



**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SANTO DOMINGO**  
ÁREA DE CIENCIAS BÁSICAS Y AMBIENTALES  
DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**EVALUACIÓN DE BIOCONTROLADORES CON  
CULTIVOS DE COBERTURA PARA LA REMEDIACIÓN  
DE SUELOS PARA UNA AGRICULTURA SOSTENIBLE  
EN REPÚBLICA DOMINICANA**

**Doctorante**  
**CONFESORA PINALES**

**Colaboradora**  
**Andreina Cuello**

**Asesores**  
**Dr. Emmanuel Torres**  
**Dr. Omar Paíno Perdomo**

**Octubre 2022**



## CONTENIDO

- INTRODUCCIÓN
- OBJETIVOS
- REFERENTES CONCEPTUALES
- METODOLOGÍA
- RESULTADOS ESPERADOS
- CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES
- RECOMENDACIONES
- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Las condiciones de producción con cultivos de cobertura vienen a apoyar las demandas de productos cada vez más inofensivos, aumentando las exigencias de estándares de calidad tanto de residuos de plaguicidas como de plagas y enfermedades promoviendo así una agricultura sostenible (Colmenarez *et al.*, 2011).



<https://www.nostoc.es/como-cambiar-de-agricultura-convencional-a-ecologica/>

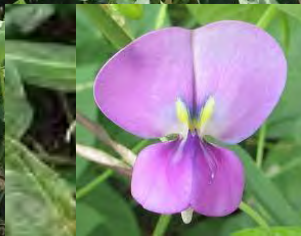
**INTRODUCCIÓN**



*Canavalia ensiformis* (Frijol machete)

*Canavalia ensiformis*  
<https://www.rarepalmseeds.com/es/ca>

Especies que aportan el mejoramiento de la salud del suelo y del medio ambiente, las cuales se utilizaran en interacción con *Bacillus subtilis*, *Beauveria bassiana* y *Trichoderma harzianum*, para una agricultura sostenible.



*Vigna unguiculata* (Frijol caupí)



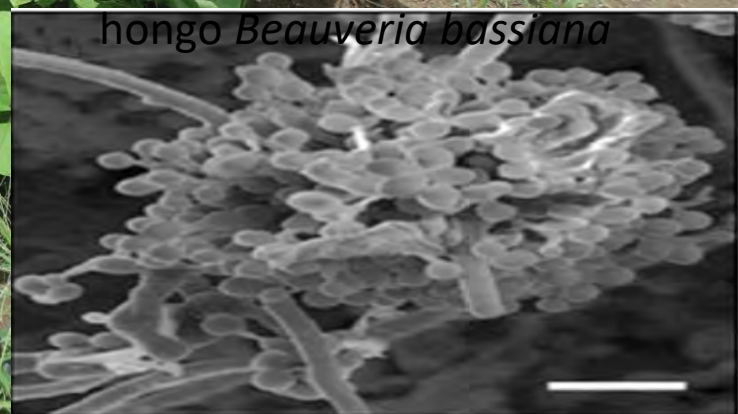
[https://www.tropicalforages.info/text/entities/vigna\\_unguiculata.htm](https://www.tropicalforages.info/text/entities/vigna_unguiculata.htm)

# INTRODUCCIÓN

El método de control biológicos, como hongos patógenos y bacterias están ganando popularidad por ser más saludables y a veces también más efectivos (Miller, 2004).



La aplicación de microorganismos en cultivos multiplica los esfuerzos para el desarrollo de métodos de integración en los sistemas de producción (Colmenarez *et al.*, 2011).



