambiental de los páramos radica en la alta biodiversidad, importancia biogeográfica, evolutiva, ecológica y económica que estos poseen, esto lo hace un ecosistema único con

especies que se han adaptado a este medio y no se encuentran en ningún otro lugar (Ezcurra & Gavini, 2020). Dentro de los servicios ecosistémicos que el páramo aporta a las poblaciones que se encuentran cerca a estos, está la dotación de agua para consumo y regadío, debido a la capacidad de retención de agua en el suelo. Por ejemplo, en ciudades como Quito, los páramos de Papallacta y Antisana aportan el 100 % del agua que consumen sus habitantes (Garavito, 2015). De esta manera, el cuidado de los páramos tiene gran importancia, dado el papel potencial, que éstos, desempeñan como sumideros de CO₂ y consecuentemente, como reductores de la emisión de gases de efecto invernadero (Torres et al., 2012). Debido a los recursos que el suelo de páramo proporciona a la sociedad es de vital importancia la experimentación y desarrollo de nuevas alternativas de restauración de estos. Por lo que, es necesaria la investigación para la obtención de conocimiento científico mediante la bioprospección y aplicación de la diversidad microbiana en la recuperación de suelos afectados por incendios.

El valor científico y ecológico del páramo y su suelo es innegablemente único. Sin embargo, la información que se ha recopilado mediante diferentes investigaciones sobre este ecosistema sigue siendo insuficiente. No obstante, y para interés de la temática presentada no existen considerables datos presentes sobre el impacto del incendio en las bacterias del suelo. Algunos estudios realizados en bacterias del suelo después del incendio forestal sugieren que la estructura de la comunidad bacteriana cambia significativamente después del evento del incendio (Fernández et al., 2012). Por esta razón se propone establecer un patrón de comparación entre un ecosistema de páramo prístino y afectado por un incendio a nivel fisicoquímico y microbiológico. El mismo que será de gran utilidad para la implementación de estrategias de recuperación de suelos de este ecosistema. Así como la conservación de especies microbianas de interés nacional y mundial, en base a las cuales se pueden establecer diversos proyectos de cooperación internacional que permiten el desarrollo local y regional y a la vez la transferencia de tecnología y conocimiento, como es el caso del proyecto de cooperación alemana BIOGEEC en el que se enlaza la investigación propuesta, este proyecto presenta aportaciones económicas que permiten la difusión de conocimiento científico.

1.4 Pregunta directriz

¿Es posible biorremediar un suelo afectado por incendios mediante el uso de consorcios de microorganismos nativos?

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general.

Evaluar una estrategia de biorremediación de suelos de páramo afectados por incendio mediante consorcios de microorganismos nativos.

1.5.2 Objetivos específicos

- Caracterizar suelos de páramo prístino y quemado de forma fisicoquímica y microbiológica.
- Aislar microorganismos de suelos de páramo prístino y afectado por incendio
- Evaluar estrategias de biorremediación de suelo afectado por incendio mediante ensayos a escala laboratorio.
- Establecer un escenario de divulgación científica para la concientización de la protección y recuperación del páramo.

1.6 Hipótesis

Es posible biorremediar un suelo afectado por incendios mediante el uso de consorcios de microorganismos nativos

CAPÍTULO II

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Páramo

2.1.1 Generalidades

El páramo andino se extiende desde Colombia hasta el norte de Perú, ocupa alrededor de 46 000 km², distribuidos mayormente en Ecuador (39,8%), Colombia (30,5%) y Perú (24,6%) y, en menor medida Venezuela (5,2%). El páramo está situado entre el límite continuo del bosque montano y las nieves perpetuas a 3000 msnm y 5 000 msnm (Chai et al., 2020). La mayoría de los páramos ecuatorianos son húmedos, pues sobre ellos caen entre 500 y 2 000 mm de precipitación anual (Camacho, 2014). La característica fundamental de los páramos es almacenar y regular el agua de las precipitaciones y del descongelamiento de la nieve y el hielo. En el páramo el agua se almacena en mayor proporción en los suelos debido a su capacidad hidromórfica (Llambí y otros, 2012). Se consideran tres categorías del páramo:

- Páramo inferior, zona de pajonal entre los 3 200 y 4 000 msnm, con una tendencia a subir del límite inferior por intervención de la presión humana.
- Páramo medio, entre 4000 y 4 500 msnm.
- Páramo superior sobre los 4 500 msnm.

2.1.2 Parque Nacional Cayambe Coca

El Parque Nacional Cayambe Coca es una de las áreas protegidas del Ecuador más diversas tanto natural como culturalmente dentro del Sistema Nacional de Áreas Protegidas, además se considera como una de las zonas con mayor reserva de agua dulce no contaminada del mundo. El área protegida se encuentra localizada al noreste de Ecuador en la Cordillera de los Andes (MAE, 2020). El territorio del Parque alcanza las 403 103 hectáreas extendidas desde la región Andina, hasta la región Amazónica y comprende dos zonas definidas por su rango altitudinal que son la zona alta y la zona baja. El área que se encuentra en la región Andina corresponde a las provincias de Pichincha e Imbabura conocidas como la zona alta (2000 a 5790 msnm) que incluye territorios de páramo como los de Oyacachi y Papallacta que albergan un amplio complejo

de humedales, bosques andinos y volcanes como el Cayambe. Por otro lado, las provincias de Napo y Sucumbíos comprenden la región Amazónica y es conocida como la zona baja (600 a 1000 msnm), que se caracteriza por los bosques subtropicales (Sistema Nacional de Arreas Protegidas del Ecuador, 2018). Por otra parte, debido a las características de hábitat ventajosas en el territorio del Parque Nacional Cayambe Coca se asientan comunidades indígenas, como la comunidad Kichwa de Oyacachi y la comunidad Cofán en la provincia de Sucumbíos.

En el contexto de biodiversidad del Parque, se han registrado más de 100 especies de plantas endémicas como taruga, achicoria, chuquiragua, romerillo, licopodio, achupalla y quinua. De la misma manera, en cuanto a fauna se han identificado alrededor de 106 especies de mamíferos entre ellos el oso de anteojos, lobo de páramo, raposa común, murciélago orejón andino, puerco espín, musaraña andina, entre otros. Asimismo, se han descrito 395 especies de aves de las que destacan el cóndor andino, guacamayo militar, tucán andino, pato puntiado, zambullidor plateado, perdíz de páramo, entre otros. Se tienen 70 especies de reptiles entre culebras y lagartijas además de 116 especies de anfibios como sapos, ranas, salamandras y cecílicos (MAE, 2020).

2.1.3 Biodiversidad de los páramos

Debido a la localización altitudinal del páramo se considera como islas biogeográficas con condiciones ambientales extremas para el desarrollo de la vida (Díaz et al., 2005). Estos aspectos han condicionado el establecimiento de formas de vida que desarrollan diversas adaptaciones morfológicas, fisiológicas y de comportamiento específicas que ha dado lugar a un alto grado de endemismo. Es así que, en los páramos existen más de 4 000 especies de plantas, con un 60% de endemismo (Llambí et al., 2012). El páramo alberga diferentes especies de vida silvestre, como el oso de anteojos (*Tremarctos ornatus*), el zorro de páramo (*Pseudalopex culpaeus*), el cóndor (*Vultur gryphus*), entre otros.

Adicionalmente, el páramo ecuatoriano está constituido por una vegetación natural herbácea y las que se pueden encontrar en mayor proporción son las gramíneas como la paja (*Stipa ichu*), Festuca y *Calamagrostis* así como musgo del género *Sphagnum* que por su conformación en almohadilla cumple con funciones de almacenamiento de agua. Del mismo modo, son frecuentes especies arbustivas y leñosas. Las especies más

representativas del páramo son el frailejón, cardón, macolla, chusques, bambúes, árboles enanos y arbustos (Camacho, 2014; Giné & Sánchez, 2015).

Respecto a la diversidad microbiana del suelo de páramo, las comunidades microbianas se establecen de acuerdo con las características del hábitat, y son determinadas por la ubicación geográfica y los factores físico químicos (Zhang y otros, 2013). En la investigación realizada por Lizarazo y Gómez (2015) en los suelos de páramo el grupo de bacilos Gram negativos es el más abundante, seguido por levaduras, hongos filamentosos, *Pseudomonas spp.* y Actinobacterias. Del mismo modo, se ha determinado la presencia de comunidades acidobacterianas y microalgas en regiones con un cuerpo de agua (Calderón et al., 2016). Además, se han identificado microorganismos fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulíticos, microorganismos de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Lactobacillus*, *Bacillus* y *Klebsiella*, y bacterias oligotróficas de los géneros *Caulobacter*, *Hyphomicrobium* (Avellaneda-Torres et al., 2020; Hernández & Lizarazo, 2015). Al analizar la microbiota asociada a plantas endémicas de páramo como *Espeletia* se han identificado principalmente microorganismos de los filos *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Armatimonadetes*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chloroflexi*, *Crenarchaeota*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *TM6*, *TM7* y *Verrucomicrobia*. *Corynebacterium sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Rothia sp.* (Ruiz-Pérez et al., 2016).

2.1.4 Servicios ecosistémicos

Los servicios ambientales fundamentales que el páramo presta son la continua provisión de agua en cantidad y calidad, y el almacenamiento de carbono atmosférico, que ayuda a controlar el calentamiento global. Los servicios ecosistémicos tienen que ver con el comportamiento del suelo que por mucho tiempo ha sido un elemento poco conocido y subvalorado (Tapia et al., 2017). El páramo puede brindar servicios ambientales gracias a sus características ecológicas como, por ejemplo, el suelo del páramo contiene grandes cantidades de carbono orgánico, debido a las bajas temperaturas que disminuyen la descomposición de la materia orgánica acumulada. Es así como, estos suelos regulan el nivel de dióxido de carbono emitido a la atmósfera actuando como sumideros (Hernández & Lizarazo, 2015). El páramo tiene dicha capacidad, debido a una alta retención de materia orgánica del suelo, la capa superior puede almacenar hasta 143

toneladas de carbono por hectárea lo que representa un depósito de carbono global vital (García et al., 2019).

Por otro lado, el potencial de regulación hídrica del páramo se relaciona con su alta capacidad de retención de agua debido a su vegetación, alcanzando en condiciones de saturación los 80-90 %. Es por esta razón que, en ciudades como Quito, los páramos de Papallacta y Antisana aportan el 100 % del agua que consumen sus habitantes (Garavito, 2015). Adicionalmente, los páramos tienen importancia a nivel social y cultural, puesto que, en ellos viven poblaciones excluidas que generan recursos económicos con la producción diversa de alimentos agrícolas, la gestión del turismo y la recreación. En este sentido, el ecoturismo abre las puertas hacia un desarrollo sustentable para poblaciones locales por su bajo impacto ambiental (Poulenard et al., 2003)

2.2 Suelo de Páramo

Los suelos de páramo son conocidos por su alta capacidad de almacenamiento de carbono y generalmente se clasifican en Andosol (Andisol), Regasol (Entisol), Umbrisol (Inceptisol) e Histosol (Histosol). Según esta taxonomía, los andosoles se desarrollan a partir de cenizas volcánicas, mientras que los Histosoles a partir de residuos vegetales orgánicos que contienen alto contenido de agua y bajo contenido de cenizas. Comúnmente, los suelos Andosoles se encuentran en las laderas empinadas de los páramos, en tanto que los Histosoles están presentes en los valles debajo de los humedales (Patiño et al., 2021). El suelo más común en páramos es de origen volcánico y se conoce técnicamente como andosol, del japonés que significa tierra negra (Hofstede y Mena, 2000). Los suelos típicos de páramo son negros y húmedos, el color negro es debido al alto contenido de materia orgánica (García et al., 2012). Debido a la alta humedad y al clima frío, la descomposición de materia orgánica es muy lenta, lo que hace que se acumule una gruesa capa de suelo orgánico (Podwojewski, 2015).

2.2.1 Propiedades fisicoquímicas de los suelos de páramo

La fracción fina de los Andosoles consiste principalmente en alófanos, imogolita y ferrihidrita asociadas con complejos de hierro y aluminio. Los andosoles se caracterizan por una combinación de características, que en conjunto forman las propiedades ándicas. Estos suelos tienen baja densidad aparente, alto contenido de materia orgánica, carga

variable, alta capacidad de retención de agua, tixotropía y alta retención de fosfato, debido a su mineralogía específica (Thompson et al., 2021).

Los suelos de páramo se caracterizan por su alto contenido de carbono orgánico debido a la reducida tasa de degradación de materia orgánica del suelo por las bajas temperaturas y alto contenido de agua. El contenido de carbono orgánico en los suelos de páramo puede alcanzar el 40% en regiones húmedas y un 7% en regiones secas. Las prácticas agrícolas como la quema y el arado aumentan la cantidad de materia orgánica disponible en el suelo. En la Tabla 1 se muestran las propiedades fisicoquímicas más importantes de los suelos de páramo.

Tabla 1

Valores de las propiedades fisicoquímicas de tres tipos de suelo de páramo.

	Densidad aparente (g/cm³)	Materia Orgánica (%)	pH	Arena (%)	Arcilla (%)	Porosidad (%)
Páramo seco	1.04	5.26	4.77	73	6.95	60.8
Páramo semihúmedo	0.48	13.4	0.87	36.2	30.1	81.9
Histosol	0.11	52.72	0.39	-	-	95.8

Procedente de (Llambí et al., 2012).

La porosidad del suelo de páramo en condiciones naturales con abundante vegetación es alta con un 75%, asociada a la granularidad, estructura y contenido de materia orgánica. Sin embargo, la agricultura, forestación y ganadería producen compactación del suelo reduciendo su porosidad. Por otra parte, la densidad aparente en los suelos de páramo es altamente variable y depende de las condiciones de humedad. En el páramo húmedo con lluvia superior a 1 800 mm, se ha determinado valores de densidad aparente de 0.14 a 0.6 g/cm³ mientras que en páramo seco con lluvia por debajo de 1 200 mm la densidad aparente es de 0.6 y 0.9 g/cm³. En cuanto a áreas afectadas por forestación y pastoreo de ganado se indican valores de 0.69 y 0.62 g/cm³ respectivamente, que son más altos en comparación con los valores promedio de densidad aparente para vegetación natural con un valor de 0.36 g/cm³. Por lo que se refiere a la conductividad hidráulica saturada de los suelos de páramo, los valores varían con la profundidad, siendo de 5.3 mm/h 1 a 3 cm de profundidad y 0.52 mm/h a 15 cm (Patiño et al., 2021). Respecto a la humedad del suelo

de páramo se ha determinado un valor máximo de 0.74 cm³/cm³ y un valor mínimo de 0.51 cm³/cm³. Sin embargo, a pesar de la variabilidad topográfica, los andosoles del páramo presentan homogeneidad en sus propiedades fisicoquímicas (Torres & Proaño, 2018).

A continuación, se muestran valores de referencia de las propiedades fisicoquímicas de suelo de páramo de la zona norte del Ecuador Páramo El Ángel.

Tabla 2
Características fisicoquímicas de suelo de Páramo El Ángel

Profundidad (cm)	Carbono orgánico (g/kg)	Nitrógeno (g/kg)	Capacidad de intercambio catiónico	pH		Al(KCl) extraíbles (cmol (+) /kg)
				KCl	H ₂ O	
0-30	212	11.2	50.9	3.8	4.3	6.6
30-85	92	4.7	33.5	4.4	4.7	1.5
85-140	150	8	58.1	4.2	4.6	4.2
140-165	73	4	38.5	4.6	4.9	1.4
165-200	8	0.5	4.8	5.2	5.1	0.3

Procedente de (Poulenard et al., 2003)

2.2.2 Propiedades biológicas y microbiológicas

La disponibilidad biológica del sustrato orgánico en el suelo está relacionada con la calidad química del material orgánico y con su composición física, lo que puede determinar la accesibilidad de los microorganismos al material del suelo. En este sentido, la degradación y los cambios en el uso del suelo amenazan su hidrología al influir en los ciclos de carbono, nitrógeno, azufre y fósforo, que a su vez están implicados en la actividad de los microorganismos y los procesos de mineralización (Valle et al., 2009; Calderón et al., 2016).

Adicionalmente, se ha determinado que en el suelo de páramo se tiende a altos niveles de biomasa total de macrofauna, carbono, capacidad de intercambio catiónico, aluminio, cobre, pH ácido y baja densidad total de macrofauna. Los niveles de pH ácido, con valores menores a 5 favorece la formación de complejos humus y aluminio. El dominio de estos complejos en el horizonte A se registra en los páramos de Ecuador con influencia de cenizas volcánicas del Holoceno. Del mismo modo, la formación de complejos de humus y aluminio indican un mayor contenido de materia orgánica. La menor densidad de

macrofauna en páramo se debe a la ausencia de hojarasca y temperaturas extremas (Cerón & García, 2009).

El análisis microbiano de suelo de páramo ha expuesto una cantidad considerable de microorganismos presentes en este ecosistema por ejemplo, Cárdenas, (2015) determinó un promedio de 6.5×10^5 UFC/g de suelo en páramos no intervenidos y un valor máximo de 6.5×10^4 UFC/g de suelo en páramos intervenidos en la zona Monjas Alto del Cantón Cayambe. Del mismo modo, Calderón et al., (2016) analizaron la presencia de microorganismos en suelo de páramo de la zona de recarga de la Laguna Mapahuiña en la provincia de Chimborazo. Se determinó un número de bacterias 1.98×10^{11} UFC/g de suelo; mohos 9.43×10^2 UFC/g de suelo; levaduras 9.06×10^2 UFC/g de suelo y microalgas 2.49×10^5 células/mm³.

2.3 Actividades antropogénicas

La sociedad depende de los ecosistemas para la supervivencia y la satisfacción de sus necesidades como el acceso a alimentos y agua, la recreación y el desarrollo espiritual. A pesar de la importancia que los ecosistemas tienen, su degradación ocurre a un ritmo acelerado, explicados por fenómenos antropogénicos y naturales que ocurren a diferentes escalas. En los últimos años, los cambios en el uso y la cobertura del suelo se evidencian con mayor intensidad, siendo el cambio más significativo realizado por los seres humanos en los sistemas ecológicos (Berrio-Giraldo et al., 2021).

2.3.1 Agricultura y ganadería

En el Ecuador los páramos cubren el 7% del territorio nacional y gran cantidad de personas obtienen beneficios directos o indirectos de estos (Hofstede y otros, 2014). Por ejemplo, los páramos prestan servicios a las poblaciones aledañas, permitiendo el desarrollo de comunidades rurales, donde la agricultura y ganadería son la principal fuente económica, en este ecosistema se han establecido plantaciones de cultivos agrícolas que logran sustentar las necesidades alimentarias de la población (Hofstede, 1995).

El desarrollo de la agricultura y ganadería en el páramo representa un fuerte conflicto por el uso de la tierra entre el cuidado del ecosistema y los agricultores residentes, donde los agricultores practican una agricultura de subsistencia que involucra

el cultivo de productos autóctonos de la zona como la papa y el maíz y la crianza de ganado, aplicando prácticas agrícolas tradicionales en combinación con técnicas de la Revolución Verde (Avellaneda-Torres et al., 2018). Sin embargo, los páramos andinos presentan actualmente un complejo régimen de disturbios naturales y antrópicos cuya base está en la utilización del fuego para desarrollar sistemas ganaderos y agrícolas, mismos que han generado afectaciones dependiendo de la intensidad, magnitud y frecuencia del incendio (Vargas & Mora, 2004).

2.3.2 *Incendio en los Páramos*

En toda la extensión del páramo, existe la práctica común entre los campesinos de quemar la vegetación alta para proveer al ganado con pastos más verdes y tiernos (Hofstede et al., 2014). Además, existen los fuegos naturales que generan una regulación y rejuvenecimiento del ecosistema. Sin embargo los fuegos producidos por el ser humano son mucho más repetitivos y causan efectos prácticamente permanentes sobre los páramos (Llambí et al., 2012). Los incendios forestales tienen varios efectos negativos en el suelo, afectan diversas propiedades físicas, químicas, mineralógicas y biológicas dependiendo de la gravedad, duración y severidad de la combustión (Certini, 2005).

A nivel mundial se estima que los incendios asociados a la quema de biomasa y materia orgánica han producido una emisión de carbono aproximada de 2 PgC/año (D. Müller et al., 2013). En Sudamérica los ecosistemas de bosques húmedos tropicales de la Amazonía fueron afectados por incendios durante las sequías en 1997, 1998, 2005, 2007, 2010 y 2015 (Alencar et al., 2004). Generalmente, estos eventos se asocian con épocas de sequías severas en las cuales se aumenta la flamabilidad de la vegetación debido a características físicas, químicas y bióticas como la retención de agua y nutrientes y la desecación de la hojarasca (Russell-Smith et al., 2017). El incremento de incendios también está relacionado con las interacciones entre la deforestación, ocasionada principalmente para el establecimiento de cultivos, en los que el uso del fuego es la herramienta más efectiva para despejar el suelo (Hofstede et al., 2014).

En este sentido, la región norte de Sudamérica específicamente Colombia, Ecuador y Perú han sufrido un incremento en la frecuencia y extensión de incendios (Armenteras et al., 2017). De tal manera que Armenteras et al., (2020) realizaron una recopilación del conocimiento sobre la ecología del fuego tropical en estos tres países,

mostrando los avances en los patrones espaciales y temporales de los incendios, los efectos sobre los ecosistemas y las dinámicas post incendio. Los resultados de la investigación mencionada anteriormente respecto a los focos activos de fuego y el área afectada en estos países se muestran en la

Tabla 3
Focos activos de fuegos (%) y área afectada (%) en los principales biomas en Colombia, Ecuador y Perú

Bioma	Colombia		Ecuador		Perú	
	Área (%)	Focos (%)	Área (%)	Focos (%)	Área (%)	Focos (%)
Bosques húmedos tropicales y subtropicales	83.5	39	83.2	58	72.4	87
Bosques secos tropicales	3.6	11	11	27	2.2	3
Sabanas, matorral y pastizal	11.2	45	0	0	0	0
Sabanas y llanos semi-inundables	0	0	0.5	3	0	0
Puna y páramos andinos	0.5	0	2.9	4	18	4
Matorrales xerofíticos y desérticos	0.9	4	1.4	5	7.3	5
Manglares	0.3	0	1	2	0.1	0

Procedente de Armenteras et al., (2020)

En cuanto a los ecosistemas de páramo, Ecuador ha perdido más de mil hectáreas a causa de los incendios (Carranza, 2018). Respecto a los incendios forestales en Ecuador las provincias de mayor incidencia de estos eventos son Carchi, Imbabura, Pichincha, Loja, Azuay, Chimborazo, Cañar, Cotopaxi y El Oro. De acuerdo, a los reportes generados por el Ministerio del Ambiente, entre el 2012 y el 2018, la afectación a la vegetación natural por incendios forestales es de 61 372 ha correspondientes a áreas de amortiguamiento de las áreas protegidas. En el mismo período el Servicio Nacional de Gestión de Riesgos reportó una afectación nacional de 140 123 ha de áreas bajo conservación y sin categorías de conservación. En 2012, 2015 y 2018 se mostraron superficies quemadas de aproximadamente 31 057,1 ha, 26 350,4 ha y 26 647,2 ha respectivamente. Por otro lado en la zona de Oyacachi se presentó un incendio forestal en noviembre del 2020 perturbando más de 2 000 hectáreas de vegetación montañosa (Benalcázar, 2020).

Adicionalmente existen investigaciones relacionadas al fuego en los páramos como la de Zapata et al., (2021) que investigó sobre los patrones espaciotemporales de áreas quemadas, impulsores de incendios y probabilidad de incendio a través de los Andes

ecuatoriales, determinando que el 73% de todos los incendios se producen en la región del piedemonte transandino, el 26% en la región interandina y menos del 1% en el dominio del piedemonte cisandino. Además, el mayor número de eventos se registró en los años 2005, 2009 y 2012 donde la mayor parte de los incendios forestales (99%) ocurrieron durante la segunda mitad del año y la mayor densidad de incendios se observó en la vegetación herbácea y matorral. Finalmente, por la ubicación de los incendios cerca de áreas urbanas y redes viales se evidencia la influencia antropogénica en el fuego.

2.3.2.1 Efectos en el Suelo

El efecto del fuego en el suelo involucra la desaparición parcial de la cobertura vegetal que capta agua y dispersa su energía (Podwojewski, 2015). También el fuego produce cenizas ricas en productos hidrófobos que impiden la infiltración de agua y aumentan el escurrimiento. En caso de fuegos repetitivos, todos estos efectos se acumulan y provocan una disminución de la biodiversidad así como el aumento de los riesgos de erosión (Robichaud et al., 2016). El fuego puede afectar principalmente a la capa superior del suelo que es la protección de la capa orgánica. Estudios realizados por Camargo-García et al., (2012) señalan que los incendios afectan principalmente a la materia orgánica del suelo generando una pérdida de hasta el 50%. El nitrógeno total, que depende en gran parte de la materia orgánica muestra la misma tendencia, lo que lleva a una transformación de la materia original y la aparición de estructuras recién formadas, o incluso en el corto tiempo después del incendio una acumulación de biomasa carbonizada (Minaya et al., 2016).

Por otra parte, el calentamiento debido al fuego puede generar deshidroxilación de algunos minerales arcillosos y como resultado aumentar la concentración de aluminio, silicio y hierro, además las cenizas generan un incremento en el pH. Posteriormente, se puede presentar rehidroxilación de los minerales, lo que nuevamente altera la dinámica química del suelo. Los inóculos de microorganismos dentro de la etapa inmediatamente posterior al incendio representan posibles herramientas para aumentar la tasa y el alcance de la biodegradación de tales contaminantes, estimulando así una restauración más rápida de los ecosistemas preexistentes (Mrozik y Seget, 2010). En general, el uso del suelo por actividades antropogénicas como la labranza y la quema afectan la escorrentía y aumentan

la erosión en los páramos andinos. Es así que, los páramos no perturbados presentan altas tasas de infiltración y bajas tasas de erosión, es decir, tanto la labranza como la quema triplican el coeficiente de escorrentía (Poulenard et al., 2001).

2.3.2.2 Efectos en los microorganismos

Los microbios del suelo pueden verse afectados por el fuego, ya sea como resultado directo del calentamiento o como efecto indirecto de los cambios en las propiedades fisicoquímicas del suelo. Los efectos del calentamiento sobre los microorganismos son más significativos en la capa superior del suelo donde son más abundantes. Las consecuencias del fuego dependen de la magnitud y severidad del fuego, es decir, aunque la biomasa microbiana no cambia después de la quema, la estructura de la comunidad microbiana podría ser diferente en áreas que han sufrido un incendio de distinta severidad de fuego (Docherty et al., 2012). Las bacterias son más resistentes a la alteración del calor que los hongos y en general se recuperan más rápidamente después de un incendio. Esto puede explicarse por un pH elevado que favorece el crecimiento bacteriano y el aumento de las concentraciones de materia orgánica disuelta resultante del incendio forestal (Li et al., 2019).

2.3.2.3 Efectos en los Recursos Ecosistémicos

El suelo queda descubierto después de una quema y al propiciarse mayores temperaturas existe una mayor evaporación por lo que, el suelo tiende a secarse. En consecuencia, se disminuye la capacidad del suelo para almacenar agua (Buytaert et al., 2006). Así también, luego de un episodio de incendio el ecosistema necesita varios años para recuperarse. A pesar de que pasado un año se evidencia un crecimiento alto de la paja (Sarango et al., 2019). El páramo todavía demora unos años para que la cobertura del suelo sea completa y varios años más hasta encontrar su estructura natural y por tanto la posibilidad de generar servicios ecosistémicos. Así, por ejemplo Ríos (2011) describe que se necesita un periodo de entre 8 y 15 años para una regeneración completa de la estructura al estado previo al fuego.

2.3.2.4 Otros efectos

La quema afecta de diferente manera a las plantas, animales y suelo. Lastimosamente, son las especies singulares del páramo como *Polylepis*, arbustos y frailejones las que no resisten la quema, y especialmente la quema repetida, mientras que otras especies, especialmente malezas exóticas, se ven beneficiadas por el nuevo espacio creado (Ramsay y Oxley, 1996). El efecto indirecto, consiste en que, al desaparecer una gran parte de la vegetación, el suelo pierde su capa aislante y así en la noche, las temperaturas a nivel del suelo son más bajas y en el día más altas. Las temperaturas más altas tienen como consecuencia que la descomposición aumenta y con esto desaparece el mantillo y los restos vegetales que quedan después de la quema (Hofstede et al., 2014).

2.4 Biorremediación de Suelos

La biorremediación se define como el proceso mediante el cual los desechos orgánicos pueden degradarse biológicamente en condiciones controladas a un estado inocuo, con niveles por debajo de los límites establecidos por la normativa ambiental. La biorremediación es una tecnología emergente que se puede utilizar simultáneamente con otros métodos de tratamiento físico y químico para la gestión completa de diversos grupos de contaminantes ambientales (Fernández Rodríguez et al., 2014). Tiene un enfoque sostenible para la descontaminación y gestión ambiental puesto que, en la biorremediación se utiliza principalmente microorganismos, plantas, enzimas microbianas o vegetales, es decir, emplea los organismos vivos, sobre todo los microorganismos para degradar los contaminantes y convertirlos en formas menos tóxicas o no tóxicas (Quintella et al., 2019).

Los organismos adecuados para el uso en tratamientos de biorremediación pueden ser bacterias, hongos o plantas, que tienen la capacidad fisiológica de degradar, desintoxicar o hacer que los contaminantes sean inofensivos. En algunas ocasiones, los microorganismos pueden estar ya presentes en el sitio, o pueden aislarse de otros lugares y agregarse al sitio tratado (Gouma et al., 2014). Se consideran dos categorías de las tecnologías de biorremediación estas son *ex situ* e *in situ*. En la siguiente tabla se muestran las técnicas de biorremediación de suelo más utilizadas.

Tabla 4
Métodos más usados en biorremediación de suelos

Biosparging	Inyección de aire a presión que puede potenciar la degradación biológica generalmente es realizado in situ.
Bioaugmentación	Adición de cultivos bacterianos a un medio contaminado, de uso frecuente en biorreactores y sistemas ex situ.
Bioestimulación	Estimulación de poblaciones microbianas autóctonas en suelos o aguas subterráneas que se puede realizar in situ o ex situ.
Bioventing	Método de tratamiento de suelos contaminados extrayendo oxígeno a través del suelo para estimular el crecimiento y la actividad microbiana.
Compostaje	Proceso de tratamiento aeróbico y termofílico, se puede realizar mediante el uso de pilas estáticas, pilas aireadas o reactores de alimentación continua, tiene bajo costo, pero tiempo de tratamiento extendido
Biorreactores	Biodegradación en un recipiente o reactor puede usarse para tratar varios desechos líquidos o lodos teniendo una cinética de degradación rápida, pero costos operativos y de capital relativamente altos.
Land farming	Sistema de tratamiento en fase sólida para suelos contaminado que puede realizarse in situ o en una celda de tratamiento del suelo.

Procedente de (Nriagu, 2019)

Para eliminar el contaminante es imprescindible considerar la naturaleza de este, es así como, se tienen agroquímicos, compuestos clorados, colorantes, gases de efecto invernadero, metales pesados, hidrocarburos, residuos nucleares, plásticos y aguas residuales. Los criterios de selección para elegir la técnica de biorremediación son la naturaleza del contaminante, profundidad y grado de contaminación, tipo de ambiente, ubicación, costo y políticas ambientales. Además se deben tomar en cuenta varios criterios de rendimiento como concentraciones de oxígeno y nutrientes, temperatura, pH y otros factores abióticos que determinan el éxito de los procesos de biorremediación (Azubuike et al., 2016). En este sentido, en la Tabla 5 y Figura 1 se muestran los factores que influyen en la eficiencia de las técnicas de biorremediación de suelos.

Tabla 5
Factores que influyen en los procesos de biorremediación.

Factores	Descripción
-----------------	--------------------

Pérdida de viabilidad microbiana durante la inoculación	Estrés debido a cambios drásticos en las condiciones del medio ambiente.
Muerte celular eventual después inoculación	Agotamiento de nutrientes o toxicidad causada por contaminantes.
Competencia	Competencia por nutrientes por microbios autóctonos.
Depredación	Bioaumentación seguida de desaparición de la población bacteriana y sobrecrecimiento de protozoos.
pH	Los extremos del pH inhiben los procesos de degradación microbiana.
Temperatura	La temperatura influye en el crecimiento y la degradación microbiana.
Humedad	El bajo contenido de humedad limita el crecimiento y metabolismo microbiano, mientras que valores más altos reducen la aireación del suelo.

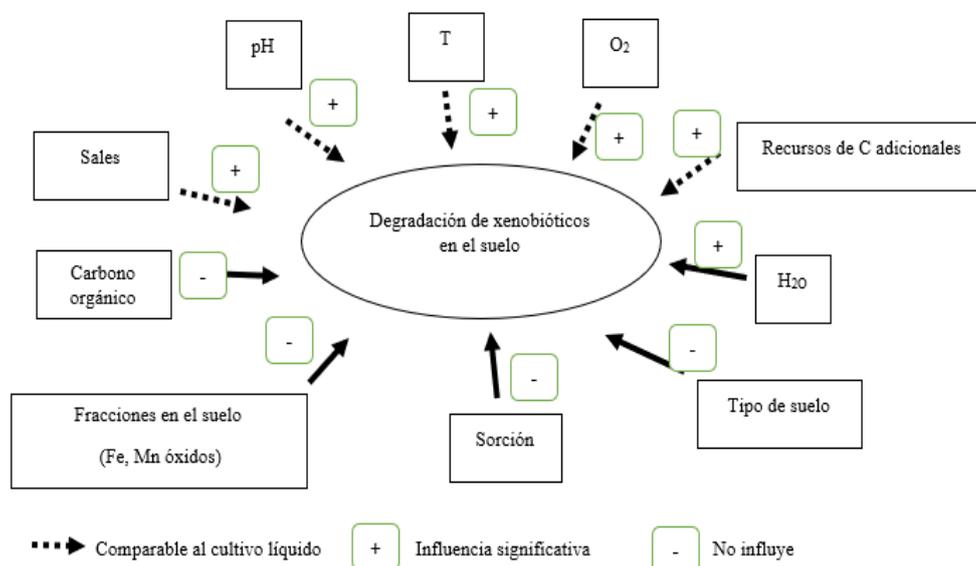


Figura 1

Factores que influyen en los procesos de degradación de xenobióticos en el suelo.

Procedente de (R. Müller & Mahro, 2001)

2.4.1 Tipos de biorremediación

2.4.1.1 Bioaumentación

La bioaumentación es la adición de cultivos microbianos autóctonos o alóctonos en un sitio para mejorar la limpieza de contaminantes reduciendo el tiempo y el costo de remediación (Speight, 2017). La utilidad de la bioaumentación está respaldada por estudios que muestran la incompetencia de los microorganismos autóctonos para degradar los xenobióticos así como una mayor tasa de biorremediación después de la adición de microorganismos competentes (Tyagi et al., 2011). La Tabla 6 muestra diferentes estudios

y los microorganismos empleados con resultados satisfactorios en tratamientos de bioaumentación para restauración de suelos.

Tabla 6
Microorganismos usados en estudios de bioaumentación de suelos.

Microorganismo usado	Tipo de microorganismo	Estudio realizado	Referencia
<i>Aphanoascus terreus</i>	Hongo	Degradación de la azoxistrobina en arena arcillosa	(Baćmaga et al., 2017)
<i>Trichoderma sp</i>	Hongo	Suelo boscoso quemado contaminado por hidrocarburos tóxicos.	(Andreolli et al., 2015)
<i>Mucor ramosissimus</i>	Hongo	Degradación de pentaclorofenol y aceite de motor gastado	(Szewczyk & Długoński, 2009)
<i>Pseudomonas putida</i>	Bacteria	Restauración de un bosque mediterráneo después de un incendio	(Pizarro-Tobías et al., 2015)
<i>Burkholderia sp</i>	Bacteria	Degradación del fenitrotión	(Hong et al., 2007)
<i>Actinomicetos</i>	Bacteria	Bioaumentación de suelos contaminados con diferentes plaguicidas y metales pesados	(Mawang et al., 2021)

2.4.1.2 Bioestimulación

La bioestimulación utiliza sustratos, vitaminas, oxígeno y otros compuestos que estimulan la actividad de los microorganismos para que puedan degradar con facilidad materia orgánica del suelo (Simpanen et al., 2016). La estimulación de microorganismos mediante la adición de nutrientes genera grandes cantidades de carbono que son usada para procesos metabólicos que los microorganismos realizan (Andreolli et al, 2015).

Las combinaciones de nutrientes inorgánicos suelen ser más eficaces para estimular las actividades de los microbios autóctonos. La mayor estimulación se registró con una solución compuesta por 75% de azufre, 3% de nitrógeno y 11% de fósforo. Se ha sugerido que el lodo activado es una fuente útil de nitrógeno para la biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en los suelos, así como una variedad de materiales

naturales como turba, compost y estiércol (Muñoz Cuaical, 2016). En la tabla 7 se muestra los nutrientes más utilizados en tratamientos de bioestimulación de suelos contaminados.

Tabla 7
Nutrientes usados en estudios de bioestimulación de suelo.

Nutrientes utilizados	Estudio realizado	Referencia
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O + Fosfato ácido de potasio (KH ₂ PO ₄) + Cloruro de sodio (NaCl) + Melaza + H ₂ O.	El papel de los nutrientes en la biodegradación del 2,4,6-trinitrotolueno en líquidos y suelos.	(Muter et al., 2012)
Urea como fuente de nitrógeno	Tratamientos de remediación de suelos in situ después de un accidente de derrame de petróleo simulado.	(Simpanen et al., 2016)
NH ₄ NO ₃ como fuente de nitrógeno	Bioestimulación <i>in situ</i> de suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos.	(Richardson et al., 2012)
K ₂ HPO ₄ como fuente de fosforo. KH ₂ PO ₄ + urea Tween 80 + KH ₂ PO ₄ + urea	Evaluación de la bioestimulación y la adición de Tween 80 para la biorremediación de suelos contaminados con DDT a largo plazo.	(Betancur-Corredor et al., 2015)

2.4.1.3 Tratamiento combinado

Las técnicas de biorremediación utilizan microorganismos específicos para degradar o eliminar contaminantes, por lo que son una alternativa factible para restaurar sitios contaminados (M. Y. Fan et al., 2014). Yang et al., (2018) plantea que la bioestimulación y la bioaumentación son estrategias atractivas para la remediación de suelos. La bioestimulación por un lado comprende la adición de nutrientes al suelo contaminado provocando una estimulación de la actividad metabólica de la población microbiana autóctona, que puede incluir especies que degradan los contaminantes (Stallwood et al., 2005). Mientras que, la bioaumentación sugiere la adición de cepas específicas para la degradación del contaminante. Sin embargo, en muchos casos, es posible que las cepas añadidas no sobrevivan a largo plazo, lo que proporciona un bajo rendimiento de remediación. Siendo probable que las bacterias autóctonas se adapten mejor a trabajar en el entorno del suelo que las cepas cultivadas en laboratorio (Widevoxhel, 2011). Además, las bacterias nativas a menudo se distribuyen mejor por el suelo que los microorganismos agregados; sin embargo, es posible que tanto las cepas añadidas como el contaminante se hayan añadido al suelo de manera similar, dando como resultado que los microorganismos inoculados tengan un mejor acceso al contaminante que las especies nativas. Es por esto que, estudios han comprobado que al combinar las

dos técnicas de biorremediación los efectos de degradación de contaminantes y restauración del suelo es más efectiva (Yang et al., 2018).

2.4.1.4 Fitorremediación

La fitorremediación es el uso de plantas para eliminar contaminantes del medio ambiente o hacerlos inofensivos, tiene un gran potencial para la remediación de suelos contaminados (Epelde et al., 2009). En varios estudios se ha utilizado plantas para transportar y concentrar metales del suelo en las partes cosechables de las raíces y la biomasa siendo una tecnología rentable y prometedora para la remediación de suelos contaminados por metales (Belouchrani et al., 2016). Las plantas utilizadas en la fitorremediación incluyen: girasol, planta Brassica, cebada y varias plantas crucíferas, estas son capaces de acumular concentraciones de metal en piezas recuperables (Duquène et al., 2009; Ben Ghnaya et al., 2009). La canola (*Brassica napus* L) es una planta herbácea anual perteneciente a la familia *Brassica*, que incluye varias especies acumuladoras (Purakayastha et al., 2008).

2.4.1.5 Vermiremediación

Esta tecnología utiliza lombrices de tierra para remediar suelos que contienen metales (Suthar, 2008) y contaminantes orgánicos, incluidos algunos compuestos clorados (Shi et al., 2019). Las lombrices modifican las propiedades físico químicas del suelo mezclándolo con material orgánico y a través de sus excavaciones, mejoran la aireación y hacen que los contaminantes estén disponibles para las comunidades bacterianas y fúngicas (Rodríguez-Campos et al., 2014). La vermiremediación se ha utilizado en combinación con otras tecnologías de remediación, como la biorremediación y la fitorremediación (Lemtiri et al., 2016). Estas tecnologías combinadas abren nuevas posibilidades para la remediación del suelo, considerando las interacciones suelo-lombriz-planta-microorganismos. *Eisenia fetida* se ha utilizado como vermiremediador y también ha sido ampliamente utilizado como indicador de la salud del suelo (Chachina et al., 2016; Suthar, 2008).

2.4.1.6 Ventajas y Desventajas de los Métodos

La biorremediación en contraste con otras tecnologías de restauración de suelos tiene costos más bajos, genera menos intervención en el sitio contaminado y en

consecuencia, un daño ecológico menos significativo en el proceso de descontaminación y recuperación del sitio (Alin y Prisecaru, 2016). Adicionalmente, la biorremediación se puede hacer en el lugar, eliminando así los costos de transporte y pasivos. También, la biorremediación puede ser integrada con otras tecnologías en cadena, favoreciendo el tratamiento de los residuos mezclados y complejos y tiene la capacidad de reducir o descomponer de forma segura los contaminantes resultantes del proceso de recuperación (Garzón et al., 2017) Sin embargo, a pesar de las enormes ventajas de la biorremediación existen algunas desventajas y limitaciones que se deben considerar. Por ejemplo, la presencia de poblaciones microbianas con capacidad metabólica, condiciones ambientales adecuadas de crecimiento y niveles adecuados de nutrientes y contaminantes (Zeyauallah et al., 2009). Además, la lentitud de los procesos biológicos conduce a la necesidad de un período de tiempo prolongado para lograr resultados (Boopathy, 2000). En la siguiente tabla se muestra las ventajas y desventajas de la aplicación de bioaumentación y bioestimulación para remediación de suelos (Hosokawa et al., 2009; Vogel, 1996; Aburto-Medina et al., 2012; Foster & Whiteman, 2013; Vishwakarma et al., 2020; Singh et al., 2020 (Tribedi et al., 2018; Sharma, 2020; Nikolopoulou & Kalogerakis, 2009)

Tabla 8
Comparación de ventajas y desventajas de los métodos de bioaumentación y bioestimulación de tratamientos en suelo.

Ventajas	Desventajas
Bioaumentación	
<ul style="list-style-type: none"> • La bioaumentación es ecológica y económicamente viable para mejorar la degradación de contaminantes. • Se requiere menos mano de obra puesto que, una vez que se introducen los microorganismos hacen todo el trabajo. • El proceso se puede llevar a cabo en el sitio contaminado • Aprovecha la capacidad natural de ciertos microbios para degradar contaminantes. 	<ul style="list-style-type: none"> • La eficacia de la bioaumentación es variable y dependen en gran medida de las condiciones ambientales. • Los microorganismos exógenos pueden ser incapaces de competir suficientemente bien con una población indígena • Rápida disminución de la viabilidad y abundancia bacteriana después de la inoculación, así como la dispersión limitada de las bacterias inoculadas en la matriz del suelo.
Bioestimulación	
<ul style="list-style-type: none"> • Es una estrategia altamente eficiente, rentable y ecológica. • Aumento de la actividad bacteriana de varias cepas propias del medio. • Mejora el potencial de degradación de los microorganismos acelerando la velocidad de descontaminación. • Método más eficaz para la remediación de hidrocarburos en el suelo 	<ul style="list-style-type: none"> • Pueden ser influenciado negativamente por parámetros ambientales. • Falta de aceptores o donantes de electrones, baja disponibilidad de nitrógeno o fósforo, o la falta de estimulación de las vías metabólicas responsables de la degradación pueden inhibir o retrasar la remediación. • No es recomendable para suelos arcillosos, altamente estratificados o demasiado

-
- heterogéneos, ya que pueden provocar limitaciones en la transferencia de O₂.
 - Dependiente de la geología del suelo
-

Respecto a los tratamientos de biorremediación de suelo quemado Andreolli et al., (2015) evaluó la bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de un suelo forestal quemado y contaminado por hidrocarburos tóxicos, el tratamiento de bioaumentación se realizó mediante la inoculación de *Trichoderma sp.* y bioestimulación por adición al suelo con una formulación comercial que consistió en 40% de carbono orgánico, 1% de nitrógeno y 1% de fósforo. Por otra parte, Pizarro et al., (2015) exploró las técnicas de biorremediación y rizoremediación para la restauración del suelo en una prueba a escala de campo en un ecosistema mediterráneo después de un incendio controlado, la investigación involucró el uso de semillas de pastos de rápido crecimiento y adición de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal con propiedades biodegradantes promoviendo la germinación de semillas, la recolonización de plantas y el crecimiento de la vegetación. En relación con los estudios realizados en el país respecto a bioaumentación Muñoz (2016) determinó a *Trichoderma sp* y *Pseudomonas sp* como microorganismos potenciales que favorecen la degradación de hidrocarburos en el suelo. Por otro lado Simbaña (2016) comprobó al hongo *Pleurotus ostreatus* como un excelente organismo biorremediador.

2.5 Estrategias de laboratorio para evaluar metodologías de biorremediación

Los cambios en la estructura de la comunidad microbiana, así como una disminución en la diversidad, actividad o cantidad, pueden conducir a una mayor dificultad de la remediación de suelos contaminados por tanto, es necesaria y esencial la evaluación de parámetros que permiten verificar el desarrollo de los microorganismos en el suelo (R. Fan et al., 2020). Los parámetros utilizados para evaluar las estrategias de biorremediación comprenden análisis fisicoquímicos, microbiológicos y enzimáticos que permiten comprender el comportamiento de los microorganismos y nutrientes del suelo tratado.

2.5.1 Actividad enzimática

Las enzimas son un componente clave del suelo porque, catalizan importantes transformaciones para la descomposición y renovación de nutrientes. Las enzimas del suelo están involucradas en el ciclo biogeoquímico del carbono, nitrógeno y fósforo, debido a esto la actividad enzimática se puede utilizar como una medida de la salud del suelo como indicadores sensibles tempranos de los cambios de nutrientes del suelo causados por el cambio climático u otros efectos (Kotroczó et al., 2014; Liu et al., 2021). Entre las diferentes enzimas, las enzimas β -glucosidasa y fosfatasa alcalina se consideran como el indicador más sensible del estado y manejo del suelo. Debido a que, estas enzimas del suelo son más sensibles al estrés de los ecosistemas por la intrínseca relación con la biología del suelo (Gu et al., 2019).

2.5.2 Supervivencia microbiana

Los microorganismos del suelo realizan importantes procesos vitales y participan en el mantenimiento de la salud y la calidad del suelo. Debido a que, cumplen funciones en el recambio de materia orgánica, liberación de nutrientes y estabilización de la estructura del suelo, así como asegurar su fertilidad. Consecuentemente, pueden utilizarse como indicadores del estado del suelo o indicadores de alerta temprana de cambios ambientales. De esta manera, por ejemplo De Jesus et al., (2021) concluye que los microorganismos son excelentes indicadores de la salud del suelo porque responden rápidamente a los cambios en el ecosistema del suelo y tienen una relación íntima con su entorno debido a su alta relación superficie / volumen.

Los cambios en las poblaciones o la actividad microbiana pueden preceder a cambios apreciables en las propiedades físicas y químicas del suelo, proporcionando así una señal temprana de mejoramiento o degradación del suelo (Nielsen & Winding, 2002). La masa total de todos los organismos en el suelo se usa comúnmente para dar una estimación de la respuesta de la microbiota a las condiciones ambientales cambiantes. Es así como, en los sistemas naturales la actividad de los microorganismos del suelo es un determinante importante del ciclo eficiente de nutrientes. En definitiva, los indicadores clave de los cambios en la salud del suelo son los organismos del suelo, incluida la abundancia y

diversidad de bacterias, hongos y nemátodos, ya que responden con sensibilidad a las perturbaciones antropogénicas (Lorenz & Lal, 2016).

2.5.3 Respiración del suelo (Emisión de CO₂)

La respiración del suelo se refiere a los procesos metabólicos de los organismos vivos que producen CO₂ y consumen oxígeno. La medición de la producción de dióxido de carbono del suelo se lleva a cabo principalmente mediante la determinación del CO₂ absorbido en hidróxido de sodio (Luo & Zhou, 2006 ; Jiří, 2010). Este es un parámetro relacionado con el manejo de materiales orgánicos que representa una medida completa de la respiración del suelo conocida como respiración edáfica basal (García et al., 2002). Las emisiones de CO₂ del suelo incluyen la respiración de los organismos del suelo y las raíces de las plantas así como, la mineralización del carbono a partir de diferentes fuentes del suelo y desechos (Raich & Potter, 1995) . Es decir, la emisión de CO₂ ayuda a estimar la actividad microbiana en el suelo debido a que, los microorganismos respiran continuamente, por ende, la tasa de respiración es un índice confiable de la tasa de crecimiento. De la misma manera, los factores que afectan el crecimiento de los microorganismos también influyen en la respiración (Guerreo-Ortiz, 2012).

2.5.4 Reactores para biorremediación de suelo contaminado

Los biorreactores empleados en tratamientos de suelo se aplican a técnicas *in situ* y *ex situ* estos se han convertido en las mejores opciones para la biorremediación de suelos contaminados por recalcitrantes en condiciones ambientales controladas. Además, se aplican frecuentemente para determinar la viabilidad y el potencial real de una estrategia biológica en la restauración final de un suelo o sitio contaminado. De hecho, las tasas de agotamiento de contaminantes dependen principalmente de la actividad de degradación de los microorganismos disponibles en el sistema y los resultados obtenidos reflejan generalmente el potencial de depuración biológica real del suelo (Robles-González et al., 2008).

Existen fundamentos específicos para los proceso y análisis de las ventajas y desventajas de los biorreactores, se debe considerar que son un complejo de ingeniería que generalmente consta de cuatro partes: instalaciones para el manejo y acondicionamiento de suelos contaminados, la propia batería del biorreactor,

instalaciones para el manejo y eliminación de suelos tratados y equipos auxiliares para el tratamiento de las corrientes secundarias del proceso (Robles-González et al., 2008). Pueden clasificarse en lote, semicontinuo y continuo desde el punto de vista de la operación. El modo operativo más común es por lotes. Otra clasificación útil se basa en el principal aceptor de electrones utilizado en el proceso de biodegradación: aeróbico (oxígeno molecular), anóxico (nitrato y algunos cationes metálicos), anaeróbico (reductor de sulfato, metanogénico, fermentación) y aceptores de electrones mixtos o combinados. Sin embargo, los biorreactores aeróbicos han predominado en aplicaciones a gran escala. Las características interesantes y distintivas de los biorreactores para tratamiento de suelo son que el suelo se trata en suspensión acuosa, típicamente del 10 al 30% p /v y que se proporciona una mezcla mecánica o neumática. Estas características, a su vez, dan lugar a varias ventajas del proceso, entre ellas:

- a) Mayores tasas de transferencia de masa y mayor contacto con microorganismos, contaminantes y nutrientes.
- b) Mayores tasas de biodegradación de contaminantes en comparación con la biorremediación *in situ* o el biotratamiento en fase sólida *in situ*.
- c) Se pueden lograr en tiempos de tratamiento significativamente más cortos.
- d) Posibilidad de utilizar diferentes aceptores de electrones (O₂, SO₄, CO₂, NO₃).
- e) Control y optimización de varios parámetros ambientales como temperatura, pH, etc.
- f) Uso efectivo de la bioestimulación y bioaumentación.
- g) Aumentar la desorción y disponibilidad de contaminantes mediante la adición de tensioactivos y disolventes.

Sin embargo, también tienen algunas desventajas, todas ellas relacionadas con los requisitos de excavación, manipulación y acondicionamiento del suelo, construcción y operación de biorreactores que normalmente aumentan los costos de tratamiento (Fu et al., 2021).

2.6 Restauración de Áreas Quemadas en Ecuador

En Ecuador, las acciones de recuperación de áreas quemadas se enfocan a la educación ambiental, investigación, erradicación progresiva del pino, reintroducción de especies nativas, establecimiento de alianzas económicas estratégicas, evaluación de atributos, estrategia permanente de comunicación, ecoturismo y otras alternativas sostenibles de desarrollo, y vinculación a redes de conservación afines (Calatayud et al., 2017). Así, por ejemplo, el Proyecto Socio Bosque otorga un incentivo financiero por la conservación del páramo que puede llegar hasta los 30 dólares por hectárea. Este proyecto está orientado al mercado de carbono y servicios ambientales que, junto a Socio Bosque, busca el control territorial en 4 millones de bosques tropicales y 800 mil hectáreas de páramos (MAE, 2015).

El Consorcio para el Desarrollo Sostenible de la Ecorregión Andina (CONDESAN) es una organización no gubernamental con sede en Ecuador y Perú, que trabaja por la conservación de los ecosistemas de montaña y por el bienestar de las comunidades rurales de la región andina, el cual desarrolla programas y proyectos como programa adaptación en Altura, proyecto AICCA, programa Bosque Andino, programa conservación y uso sostenible de ecosistemas de montaña, proyecto INSH, gestión Sostenible de Paisajes de Montaña PBA en el Chocó Andino de Pichincha y el Proyecto EcoAndes (CONDESAN, 2017).

En este sentido, para registrar la incidencia de los incendios y posterior restauración de las áreas quemadas se ha realizado un monitoreo de los episodios de incendios forestales, que se detallan en la Tabla 9 considerando el número de incendios forestales y hectáreas quemadas desde el 1 de julio del 2021 hasta el 21 de noviembre del mismo año.

Tabla 9
Número de incendios forestales y hectáreas quemadas.

Provincia	Incendios forestales	Cobertura quemada
	Numero	(hectáreas)
Guayas	71	327.69
Loja	23	297.5
Imbabura	27	220.31
Cañar	50	113.43
Carchi	7	106.85
Pichincha	81	94.05
Esmeraldas	4	51.5

El oro	13	42.03
Cotopaxi	10	36.58
Chimborazo	23	35
Manabí	2	17
Los Ríos	2	6.18
Tungurahua	13	5
Santa Elena	1	2
Morona Santiago	1	2
Bolívar	2	1.5
Total	404	1,820.37

Procedente de (Dirección de Monitoreo de Eventos Adversos, 2021)

2.7 Proyecto BIOGEEC

El Consorcio alemán-ecuatoriano sobre Biodiversidad (BIO-GEEC) busca establecer códigos de barras para sistemas biológicos de relevancia pública y económica. Dado que los establecimientos de código de barras de ADN y los recursos bioinformáticos aún no están implementados en las instituciones ecuatorianas. En este proyecto participan tres instituciones alemanas y cuatro universidades ecuatorianas las mismas que en conjunto tienen tres objetivos. El primero es desarrollar una fuente de información rápida para la identificación genética y caracterización de grupos de organismos con relevancia pública y / o económica. En segundo lugar, aspiran implementar esta tecnología es cuatros subproyectos que abordan patrones de biodiversidad en taxones y tejidos de alta relevancia tales como semillas, tejidos vegetales y polen además de insectos polinizadores, arácnidos venenosos y microorganismo del suelo. En tercer lugar, se pretende establecer una red internacional de capacitación e intercambio recíprocos.

En este sentido, en cuanto a la temática expuesta el subproyecto al que corresponde la investigación y por ende la Universidad Técnica del Norte es el análisis de la diversidad de microbiomas del suelo. De este modo, en una primera parte se propone la bioprospección y caracterización de los microorganismos de los suelos de páramo para promover el conocimiento científico mediante el establecimiento de canales de códigos de barras. Además, se establecerá patrones de afectación de los suelos de páramo por incendios a nivel físico químico y microbiológico. Finalmente, los microorganismos de suelo aislados serán utilizados en la rehabilitación de suelos de páramo afectados por incendios. A la par de la investigación el proyecto dispone una campaña de divulgación científica y concientización del cuidado de los páramos como importantes proveedores

del recurso hídrico. Así se innovará y generará nuevos saberes en este campo, principalmente la conservación de la biodiversidad de los ecosistemas de páramo.

CAPÍTULO III

3 METODOLOGÍA

3.1 Descripción del área de estudio

Este estudio se realizó en dos fases, una fase de muestreo de suelo y una fase de bioensayos para evaluar los tratamientos de biorremediación. En tal sentido, las muestras de suelo de páramo prístino y quemado se extrajeron del Parque Nacional Cayambe Coca. Las muestras de suelo de páramo prístino se recolectaron en la zona de Papallacta, Papallacta está dentro de la zona de amortiguamiento del Parque Nacional Cayambe Coca y dentro del área de influencia de la Reserva Ecológica Antisana, la mayor parte de su territorio corresponde al ecosistema del páramo (Gobierno Pichincha, 2015). De tal manera, se han establecido tres puntos estratégicos de muestreo en base a la información de estudios anteriores y las consideraciones del proyecto. Las coordenadas de dichos puntos de muestreo son; Punto 1 Bosque de Polylepis: UTM 17 M 820350, Punto 2 Cercano a una Laguna: UTM 17 M 818733 9968756 y Punto 3 Pajonal: UTM 17 M 819056 9966764.

Por otro lado, las muestras de suelo de páramo quemado se obtuvieron de la zona de Cangahua vía a Oyacachi sector el Tambo coordenadas UTM 17 M 819649.781 E 9978905.074 N, la misma que pertenece a un ecosistema de 20 a 30 años de conservación y forma parte de los más importantes suministros de líquido vital de consumo humano y de riego para Cayambe. El área fue afectada en noviembre del 2020 perturbando más de 2000 hectáreas de vegetación montañosa (Benalcázar, 2020). En la Figura 2 se muestra la ubicación en el mapa de la zona muestreada de suelo de páramo quemado y prístino.

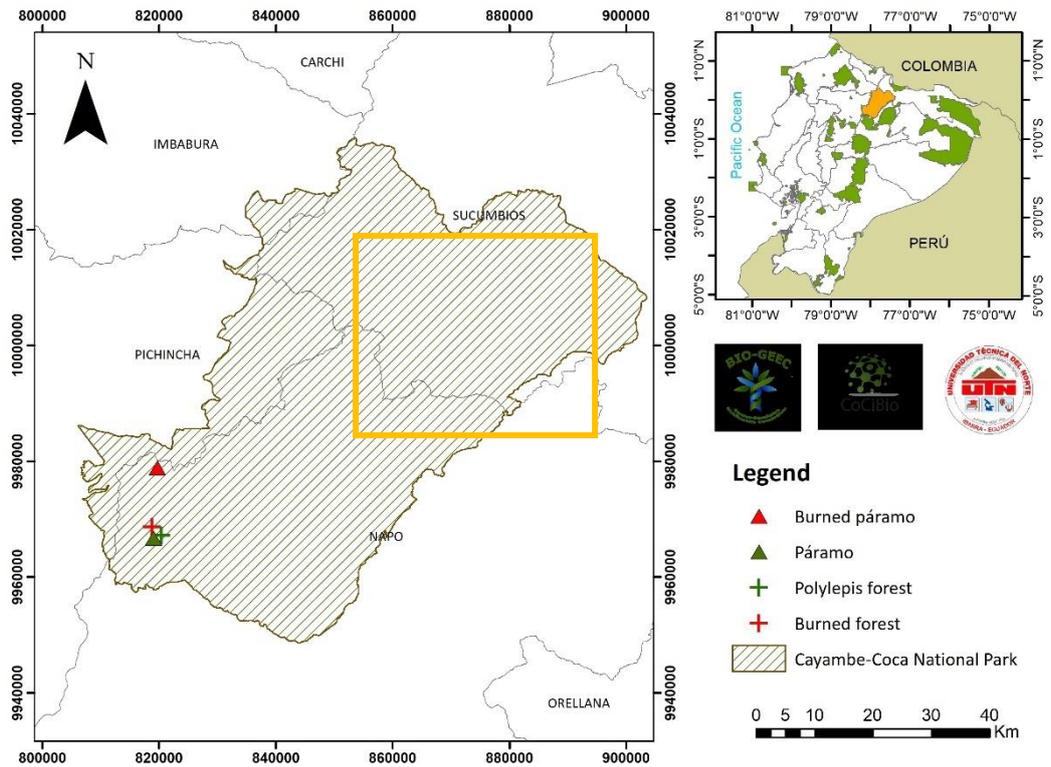


Figura 2
Mapa ubicación plots páramo prístino y quemado

3.2 Muestreo

La recolección de muestras de suelo se realizó en parcelas de 20x20 m divididas en 4 cuadrantes de 10x10 m, en cada uno de los puntos establecidos para el muestreo de suelo de páramo prístino y quemado se procedió de igual manera como se grafica en la Figura 3.

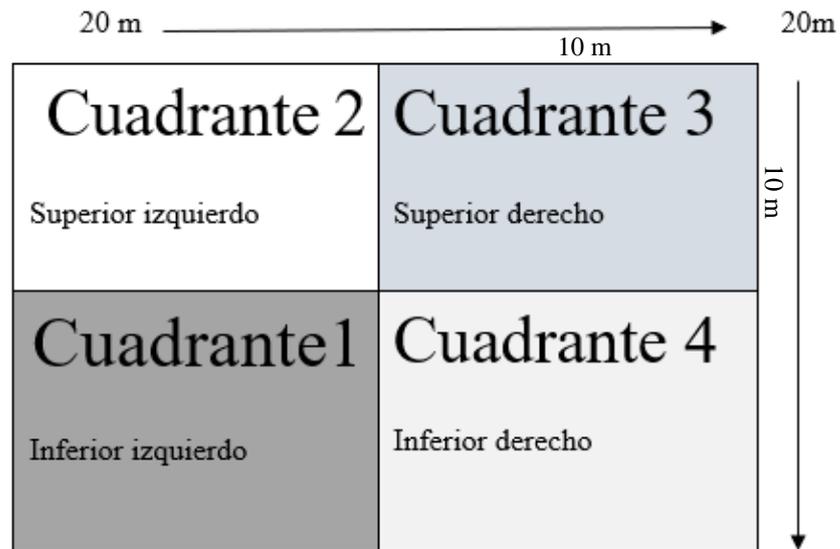


Figura 3
 Diagrama para muestreo de suelo distribuido en cuadrantes para cada parcela

3.2.1 Muestras simples

La recolección de las muestras simples de suelo dentro de las parcelas se llevó a cabo una metodología de muestreo en diagonal. Para lo cual, se trazó una diagonal en cada uno de los cuadrantes para muestras de tres puntos equidistantes sobre la diagonal como se muestra en la Figura 4.

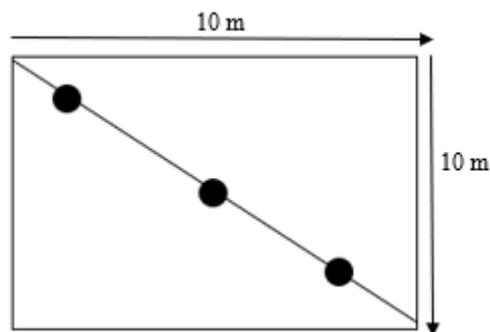


Figura 4
 Muestreo de suelo por diagonal para muestras simples en cuadrantes

Se tomó muestras de suelo retirando inicialmente la cobertura vegetal y posteriormente insertando un barreno a la profundidad de 20 cm (Ambiente, 2014). Para evitar contaminación cruzada después de cada toma de muestra fue necesario efectuar un lavado del barreno con agua. La muestra de suelo fue etiquetada y almacenada herméticamente en una hielera con el fin de mantener las muestras a una temperatura constante de 4° C. (Mendoza y Espinoza, 2017)

3.3 Análisis físicoquímico de suelo

Para llevar a cabo el análisis físico químico del suelo de páramo quemado y prístino se recolectaron muestras compuestas que posteriormente fueron enviadas a un laboratorio acreditado.

3.3.1 Muestras compuestas

La recolección de muestras compuestas se realizó por cuadrantes, tomando una submuestra de cada uno de los cuadrantes con ayuda de una pala de jardinería a una profundidad de aproximadamente 20 cm, esta metodología de muestreo se realizó en cada uno de los cuadrantes de cada plot establecido. De este modo, se obtuvieron tres muestras de suelo prístino y una de suelo afectado por el incendio. Las submuestras obtenidas de los diferentes plots fueron etiquetadas y almacenadas a 4 °C. Previamente al envío de las muestras, se colocó las submuestras de cada plot en un recipiente y se homogenizaron manualmente. La cantidad de suelo enviada al laboratorio acreditado fue 1 kg.

3.3.2 Parámetros evaluados

Los parámetros que se evaluaron en agrarProjekt Consultancy & Laboratory Services fueron conductividad eléctrica, materia orgánica, nitratos, macro y micronutriente. Los análisis se realizaron utilizando el método tradicional con extractantes químicos (NaCl, Olsen y DTPA).

3.4 Aislamiento de microorganismos

3.4.1 Aislamiento de bacterias

Para el aislamiento de bacterias se realizó la técnica de diluciones seriadas en cajas de Petri, con medios agar *Pseudomonas* y actinomicetos, tanto para el suelo prístino como para el suelo quemado. Seguido, se realizó un cultivo de enriquecimiento, suspendiendo 8g muestra de suelo en 125 ml de caldo nutriente y agitando a 200 rpm a 36°C durante 1 h para luego incubar a 36°C durante 18 a 24 h. (Dib et al., 2018)

De esta manera, a las 18 horas de incubación se tomó 100 µl de las muestras previamente enriquecidas y se inoculó en agar *Pseudomonas* y actinomicetos. Posteriormente, se incubó a 36° C para el conteo de colonias se tomó en cuenta tres tiempos de cultivo a las 24, 48 y 72 horas. Además, se realizaron cultivos puros de las cepas de bacterias, para ello se utilizó medios de cultivo selectivos agar *Pseudomonas* y actinomicetos, la técnica utilizada para la siembra fue por desgaste, esto con el fin de obtener cepas puras (De Mastro et al., 2020).

3.4.2 Aislamiento de hongos

El aislamiento de hongos se realizó mediante la técnica de siembra directa de suelo en medios de cultivo agar PDA y agar Malta con adición de antibiótico cloranfenicol 0.25 mg/ml para inhibir el crecimiento de bacterias. La técnica de siembra directa de suelo consiste en introducir en la placa de medio de cultivo fragmentos de suelo. Para esto, las placas con medio de cultivo se dividieron en cuatro secciones y en cada una se colocó partículas de suelo de 0.05 gramos y finalmente se incubaron en una caja hermética a 24°C por 5 días observando el crecimiento de colonias fúngicas.

Una vez observado el crecimiento fúngico se realizó la observación macroscópica de las colonias. La morfología fúngica se estudió macroscópicamente mediante la observación de las características de la colonia como el color de la superficie, color del reverso, forma y diámetro y forma para posteriormente aislar cada una. Se realizó un corte de colonias individuales de 1x1 cm con bisturí número 11. Los fragmentos de las colonias individuales fueron transferidos a nuevas placas con medio de cultivo para incubarlas por 5 días a 24 °C (Buritaca H. et al., 2017).

También se realizó la observación microscópica de los hongos empleando la técnica de la cinta pegante. La técnica se lleva a cabo empleando una cinta adhesiva que por el lado pegante se toma una muestra de la superficie del hongo. La superficie de la colonia fúngica se depositó sobre una gota de azul de lactofenol, para luego ser observada al microscopio con un aumento de 40 X. Los hongos se identificaron sobre la base de características morfológicas utilizando claves taxonómicas (Arias & Piñeros, 2008)

3.5 Biorremediación de suelo quemado

Para evaluar los tratamientos de biorremediación tales como: bioaumentación, bioestimulación y un tratamiento combinado fue necesario diseñar un prototipo de biorreactor para este propósito. Primeramente, se realizó una simulación de incendio en muestras de suelo de páramo prístino para usarlas en diferentes tratamientos. La efectividad de cada ensayo se evaluó mediante: respirometría, supervivencia microbiana y actividad enzimática.

3.5.1 Diseño y construcción de un prototipo de biorreactor

La configuración del biorreactor para realizar los ensayos de biorremediación del suelo se definió en base al costo y las características del material de construcción. La siguiente tabla fue útil para compilar la información de los materiales propuestos las características y ejemplo de uso.

Tabla 10

Materiales considerados para la construcción del prototipo de biorreactor, características y ejemplos de uso

<i>Materiales Para Construcción De Biorreactores</i>		
Material	Características	Ejemplo de uso
Acrílico-plexiglás	Termoplástico resistente a golpes y otros impactos fuertes. Posee una gran dureza, similar a la de un aluminio.	Tubos del reactor de plexiglás 10 cm de longitud y 4,7 cm de diámetro interior (Shafieiyoun et al., 2020)
Acero inoxidable	Resistencia a la corrosión Durabilidad Es un material accesible y muy resistente a golpes, temperatura, presión, corrosión y con	Reactor de 5 L con chaqueta y mirillas de vidrio frontal y en la base (Medina-Moreno et al., 2009)

	una alta versatilidad ya que permite la instalación de otros instrumentos	
Vidrio	Es un material inorgánico de alta dureza, frágil, transparente. Alta resistencia química, mecánica y térmica, bajo coeficiente de expansión térmica, inerte, alta de temperatura de fusión (1 300-1 500 °C)	Frascos de vidrio de 500 ml con 270 g de suelo (Villalba, 2013) Botella de 500 ml con 100 g de suelo (Hernández-Castellanos, 2016)
PVC	Es un material termoplástico Elevada resistencia química Resistencia a la corrosión, degradación biológica, a la intemperie, al impacto, inerte e inocuo.	Usado en procesos de biorremediación con un espesor de pared: 10 mm y medidas 1,2 × 0,7 × 0,64 m ³ (Fantroussi et al., 1999)

Además, se evaluó el costo de construcción del biorreactor por cada material propuesto, mediante un sondeo de precios en el mercado nacional.

Tabla 11

Tabla de costos por cada material para construcción de biorreactor

Materiales (Incluye accesorios manguera)	Costo unitario reactor (\$)
Acero inoxidable	76
PVC	7
Acrílico	15
Vidrio	5

En base a la información anterior se estableció una tabla de decisión para determinar el material de construcción del biorreactor. A los criterios que se tomaron en cuenta, se les asignó un porcentaje de acuerdo a la importancia para la selección, a partir de allí se evaluó cada criterio con una calificación de 1-5 siendo 1 insatisfactorio y 5 muy satisfactorio. Finalmente, se eligió el material con mayor puntaje.

El PVC fue el material con mayor puntaje después de analizar la tabla de decisión comparando el costo y propiedades de cada material. Por lo tanto, se procedió a construir los prototipos de biorreactor considerando mantener la humedad del suelo en el biorreactor y principalmente que sean anaerobios para la medición de emisión de CO₂.

En la Figura 5 se muestran los aspectos básicos del diseño y estructura final del biorreactor construido con altura de 15 cm y diámetro 10.5 cm.

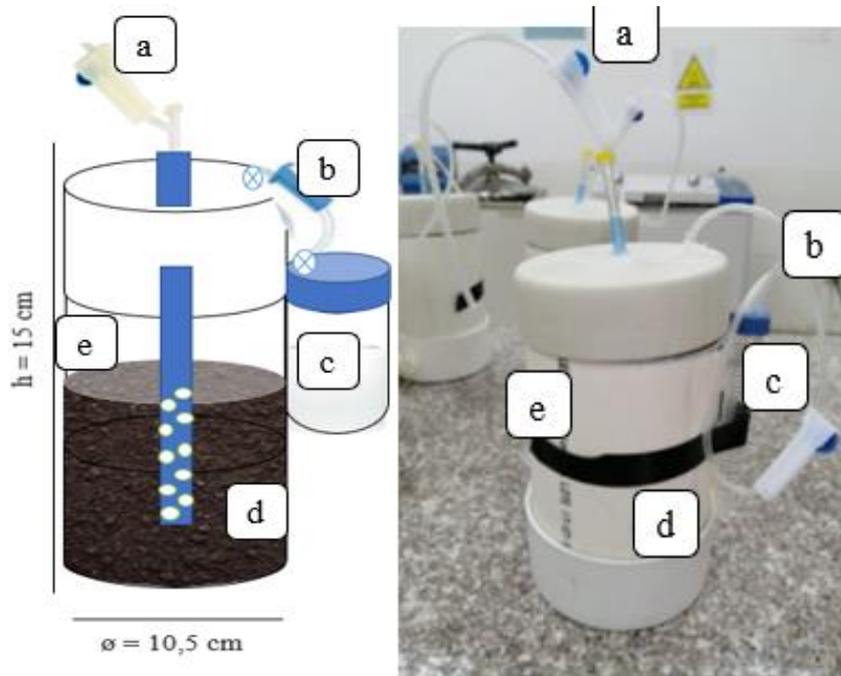


Figura 5

Diseño y construcción del biorreactor para tratamientos de biorremediación con sus diferentes partes: a) Entrada de agua, b) Conector trampa de CO₂, c) Trampa de CO₂, d) Suelo y e) Columna del biorreactor

Las partes que conforman el biorreactor son:

a) **Entrada de agua para mantener la humedad del biorreactor**

Manguera de 17 cm de longitud y diámetro 0.7 cm. De los 17 cm de longitud 13 cm están dentro del biorreactor y de estos 13 cm; los primeros 7 cm inferiores fueron insertados en el suelo y tienen 10 agujeros de 3 mm a lo largo. Los 4 cm restantes están fuera del biorreactor y son soporte para el segmento tipo Y de inyección de agua, misma que está conectada a una válvula que permite controlar el intercambio gaseoso.

b) **Conector trampa de CO₂**

Manguera de 60 cm de longitud y 0.5 cm de diámetro acoplada a una válvula del equipo de venocllisis que conecta el biorreactor y la trampa de CO₂.

c) **Trampa de CO₂**

Tubo cónico de capacidad 15 ml de centrífuga que contiene 12 ml de NaOH 0.25 M útil para la evaluación de emisión de CO₂.

d) **Suelo**

700 g de suelo

e) **Columna del biorreactor**

f) Altura de 15 cm x 10.5 cm de diámetro. Tiene dos agujeros en la parte superior (tapa) una es útil para insertar la manguera de entrada de agua y la otra de salida a la trampa de CO₂ a la cual está conectada mediante la manguera del equipo de venoclisis (conector trampa de CO₂).

3.5.2 Simulación del incendio en muestras de suelo de páramo prístino.

La simulación del incendio se la realizó en un espacio abierto, esta incluyo una muestra de suelo prístino de (10 x 10) cm a una profundidad de 15 cm. Para este procedimiento se expandió la muestra de suelo sobre una recipiente metálico plano y con un soplete con gas propano se expuso el suelo a fuego intenso por un tiempo aproximado de 30 min, esto hasta alcanzar una temperatura de 500 °C (Girona-garcía et al., 2018). La temperatura se midió con ayuda de termopares tipo K. Una vez alcanzada dicha temperatura se dejó enfriar la muestra de suelo a temperatura ambiente para su posterior uso en los ensayos.

Como resultado de este procedimiento se obtuvo muestras que fueron analizadas de forma fisicoquímica en el laboratorio Agrarprojekt con el fin de determinar los cambios producidos por el fuego. Las muestras de suelo se almacenaron en fundas herméticas a 4°C hasta su análisis y uso en los ensayos de biorremediación. Para cada tratamiento se utilizaron 700 g de suelo quemado.

3.5.3 Bioestimulación

Los nutrientes como el nitrógeno en el suelo son esenciales para el desarrollo de la actividad microbiana y, por tanto, para la biorremediación. En este sentido, la estrategia de bioestimulación establecida en esta investigación se basó en la adición de nitrógeno, considerando que en eventos posteriores a un incendio este es el nutriente que mayormente se pierde por volatilización a causa de las altas temperaturas. El nitrógeno se suministró en forma de nitrato de amonio. Debido a que, el nitrógeno amónico es la forma preferida para el metabolismo microbiano, ya que requiere menos energía para ser asimilada (Shewfelt et al., 2011; Kanissery & Sims, 2011). De esta forma, para formular la concentración de bioestimulante a aplicarse se consideró la metodología establecida

por Sainju, (2017) comparando el contenido de nitrógeno entre el suelo de páramo prístino y quemado simulado un incendio (Anexo 2).

Para la bioestimulación se empleó 700 gramos del suelo simulado el incendio con humedad 8.5% y pH 7.5. Los 700 gramos de suelo fueron extendidos en un recipiente plano estéril de 60x60 centímetros de tal manera que el suelo expandido alcance una altura de 2 centímetros, después con ayuda de un atomizador se empapó toda la superficie del suelo con 86 ml de nitrato de amonio 0,01 M. Finalmente, se colocó el suelo en reactores por triplicado para cada tratamiento y el tratamiento control consistió en suelo simulado el incendio sin adición de bioestimulante.

3.5.4 Bioaugmentación

Con el fin de elegir bacterias capaces de biorremediar el suelo afectado por incendios, cada cepa se reactivó en caldo nutritivo y se incubó a 36 °C por 24 horas. Posteriormente cada cultivo se ajustó al patrón de McFarland (3×10^8 células/mL) y se sembró en agar nutriente. Las cajas fueron incubadas a 36 °C durante 24 h para observar capacidad de crecimiento y adaptación las cepas (Darmayati et al., 2017). Una vez seleccionadas las bacterias se cultivó en caldo nutritivo. Siendo el primer inóculo en 5 ml de caldo nutritivo por 24 h, para posteriormente elevar la escala a 50 ml de cultivo hasta alcanzar una concentración de 1 en la escala de McFarland que equivale a 3×10^8 células/ml.

Una vez alcanzada dicha concentración se cosechó la biomasa mediante centrifugación a 3000 g durante 10 min (Liang et al., 2020). Se lavó y resuspendió en 50 ml de solución salina estéril NaCl al 0.9% (Baćmaga et al., 2017). Con el fin de formar un consorcio bacteriano se mezclaron las suspensiones bacterianas obtenidas de la cosecha en un recipiente estéril.

Finalmente se colocó 700 g de la muestra del suelo quemado sobre una superficie estéril, para identificar agregados que podrían dificultar la mezcla entre la muestra y el inóculo bacteriano. Seguido se distribuyó 70 ml del consorcio bacteriano en el suelo, removiendo el suelo de forma manual para asegurar una distribución aleatoria y lo más homogénea posible (Gallegos Hernández et al., 2016).

3.5.5 Tratamiento combinado

El tratamiento combinado consistió en aplicar bioaumentación mediante la adición de los microorganismos establecidos para el tratamiento individual y bioestimulación adicionando nitrógeno en forma de nitrato de amonio. Para la aplicación de este tratamiento se tomaron 700 gramos del suelo simulado el incendio con humedad 8.5% y pH 7.5. Los 700 gramos de suelo fueron extendidos en un recipiente plano estéril de 60x60 centímetros alcanzando una altura de 2 centímetros, después con ayuda de un atomizador se empapó toda la superficie del suelo primero con 35 ml de los microorganismos y luego con 43 ml del bioestimulante nitrato de amonio 0,01 M. Finalmente, se colocó el suelo en reactores por triplicado y el tratamiento control comprendió el suelo simulado el incendio sin adición de ningún tratamiento.

3.5.6 Aplicación de los tratamientos de biorremediación en biorreactores

Los biorreactores con el suelo tratado con cada una de las estrategias de biorremediación comprendieron los 700 gramos de suelo que alcanzaron una altura de 10 centímetros en el reactor con un espacio aéreo de 5 centímetros. Es importante destacar que se emplearon reactores aerobios y anaerobios para evaluar las estrategias de biorremediación. Los reactores anaerobios fueron útiles para medir la emisión de CO₂, estos reactores fueron sellados herméticamente con pegamento comercial para PVC y verificando posibles fugas al sumergir el biorreactor en un recipiente profundo lleno de agua estéril. Por otra parte, los reactores aerobios no fueron sellados y fueron útiles para medir la actividad enzimática de los diferentes tratamientos. De tal manera, se obtuvo reactores anaerobios y aerobios que fueron pesados al inicio del experimento y periódicamente cada 2 semanas. Los reactores anaerobios y aerobios sin agitación a temperatura ambiente se dejaron en funcionamiento durante 16 y 5 semanas respectivamente.

3.6 Parámetros físicoquímicos y microbiológicos para evaluar metodologías de biorremediación

La presencia de microorganismos en el suelo depende de su composición química, humedad, pH y estructura. Los cambios en las propiedades del suelo pueden causar

cambios en la abundancia, actividad y diversidad del suelo. En este sentido, se evaluó el pH, humedad, supervivencia microbiana, actividad enzimática y emisión de CO₂ para finalmente comprender el comportamiento de los microorganismos y nutrientes del suelo tratado. En los reactores anaerobios se evaluó pH, humedad, supervivencia microbiana, y emisión de CO₂ mientras que, en los reactores aerobios se midió el pH, humedad, supervivencia microbiana y actividad enzimática.

Para evaluar el pH se tomó de cada biorreactor 12 gramos de suelo en una bolsa de plástico limpia y seca. Seguido, fue necesario colocar la muestra del suelo sobre una superficie lisa e identificar los agregados mayores a 1 cm para romperlos y posteriormente reincorporarlos a la muestra. Luego, se secó la muestra de tierra a 40°C durante 24 horas. En un vaso de precipitación se colocó 10 gramos de suelo y agregó 20 ml de agua destilada. El vaso de precipitación con la muestra fue colocado en un agitador magnético por 30 minutos. Finalmente, se colocó el electrodo en la muestra de suelo y midió el pH (Jack Carter, 1990)

3.6.1 Humedad

Para determinar la humedad del suelo se tomaron muestras de suelo húmedas de cada tratamiento. En un crisol se pesaron las muestras de suelo y luego se secaron en una estufa a 110 °C durante 24 horas hasta que el peso de la muestra se estabilice en el tiempo. La muestra se pesó para obtener el peso seco (Flores, 2010). La humedad expresada en % se calculó con la siguiente fórmula:

$$w (\%) = \left(\frac{M_{sh} - M_{ss}}{M_{sh}} \right) 100$$

Donde:

w = Contenido de humedad gravimétrica,

M_{sh} = Masa de suelo húmedo en gramos

M_{ss} = Masa de suelo secado en estufa en gramos

3.6.2 *Supervivencia microbiana*

Para evaluar supervivencia microbiana de los tratamientos de biorremediación se colocó 4 g de suelo de cada tratamiento en 60 ml de caldo nutriente. Las suspensiones resultantes se agitaron durante 1 hora a 200 rpm. Luego se realizó diluciones seriadas de 10^{-1} a 10^{-5} en caldo nutriente estéril, agitando cada dilución antes de la siguiente. Seguido de esto se tomó 100 μ l de la dilución 10^{-5} e inocularon en placas con el medio agar nutriente. Se incubó a 36° C y se realizó el conteo a las 24h, 48h y 72h con el fin de obtener el número total de UFC bacterianas al inicio y final del experimento (Evans et al., 2004).

3.6.3 *Actividad enzimática*

3.6.3.1 Actividad -glucosidasa

Para evaluar la actividad-glucosidasa en los tratamientos de suelo se tomó 15 gramos de suelo húmedo y se secaron en una estufa a una temperatura de 150 °C, se eliminó agregados grandes como hojarasca y raíces. Después se tomó 5 gramos del suelo resultante y se suspendieron en 100 ml de tampón acetato de sodio a 50mM (pH 5.0). La suspensión fue homogenizada por 1 minuto, se dispensó 1ml de la mezcla en tubos Falcon (Soil & Communities, 1995). Posteriormente se adicionó 1ml de acetato de sodio 0.1 M (pH 5.0) y 1 ml de pNPG 10 mM. Para los controles de muestra de suelo se mezcló 1 ml de la muestra homogenizada y 1 ml de tampón acetato. De la misma manera para los controles de sustrato se mezcló 1 ml de tampón acetato con 1 ml de solución de sustrato pNPG 10 mM (Henríquez, 2014). Todos los tubos se incubaron en baño maría a 30°C durante 3 horas.

Transcurrido este tiempo se añadió a todos los tubos 0,5 ml de CaCl₂ 0,5 M y 2 ml de Tris-hidroximetilo 0,1 M (aminometano) pH 12. Se mezcló en un vórtex a media velocidad por 3 segundos y se centrifugó por 10 minutos a 2500 xg, finalmente se midió absorbancia en el espectrofotómetro a 410 nm. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

3.6.4.2 Actividad fosfatasa

Para medir la actividad fosfatasa en los tratamientos de suelo se tomó 15 gramos de suelo húmedo y se secaron en una estufa para después eliminar hojarascas, raíces y agregados grandes. Seguido se tomó de 5 gramos del suelo secado y se suspendieron en 100 ml de tampón acetato a 50mM (pH 5.0). La suspensión fue homogenizada durante un 1 minuto, inmediatamente se dispensó 1ml en tubos Falcon. Posteriormente se añadió 1ml de acetato de sodio 0.1 M (pH 5.0) y 1 ml de pNP-PO₄ 10 mM. Para los controles de muestra se mezcló 1 ml de la muestra homogenizada y 1 ml de tampón acetato. De la misma manera para los controles de sustrato se mezcló 1 ml de tampón acetato con 1 ml de solución de pNP-PO₄ 10 mM. Todos los tubos se incubaron en baño maría a 30°C durante 3 horas. Transcurrido este tiempo se añadió a todos los tubos 0,5 ml de CaCl₂ 0,5 M y 2 ml de NaOH 0,5M. Se mezcló en un vórtex a media velocidad por 3 segundos y se centrifugó por 10 minutos a 2500 x g para finalmente, se midió absorbancia a 410 nm. Todos los análisis se realizaron por triplicado (Kotroczó et al., 2014).

Para el cálculo de la actividad enzimática para los sustratos glucosidasa y fosfatasa se realizó con la siguiente formula:

$$\text{Actividad } (\mu\text{mol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{ OM o DM}) = \text{OD} / (\text{EC} \times \text{T}_h \times \text{OM o DM})$$

Donde:

OD = Absorbancia de la muestra — (absorbancia del control del sustrato + absorbancia del control de la muestra).

T_h = período de incubación en horas

CE = coeficiente de extinción micromolar.

OM = materia orgánica, como g OM/mL muestra homogeneizada.

DM = masa seca de suelo, como g de suelo seco/ml de homogeneizado de muestra (Soil & Communities, 1995).

La actividad enzimática se expresa como (μmol de sustrato hidrolizado por gramo de masa orgánica (MO) (o masa seca) por hora.

3.6.4.3 Emisión de CO₂

Se evaluó la trampa de CO₂ cada 2 semanas de acuerdo a la metodología establecida por Jacques et al., (2008). En cada evaluación de la trampa CO₂ con 12 ml de NaOH 0.25 M fue reemplazada por una nueva que consistía en un tubo con 12 ml de NaOH 0.25 M. Para realizar el ensayo se consideró un blanco que consistió en 12 ml de NaOH 0.25 M sin ningún tratamiento previo. De esta manera, las muestras de NaOH tomadas de la trampa de CO₂ y el blanco se les agregó 1 ml de solución de BaCl₂ 1 M, además de tres gotas de fenolftaleína como indicador y finalmente la mezcla se tituló con HCl 0.5 M. El CO₂-C se cuantificó con la siguiente fórmula:

$$mg \text{ de } CO_2 - C/kg \text{ suelo} = (B - T) \times eq \times N$$

Donde:

B: Volumen (en ml) de la solución de HCl utilizada valorar el blanco (solución de NaOH no contenido en la trampa)

T: Volumen (en ml) de la solución de HCl utilizada para titular los tratamientos.

eq: Equivalente gramo de C, es decir 6 y para el CO₂ es 22

N: Normalidad del ácido, es decir de la solución estandarizada de HCl

3.7 Análisis estadístico

La investigación se desarrolló en base a un diseño de bloques completamente aleatorizado DBCA con cuatro tratamientos y tres repeticiones, donde T1: bioaumentación, T2: bioestimulación, T3: Tratamiento combinado bioestimulación + bioaumentación y T4: Tratamiento control.

Los resultados del conteo de colonias se expresaron como UFC/ml y se realizó un análisis de varianza y de normalidad de datos (prueba de Shapiro-Wilk). Las medias se analizaron mediante la prueba de la diferencia honestamente significativa (HSD, por sus siglas en inglés) de Tukey, con el nivel de significancia de $p = 0.05$. En cuanto a los

parámetros pH y humedad se realizó una prueba T-student pareada para evaluar diferencias significativas entre los valores del inicio y final de la experimentación.

CAPÍTULO IV

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis físicoquímico de suelo de páramo prístino y afectado por incendio

Los análisis físicoquímicos de suelo se realizaron en el laboratorio acreditado AGRARPROJEKT, los mismos que se presentan en la Tabla 13.

Tabla 12

Valores del análisis físico químico en las muestras de suelo de páramo prístino (plot 1, plot 2 y plot 3), páramo quemado (plot 4) y suelo de páramo simulado el incendio.

Análisis	Unidades	Plot 1	Plot 2	Plot 3	Plot 4	Suelo de páramo simulado el incendio
Nitrato (NO ₃ -N)	mg/kg	6.6	4.2	3.9	1.4	1.6
Amonio (NH ₄ -N)	mg/kg	79.7	95.8	84	19.8	46
(NO ₃ +NH ₄)-N	mg/kg	863	100	87.9	21.2	47.6
pH (en KCl)	-	41	5	5.2	4.9	5.9
Materia Orgánica	%	25.4	37.9	32.4	18.9	31.5
pH (en H ₂ O)	-	5.1	5.9	6.1	6.1	6.5
Fósforo (P)	mg/kg	24.1	6.7	6.6	13	7.4
Potasio (K)	mg/kg	145	205	273	158	229
Magnesio (Mg)	mg/kg	150	152	270	243	254
Calcio (Ca)	mg/kg	322	469	505	433	495
Azufre (SO ₄ -S)	mg/kg	8.7	5.5	7.5	2,1	13.6
Hierro (Fe)	mg/kg	1,115	705	735	685	840
Manganeso (Mn)	mg/kg	15.7	655	555	143	575
Cloruro (Cl ⁻)	mg/kg	18.2	23.4	40.7	6.2	22.2
Sales Totales	mg/kg	158	102	143	30	133

NOTA: El suelo de páramo para simulación del incendio fue tomado del plot 3 suelo de páramo de pajonal por lo tanto en relación a este plot se hace referencia la afectación del fuego en el suelo (suelo de páramo simulado el incendio).

De acuerdo a los resultados, tanto un incendio *in situ* (Plot 4), como la quema experimental afectaron las propiedades del suelo; no en igual medida debido a que el efecto del fuego en el suelo depende de la vegetación, las características del suelo antes del incendio y el tipo de incendio (Alcañiz et al., 2016). Además, los incendios *in situ* provocan efectos más pronunciados en los suelos debido a una mayor intensidad y gravedad de los incendios, así como el calentamiento del suelo a pesar que en la simulación del incendio se mantuvieron condiciones similares que un incendio natural (Fonseca et al., 2012).

Los incendios forestales generalmente disminuyen la reserva total de nutrientes presentes en el suelo por la combinación de procesos de oxidación, volatilización, transporte de cenizas, lixiviación y erosión. Como se observa en los resultados, hubo una descompensación de Nitrógeno debido a que, durante un incendio, la vegetación y la materia orgánica del suelo se queman, liberando nitrógeno en forma de óxido nítrico óxido nitroso que se volatiliza de la vegetación y la hojarasca, lo que reduce el almacenamiento de Nitrógeno en el ecosistema quemado (Ribeiro-Kumara et al., 2020). El Nitrógeno se volatiliza debido al bajo umbral de temperatura (200 °C) que este tiene, el efecto es un menor contenido de los compuestos nitrogenados nitratos y nitritos que descienden drásticamente (Nardoto & Bustamante, 2003). Sin embargo, los resultados reportados en la investigación son diferentes a lo obtenido por Chungu et al., (2020) que muestra como el amonio y los nitratos, aumentan después de un incendio forestal porque el amonio se libera de la materia orgánica por el calentamiento y se estimula el proceso de nitrificación.

En este sentido, se ha evidenciado que existe una relación entre la severidad del fuego y los niveles de nitrógeno del suelo. Las concentraciones elevadas de nitrógeno en forma de nitrato y amonio son comunes después de un incendio forestal, sin embargo, son más bajas que en quemas prescritas o simuladas (Kavanagh et al., 2010) Por lo tanto, dependiendo de la severidad y duración del incendio, las concentraciones de amonio pueden aumentar, disminuir o permanecer sin cambios (Verma et al., 2019). De esta forma, los resultados obtenidos en la presente investigación se correlacionan con el estudio de (Schafer & Mack, 2010) en el que se observa un aumento de las concentraciones de amonio (NH_4) en el suelo inmediatamente después del incendio y su disminución en dos meses posteriores. Las concentraciones elevadas de nitrógeno en el suelo persisten de uno a cuatro meses después de un incendio forestal. Este efecto no se observa en los resultados obtenidos en la investigación respecto al contenido de nitrógeno en el plot 4 suelo de páramo quemado puesto que, el muestreo del área quemada se realizó aproximadamente pasados los 4 meses de ocurrido el incendio.

Por otra parte, el fuego también puede afectar el estado de los nutrientes del suelo directamente al agregar los nutrientes disponibles e indirectamente al cambiar el ambiente

del suelo. A su vez, los nutrientes pueden depositarse en la superficie del suelo en una forma altamente soluble que es posible perderse por la erosión del suelo como se puede observar en el contenido de sales totales para el plot 4 (Verma & Jayakumar, 2018). Adicionalmente, de igual manera respecto al plot 4 suelo de páramo quemado se evidencia que a más largo plazo, los incendios también pueden contribuir a la reducción de la disponibilidad de nutrientes y contenido de sales totales liberados de la materia orgánica y la biomasa microbiana que se eliminan del ecosistema por escorrentía y lixiviación (Miesel et al., 2012)

Por otra parte, se encontraron niveles altos de materia orgánica en el plot 2 y 3 relacionados con una mayor capacidad de almacenamiento de carbono de este suelo de páramo prístino por su vegetación (Curiel Yuste et al., 2017). El contenido de materia orgánica en el suelo de estos plot proviene principalmente de la hojarasca de las especies vegetales nativas presentes como *Valeriana microphylla* y *Carex lemmaniana* (Kögel-Knabner & Amelung, 2013). El plot 4 y suelo simulado el incendio presentaron un menor contenido de materia orgánica. Debido a que, los incendios generalmente reducen el contenido orgánico, así como el número y actividad de las poblaciones microbianas involucrados en los procesos de mineralización y humificación (Litton & Santelices, 2003). Varios estudios como el de Verma & Jayakumar, (2012) han reportado la reducción del contenido de materia orgánica después del fuego. Asimismo (Heydari et al., 2017) evaluó la materia orgánica del suelo mineral después de un incendio posterior a la quema encontrando que los niveles disminuyeron a condiciones previas al incendio corroborando los resultados obtenidos en la presente investigación. De la misma manera, el efecto del fuego sobre el contenido de materia orgánica del suelo es muy variable y depende de varios factores, como el tipo, la intensidad y la duración del fuego (Shakesby, 2011)

Al analizar el pH en KCl se determinó que el valor más bajo corresponde al plot 1 mientras que los valores más altos corresponden al plot 4 y suelo de páramo incendio simulado. Para el suelo de páramo incendio simulado se muestra un valor de pH alto, confirmando que el pH aumenta después de un incendio por la liberación de iones alcalinos de la producción de óxidos, hidróxidos y carbonatos de potasio (K) y Na en la ceniza y también la desnaturalización de ácidos orgánicos por las altas temperaturas (Xue et al., 2014). Respecto al suelo del plot 4, se muestra una disminución del nivel de pH del

suelo afectado por incendio a través del tiempo, debido a la presencia de especies vegetales que absorben cationes básicos para su sostenimiento dejando en el suelo cationes ácidos responsables de la acidez del suelo. Adicionalmente la acidez del suelo contribuye a la deficiencia de nutrientes y sales totales como se observa en los resultados (Vargas, 2007).

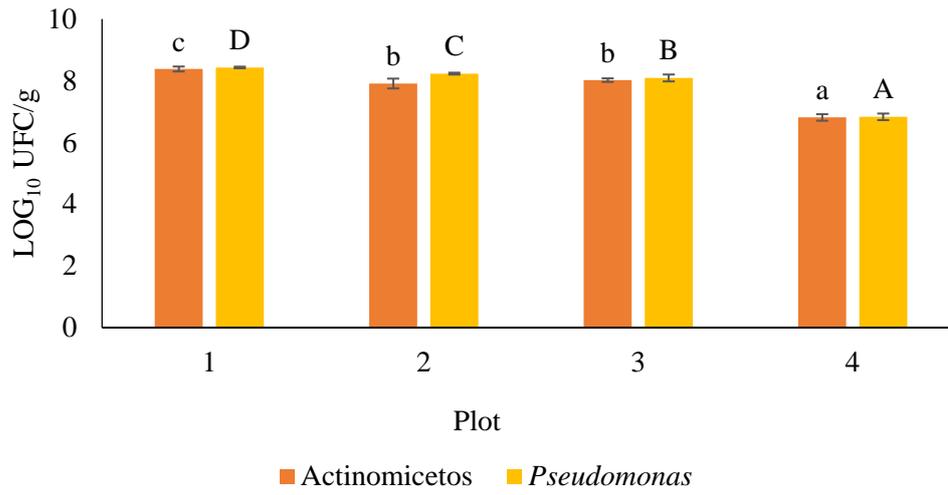
4.2 Aislamiento de microorganismos de suelos de páramo prístinos y afectados por incendio

4.2.1 Aislamiento de bacterias

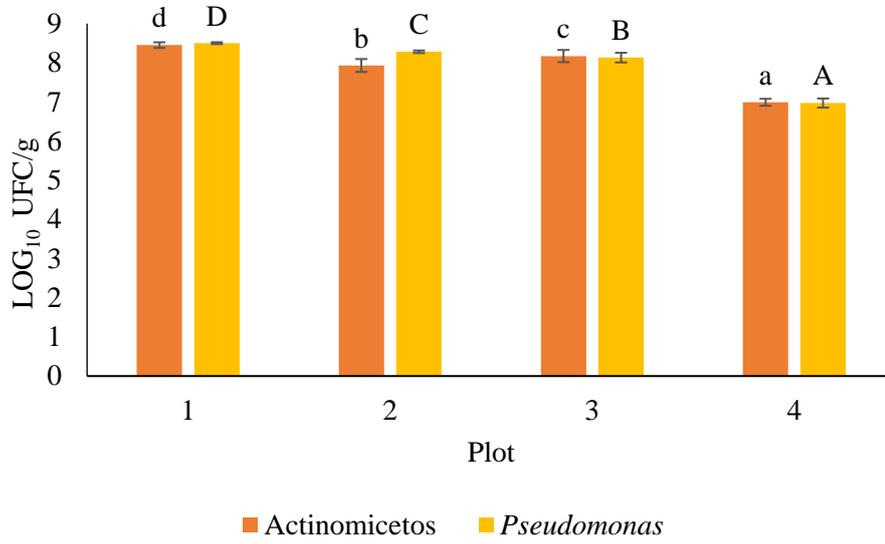
De las muestras recolectadas se aisló un total de 80 cepas bacterianas en medios de cultivo selectivos para *Pseudomonas* y actinomicetos. De la totalidad de cepas aisladas el 53,75 % (41) corresponde a *Pseudomonas* y el 46,25% (32) a actinomicetos. Demostrando que *Pseudomonas sp.* y actinomicetos están ampliamente distribuidos en los entornos del suelo de páramo. Los actinomicetos son uno de los principales componentes de las poblaciones microbianas de la rizosfera y son útiles en el ciclo de nutrientes del suelo. El suelo es un depósito natural de actinomicetos, los cuales ayudan a constituir una maquinaria eficiente de este entorno y se ha reportado su presencia en condiciones ambientales extremas como los suelos de páramo (Poomthongdee et al., 2015). Por otra parte, el género *Pseudomonas sp.* es uno de los géneros bacterianos más diversos en todo el planeta y juega un papel clave en el suelo para la promoción del crecimiento de las plantas (Sah & Singh, 2016).

Para determinar la carga microbiana en cada uno de los plots analizados, se cultivaron varias muestras de suelo de acuerdo con lo descrito en la metodología (Sección 3.4.1). En la Figura 5 se muestra la carga microbiana de cada plot. En relación con la carga bacteriana de cada plot medida como UFC/g de *Pseudomonas* y de Actinomicetos, se encontraron diferencias significativas entre plots a las 24,48 y 72 horas siendo el Plot 1 en el que se determinaron los promedios más altos y en el Plot 4 los promedios más bajos.

A)



B)



C)

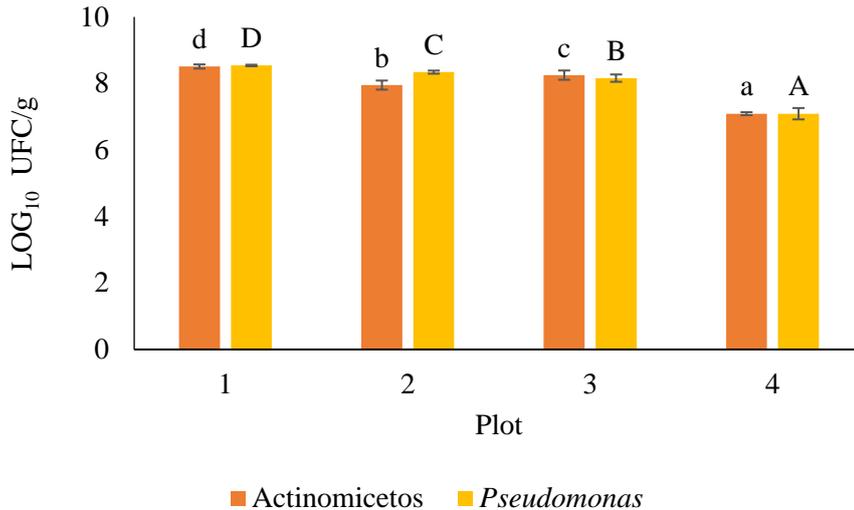


Figura 6

Crecimiento en diferentes medios de cultivo pseudomonas y actinomicetos en UFC/g de bacterias aisladas de suelo de páramo prístino y quemado A) a las 24 horas, B) a las 48 horas y C) a las 72 horas.

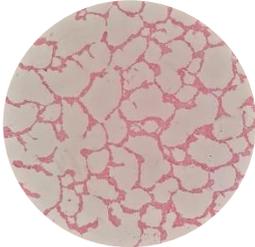
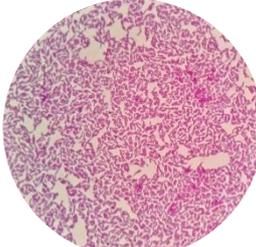
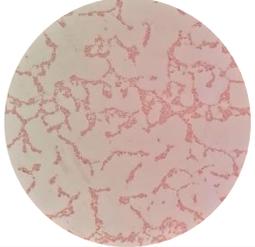
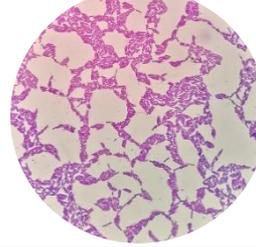
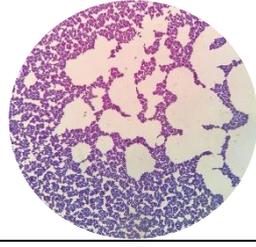
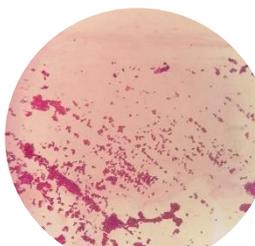
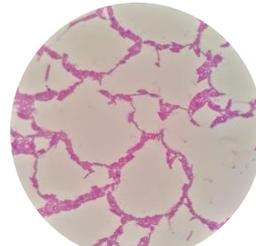
El plot 1 presentó el mayor crecimiento para los dos microorganismos (*Pseudomonas* y Actinomicetos) en todos los períodos de tiempo, este plot corresponde al bosque de Polylepis y la abundante carga microbiana se debe principalmente a la presencia de la vegetación, relacionada a su vez con la descomposición de la hojarasca y la conservación de nutrientes en el suelo (Minaya et al., 2016 & Rica et al., 2015). Resultados similares fueron reportados por Valencia & Lizarazo, (2009) que determinaron una abundancia microbiana mayor en microhábitats con abundante vegetación en comparación con agua y biopelículas de piedra.

Por otro lado, los resultados del plot 4 son iguales a los reportados por Hernández & Lizarazo, (2015) siendo *Pseudomonas* el género más abundante con un 86,17 % de porcentaje de aislamiento y de acuerdo al recuento microbiano evaluado a las 48 horas, indica una disminución significativa de la carga microbiana de un suelo de páramo afectado por actividades antropogénicas como la quema. Al igual que Swallow et al., (2009) encontraron que la biomasa microbiana en sitios quemados se reduce significativamente comparados con zonas no quemadas en un bosque boreal. De igual forma, el metaanálisis de las respuestas de la biomasa microbiana del suelo a las perturbaciones forestales realizado por Holden & Treseder, (2013) sugieren que las alteraciones pueden disminuir la carga microbiana del suelo considerando que, la

abundancia de bacterias disminuyó en un promedio de 33,3 % en respuesta a la afectación del fuego.

4.2.1.1 Microscopia de bacterias seleccionadas para tratamiento de bioaumentación.

Para los experimentos posteriores se seleccionaron 12 cepas, 6 correspondientes al género *Pseudomonas* y 6 para actinomicetos como se indica en la Figura 6.

Código	Microscopia Tinción Gram	Código	Microscopia Tinción Gram
Act plot 3 r1.1 colonia 8.2 2c (c)	MA60 	Pseudo plot 1 r1.1 colonia 4.2	MP39 
Act plot 1 r2.1 8.1 contorno a (1)	MA55 	Pseudo plot 2 r1.3 colonia 11 (b)	MP29 
Act plot 1 r2.1 8.(a)	MA50 	Pseudo plot 1 r1.3 colonia 9.1 (b)	MP36 
Act plot 3 r2.3 colonia 4.2 amarilla b2	MA53 	Pseudo plot 2 r2.2 colonia 8 (b)	MP33 

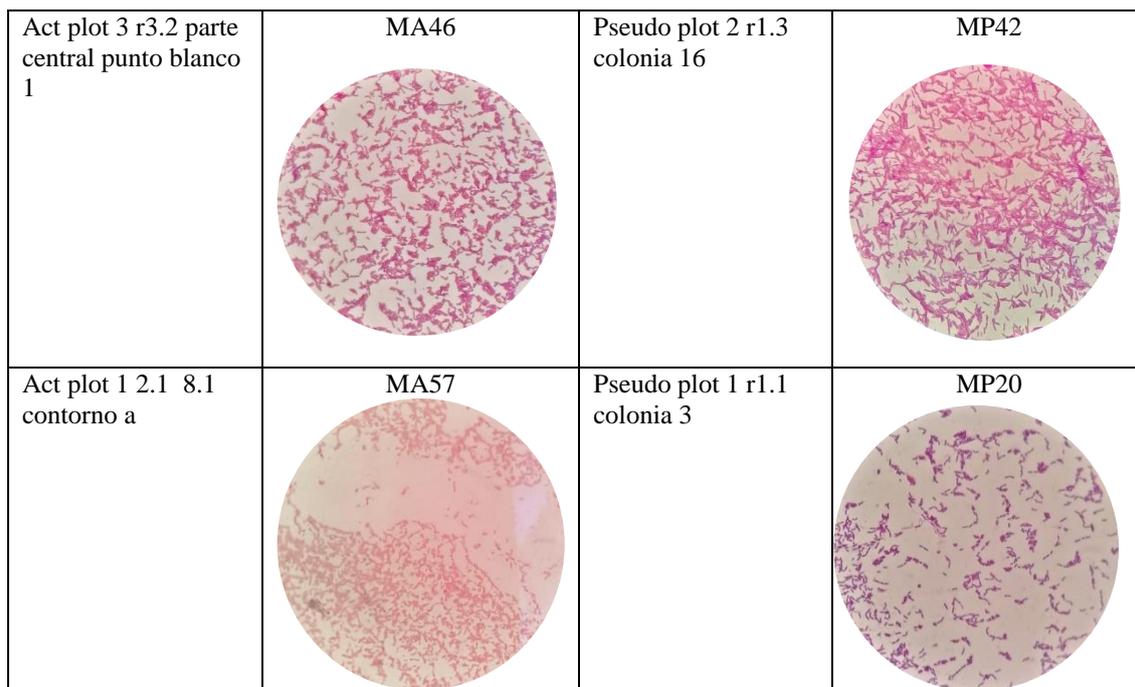


Figura 7

Microscopía de bacterias seleccionadas para bioaumentación, observadas a 100X.

NOTA: Los colores de las imágenes microscópicas observadas al microscopio pueden resultar diferentes a las imágenes presentadas por efecto de la resolución de la cámara fotográfica.

4.2.2 Aislamiento de hongos

Para determinar los géneros de hongos presentes en las muestras de suelo de cada uno de los plots analizados se aisló cada cepa fúngica y mediante claves taxonómicas se evidenció los géneros. Se obtuvo un total de 14 cepas fúngicas aisladas de las cuales 6 pertenecen al Plot 1 (4 cepas en medio PDA y 2 cepas en medio Malta), 2 al Plot 2 (1 en medio PDA y 1 en medio Malta), 1 al Plot 3 (1 en medio PDA) y 5 al Plot 4 (3 en medio PDA y 2 en medio Malta). No se evaluó correlación, diferencias en diversidad ni abundancia fúngica entre los plots. Sin embargo, se observa un mayor número de cepas aisladas del suelo del plot 1 bosque de Polylepsis debido a la presencia de abundante vegetación además de la descomposición lenta de la madera relacionada con hongos celulolíticos. Las 14 cepas aisladas se han identificado mediante claves taxonómicas. Para facilitar el manejo y análisis de las cepas obtenidas, se codificó como se muestra en la Tabla 13:

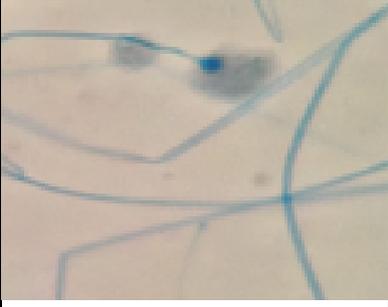
Tabla 13

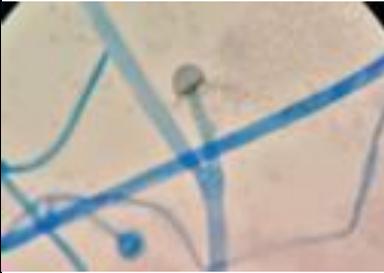
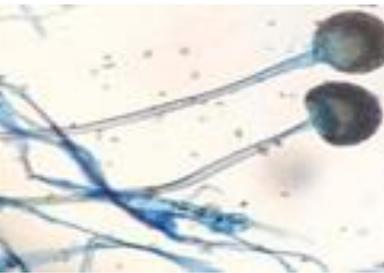
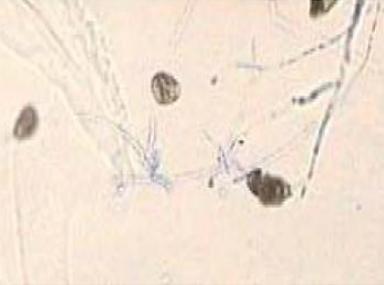
Códigos de los aislados fúngicos correspondientes a los diferentes puntos de muestreo.

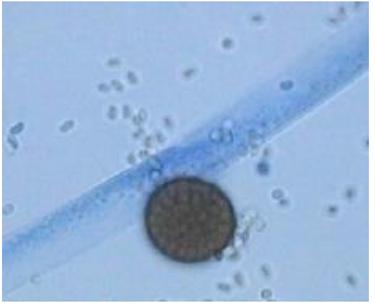
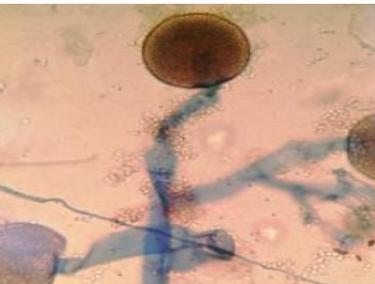
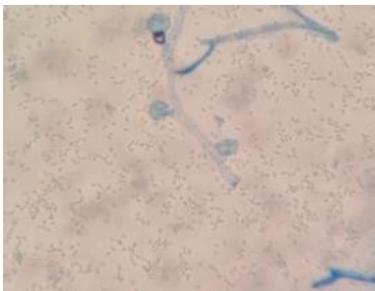
Nº Aislado	Código	Identificación
------------	--------	----------------

(Medio de cultivo. Plot. Número de repetición)		
1	PQ1	PDA. Plot 4r1.2 (5)
2	MQ1	MT. Plot 4 r2.1 (4)
3	MP1	MT. Plot1 r2.1 (1)
4	MQ2	MT. Plot 1 r1.3 (3)
5	PP2	PDA Plot2 r3.1 h3
6	PP3	PDA Plot1 r1.3 (5)2
7	MP2	MT Plot1 r1.3 (3)h1
8	PQ2	PDA Plot 3 r2.3 (3)
9	PQ3	PDA Plot4 r1.2(5)
10	MQ3	MT Plot4 r2.1 (4) h1
11	PP4	PDA Plot1 r1.2(5)
12	PQ4	PDA Plot4 r2.3(3)h1
13	MP3	MT Plot2 r3.2
14	PP5	PDA Plot1 r2.3(3)

Como muestra la Figura 6 se aislaron e identificaron 4 géneros de hongos mediante comparación de las imágenes obtenidas en el microscopio con características morfológicas utilizando claves taxonómicas (Arias & Piñeros, 2008).

Identificación	Imagen de la muestra con microscopía óptica	Imagen clave taxonómica
Género: <i>Aspergillus</i> Reino: Fungi Phylum: Ascomycota Orden: Eurotiales Familia: Trichomaceae	PQ1 	
Género: <i>Microsporium</i> Reino: Fungi Phylum: Ascomycota Orden: Onygenales Familia: Arttnrodermataceae	MP1 	

<p>Género: <i>Mucor</i> Reino: Fungi Phylum: Zygomycota Orden: Mucorales Familia: Mucoraceae</p>	<p style="text-align: center;">MQ1</p> 	
<p>Género: <i>Mucor</i> Reino: Fungi Phylum: Zygomycota Orden: Mucorales Familia: Mucoraceae</p>	<p style="text-align: center;">MQ2</p> 	
<p>Género: <i>Eupenicillium</i> Reino: Fungi Phylum: Ascomycota Orden: Eurotiales Clase: Ascomycetes Familia: Trichocomaceae</p>	<p style="text-align: center;">PP2</p> 	
<p>Género: <i>Aspergillus</i> Reino: Fungi Phylum: Ascomycota Orden : Eurotiales Familia: Moniliaceae</p>	<p style="text-align: center;">PP3</p> 	
<p>Género: <i>Microsporium</i> Reino: Fungi Phylum: Ascomycota Orden: Onygenales Clase: Eurotiomycetidae Familia: Arthrodermataceae</p>	<p style="text-align: center;">MP3</p> 	<p style="text-align: center;">x.</p> 

<p>Género: <i>Mucor</i> Reino: Fungi Phylum: Zygomycota Orden: Mucorales Clase: Zygomycetes Familia: Mucoraceae</p>	<p style="text-align: center;">MQ3</p> 	
<p>Género: <i>Rhizopus</i> Reino: Fungi Phylum: Zygomycota Orden: Mucorales Clase: Zygomycetes Familia: Mucoraceae</p>	<p style="text-align: center;">PP4</p> 	
<p>Género: <i>Alternaria</i> Reino: Fungi Phylum: Ascomycota Orden: <i>Pleosporales</i> Clase: Euascomycetes Familia: Pleosporaceae</p>	<p style="text-align: center;">PQ3</p> 	
<p>Género: <i>Mucor</i> Reino: Fungi Phylum: Zygomycota Orden: Mucorales Clase: Zygomycetes Familia: Mucoraceae</p>	<p style="text-align: center;">PP5</p> 	
<p>Género: <i>Trichoderma</i> Reino: Fungi Phylum: Ascomycota Orden: Hypocreales Clase: Sordariomycetes Familia: Hypocreaceae</p>	<p style="text-align: center;">MP2</p> 	

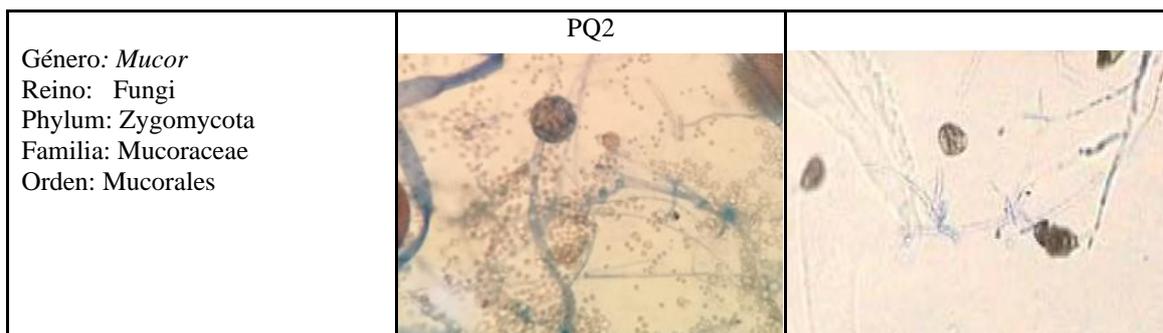


Figura 8

Imágenes microscópicas de colonias fúngicas visualizadas a los 15 días de incubación, cultivadas en medio PDA y Malta.

En relación con la morfología de las cepas aisladas se encontraron algunas diferencias. PQ1 presenta conidióforos cortos con cabezas conidiales, fiálides aglomeradas y conidios de color azulado globosos; MP1y MP3 se caracterizan por presentar macroconidios ovalados alargados y en forma de pera; MQ1 se identifica por los esporangios globosos de color café; MQ2 y PQ2 se caracteriza por tener conidióforos erectos ondulados de color café oscuro, MQ3 y PP5 se caracteriza por tener tallos largos sin ramificar, poseen columnelas ovoides a elipsoidal gris-café oscuro de 30 a 50µm de diámetro (Arias & Piñeros, 2008) . Por otra parte, PP4 presenta esporangios globosos o subglobosos de color café oscuro, columnela globosa; MP2 presenta conidióforos ramificados de forma piramidal con ramas cortas en las puntas y más largas en la parte inferior y conidios subglobosos.

Los géneros identificados fueron *Aspergillus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Trichoderma* y el filo *Ascomycota*. Respecto al género *Aspergillus*, como indica Kurniati et al.,(2014), las distintas especies de *Aspergillus* tienen alta capacidad para crecer en entornos altamente aeróbicos y se puede encontrar en ambientes ricos en oxígeno y demostrar características oligotróficas, siendo capaces de crecer en ambientes con pocos nutrientes. Por otro lado, las especies del género *Mucor* se utilizan en procesos biotecnológicos como la biorremediación y en la fermentación de alimentos (Nguyen et al., 2020). Como expone Ziaee et al., (2016) la sensibilidad de los hongos nativos en el suelo varía dependiendo del rango de temperaturas a la que son sometidos, se ha demostrado que temperaturas superiores a 70 °C afectan la supervivencia y crecimiento posterior, lo que lleva a cambios en la abundancia de especies como se evidencia en la investigación.

El género *Trichoderma* es conocido por inhibir los patógenos de las plantas a través de múltiples mecanismos, incluida la competencia y el hiperparasitismo además mejora del crecimiento y desarrollo de la planta (Nieto-Jacobo et al., 2017). Es un hongo de biocontrol, no causa daño a las plantas, posee un fuerte potencial de adaptación, un amplio espectro antimicrobiano y que posee diversos mecanismos antagónicos (Lawo et al., 2013; Rai et al., 2016), y se aplica en la prevención y el control de muchos tipos de enfermedades fúngicas de las plantas causadas por *Rhizoctonia solani*, *Pythium sp.*, *Botrytis cinerea* y *Fusarium sp* (Xian et al., 2020).

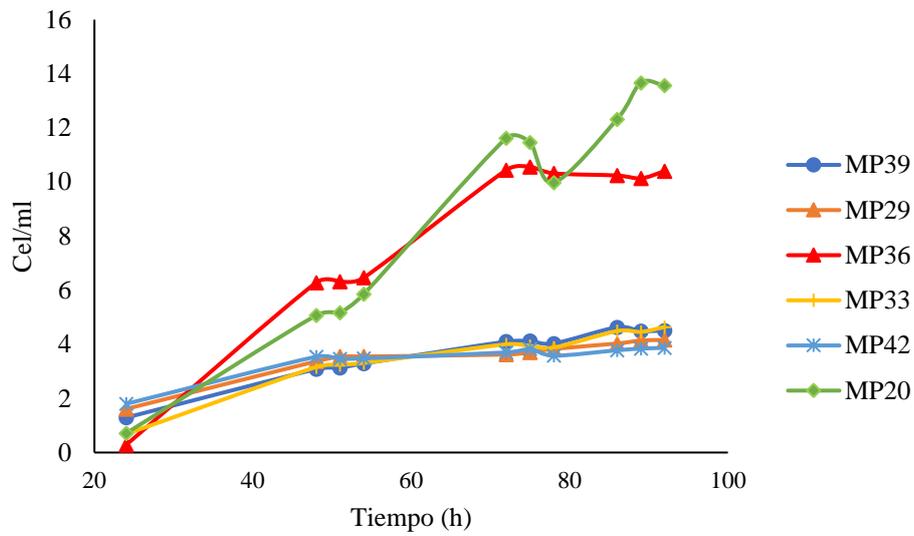
En cuanto al género *Alternaria* es un género fúngico muy común, donde se incluyen numerosas especies saprofitas, endofíticas y patógenas ampliamente distribuidas en el suelo como se evidenció en los resultados y la materia orgánica en descomposición. Incluye especies patógenas que pueden invadir los cultivos vegetales antes y después de la recolección y es responsable de considerables pérdidas económicas, debido a que reduce el rendimiento de las cosechas y produce alteraciones en los vegetales durante su almacenamiento (Pavón Moreno et al., 2012). Por otra parte, de acuerdo a Godoy et al.,(2016) el filo *Ascomycota* es uno de los más diversos grupos de hongos capaces de colonizar casi todos los nichos ecológicos, acorde a los resultados obtenidos. Además, pertenecen a las especies fúngicas aisladas con mayor potencial de degradadores de bifenilos policlorados (Urrea et al., 2015).

4.3 Evaluación de metodologías de biorremediación

4.3.1 Crecimiento del consorcio microbiano para la estrategia de bioaugmentación

Para evaluar la estrategia de bioaugmentación se seleccionaron 12 cepas de bacterias para formar un consorcio. Una vez definidas las cepas fue necesario determinar el tiempo óptimo de cosecha, para lo cual se elaboró la cinética de crecimiento de cada una de las bacterias como se muestra en la Figura 7.

A)



B)

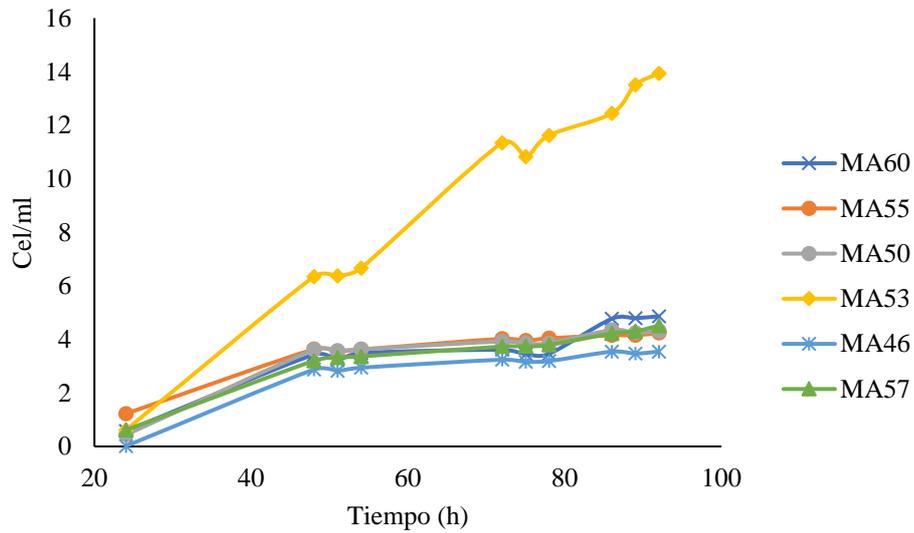


Figura 9

Cinética de crecimiento de bacterias medidas en escala de McFarland (cel/ml) A) *Pseudomonas* B) actinomicetos

Tabla 14

Tasa específica de crecimiento de bacterias A) *pseudomonas* y B) actinomicetos respectivamente empleadas en el tratamiento de bioaumentación

A)

Tiempo	Reactor 1	Reactor 2	Reactor 3	Reactor 4	Reactor 5	Reactor 6
	μ	μ	μ	μ	μ	μ
0,750	1,156	1,165	5,493	1,766	1,057	1,508
0,875	0,449	-0,169	-0,078	-0,018	-6,683	0,247

1,000	-0,095	-1,332	-1,208	-0,861	5,070	11,217
1,750	0,526	0,221	0,463	0,306	0,384	-0,082
1,875	0,761	1,725	1,120	0,518	1,357	0,129
2,000	-0,179	0,958	-1,020	-0,156	-0,226	0,485
2,750	0,365	-0,800	-0,038	0,159	-0,169	0,399
2,875	-1,064	4,905	0,574	-1,113	0,472	0,040
3,000	0,407	0,676	-0,622	-0,095	0,187	0,094

B)

Tiempo	Reactor 1	Reactor 2	Reactor 3	Reactor 4	Reactor 5	Reactor 6
	μ	μ	μ	μ	μ	μ
0,75	1,432	2,533	2,934	3,364		2,186
0,88	4,146	-0,032	0,906	-0,369	0,048	0,062
1,00	-1,153	-1,034	0,263	-3,354	0,021	0,816
1,75	0,078	-0,788	-0,068	1,078	0,205	-2,426
1,88	0,658	-2,493	-0,174	0,609	1,019	15,503
2,00	0,969	3,091	0,164	0,005	0,918	-0,053
2,75	-0,143	0,145	0,120	0,280	-0,081	-0,170
2,88	2,244	-0,740	2,444	-0,185	-0,450	0,764
3,00	0,934	-1,043	-0,700	-0,013	-0,057	0,055

Tanto las cepas de *Pseudomonas* como actinomicetos alcanzan un crecimiento exponencial entre las 24 y 48 horas. En cuanto a *Pseudomonas* se evidenció un mayor crecimiento para la cepa MP36 y MP20 debido a su rápida adaptabilidad a las condiciones de cultivo mientras que, en actinomicetos se observó un mayor crecimiento para la cepa MA53. Sin embargo, cabe resaltar que hubo cepas como MP33 Y MA57 las cuales presentaron un crecimiento menor a diferencia de las otras cepas.

El rápido crecimiento de algunas cepas del género *Pseudomonas* se debe a sus características adaptativas como lo señala M. Zhang et al., (2021) que muestra que *Pseudomonas* juegan un papel importante en el ciclo del carbono y se adaptan en la mayoría de los nichos ecológicos. Además, se caracteriza por su resistencia a metales pesados y disolventes orgánicos, algunas especies producen sustancias con amplias aplicaciones por ejemplo en el control biológico contra bacterias patógenas, reciclaje de nutrientes y fermentación industrial.

Por otra parte, la dinámica de crecimiento de los actinomicetos se atribuye a su distribución en diferentes hábitats como lo indica Abdelgawad et al., (2020) estas bacterias participan en la descomposición de materia orgánica, la fijación de nitrógeno y

en la solubilización de fosfatos. Además, inhiben el crecimiento de varios patógenos vegetales y descomponen mezclas complejas de polímero en plantas muertas, animales y el material fúngico. Por otra parte, Bhatti et al., (2017) menciona que las actinobacterias ayudan de manera sostenible a mejorar la salud del suelo mediante la formación y estabilización de pilas de compost.

El tiempo de cosecha para el tratamiento de bioaumentación se determinó en base a la concentración, siendo 1 en la escala de McFarland equivalente a 3×10^8 células/ml. Esta concentración bacteriana es óptima para el tratamiento de acuerdo con lo reportado por Darmayati et al., (2017) que indica que a una concentración de $1,0 \times 10^8$ células/ml aumenta la densidad bacteriana favoreciendo al desarrollo de microcosmos dentro del suelo. Asimismo, el estudio realizado por Nzila et al., (2016) demostró que concentraciones bajas del inóculo (<400 células / ml) son sensible a la depredación principalmente por parte de protozoos, mostrando que cuanto menor es el número de bacterias inoculadas, mayor es la posibilidad de depredación (Mountassir et al., 2018).

4.1.1 Evaluación de estrategias de biorremediación en reactores anaerobio

Para evaluar las estrategias de biorremediación en reactores anaerobios se consideraron parámetros físico químicos (pH y humedad) y biológicos (respiración del suelo-emisión de CO_2 , supervivencia microbiana y actividad enzimática) durante el tiempo de experimentación para valorar el desarrollo de los tratamientos.

4.1.1.1 Parámetros biológicos

La respiración del suelo es uno de los métodos tradicionales empleados para evaluar la correlación entre la degradación de contaminantes y la sostenibilidad microbiana en el proceso de biorremediación. En este sentido, mediante respirometría se determinó la evolución de CO_2 como se muestra en la Figura 8 para la emisión de CO_2

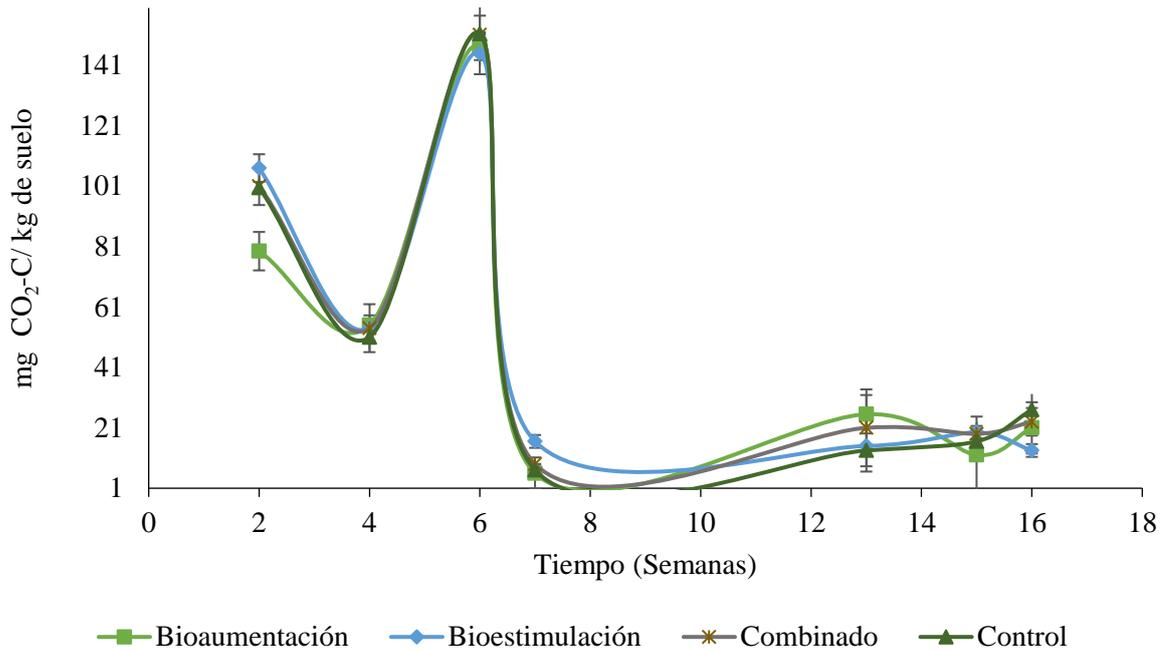


Figura 8
Evaluación de emisión de CO₂

Existen diferencias en la emisión de CO₂ en las semanas evaluadas, siendo el intervalo de la semana 7 a la semana 10 numéricamente las que presentan los valores más bajos de emisión de CO₂. Sin embargo, al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y tiempo. Por lo tanto, los resultados muestran las limitaciones que tiene la técnica de titulación empleada para medir este parámetro como lo expone Anderson, (2015) esta es una metodología simple que presenta inconvenientes respecto a la precisión cuantitativa. Del mismo modo, Haney et al., (2008) reporta como la titulación ligada al método empleado tiene vías de error asociadas con el procedimiento principalmente en el punto final del cambio de color (titulación) de las muestras.

Respecto a la evolución de CO₂ durante las semanas de experimentación gráficamente se observa, valores bajos de CO₂ en las semanas 2 y 4 seguido de un aumento de emisión de CO₂ en la semana 6 y un descenso drástico con los valores más bajos en la semana 7 a 10. Los resultados son similares a los reportados por Decesaro et al., (2021) que evaluaron la biodegradación de hidrocarburos de petróleo en dos tipos de suelos arcilloso y arenoso mostrando actividad respiratoria baja en la primera etapa de experimentación asociada a la fase de adaptación de los microorganismos al contaminante y su concentración en el suelo. Después de este período, se observó una mayor liberación

de CO₂, por aumento de la población microbiana y adaptación a causa del uso de las fuentes de nutrientes presentes. A la par, Zhen et al., (2020) reportó un aumento de la emisión de CO₂ con el transcurso del tiempo de cultivo en suelo contaminado con petróleo. En cuanto al descenso drástico de la emisión de CO₂ en la semana 7 está relacionado con las limitaciones del método de titulación mencionadas anteriormente.

Además, se realizó el conteo microbiano de las muestras iniciales y finales de los tratamientos para determinar la supervivencia microbiana como se muestra en la Figura 9:

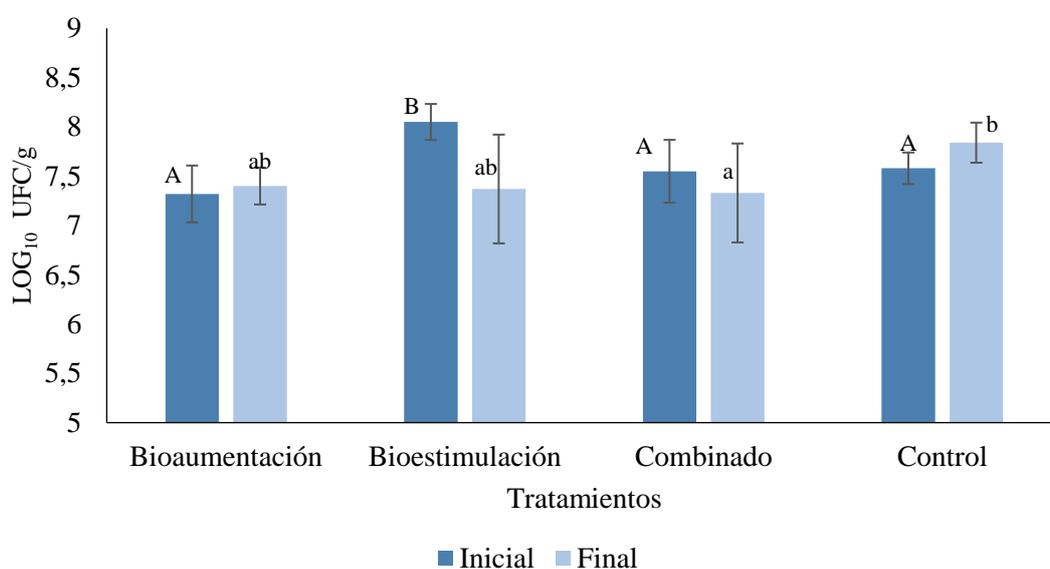


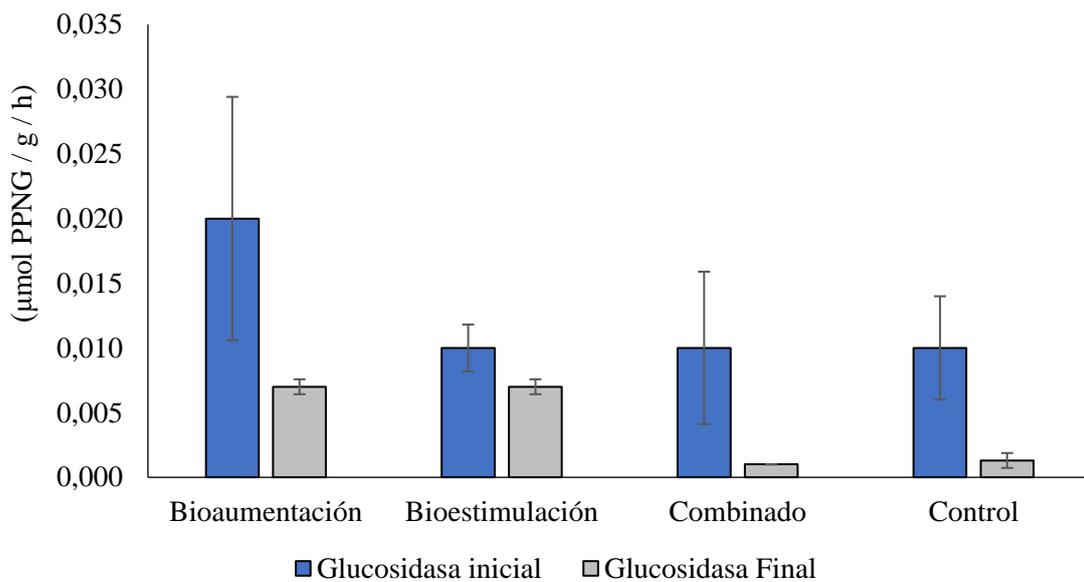
Figura 9
Supervivencia microbiana evaluada en tratamientos de recuperación de suelo de páramo.

La carga microbiana en los tratamientos de bioaumentación, bioestimulación y combinado es menor al final de la experimentación que al inicio debido a la disponibilidad de nutrientes (adición de nitrato de amonio y microorganismos alóctonos respectivamente) y competencia con microorganismos nativos, efecto que no ocurre en el tratamiento control en el que se tiene únicamente microorganismos autóctonos y no existe competencia con microorganismos alóctonos es así que, se observa mayor carga microbiana al final de la experimentación (Abatenh et al., 2017). La actividad microbiana es influenciada por factores como la ausencia de aceptores o donantes de electrones (oxígeno), la baja disponibilidad de nitrógeno o fósforo, la falta de inducción de las vías metabólicas responsables de la degradación que a su vez inhiben la remediación

(Cosgrove et al., 2010). De esta forma, los tratamientos bioestimulación, bioaumentación y combinado presentan una menor carga microbiana relacionada a su vez con las condiciones anaerobias que impiden el desarrollo de microorganismos aerobios y sobreviven microorganismos anaerobios facultativos, determinando que estas condiciones no son favorables para los tratamientos de recuperación del suelo (Lipińska et al., 2021).

Adicionalmente, para evaluar los tratamientos de biorremediación se midió la actividad enzimática β -glucosidasa y fosfatasa debido a que, las enzimas responden a los cambios en el manejo del suelo incluso antes de que se detecten otros cambios en los indicadores de la calidad del suelo. Además, las enzimas del suelo juegan un papel importante en la descomposición de la materia orgánica y el ciclo de nutrientes. Los resultados obtenidos se muestran a continuación en la Figura 10:

A) Actividad β -glucosidasa



B) Actividad Fosfatasa

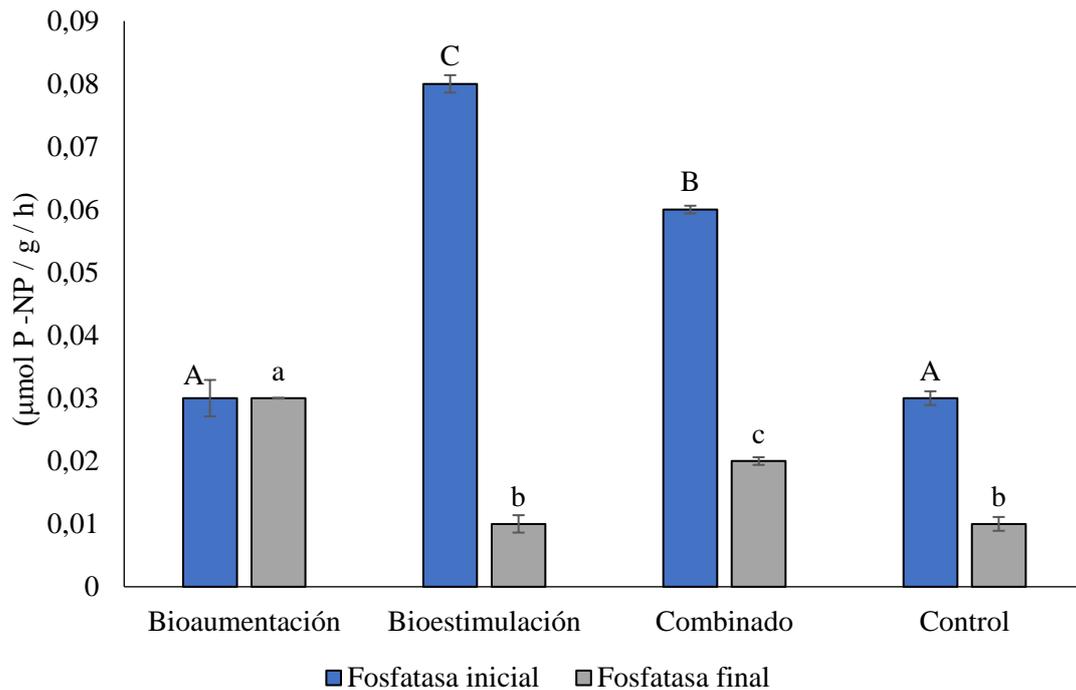


Figura 10

A) Actividad glucosidasa y B) Actividad fosfatasa evaluada en tratamientos de recuperación de suelo de páramo.

Para los tratamientos de bioaumentación, bioestimulación y combinado la supervivencia microbiana está relacionada de forma intrínseca con la actividad enzimática, siendo mayor al inicio que al final de la experimentación tanto para glucosidasa como para fosfatasa. Debido a que, los microorganismos requieren mayor tiempo de adaptación a factores ambientales, como estrés, fluctuaciones de temperatura, pH, exceso o falta de agua, disponibilidad de nutrientes y competencia con microorganismos autóctonos (Bento, 2005). De este modo, la actividad de la β -glucosidasa está estrechamente relacionada con la materia orgánica del suelo, la actividad biológica y el ciclo del C, y puede proporcionar una señal avanzada de alteraciones en el carbono orgánico. Puesto que, la β -glucosidasa actúa en la última fase del proceso de degradación de la celulosa al hidrolizar el residuo de celobios. Estas reacciones producen glucosa como producto final, una importante fuente de energía C para el crecimiento y la actividad de los microorganismos del suelo (Abatenh et al., 2017).

La actividad fosfatasa disminuye en el tratamiento de bioestimulación, esto se debe a que el suelo fue bioestimulado con una fuente de nitrógeno causando un desequilibrio de los nutrientes en el suelo. Del mismo modo, la cantidad de fosfatasa presente en el suelo varía con el conteo microbiano y se reduce comparando la concentración inicial y final de la experimentación. Cuando falta fósforo en el suelo, las raíces de las plantas y los microorganismos aumentan la secreción de fosfatasa para intensificar la solubilización y removilización del fosfato. Por lo tanto, la actividad de la fosfatasa se puede utilizar como indicador de la disponibilidad de fósforo inorgánico para plantas y microorganismos (Abatenh et al., 2017).

Propiedades fisicoquímicas

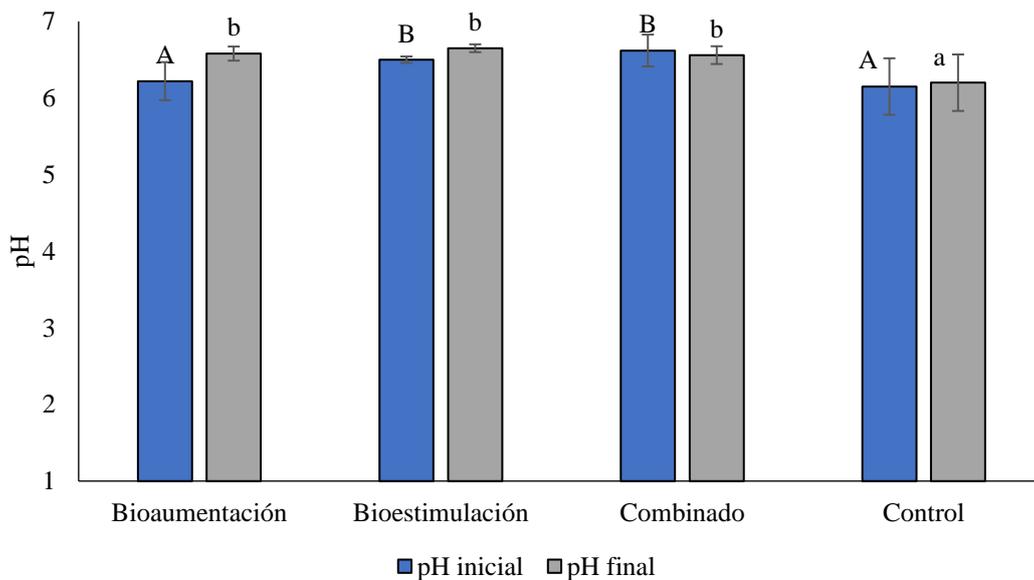


Figura 11
pH evaluado en tratamientos de recuperación de suelo de páramo.

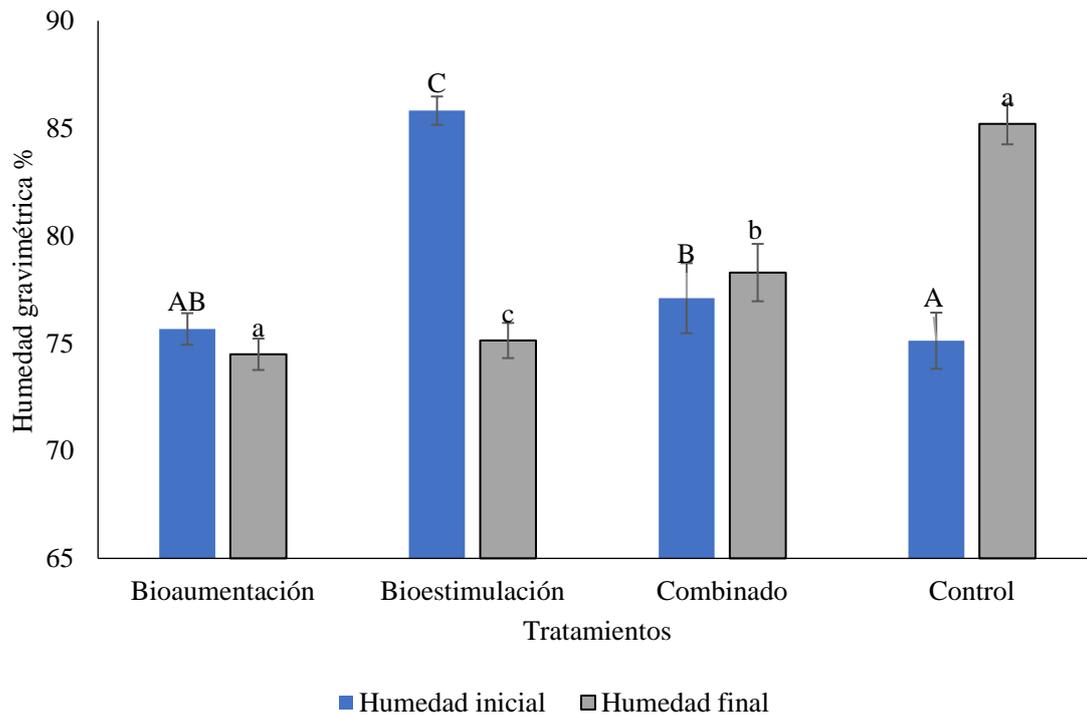


Figura 12
Humedad evaluada en tratamientos de recuperación de suelo de páramo.

El pH y humedad no son estadísticamente significativas comparando los valores del inicio con los del final de la experimentación demostrando que la configuración del reactor permite mantener el nivel de humedad y pH de suelo (Chaudhary, 2021).

4.1.2 Evaluación de estrategias de biorremediación en reactores aerobios

Parámetros biológicos

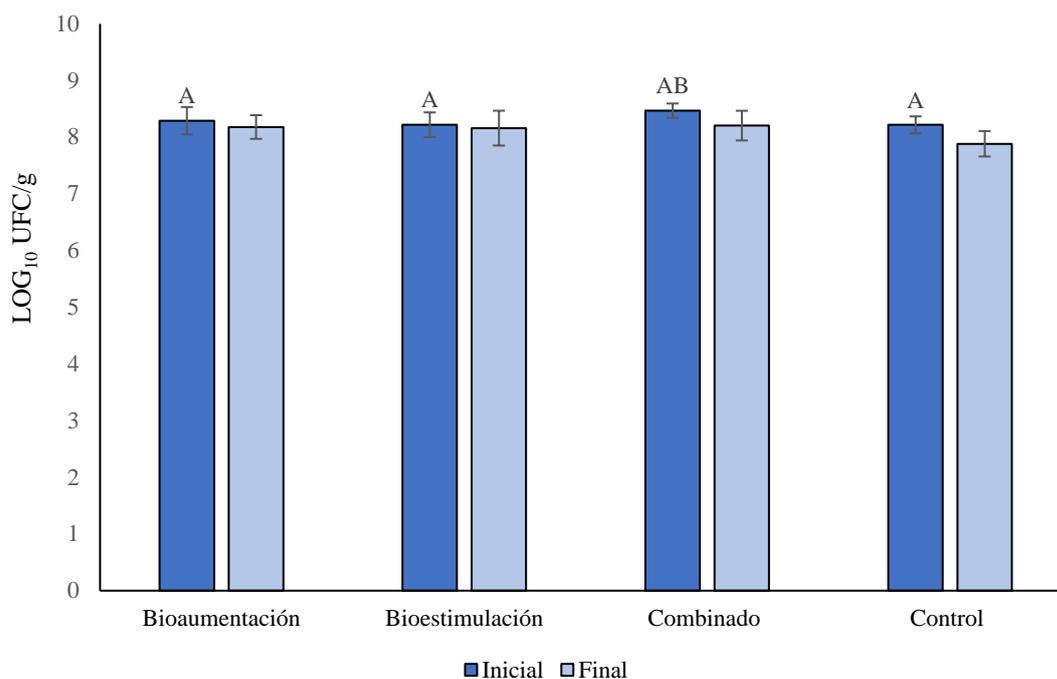


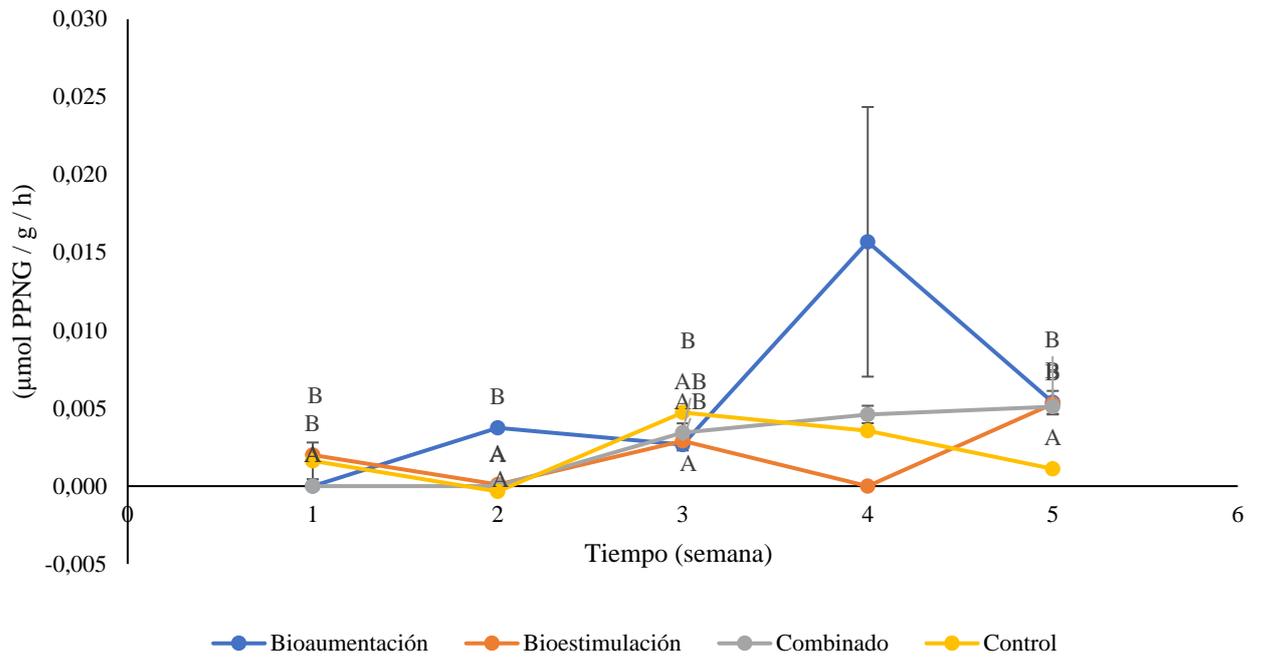
Figura13

Supervivencia microbiana en suelo de páramo evaluada en reactores aerobios.

En la figura 13 se puede evidenciar que biomasa microbiana se mantuvo tanto al inicio como final del ensayo en todos los tratamientos, esto sucede debido a que no existieron cambios significativos en los parámetros fisicoquímicos, que afectarían al equilibrio de la diversidad microbiana del suelo. (Gu et al., 2019) Tyagi et al., 2011, señala que la biomasa microbiana es un indicador de la dinámica del proceso de restauración y se relaciona con la actividad enzimática, indicando el entorno general de los microorganismos en el suelo. Por esto, se evaluó la actividad enzimática β -glucosidasa y fosfatasa con el fin de medir el rendimiento de los tratamientos de biorremediación en el suelo como se indica en la Figura 14.

Este resultado sugiere que, con una mayor actividad microbiana del suelo, los macro y micronutrientes pueden estar biodisponible debido a la acción de las enzimas microbianas, favorecido al crecimiento y desarrollo de los microorganismos.

A) Actividad glucosidasa



B) Evaluación de la actividad glucosidasa en la semana 1(inicio) a la semana 5 (final) del ensayo

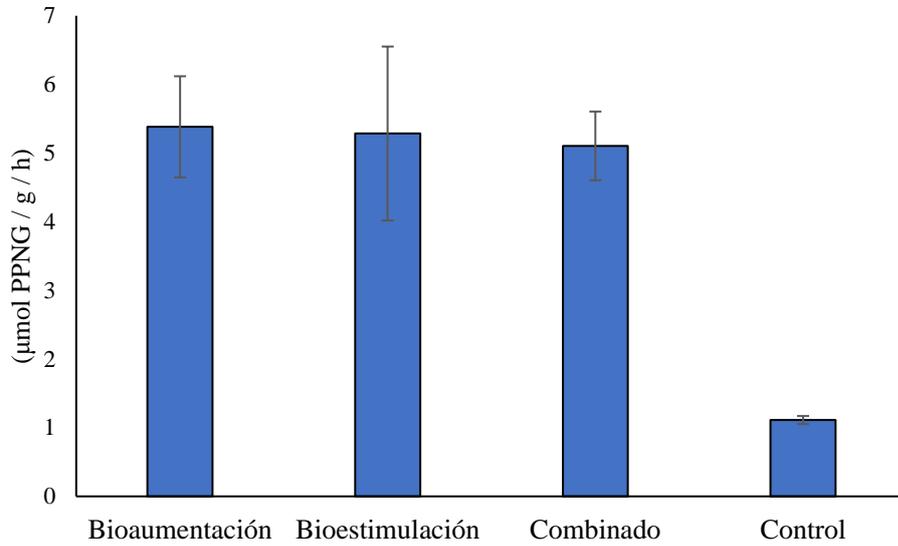
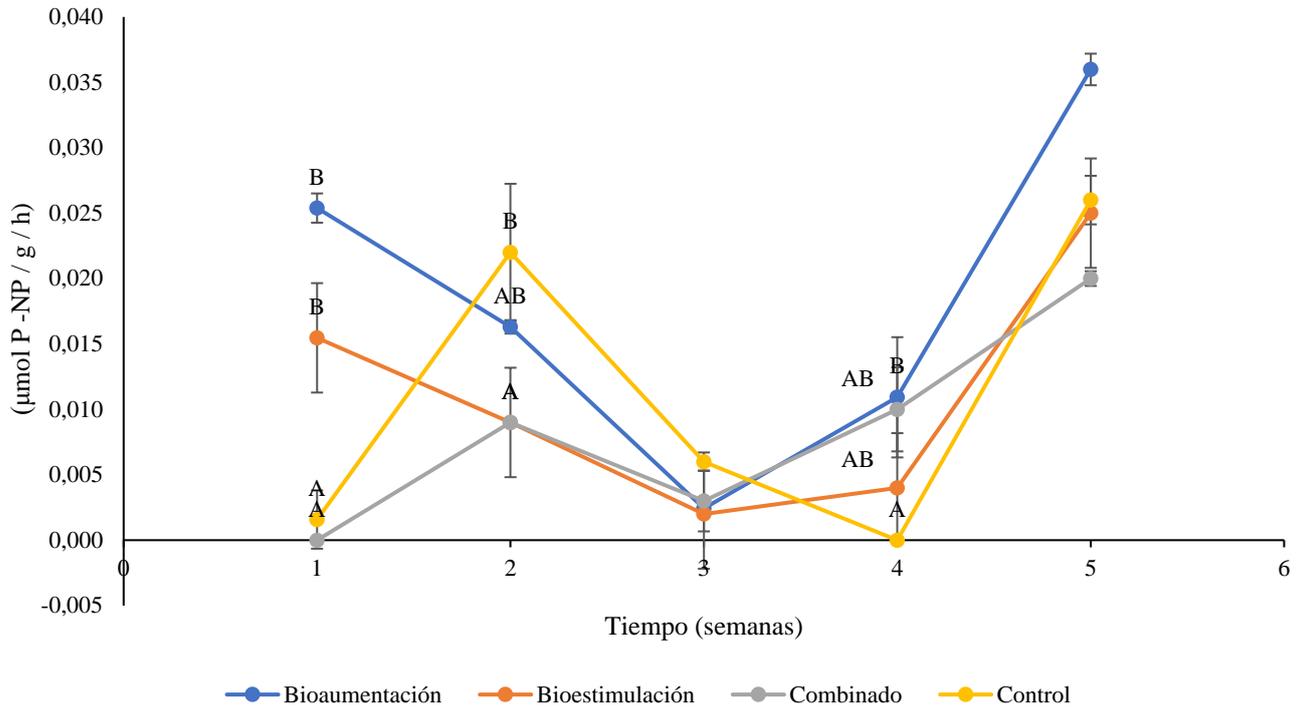


Figura 14

A y B Actividad glucosidasa de suelo de páramo evaluada en tratamientos de recuperación de suelo de páramo.

A) Actividad fosfatasa



B)

C) Actividad fosfatasa evaluada de la semana 1 a la semana 5.

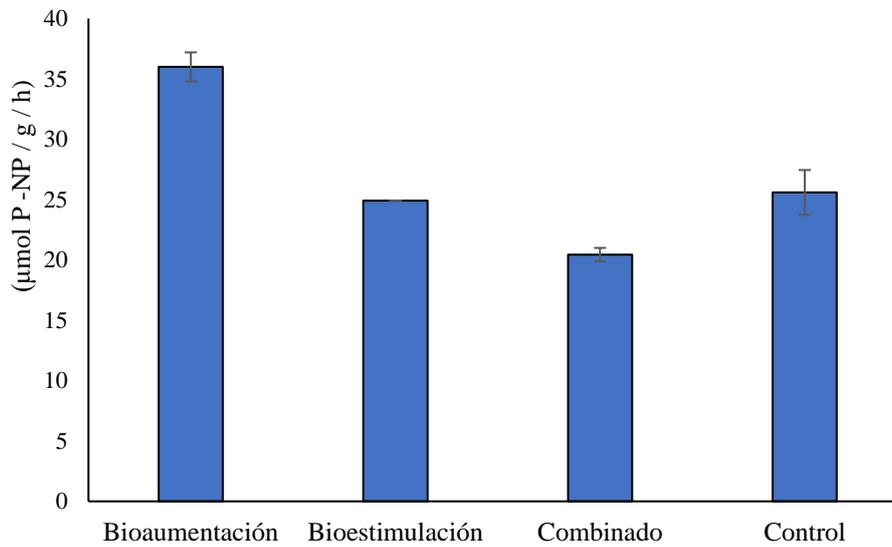


Figura15

A y B Actividad fosfatasa de suelo de páramo evaluada en tratamientos de recuperación de suelo de páramo.

En los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación se evidencia un incremento en la actividad glucosidasa y fosfatasa de la semana 1 a la semana 5, existiendo oscilaciones entre los puntos medidos, esto debido proceso de adaptación que sufren los microorganismos a los diferentes cambios en el suelo respecto a la humedad, temperatura y pH factores que afectan a la descomposición de materia orgánica y ciclo de nutrientes (Alkorta, 2017). La actividad enzimática es un factor clave ya que integra información sobre el estado microbiano y las condiciones fisicoquímicas del suelo (Sanchez Garcia, 2017). Los nutrientes del suelo, como el nitrógeno y el fósforo, son factores limitantes importantes que juegan un papel crítico en las actividades de los procesos bioquímicos del suelo. Estos factores del suelo pueden causar cambios en la asignación y producción de enzimas por parte de los microbios en respuesta a perturbaciones y tensiones ambientales, manteniendo así la funcionalidad de las enzimas del suelo.

Para el tratamiento combinado existe un aumento de la actividad enzimática tanto de fosfatasa como de glucosidasa desde la semana 1 a la semana 5, resultados que están correlacionados con la supervivencia microbiana que se mantiene del inicio al final de la experimentación. Es decir, los microorganismos están cumpliendo reacciones bioquímicas que se ven reflejadas en los altos índices de actividad enzimática (Abdel, 2013). Por otro lado, los resultados de las estrategias presentan actividad enzimática y supervivencia microbiana mayores que el control demostrando la bioaumentación y bioestimulación aplicadas en conjunto o individuales resultan eficientes para mejorar la calidad del suelo, de la misma manera que lo indican otros autores como Raimondo et al.,(2020).

El pH del suelo puede afectar directamente la afinidad del sustrato de las enzimas del suelo, así como influir en la disponibilidad de nutrientes, causando una variación en la actividad catalítica de las enzimas, lo cual está de acuerdo con estudios previos (Zaborowska et al., 2019).

Parámetros fisicoquímicos

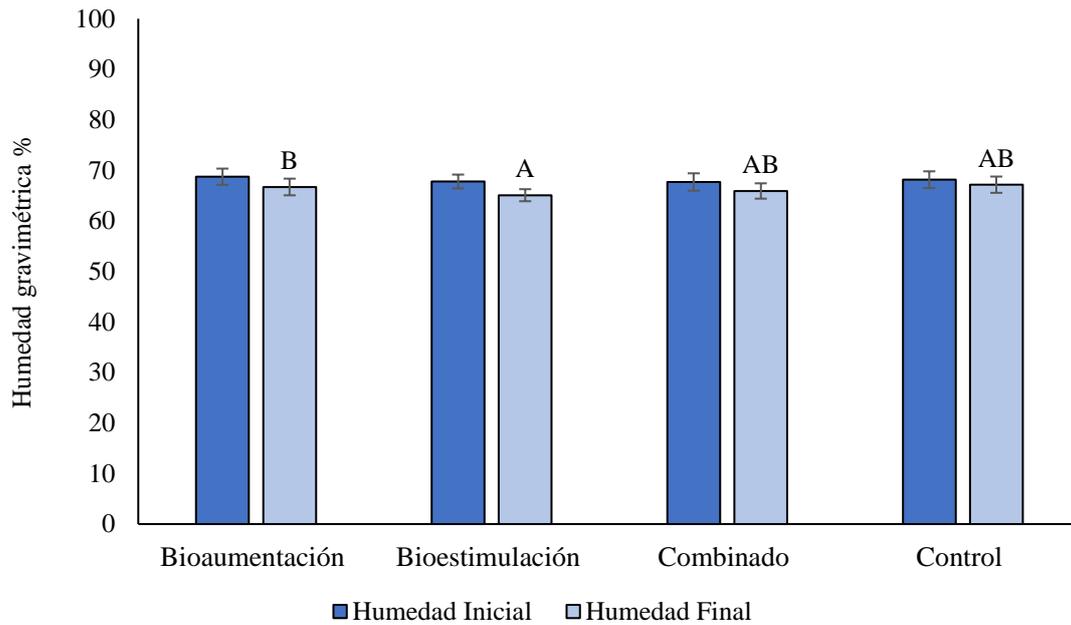


Figura 16
Humedad de suelo de páramo evaluado en reactores aerobios.

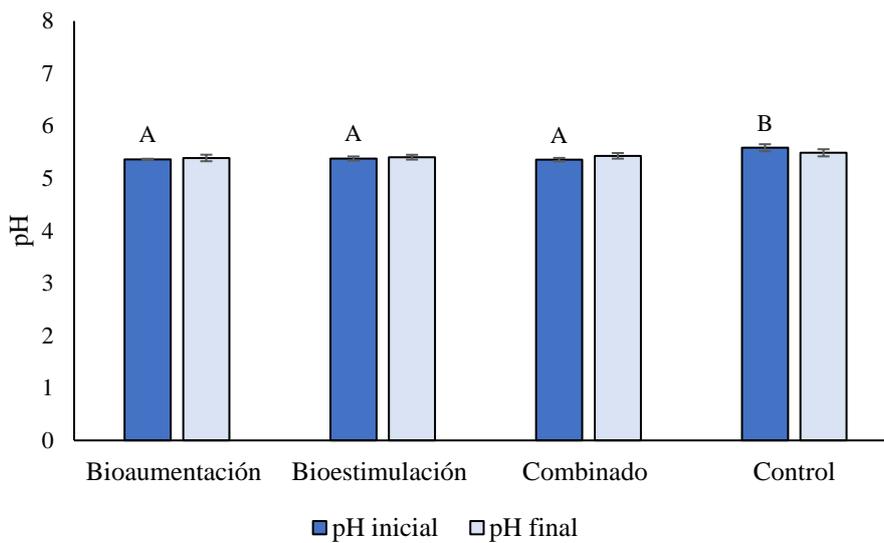
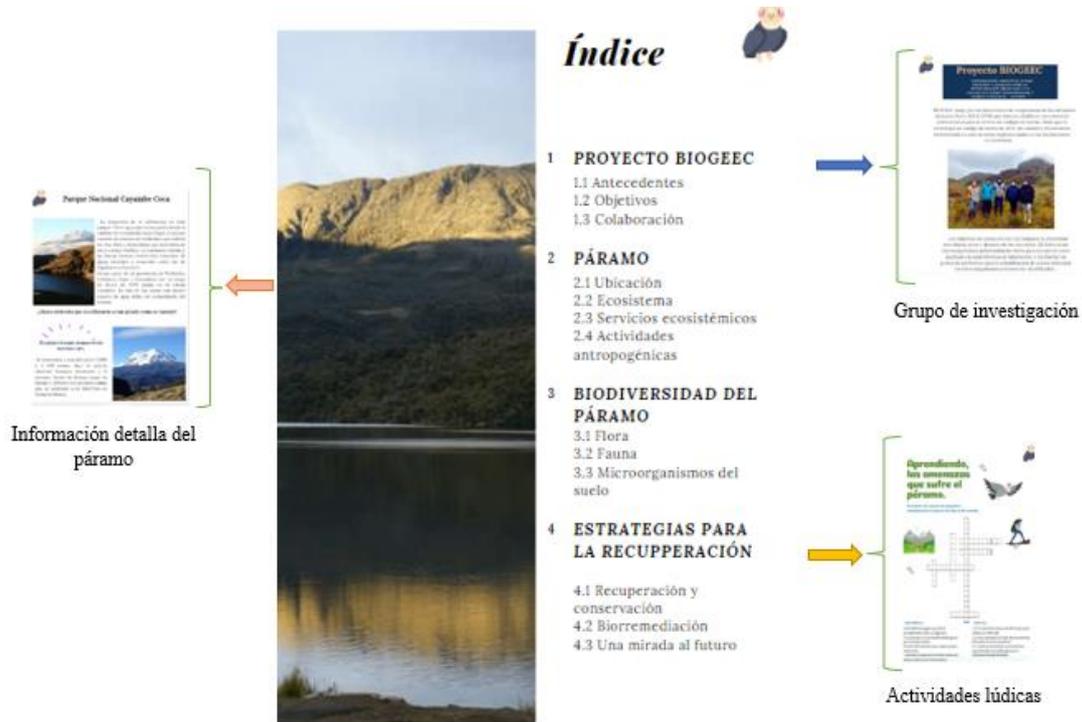


Figura 17
Evaluación de pH de suelo de páramo evaluado en reactores aerobios

El pH y humedad no son estadísticamente significativas comparando los valores del inicio con los del final del ensayo. demostrando que la configuración del reactor permite mantener el nivel de humedad y pH de suelo. Siendo una respuesta positiva al ensayo ya que la variación del pH del suelo afecta a la actividad microbiana y también a la solubilización y adsorción/absorción de los contaminantes y de los iones. La humedad del suelo puede limitar de forma severa la biodegradación, fundamentalmente en suelos

superficiales afectados por oscilaciones importantes en el contenido de agua. Un déficit de agua puede disminuir el transporte de nutrientes y de contaminantes, así como también la migración bacteriana a través del suelo.

4.4 Elaboración de una guía didáctica



Como lo expone Villarreal et al., (2019) a pesar de que en la actualidad existen estrategias académicas para la divulgación científica, aún es un reto para la población en general acceder a información de calidad, confiable, de fácil comprensión y motivadora hacia la ciencia. Es por esta razón que resulta importante el desarrollo de estrategias de divulgación como la guía didáctica elaborada basada en imágenes con el objetivo de acercar a la sociedad, a través del reconocimiento de personajes relevantes y sus aportes. El principal aporte de esta propuesta es el ensamblaje de una red semántica para retratar un perfil de personaje completo, contexto temporal, lugar de origen, aportes, impactos, reconocimientos o premios, así como limitaciones o dificultades en el contexto.

La guía didáctica se ajusta a lo establecido por Ross-Hellauer et al., (2020) quien expone la necesidad de una divulgación científica innovadora, pues la forma en que comunicamos la investigación está cambiando debido a las nuevas posibilidades

(especialmente digitales). En este sentido, la difusión del conocimiento científico se debe realizar de maneras novedosas y atractivas y, por lo tanto, aumentar el impacto de su investigación en la ciencia y la sociedad. El contexto de la guía didáctica va más allá de las publicaciones académicas tradicionales (por ejemplo, revistas académicas, libros o monografías) y reuniones (conferencias y talleres) para lograr una mayor comprensión y aceptación de la investigación.

Dentro de los objetivos de esta investigación se ha planteado el aislamiento de microorganismos útiles para el proceso de recuperación de suelo de páramo afectado por incendio por ende se ha tomado en cuenta un apartado dentro de la guía que menciona la biodiversidad del ecosistema teniendo como subtemas la flora, fauna y microorganismos del suelo. Por otra parte, la guía didáctica presenta información científica sobre la importancia del suelo de páramo, además la composición microbiana del suelo, anclando esta información en el planteamiento de nuevas estrategias de recuperación del suelo que ha sido afectado por incendios, como se menciona en la investigación de Andreolli et al., (2015) en la cual se plantean la bioaumentación y bioestimulación como estrategias idóneas para la recuperación de ecosistemas contaminados o degradados. Contiene 25 páginas en las que se incluyen actividades lúdicas que involucran los temas tratados para su resolución, estas permiten generar conocimiento de manera pedagógica tomando en cuenta que está dirigida a un público general que comprende niños y adolescentes.

La investigación sobre el ecosistema páramo y su divulgación permite que los individuos y la sociedad conozcan acerca de su importancia y características. Así también, aporta a la forma de actuar de manera individual y colectiva en la resolución de los problemas ambientales presentes y futuros. En el estudio realizado por Camacho, (2014), señala la obligación de desarrollar, política y normativamente, el reconocimiento constitucional de los derechos de la naturaleza. De la misma manera, el mandato establecido en el artículo 406 del Código Orgánico del Ambiente dispone que el Estado regule la conservación, manejo, uso sustentable, recuperación, y limitaciones de dominio de los ecosistemas frágiles y amenazados como los páramos (COOTAD, 2017).

La importancia de la ciencia y la divulgación radica en su complementariedad; mientras la ciencia se apoya, para darle sentido a sus conceptos, en metodologías teóricas y prácticas, la divulgación se apoya en herramientas del lenguaje para explicar los conceptos de la ciencia, reproducir las imágenes, pues se trata de expresar ideas,

resultados, hipótesis, planteamientos. El lenguaje debe ser objetivo, claro, expresar originalidad, sentido, convicción, firmeza. La academia está llamada a ser protagonista de este diálogo inclusivo con la sociedad, al formar ciudadanos activos y eficaces frente a los avances y cambios científico-tecnológicos.

A continuación, se muestra el link de acceso a la guía didáctica en formato digital:

<https://www.canva.com/design/DAEfiuRV0as/197miodnaQXavnGmXefgUw/edit>

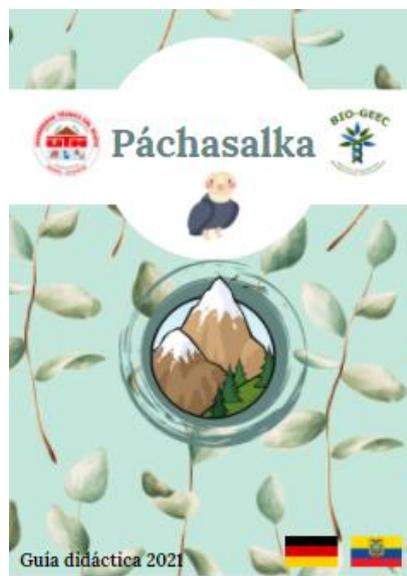


Figura 18
Portada de la guía didáctica

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

El análisis fisicoquímico del suelo de páramo prístino y quemado determinó una disminución de la concentración de nitrógeno del 46% en el suelo quemado (plot 4). Por otra parte, también en el Plot 4 el análisis microbiológico mostró un menor recuento en la carga bacteriana,.

Se aislaron 73 cepas bacterianas de suelo de páramo prístino y quemado siendo el género *Pseudomonas* 12% mayor que Actinomicetos. Por otra parte, se aislaron 13 cepas fúngicas, predominando el género *Mucor* y *Aspergillus*.

Las estrategias de bioaumentación y bioestimulación aplicadas individualmente o en conjunto aceleran el proceso de regeneración del suelo en comparación con la atenuación natural. Además, no se encontraron diferencias significativas en los parámetros fisicoquímicos evaluados, evidenciando que la configuración del reactor es útil para mantener condiciones constantes durante la experimentación.

La educación ambiental mediante el uso de recursos didácticos es una estrategia útil para el cuidado y protección del páramo, generando un vínculo entre la sociedad científica y la comunidad con el fin de concientizar y reducir las prácticas que afectan a este ecosistema.

5.2 Recomendaciones

Establecer un protocolo de cultivo y aislamiento de cepas fúngicas que permita el conteo de colonias presentes en el suelo.

Bioestimular el suelo con otros nutrientes como el fósforo ya que se inhibe en el suelo por efecto del fuego. Además, el uso de inoculantes microbianos que encapsulen las bacterias y brinden un entorno protector estable, definido y consistente que libere los microorganismos gradualmente como el alginato de sodio.

Evaluar la actividad enzimática incluyendo enzimas como deshidrogenasa y ureasa.

Socializar de manera presencial utilizando actividades recreativas la información recopilada en la guía didáctica con las comunidades aledañas a los páramos, con el fin de lograr una mayor difusión de la temática enfocada en la importancia y cuidado del páramo.

ANEXOS

Anexo 1

Tabla de decisión para determinar el tipo de material para la construcción del prototipo de biorreactor

Criterios	Importancia	PVC	Vidrio	Acero inoxidable	Acrílico
		Importancia x puntuación			
Resistencia/Durabilidad	10%	5	1	5	3
Inocuidad No genera reacciones que puedan afectar la integridad del experimento	10%	5	4	5	3

Costo El precio venta es razonable y accesible	30%	5	4	1	3
Disponibilidad Se encuentra en la región o es necesario importarlo o traerlo de otra ciudad	10%	5	4	4	3
Versatilidad Se puede aplicar o instalar de una manera fácil y confiable atendiendo las necesidades específicas	40%	3	1	4	3
TOTAL	100 %	5	2,2	3,3	3

Anexo 2

Cálculo de la descompensación o déficit de nitrógeno en el suelo de páramo simulado el incendio

Déficit de N en suelo

$$= (\text{Contenido de nitrógeno suelo de páramo prístino}) \\ - (\text{Contenido de nitrógeno suelo de simulado el incendio})$$

$$\text{Déficit de N en suelo} = (87,9 \text{ mg/kg}) - (47,6 \text{ mg/kg})$$

$$\text{Déficit de N en suelo} = 40,30 \text{ mg/kg}$$

Posteriormente se calculó la cantidad de nitrógeno requerido para bioestimulación como se muestra a continuación:

Concentración de nitrógeno en nitrato de amonio: 34 % N

34 0000 mg N \longrightarrow 1 kg de NH_4NO_3

40,30 mg N \longrightarrow X

X=0,00119 kg de NH_4NO_3

0,1 g de NH_4NO_3 / kg de suelo

Cantidad necesaria de NH_4NO_3 para 700 g de suelo=0,007 g

REFERENCIAS

- Abatenh, E., Gizaw, B., Tsegaye, Z., & Wassie, M. (2017). The Role of Microorganisms in Bioremediation- A Review. *Open Journal of Environmental Biology*, 2(1), 038–046. <https://doi.org/10.17352/ojeb.000007>
- Abdel, G. (2013). Effects of Biostimulation and Bioaugmentation on The Degradation of Pyrene in Soil. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, s7, 1–14. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.s7-005>
- Abdelgawad, H., Abuelsoud, W., Madany, M. M. Y., Selim, S., Zinta, G., Mousa, A. S. M., & Hozzein, W. N. (2020). Actinomycetes enrich soil rhizosphere and improve seed quality as well as productivity of legumes by boosting nitrogen availability and metabolism. *Biomolecules*, 10(12), 1–19. <https://doi.org/10.3390/biom10121675>
- Aburto-Medina, A., Adetutu, E. M., Aloor, S., Weber, J., Patil, S. S., Sheppard, P. J., Ball, A. S., & Juhasz, A. L. (2012). Comparison of indigenous and exogenous microbial populations during slurry phase biodegradation of long-term hydrocarbon-contaminated soil. *Biodegradation*, 23(6), 813–822. <https://doi.org/10.1007/s10532-012-9563-8>
- Aguirre Mendoza, Z. (2017a). Composición florística, estructura y endemismo del componente leñoso de un bosque montano en el sur del Ecuador. *Arnaldoa*, 24(2), 543–556. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24207>
- Aguirre Mendoza, Z. (2017b). Composición florística, estructura y endemismo del componente leñoso de un bosque montano en el sur del Ecuador. *Arnaldoa*, 24(2), 543–556. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24207>
- Aguirre Mendoza, Z. (2017c). Composición florística, estructura y endemismo del componente leñoso de un bosque montano en el sur del Ecuador. *Arnaldoa*, 24(2), 543–556. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24207>
- Alcañiz, M., Outeiro, L., Francos, M., Farguell, J., & Úbeda, X. (2016). Long-term dynamics of soil chemical properties after a prescribed fire in a Mediterranean forest (Montgrí Massif, Catalonia, Spain). *Science of the Total Environment*, 572, 1329–1335. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.115>
- Alencar, A. A. C., Solórzano, L. A., & Nepstad, D. C. (2004). Modeling forest understory fires in an eastern amazonian landscape. *Ecological Applications*, 14(4 SUPPL.), 139–149. <https://doi.org/10.1890/01-6029>
- Ambiente, M. D. E. L. (2014). GUÍA PARA MUESTREO DE SUELOS. *MINISTERIO DEL AMBIENTE*, 39.
- Anderson, J. P. E. (2015a). Soil Respiration. In *Renewable Agriculture and Food Systems* (Vol. 23, Issue 2, pp. 831–871). <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c41>
- Anderson, J. P. E. (2015b). *Soil Respiration* (pp. 831–871). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c41>

- Andreolli, M., Lampis, S., Brignoli, P., & Vallini, G. (2015). Bioaugmentation and biostimulation as strategies for the bioremediation of a burned woodland soil contaminated by toxic hydrocarbons: A comparative study. *Journal of Environmental Management*, *153*, 121–131. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.02.007>
- Armenteras, D., González, T. M., Ríos, O. V., Elizalde, M. C. M., & Oliveras, I. (2020). Fire in the ecosystems of northern south america: Advances in the ecology of tropical fires in Colombia, Ecuador and Peru. *Caldasia*, *42*(1), 1–16. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v42n1.77353>
- Armenteras, D., Sebastian Barreto, J., Tabor, K., Molowny-Horas, R., & Retana, J. (2017). Changing patterns of fire occurrence in proximity to forest edges, roads and rivers between NW Amazonian countries. *Biogeosciences*, *14*(11), 2755–2765. <https://doi.org/10.5194/bg-14-2755-2017>
- Avellaneda-Torres, L. M., León Sicard, T. E., & Torres Rojas, E. (2018). Impact of potato cultivation and cattle farming on physicochemical parameters and enzymatic activities of Neotropical high Andean Páramo ecosystem soils. *Science of the Total Environment*, *631–632*, 1600–1610. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.137>
- Avellaneda-Torres, L. M., Sicard, T. L., Castro, E. G., & Rojas, E. T. (2020). Potato cultivation and livestock effects on microorganism functional groups in soils from the neotropical high andean Páramo. *Revista Brasileira de Ciencia Do Solo*, *44*. <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20190122>
- Azubuike, C. C., Chikere, C. B., & Okpokwasili, G. C. (2016). Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. In *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (Vol. 32, Issue 11, pp. 1–18). Springer. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2137-x>
- Baćmaga, M., Wyszowska, J., & Kucharski, J. (2017). Bioaugmentation of Soil Contaminated with Azoxystrobin. *Water, Air, and Soil Pollution*, *228*(1). <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3200-9>
- Belouchrani, A. S., Mameri, N., Abdi, N., Grib, H., Lounici, H., & Drouiche, N. (2016). Phytoremediation of soil contaminated with Zn using Canola(*Brassica napus* L.). *Ecological Engineering*, *95*, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.06.064>
- Beltrán Pineda, M. E., & Lizarazo-Forero, L. M. (2014). Grupos Funcionales de Microorganismos en Suelos de Páramo Perturbados por Incendios Forestales. *Revista de Ciencias*, *17*(2), 121–136. <https://doi.org/10.25100/rc.v17i2.490>
- Ben Ghnaya, A., Charles, G., Hourmant, A., Ben Hamida, J., & Branchard, M. (2009). Physiological behaviour of four rapeseed cultivar (*Brassica napus* L.) submitted to metal stress. *Comptes Rendus - Biologies*, *332*(4), 363–370. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.12.001>
- Benalcázar, W. (2020). El incendio de Cangahua se extinguió, pero otro continúa en el Parque Nacional Cayambe-Coca. *El Comercio*, 1–1. <https://www.elcomercio.com/actualidad/ecuador/incendio-cangahua-cayambe->

extinguido-bomberos.html

- Berrio-Giraldo, L., Villegas-Palacio, C., & Arango-Aramburo, S. (2021). Understating complex interactions in socio-ecological systems using system dynamics: A case in the tropical Andes. *Journal of Environmental Management*, 291(April), 112675. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112675>
- Betancur-Corredor, B., Pino, N. J., Cardona, S., & Peñuela, G. A. (2015). Evaluation of biostimulation and Tween 80 addition for the bioremediation of long-term DDT-contaminated soil. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 28, 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2014.06.044>
- Bhatti, A. A., Haq, S., & Bhat, R. A. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. In *Microbial Pathogenesis* (Vol. 111, pp. 458–467). Microb Pathog. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.036>
- Boopathy, R. (2000). Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresource Technology*, 74(1), 63–67. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00144-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00144-3)
- Buritaca H., H. M., Mejía, M., & Álvarez, M. D. M. (2017). Aislamiento de Microorganismos en diferentes ambientes (Suelo, Agua y Aire). *Mente Joven*, 6, 09–20. https://doi.org/10.18041/2323-0312/mente_joven.0.2017.3666
- Buytaert, W., Célleri, R., De Bièvre, B., Cisneros, F., Wyseure, G., Deckers, J., & Hofstede, R. (2006). Human impact on the hydrology of the Andean páramos. *Earth-Science Reviews*, 79(1–2), 53–72. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2006.06.002>
- Calatayud, G., García, V., Matin, P., Sierra, N., & Vélez, A. (2017). *Destinatarios: Municipios de Loja y Catamayo, Naturaleza y Cultura Internacional (NCI), Proyecto Socio Bosque, FORAGUA*.
- Calderón, C., Jaramillo, D., Ríos, A., & Brito, G. (2016). Monitoring of Microbial Population of the Páramo Soil of the Charge Zone of Lake Mapahuiña in Chimborazo-Ecuador. *Perfiles*, 1(1), 23–30.
- Camacho, M. (2014). Los páramos ecuatorianos: caracterización y consideraciones para su conservación y aprovechamiento sostenible. *Revista Anales*, 1(372), 77–92. <https://doi.org/10.29166/anales.v1i372.1241>
- Cárdenas, M. (2015). Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito. *Tesis*, 1–100. <https://doi.org/10.20868/UPM.thesis.39079>
- Carlos Camargo-García, J., Ángel Dossman, M., Alexander Rodríguez, J., María Arias, L., & Hernando Galvis-Quintero, J. (2012). *Cambios en las propiedades del suelo, posteriores a un incendio en el Parque Nacional Natural de Los Nevados, Colombia*
6RLOOFKDQJHVVDIWHUDDÀUHHHYHQWWLQQDDSiUDPRRHFRV\VWH
P Los Nevados Natural National Park, Colombia.
- Carranza, D. (2018, September 12). *Ecuador ha perdido más de mil hectáreas de páramos por incendios*. <https://www.aa.com.tr/es/mundo/ecuador-ha-perdido-más-de-mil-hectáreas-de-páramos-por-incendios/1253175>

- Cerón, P., & García, H. (2009). Propiedades Del Suelo En Bosque Y Pajonal; Reserva Natural Pueblo Viejo, Nariño, Colombia Soil Properties in Forest and Grasslands; Pueblo Viejo Natural Reserve, Nariño, Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 12(1), 113–120.
- Certini, G. (2005). Effects of fire on properties of forest soils: A review. *Oecologia*, 143(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1788-8>
- Chachina, S. B., Voronkova, N. A., & Baklanova, O. N. (2016). Biological Remediation of the Petroleum and Diesel Contaminated Soil with Earthworms *Eisenia Fetida*. *Procedia Engineering*, 152, 122–133. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.07.642>
- Chai, L. L., Hernandez-Ramirez, G., Hik, D. S., Barrio, I. C., Frost, C. M., Chinchilla Soto, C., & Esquivel-Hernández, G. (2020). A methane sink in the Central American high elevation páramo: Topographic, soil moisture and vegetation effects. *Geoderma*, 362(November 2019), 114092. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.114092>
- Chungu, D., Ng'andwe, P., Mubanga, H., & Chileshe, F. (2020). Fire alters the availability of soil nutrients and accelerates growth of *Eucalyptus grandis* in Zambia. *Journal of Forestry Research*, 31(5), 1637–1645. <https://doi.org/10.1007/s11676-019-00977-y>
- COOTAD. (2017). Código Orgánico del Ambiente. *Registro Oficial Suplemento 983*, 1–92.
- Cosgrove, L., McGeechan, P. L., Handley, P. S., & Robson, G. D. (2010). Effect of Biostimulation and Bioaugmentation on Degradation of Polyurethane Buried in Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(3), 810. <https://doi.org/10.1128/AEM.00534-09>
- Curiel Yuste, J., Hereş, A. M., Ojeda, G., Paz, A., Pizano, C., García-Angulo, D., & Lasso, E. (2017). Soil heterotrophic CO₂ emissions from tropical high-elevation ecosystems (Páramos) and their sensitivity to temperature and moisture fluctuations. *Soil Biology and Biochemistry*, 110, 8–11. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.02.016>
- Darmayati, Y., Sanusi, H. S., Prariono, T., Santosa, D. A., & Nuchsin, R. (2017). Optimal bacterial density and fertilizer dosage for bioremediation of oil contaminated sandy beach: A case of cilacap, Indonesia. *Biotropia*, 24(3), 182–191. <https://doi.org/10.11598/BTB.2017.24.3.611>
- de Jesus, H. E., Carreira, R. S., Paiva, S. S. M., Massone, C., Enrich-Prast, A., Peixoto, R. S., Rodrigues, J. L. M., Lee, C. K., Cary, C., & Rosado, A. S. (2021). Microbial succession under freeze–thaw events and its potential for hydrocarbon degradation in nutrient-amended antarctic soil. *Microorganisms*, 9(3), 1–16. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030609>
- De Mastro, F., Traversa, A., Brunetti, G., Debiase, G., Coccozza, C., & Nigro, F. (2020). Soil culturable microorganisms as affected by different soil managements in a two year wheat-faba bean rotation. *Applied Soil Ecology*, 149(January), 103533. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103533>

- Decesaro, A., Rempel, A., Machado, T. S., Cappellaro, Â. C., Machado, B. S., Cechin, I., Thomé, A., & Colla, L. M. (2021). Bacterial biosurfactant increases ex situ biodiesel bioremediation in clayey soil. *Biodegradation*, 32(4), 389–401. <https://doi.org/10.1007/s10532-021-09944-z>
- Díaz-Granados Ortiz, M., Navarrete González, J., & Suárez López, T. (2005). Páramos: Sensitive Hydrosystems. *Revista de Ingeniería*, 22, 64–75. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-49932005000200008
- Dib, A. L., Agabou, A., Chahed, A., Kurekci, C., Moreno, E., Espigares, M., & Espigares, E. (2018). Isolation, molecular characterization and antimicrobial resistance of enterobacteriaceae isolated from fish and seafood. *Food Control*, 88, 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.01.005>
- Dirección de Monitoreo de Eventos Adversos. (2021). Informe de Situación No. 23 de Incendios Forestales a nivel Nacional - Cierre. *Servicio Nacional de Gestión de Riesgos y Emergencias (SNGRE)*, 10, 1–4.
- Docherty, K. M., Balsler, T. C., Bohannon, B. J. M., & Gutknecht, J. L. M. (2012). Soil microbial responses to fire and interacting global change factors in a California annual grassland. *Biogeochemistry*, 109(1–3), 63–83. <https://doi.org/10.1007/s10533-011-9654-3>
- Duquène, L., Vandenhove, H., Tack, F., Meers, E., Baeten, J., & Wannijn, J. (2009). Enhanced phytoextraction of uranium and selected heavy metals by Indian mustard and ryegrass using biodegradable soil amendments. *Science of the Total Environment*, 407(5), 1496–1505. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.10.049>
- Durán, J., Gallardo Cano, A., & Fernández-Palacios Martínez, J. (2005). Efecto del fuego sobre la biomasa microbiana del suelo de ecosistemas de Pino canario (“*Pinus canariensis*”). *Efecto Del Fuego Sobre La Biomasa Microbiana Del Suelo de Ecosistemas de Pino Canario (“Pinus Canariensis”)*, 186(20), 181–186.
- Epelde, L., Becerril, J. M., Mijangos, I., & Garbisu, C. (2009). Evaluation of the Efficiency of a Phytostabilization Process with Biological Indicators of Soil Health. *Journal of Environmental Quality*, 38(5), 2041–2049. <https://doi.org/10.2134/jeq2009.0006>
- Ezcurra, C., & Gavini, S. S. (2020). Alpine Plant Diversity in Temperate Mountains of South America. In *Encyclopedia of the World's Biomes* (pp. 323–334). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.11906-2>
- Fan, M. Y., Xie, R. J., & Qin, G. (2014). Bioremediation of petroleum-contaminated soil by a combined system of biostimulation-bioaugmentation with yeast. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 35(4), 391–399. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.829504>
- Fan, R., Ma, W., & Zhang, H. (2020). Microbial community responses to soil parameters and their effects on petroleum degradation during bio-electrokinetic remediation. *Science of the Total Environment*, 748, 142463. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142463>

- Fantroussi, S. E. L., Belkacemi, M., Top, E. M., Mahillon, J., Naveau, H., & Agathos, S. N. (1999). Bioaugmentation of a soil bioreactor designed for pilot-scale anaerobic bioremediation studies. *Environmental Science and Technology*, 33(17), 2992–3001. <https://doi.org/10.1021/es981353p>
- Fernández, M., Niqui-Arroyo, J. L., Conde, S., Ramos, J. L., & Duque, E. (2012). Enhanced tolerance to naphthalene and enhanced rhizoremediation performance for *Pseudomonas putida* KT2440 via the NAH7 catabolic plasmid. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(15), 5104–5110. <https://doi.org/10.1128/AEM.00619-12>
- Fernández Rodríguez, M. D., García Gómez, M. C., Alonso Blazquez, N., & Tarazona, J. V. (2014). Soil Pollution Remediation. In *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition* (pp. 344–355). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00579-0>
- Flores, L. (2010). *DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD ANTES Y DESPUES DEL RIEGO* (pp. 1–3).
- Fonseca, F., de Figueiredo, T., & Bompastor Ramos, M. A. (2012). Carbon storage in the Mediterranean upland shrub communities of Montesinho Natural Park, northeast of Portugal. *Agroforestry Systems*, 86(3), 463–475. <https://doi.org/10.1007/s10457-012-9509-5>
- Foster, M., & Whiteman, R. (2013). *La Bioaumentación ayuda a los Sistemas de tratamientos de efluentes*. 6(2), 5. <http://www.labamex.com/images/Bioaumentacion-Foster-and-Whiteman-PhD.pdf>
- Fu, H., Ding, L., Zhai, J., & Wang, X. (2021). Purification effect evaluation of the designed new volcanic soil adsorption material containing bioreactor for eutrophic water treatment. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(42), 59821–59833. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14924-0>
- Garavito, L. (2015). Los páramos en Colombia, un ecosistema en riesgo. *Ingeniare*, 19, 127–136. <http://www.unilibrebaq.edu.co/ojsinvestigacion/index.php/ingeniare/article/view/704>
- García, M., Álvarez, M., & Treto, E. (2002). ESTUDIO COMPARATIVO DE DIFERENTES ESPECIES DE ABONOS VERDES Y SU INFLUENCIA EN EL CULTIVO DEL MAÍZ. *Cultivos Tropicales*, 23(3), 19–30. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193218120003>
- García, V. J., Márquez, C. O., Isenhardt, T. M., Rodríguez, M., Crespo, S. D., & Cifuentes, A. G. (2019). Evaluating the conservation state of the páramo ecosystem: An object-based image analysis and CART algorithm approach for central Ecuador. *Heliyon*, 5(10), e02701. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02701>
- Garzón, J. M., Rodríguez Miranda, J. P., & Hernández Gómez, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el

- desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(2), 309.
<https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>
- Giné, D. S., & Sánchez, R. G. (2015). El páramo andino: Características territoriales y estado ambiental. Aportes interdisciplinarios para su conocimiento1. *Estudios Geograficos*, 76(278), 369–393. <https://doi.org/10.3989/estgeogr.201513>
- Girona-garcía, A., Zu, R., Luis, J., Armas-herrera, C. M., Martí, C., Ortiz-perpiñá, O., & Badía-villas, D. (2018). *Science of the Total Environment Effects of prescribed burning for pasture reclamation on soil chemical properties in subalpine shrublands of the Central Pyrenees (NE-Spain)*. 644, 583–593.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.363>
- Gobierno Pichincha. (2015). Actualización Del Plan De Desarrollo Y Ordenamiento Territorial Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquia de Papallacta. *Secretaria Nacional de Planificación y Desarrollo*.
- Godoy, P., Reina, R., Calderón, A., Wittich, R. M., García-Romera, I., & Aranda, E. (2016). Exploring the potential of fungi isolated from PAH-polluted soil as a source of xenobiotics-degrading fungi. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(20), 20985–20996. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7257-1>
- Gouma, S., Fragoeiro, S., Bastos, A. C., & Magan, N. (2014). Bacterial and Fungal Bioremediation Strategies. *Microbial Biodegradation and Bioremediation*, 301–323. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800021-2.00013-3>
- Gu, C., Zhang, S., Han, P., Hu, X., Xie, L., Li, Y., Brooks, M., Liao, X., & Qin, L. (2019). Soil enzyme activity in soils subjected to flooding and the effect on nitrogen and phosphorus uptake by oilseed rape. *Frontiers in Plant Science*, 10, 368. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.00368/BIBTEX>
- Guerreo-Ortiz, P. (2012). Respiración De Co2 Como Indicador De La Actividad Microbiana En Abonos Orgánicos De Lupinus. *Terra Latinoamericana*, 30(4), 355–362.
- Hernández-Castellanos, N. D. (2016). *Establecimiento de un proceso de biorremediación usando Stenotrophomonas maltophilia*. 59.
<https://www.uv.mx/pozarica/mca/files/2012/10/Hernandez-Castellanos.pdf>
- Hernández, D. R., & Lizarazo, L. M. (2015). Bacterias heterotrofas y oligotróficas en zonas conservadas e intervenidas del páramo de La Cortadera, Boyacá, Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 18(2).
<https://doi.org/10.31910/rudca.v18.n2.2015.178>
- Heydari, M., Rostamy, A., Najafi, F., & Dey, D. C. (2017). Effect of fire severity on physical and biochemical soil properties in Zagros oak (*Quercus brantii* Lindl.) forests in Iran. *Journal of Forestry Research*, 28(1), 95–104.
<https://doi.org/10.1007/s11676-016-0299-x>
- Hofstede, R. (1995). The effects of grazing and burning on soil and plant nutrient. *Plant and Soil*, 1995;@173@, 132.
- Hofstede, R., Calles, J., López, V., Polanco, R., Torres, F., Ulloa, J., Vásquez, A., &

- Cerra, M. (2014). *Los Páramos Andinos ¿ Qué Sabemos ?* www.uicn.org/sur
- Hofstede, R., & Mena, P. (2000). Los beneficios escondidos del páramos: servicios ecológicos e impacto humano. *II Conferencia Electrónica Sobre Usos Sostenibles y Conservación Del Ecosistema Páramo En Los Andes: “Los Páramos Como Fuente de Agua, Mitos, Realidades, Retos y Acciones,”* 58.
- Holden, S. R., & Treseder, K. K. (2013). A meta-analysis of soil microbial biomass responses to forest disturbances. *Frontiers in Microbiology*, 4(JUN), 163. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00163>
- Hong, Q., Zhang, Z., Hong, Y., & Li, S. (2007). A microcosm study on bioremediation of fenitrothion-contaminated soil using Burkholderia sp. FDS-1. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 59(1), 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.07.013>
- Hosokawa, R., Nagai, M., Morikawa, M., & Okuyama, H. (2009). Autochthonous bioaugmentation and its possible application to oil spills. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2009 25:9, 25(9), 1519–1528. <https://doi.org/10.1007/S11274-009-0044-0>
- Jack Carter. (1990). Measurement of pH in soil. *Bacto Laboratories Pty Ltd*, 1–18. <https://bacto.com.au/measurement-of-ph-in-soil/>
- Jacques, R. J. S., Okeke, B. C., Bento, F. M., Teixeira, A. S., Peralba, M. C. R., & Camargo, F. A. O. (2008). Microbial consortium bioaugmentation of a polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil. *Bioresource Technology*, 99(7), 2637–2643. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.047>
- Jiří, G. (2010). Development of soil microbiology methods: From respirometry to molecular approaches. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 37(12), 1289–1297. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0866-7>
- Kanissery, R. G., & Sims, G. K. (2011). Biostimulation for the Enhanced Degradation of Herbicides in Soil. *Applied and Environmental Soil Science*, 2011, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2011/843450>
- Kavanagh, K., Koyama, A., & Stephan, K. (2010). After the Fire, Follow the Nitrogen. *Fire Science Brief*, 92, 1–6.
- Kögel-Knabner, I., & Amelung, W. (2013). Dynamics, Chemistry, and Preservation of Organic Matter in Soils. *Treatise on Geochemistry: Second Edition*, 12, 157–215. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-095975-7.01012-3>
- Kotroczó, Z., Veres, Z., Fekete, I., Krakomperger, Z., Tóth, J. A., Lajtha, K., & Tóthmérész, B. (2014). Soil enzyme activity in response to long-term organic matter manipulation. *Soil Biology and Biochemistry*, 70, 237–243. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.12.028>
- Kurniati, E., Arfarita, N., Imai, T., Higuchi, T., Kanno, A., Yamamoto, K., & Sekine, M. (2014). Potential bioremediation of mercury-contaminated substrate using filamentous fungi isolated from forest soil. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 26(6), 1223–1231. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(13\)60592-6](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(13)60592-6)

- Lawo, N. C., Griesser, M., & Forneck, A. (2013). Expression of putative expansin genes in phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae* Fitch) induced root galls of *Vitis* spp. *European Journal of Plant Pathology*, *136*(2), 383–391. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0173-z>
- Lebeau, T. (2011). *Bioaugmentation for In Situ Soil Remediation: How to Ensure the Success of Such a Process* (pp. 129–186). https://doi.org/10.1007/978-3-642-19769-7_7
- Lentiri, A., Liénard, A., Alabi, T., Brostaux, Y., Cluzeau, D., Francis, F., & Colinet, G. (2016). Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils. *Applied Soil Ecology*, *104*, 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.11.021>
- Leon-Garcia, I. V., & Lasso, E. (2019). High heat tolerance in plants from the Andean highlands: Implications for paramos in a warmer world. *PLoS ONE*, *14*(11), e0224218. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224218>
- Li, W., Niu, S., Liu, X., & Wang, J. (2019). Short-term response of the soil bacterial community to differing wildfire severity in *Pinus tabulaeformis* stands. *Scientific Reports 2019 9:1*, *9*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38541-7>
- Lim, K. T., Shukor, M. Y., & Wasoh, H. (2014). Physical, chemical, and biological methods for the removal of arsenic compounds. *BioMed Research International*, *2014*. <https://doi.org/10.1155/2014/503784>
- Lipińska, A., Wyszowska, J., & Kucharski, J. (2021). Microbiological and Biochemical Activity in Soil Contaminated with Pyrene Subjected to Bioaugmentation. In *Water, Air, and Soil Pollution* (Vol. 232, Issue 2, pp. 1–18). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04950-y>
- Litton, C. M., & Santelices, R. (2003). Effect of wildfire on soil physical and chemical properties in a *Nothofagus glauca* forest, Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, *76*(4), 529–542. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2003000400001>
- Liu, C., Song, Y., Dong, X., Wang, X., Ma, X., Zhao, G., & Zang, S. (2021). Soil Enzyme Activities and Their Relationships With Soil C, N, and P in Peatlands From Different Types of Permafrost Regions, Northeast China. *Frontiers in Environmental Science*, *9*, 143. <https://doi.org/10.3389/FENVS.2021.670769/BIBTEX>
- Lizarazo-Medina, P. X., & Gómez-Vásquez, D. (2015). Microbiota rizosférica de *Espeletia* spp. de los páramos de Santa Inés y de Frontino-Urrao en Antioquia, Colombia. *Acta Biologica Colombiana*, *20*(1), 175–182. <https://doi.org/10.15446/abc.v20n1.42827>
- Llambí, L. D., Soto-W, A., Célleri, R., De Bievre, B., Ochoa, B., & Borja, P. (n.d.). *Páramos Andinos Ecología, hidrología y suelos de páramos PROYECTO PÁRAMO ANDINO Agosto 2012*. Retrieved August 10, 2020, from www.flacsoandes.edu.ec
- Llambí, L. D., Soto-W, A., Célleri, R., De Bievre, B., Ochoa, B., & Borja, P. (2012).

- López-Vicente, M., Cerdà, A., Kramer, H., & Keesstra, S. (2021). Post-fire practices benefits on vegetation recovery and soil conservation in a Mediterranean area. *Land Use Policy*, *111*, 105776. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2021.105776>
- Lorenz, K., & Lal, R. (2016). Environmental Impact of Organic Agriculture. In *Advances in Agronomy* (Vol. 139, pp. 99–152). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2016.05.003>
- Luo, Y., & Zhou, X. (2006). Soil Respiration and the Environment. In *Soil Respiration and the Environment*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-088782-8.X5000-1>
- MAE. (2015). Prevención y control de incendios una prioridad nacional. *Ministerio Del Ambiente*. <https://www.ambiente.gob.ec/prevencion-y-control-de-incendios-una-prioridad-nacional/>
- MAE. (2020). *Plan de Manejo del Parque Nacional Cayambe-Coca 2020-2030* (p. 150). <https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2020/07/Acuerdo-Ministerial-Nro.-MAAE-2020-007.pdf>
- Marco-Urrea, E., García-Romera, I., & Aranda, E. (2015). Potential of non-ligninolytic fungi in bioremediation of chlorinated and polycyclic aromatic hydrocarbons. *New Biotechnology*, *32*(6), 620–628. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2015.01.005>
- Mawang, C. I., Azman, A. S., Fuad, A. S. M., & Ahamad, M. (2021). Actinobacteria: An eco-friendly and promising technology for the bioaugmentation of contaminants. In *Biotechnology Reports* (Vol. 32, p. e00679). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00679>
- Medina-Moreno, S. A., Huerta-Ochoa, S., Lucho-Constantino, C. A., Aguilera-Vázquez, L., Jiménez-González, A., & Gutiérrez-Rojas, M. (2009). BIODEGRADATION MODELING OF SLUDGE BIOREACTORS OF TOTAL PETROLEUM HYDROCARBONS WEATHERING IN SOIL AND SEDIMENTS. In *Revista Mexicana de Ingeniería Química* (Vol. 8, Issue 3). www.amidiq.org
- Mendoza, R., & Espinoza, A. (2017). Guía Técnica para muestreo de suelos. *Asa*, 1–56.
- Miesel, J. R., Goebel, P. C., Corace, R. G., Hix, D. M., Kolka, R., Palik, B., & Mladenoff, D. (2012). Fire effects on soils in Lake States forests: A compilation of published research to facilitate long-term investigations. In *Forests* (Vol. 3, Issue 4, pp. 1034–1070). Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/f3041034>
- Minaya, V., Corzo, G., Romero-Saltos, H., van der Kwast, J., Lantinga, E., Galárraga-Sánchez, R., & Mynett, A. (2016). Altitudinal analysis of carbon stocks in the Antisana páramo, Ecuadorian Andes. *Journal of Plant Ecology*, *9*(5), 553–563. <https://doi.org/10.1093/JPE/RTV073>

- Mishra, S., Lin, Z., Pang, S., Zhang, W., Bhatt, P., & Chen, S. (2021). Recent Advanced Technologies for the Characterization of Xenobiotic-Degrading Microorganisms and Microbial Communities. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2021.632059>
- Mountassir, G. El, Minto, J. M., Paassen, L. A. Van, Salifu, E., & Lunn, R. J. (2018). Applications of Microbial Processes in Geotechnical Engineering. In *Advances in Applied Microbiology* (1st ed.). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2018.05.001>
- Mrozik, A., & Piotrowska-Seget, Z. (2010). Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds. *Microbiological Research*, 165(5), 363–375. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.08.001>
- Müller, D., Suess, S., Hoffmann, A. A., & Buchholz, G. (2013). The Value of Satellite-Based Active Fire Data for Monitoring, Reporting and Verification of REDD+ in the Lao PDR. *Human Ecology*, 41(1), 7–20. <https://doi.org/10.1007/s10745-013-9565-0>
- Müller, R., & Mahro, B. (2001). Bioaugmentation: Advantages and Problems Using Micro Organisms with Special Abilities in Soil Decontamination. *Treatment of Contaminated Soil*, 325–341. https://doi.org/10.1007/978-3-662-04643-2_21
- Muñoz Cuaical, S. D. (2016). *EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE Trichoderma sp Y Pseudomona sp PARA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS*. 125.
- Muñoz, S. (2016). *ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO "BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS DE LA PARROQUIA TARACOA EN*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4916>
- Muter, O., Potapova, K., Limane, B., Spröge, K., Jakobsone, I., Cepurnieks, G., & Bartkevics, V. (2012). The role of nutrients in the biodegradation of 2,4,6-trinitrotoluene in liquid and soil. *Journal of Environmental Management*, 98(1), 51–55. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.12.010>
- Myers, R. L. (2006). Convivir con el fuego: Manteniendo los ecosistemas y los medios de subsistencia mediante el manejo integral del fuego. *The Nature Conservancy*, 28. <http://tncfuego.org>
- Nardoto, G. B., & Bustamante, M. M. da C. (2003). Effects of fire on soil nitrogen dynamics and microbial biomass in savannas of Central Brazil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 38(8), 955–962. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2003000800008>
- Nguyen, T. T. T., Jeon, Y. J., Mun, H. Y., Goh, J., Chung, N., & Lee, H. B. (2020). Isolation and Characterization of Four Unrecorded *Mucor* Species in Korea. *Mycobiology*, 48(1), 29–36. <https://doi.org/10.1080/12298093.2019.1703373>
- Nielsen, M. N., & Winding, A. (2002). Microorganisms as Microorganisms as. In *Neri: Vol. NERI Techn* (Issue 388). <http://www.dmu.dk>

- Nieto-Jacobo, M. F., Steyaert, J. M., Salazar-Badillo, F. B., Vi Nguyen, D., Rostás, M., Braithwaite, M., De Souza, J. T., Jimenez-Bremont, J. F., Ohkura, M., Stewart, A., & Mendoza-Mendoza, A. (2017). Environmental growth conditions of trichoderma spp. Affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. *Frontiers in Plant Science*, 8(February), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00102>
- Nikolopoulou, M., & Kalogerakis, N. (2009). Biostimulation strategies for fresh and chronically polluted marine environments with petroleum hydrocarbons. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 84(6), 802–807. <https://doi.org/10.1002/JCTB.2182>
- Nriagu, J. (Ed.). (2019). Author Index. *Encyclopedia of Environmental Health (Second Edition)*, 1–32. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444639516180027>
- Nzila, A., Razzak, S. A., & Zhu, J. (2016). Bioaugmentation: An Emerging Strategy of Industrial Wastewater Treatment for Reuse and Discharge. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/IJERPH13090846>
- Patiño, S., Hernández, Y., Plata, C., Domínguez, I., Daza, M., Oviedo-Ocaña, R., Buytaert, W., & Ochoa-Tocachi, B. F. (2021). Influence of land use on hydro-physical soil properties of Andean páramos and its effect on streamflow buffering. In *Catena* (Vol. 202, p. 105227). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2021.105227>
- Pavón Moreno, M. Á., González Alonso, I., Martín de Santos, R., & García Lacarra, T. (2012). Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y agente causal de enfermedades humanas. *Nutricion Hospitalaria*, 27(6), 1772–1781. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.6.6017>
- Pizarro-Tobías, P., Fernández, M., Niqui, J. L., Solano, J., Duque, E., Ramos, J. L., & Roca, A. (2015). Restoration of a Mediterranean forest after a fire: Bioremediation and rhizoremediation field-scale trial. *Microbial Biotechnology*, 8(1), 77–92. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12138>
- Podwojewski, P. (2015). *Los suelos de los paramos del Ecuador. January 2000*. https://www.researchgate.net/publication/282170002_Los_suelos_de_los_paramos_del_Ecuador
- Poomthongdee, N., Duangmal, K., & Pathom-Aree, W. (2015). Acidophilic actinomycetes from rhizosphere soil: Diversity and properties beneficial to plants. *Journal of Antibiotics*, 68(2), 106–114. <https://doi.org/10.1038/ja.2014.117>
- Poulenard, J., Podwojewski, P., & Herbillon, A. J. (2003a). Characteristics of non-allophanic Andisols with hydric properties from the Ecuadorian páramos. *Geoderma*, 117(3–4), 267–281. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(03\)00128-9](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(03)00128-9)
- Poulenard, J., Podwojewski, P., & Herbillon, A. J. (2003b). Characteristics of non-allophanic Andisols with hydric properties from the Ecuadorian páramos. *Geoderma*, 117(3–4), 267–281. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(03\)00128-9](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(03)00128-9)

- Poulenard, J., Podwojewski, P., Janeau, J. L., & Collinet, J. (2001). Runoff and soil erosion under rainfall simulation of Andisols from the Ecuadorian Páramo: Effect of tillage and burning. *Catena*, *45*(3), 185–207. [https://doi.org/10.1016/S0341-8162\(01\)00148-5](https://doi.org/10.1016/S0341-8162(01)00148-5)
- Prof. Yakup, D. (2016). -*Advantages and Disadvantages of Dictionaries* / Download Table. 2016. https://www.researchgate.net/figure/Advantages-and-disadvantages-of-bioremediation-technologies_tbl2_309901995
- Purakayastha, T. J., Viswanath, T., Bhadraray, S., Chhonkar, P. K., Adhikari, P. P., & Suribabu, K. (2008). Phytoextraction of zinc, copper, nickel and lead from a contaminated soil by different species of Brassica. *International Journal of Phytoremediation*, *10*(1), 61–72. <https://doi.org/10.1080/15226510701827077>
- Quintella, C. M., Mata, A. M. T., & Lima, L. C. P. (2019). Overview of bioremediation with technology assessment and emphasis on fungal bioremediation of oil contaminated soils. In *Journal of Environmental Management* (Vol. 241, pp. 156–166). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.019>
- Rai, S., Kashyap, P. L., Kumar, S., Srivastava, A. K., & Ramteke, P. W. (2016). Identification, characterization and phylogenetic analysis of antifungal Trichoderma from tomato rhizosphere. *SpringerPlus*, *5*(1). <https://doi.org/10.1186/s40064-016-3657-4>
- Raich, J. W., & Potter, C. S. (1995). Global patterns of carbon dioxide emissions from soils. *Global Biogeochemical Cycles*, *9*(1), 23–36. <https://doi.org/10.1029/94GB02723>
- Raimondo, E. E., Saez, J. M., Aparicio, J. D., Fuentes, M. S., & Benimeli, C. S. (2020). Coupling of bioaugmentation and biostimulation to improve lindane removal from different soil types. *Chemosphere*, *238*, 124512. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2019.124512>
- Ramsay, P. M., & Oxley, E. R. B. (1996). Fire temperatures and postfire plant community dynamics in Ecuadorian grass páramo. *Vegetatio*, *124*(2), 129–144. <https://doi.org/10.1007/BF00045489>
- Ribeiro-Kumara, C., Köster, E., Aaltonen, H., & Köster, K. (2020). How do forest fires affect soil greenhouse gas emissions in upland boreal forests? A review. *Environmental Research*, *184*. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109328>
- Rica, U. D. C., Rica, C., Al, I., Con, S., & Montaña, Y. M. D. E. (2015). *Y SU EFECTO SOBRE UN SISTEMA DE ROTACIÓN SOYA-TOMATE*.
- Richardson, S. D., Jones, M. D., Singleton, D. R., & Aitken, M. D. (2012). Long-term simulation of in situ biostimulation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. *Biodegradation*, *23*(4), 621–633. <https://doi.org/10.1007/s10532-012-9538-9>
- Ríos, O. V., & Sc, M. (2011). RESTAURACIÓN ECOLÓGICA : BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN Ecological Restoration : Biodiversity and Conservation. *Acta Biológica Colombiana*, *16*(2), 221–246. https://www.researchgate.net/publication/257363896_RESTAURACION_ECOLO

- Robichaud, P. R., Wagenbrenner, J. W., Pierson, F. B., Spaeth, K. E., Ashmun, L. E., & Moffet, C. A. (2016). Infiltration and interrill erosion rates after a wildfire in western Montana, USA. *Catena*, *142*, 77–88. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2016.01.027>
- Robles-González, I. V., Fava, F., & Poggi-Varaldo, H. M. (2008). A review on slurry bioreactors for bioremediation of soils and sediments. *Microbial Cell Factories*, *7*(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-7-5/TABLES/5>
- Rodríguez-Campos, J., Dendooven, L., Alvarez-Bernal, D., & Contreras-Ramos, S. M. (2014). Potential of earthworms to accelerate removal of organic contaminants from soil: A review. *Applied Soil Ecology*, *79*, 10–25. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.02.010>
- Ross-Hellauer, T., Tennant, J. P., Banelytė, V., Gorogh, E., Luzi, D., Kraker, P., Pisacane, L., Ruggieri, R., Sifacaki, E., & Vignoli, M. (2020). Ten simple rules for innovative dissemination of research. In *PLoS Computational Biology* (Vol. 16, Issue 4). PLOS. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007704>
- Ruiz-Pérez, C. A., Restrepo, S., & Zambrano, M. M. (2016). Microbial and functional diversity within the phyllosphere of Espeletia species in an Andean high-mountain ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology*, *82*(6), 1807–1817. <https://doi.org/10.1128/AEM.02781-15>
- Russell-Smith, J., Monagle, C., Jacobsohn, M., Beatty, R. L., Bilbao, B., Millán, A., Vessuri, H., & Sánchez-Rose, I. (2017). Can savanna burning projects deliver measurable greenhouse emissions reductions and sustainable livelihood opportunities in fire-prone settings? *Climatic Change*, *140*(1), 47–61. <https://doi.org/10.1007/s10584-013-0910-5>
- Sah, S., & Singh, R. (2016). Phylogenetical coherence of Pseudomonas in unexplored soils of Himalayan region. *3 Biotech*, *6*(2). <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0493-8>
- Sainju, U. M. (2017). Determination of nitrogen balance in agroecosystems. *MethodsX*, *4*, 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2017.06.001>
- Sarkar, J., Kazy, S. K., Gupta, A., Dutta, A., Mohapatra, B., Roy, A., Bera, P., Mitra, A., & Sar, P. (2016). Biostimulation of indigenous microbial community for bioremediation of petroleum refinery sludge. *Frontiers in Microbiology*, *7*(SEP). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01407>
- Schafer, J. L., & Mack, M. C. (2010). Short-term effects of fire on soil and plant nutrients in palmetto flatwoods. *Plant and Soil*, *334*(1), 433–447. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0394-2>
- Segura, A., Rodríguez, S., Ramos, C., & Ramos, J. L. (2009). Bacterial responses and interactions with plants during rhizoremediation. In *Microbial Biotechnology* (Vol. 2, Issue 4, pp. 452–464). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2009.00113.x>

- Shafieiyoun, S., Al-Raoush, R. I., Ngueleu, S. K., Rezanezhad, F., & Van Cappellen, P. (2020). Enhancement of Naphthalene Degradation by a Sequential Sulfate Injection Scenario in a (Semi)-Arid Coastal Soil: a Flow-Through Reactor Experiment. *Water, Air, and Soil Pollution*, 231(8), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04725-5>
- Shakesby, R. A. (2011). Post-wildfire soil erosion in the Mediterranean: Review and future research directions. In *Earth-Science Reviews* (Vol. 105, Issues 3–4, pp. 71–100). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2011.01.001>
- Sharma, I. (2020). Bioremediation Techniques for Polluted Environment: Concept, Advantages, Limitations, and Prospects. *Trace Metals in the Environment - New Approaches and Recent Advances*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.90453>
- Shewfelt, K., Lee, H., & Zytner, R. G. (2011). Optimization of nitrogen for bioventing of gasoline contaminated soil. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 4(1), 29–42. <https://doi.org/10.1139/s04-040>
- Shi, Z., Liu, J., Tang, Z., Zhao, Y., & Wang, C. (2019). Vermiremediation of organically contaminated soils: Concepts, current status, and future perspectives. *Applied Soil Ecology*, October, 103377. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103377>
- Simbaña, C. (n.d.). *DSPACE ESPOCH.: Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de la Parroquia Taracoa en Francisco de Orellana, mediante el Hongo pleurotus ostreatus*. Retrieved July 26, 2020, from <http://dspace.esepoch.edu.ec/handle/123456789/4916>
- Simpanen, S., Dahl, M., Gerlach, M., Mikkonen, A., Malk, V., Mikola, J., & Romantschuk, M. (2016). Biostimulation proved to be the most efficient method in the comparison of in situ soil remediation treatments after a simulated oil spill accident. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(24), 25024–25038. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7606-0>
- Singh, D., Sharma, P., Kumar, U., Daveyey, A., & Arunachalam, K. (2021). Effect of forest fire on soil microbial biomass and enzymatic activity in oak and pine forests of Uttarakhand Himalaya, India. *Ecological Processes*, 10(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13717-021-00293-6>
- Singh, M. K., Maurya, A., & Kumar, S. (2020). Bioaugmentation for the treatment of waterborne pathogen contamination water. *Waterborne Pathogens*, 189–203. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818783-8.00010-4>
- Sistema Nacional de Arreas Protegidas del Ecuador. (2018). *Parque Nacional Galápagos / Sistema Nacional de Áreas Protegidas del Ecuador*. <http://areasprotegidas.ambiente.gob.ec/es/areas-protegidas/parque-nacional-cayambe-coca>
- Soil, C., & Communities, M. (1995). *dases , and peptidases . Commonly measured enzymes include phosphatase (pNP- acid esterase (pNP-acetate)*. *Materials Magnetic stirrer pH meter Spectrophotometer Pipettors , for volumes ranging from 0 . 2 to 8 . 0 mL 5 mL polypropylene test tubes with ca.* 329–333.

- Speight, J. G. (2017). Removal of Organic Compounds From the Environment. In *Environmental Organic Chemistry for Engineers* (pp. 387–432). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-804492-6.00009-5>
- Stallwood, B., Shears, J., Williams, P. A., & Hughes, K. A. (2005). Low temperature bioremediation of oil-contaminated soil using biostimulation and bioaugmentation with a *Pseudomonas* sp. from maritime Antarctica. *Journal of Applied Microbiology*, 99(4), 794–802. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02678.x>
- Suthar, S. (2008). Metal remediation from partially composted distillery sludge using composting earthworm *Eisenia fetida*. *Journal of Environmental Monitoring*, 10(9), 1099–1106. <https://doi.org/10.1039/b807908k>
- Swallow, M., Quideau, S. A., MacKenzie, M. D., & Kishchuk, B. E. (2009). Microbial community structure and function: The effect of silvicultural burning and topographic variability in northern Alberta. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(4), 770–777. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.01.014>
- Szewczyk, R., & Długoński, J. (2009). Pentachlorophenol and spent engine oil degradation by *Mucor ramosissimus*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63(2), 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.08.001>
- Tapia Zúñiga, M., Jimenez González, A., Cuasquer, E., Cabrera Verdesoto, C., & Caicedo Álvarez, E. (2017). Evaluación del programa de conservación del ecosistema páramo y sus efectos socioambientales en una comuna rural. *Revista Cubana de Ciencias Forestales: CFORES*, 5(3), 287–300.
- Thompson, J. B., Zurita-Arthos, L., Müller, F., Chimbolema, S., & Suárez, E. (2021). Land use change in the Ecuadorian páramo: The impact of expanding agriculture on soil carbon storage. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 53(1), 48–59. https://doi.org/10.1080/15230430.2021.1873055/SUPPL_FILE/UAAR_A_1873055_SM9389.ZIP
- Torres, A. M., Peña-Óspina, E. J., Zúñiga-Escobar, O., & Peña-Salamanca, J. A. (2012). Impact assessment of anthropic activities on carbon in plant biomass storage in colombian high sierra andean ecosystems. *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 16(1), 132–142.
- Torres, S., & Proaño, O. (2018). *Water Balance Components in the Paramo of Jatunsacha, Ecuador*. 28(2), 51–65.
- Tribedi, P., Goswami, M., Chakraborty, P., Mukherjee, K., Mitra, G., Bhattacharyya, P., & Dey, S. (2018). Bioaugmentation and biostimulation: a potential strategy for environmental remediation. *Journal of Microbiology & Experimentation*, Volume 6(Issue 5). <https://doi.org/10.15406/JMEN.2018.06.00219>
- Trucco, I. (2009). Reseñas Bibliográficas: N. Domínguez y G. Orsini, “Impactos en la Estructura Agraria por la Ampliación de la Frontera Agrícola en base a la Expansión del Cultivo de Soja en la Región Pampeana: la Historia Reciente de Entre Ríos.” *PAMPA*, 5, 259–261. <https://doi.org/10.14409/pampa.v1i5.3173>
- Tyagi, M., da Fonseca, M. M. R., & de Carvalho, C. C. C. R. (2011). Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation

processes. In *Biodegradation* (Vol. 22, Issue 2, pp. 231–241). Springer.
<https://doi.org/10.1007/s10532-010-9394-4>

Valencia, S., & Lizarazo, P. (2009). CUATRO QUEBRADAS DEL PARQUE NACIONAL NATURAL GORGONA CHARACTERIZACION OF THE MICROBIAL COMPOSITION OF FOUR STREAMS AT GORGONA NATURAL NATIONAL PARK INTRODUCCIÓN La calidad de los ecosistemas acuáticos lóticos con frecuencia se ha estimado en relación con. *Actual Biol*, 31(91), 213–226.

Valle, U., Actividades, E. D. E., En, A., Capacidad, L. A., Del, S., Del, P., Valle, U., & Sumapaz, P. D. E. L. (2009). *Disponible en:*
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=231116390004>.

Vargas, J. (2007). *Estudio de la capacidad de la capacidad de intercambio catiónico en la recuperación de suelo afectado por incendio.*
https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1134&context=ing_alimentos

Vargas, O., & Mora, J. (2004). *Proyecto paramo andino propuesta de actividades de investigación para los páramos de colombia.* 1–85.
https://www.researchgate.net/publication/262914054_PROYECTO_PARAMO_ANDINO_PROPUESTA_DE_ACTIVIDADES_DE_INVESTIGACION_PARA_LOS_PARAMOS_DE_COLOMBIA

Verma, S., & Jayakumar, S. (2012). Impact of forest fire on physical, chemical and biological properties of soil: A. *Proceedings of the International Academy of ...*, 2(3), 168–176. www.iaees.org

Verma, S., & Jayakumar, S. (2018). Effect of recurrent fires on soil nutrient dynamics in a tropical dry deciduous forest of Western Ghats, India. *Journal of Sustainable Forestry*, 37(7), 678–690. <https://doi.org/10.1080/10549811.2018.1453842>

Verma, S., Singh, D., Singh, A. K., & Jayakumar, S. (2019). Post-fire soil nutrient dynamics in a tropical dry deciduous forest of Western Ghats, India. *Forest Ecosystems*, 6(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/S40663-019-0168-0/FIGURES/3>

Villalba, N. (n.d.). *UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON FENANTRENO POR OXIDACIÓN QUÍMICA.*

Villarreal-Romero, S. M., Olaya-Escobar, E. S., Leal-Peña, E., & Palacios-Chavarro, J. A. (2019). Children with grand Imaginaries: Bringing them closer to the world of science. *Comunicar*, 27(60), 29–37. <https://doi.org/10.3916/C60-2019-03>

Vishwakarma, G. S., Bhattacharjee, G., Gohil, N., & Singh, V. (2020). Current status, challenges and future of bioremediation. In *Bioremediation of Pollutants* (pp. 403–415). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819025-8.00020-x>

Vogel, T. M. (1996). *Bioaugmentation as a soil bioremediation approach. Current opinion in biotechnology*, 7(3), 311–316. 311–316.

Vogel, Timothy M. (1996). Bioaugmentation as a soil bioremediation approach. *Current Opinion in Biotechnology*, 7(3), 311–316. <https://doi.org/10.1016/S0958->

- Wang, Q., Zhong, M., & Wang, S. (2012). A meta-analysis on the response of microbial biomass, dissolved organic matter, respiration, and N mineralization in mineral soil to fire in forest ecosystems. *Forest Ecology and Management*, 271, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.02.006>
- Widevoxhel, R. (2011). Bioaumentación y sustancias húmicas en la biodegradación de hidrocarburos del petróleo. *Revista INGENIERÍA UC*, 18(1), 23–27. https://www.researchgate.net/publication/237039114_Bioaumentacion_y_sustancias_humicas_en_la_biodegradacion_de_hidrocarburos_del_petroleo
- Xian, H. Q., Liu, L., Li, Y. H., Yang, Y. N., & Yang, S. (2020). Molecular tagging of biocontrol fungus *Trichoderma asperellum* and its colonization in soil. *Journal of Applied Microbiology*, 128(1), 255–264. <https://doi.org/10.1111/jam.14457>
- Xiang, X., Shi, Y., Yang, J., Kong, J., Lin, X., Zhang, H., Zeng, J., & Chu, H. (2014). Rapid recovery of soil bacterial communities after wildfire in a Chinese boreal forest. *Scientific Reports*, 4(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep03829>
- Xue, L., Li, Q., & Chen, H. (2014). Effects of a wildfire on selected physical, chemical and biochemical soil properties in a *Pinus massoniana* forest in South China. *Forests*, 5(12), 2947–2966. <https://doi.org/10.3390/f5122947>
- Yang, Z., Xu, X., Dai, M., Wang, L., Shi, X., & Guo, R. (2018). Combination of bioaugmentation and biostimulation for remediation of paddy soil contaminated with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Journal of Hazardous Materials*, 353(April), 490–495. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.04.052>
- Zaborowska, M., Wyszowska, J., & Kucharski, J. (2019). Biochemical activity of soil contaminated with BPS, bioaugmented with a mould fungi consortium and a bacteria consortium. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(36), 37054–37069. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06875-4>
- Zapata-Ríos, X., Lopez-Fabara, C., Navarrete, A., Torres-Paguay, S., & Flores, M. (2021). Spatiotemporal patterns of burned areas, fire drivers, and fire probability across the equatorial Andes. *Journal of Mountain Science*, 18(4), 952–972. <https://doi.org/10.1007/s11629-020-6402-y>
- Zeyaulah, M., Atif, M., Islam, B., Abdelkafe, A. S., Sultan, P., Elsaady, M. A., & Ali, A. (2009). Bioremediation: A tool for environmental cleaning. *African Journal of Microbiology Research*, 3(6), 310–314. <http://www.academicjournals.org/ajmr>
- Zhang, B., Liang, C., He, H., & Zhang, X. (2013). Variations in Soil Microbial Communities and Residues Along an Altitude Gradient on the Northern Slope of Changbai Mountain, China. *PLoS ONE*, 8(6), e66184. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066184>
- Zhang, M., Shen, L., Shi, J., Chen, L., Luo, Y., Sun, J., Fan, D., Hara, S., & Bao, Z. (2021). *Pseudomonas pratensis* sp. nov., Isolated from Grassland Soil from Inner Mongolia, China. *Current Microbiology*, 78(2), 789–795. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02296-6>

- Zhen, M., Tang, J., Li, C., & Sun, H. (2020). Rhamnolipid-modified biochar-enhanced bioremediation of crude oil-contaminated soil and mediated regulation of greenhouse gas emission in soil. *Journal of Soils and Sediments* 2020 21:1, 21(1), 123–133. <https://doi.org/10.1007/S11368-020-02746-5>
- Ziaee, A., Zia, M., Bayat, M., & Hashemi, J. (2016). Identification of Mucorales isolates from soil using morphological and molecular methods. *Current Medical Mycology*, 2(1), 13–19. <https://doi.org/10.18869/acadpub.cmm.2.1.13>