# INTRODUCCIÓN

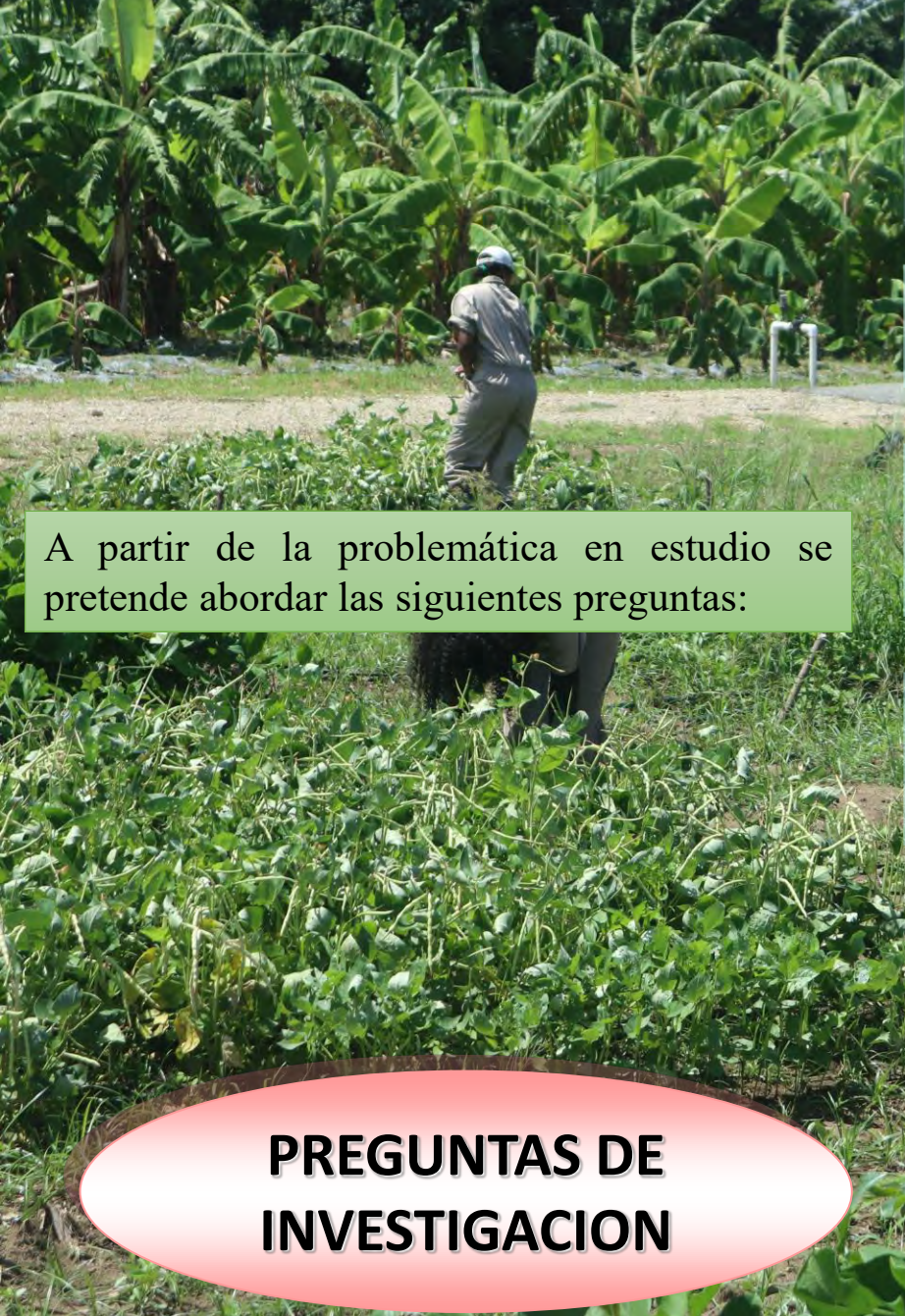
# Planteamiento del problema

El uso intensivo de la tierra y los métodos agrícolas que aumentan la erosión, son responsables de acelerar la pérdida de suelo y el cambio climático cuyos efectos causan daños a la producción agrícola vulnerando la seguridad e independencia alimentaria de la población dominicana ([Bettioli et al., 2014](#)).

los cultivos presentan problemas por el ataque de plagas y enfermedades que tradicionalmente se han venido controlando con la aplicación de plaguicidas, sumados al uso inadecuado de los mismos por parte de la población ante el desconocimiento de los efectos adversos que estos provocan ([Martinez et al., 2010](#)).

La falta de herramientas de diagnóstico.





A partir de la problemática en estudio se pretende abordar las siguientes preguntas:

¿Cómo impacta la interacción de los biorremediadores con los cultivos de cobertura en la producción de biomasa para la remediación de suelos en sistemas agrícolas?

¿Qué correlación hay entre los microorganismos y los fitorremediadores estudiados?

¿Cuál es el efecto de la densidad de siembra y momento de aplicación de esta tecnología y su impacto en la remediación de los suelos?

¿Cuál es la tasa de crecimiento de los biorremediadores en el extracto foliar de los fitorremediadores?

¿Cuál sería el impacto ambiental del uso de los biocontroladores con los fitorremediadores en la calidad de los suelos?

**PREGUNTAS DE INVESTIGACION**



## JUSTIFICACIÓN

La difusión social de una tecnología ecoamigable con el uso de biorremediadores y fitorremediadores forma parte del proceso de formación ambiental y del proceso de socialización, de absorción colectiva del conocimiento y las prácticas ambientales efectivas, generando un impacto positivo como la capacidad de mejorar la productividad del suelo ([Paneque et al., 2021](#)).

En la República Dominicana existe la gran necesidad de adquirir información actualizada sobre el uso de biorremediadores en los sistemas de producción.

Los altos niveles de rendimiento que se consiguen con acción de los microbios en interacción con las leguminosas pueden originar un mejor aprovechamiento de los suelos.



# Justificación

Los plaguicidas son una de las causas principales de la contaminación del agua y el ambiente (Cornell University, 2007).



## HIPÓTESIS

El uso de los biorremediadores con los cultivos de cobertura impacta positivamente en la remediación de los suelos agrícolas.  
una vez integrados al suelo.

El efecto de los biorremediadores está relacionado favorablemente con las densidades de siembra y momento de aplicación.  
una vez integrados al suelo.

Los organismos beneficiosos se reproducen efectivamente en la biomasa de los fitorremediadores y mantienen su población una vez integrados al suelo.

El uso de agentes biorremediadores con cultivos de cobertura disminuye el impacto ambiental producido por el uso intensivo de los suelos en sistemas agrícolas.



# OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

## Objetivo general

Establecer la posibilidad de intervenir los procesos de degradación de suelos a partir de la interacción entre tres biorremediadores (*Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana* y *Trichoderma harzianum*) y dos cultivos de cobertura (*Canavalia ensiformis* y *Vigna unguiculata*) para garantizar una agricultura sostenible en la República Dominicana.

## Objetivos específicos

Evaluar la interacción de dos sistemas de cultivo de cobertura de leguminosas en combinación con tres biorremediadores de suelos para una agricultura sostenible.

Establecer el efecto de la densidad de siembra y momento de aplicación de 3 organismos en la biomasa foliar de dos cultivos de cobertura para remediación de suelos.

Determinar el efecto ambiental del empleo de agentes de bio-control para remediación de los suelos en sistemas agrícolas.

Determinar la tasa de crecimiento de tres biorremediadores en el extracto de biomasa foliar de dos fitorremediadores en condiciones de laboratorio.

# REFERENCIAS CONCEPTUALES

## 2.1. Antecedentes

Año	Autor	Hallazgo
2021	Núñez, <i>et al.</i>	Caracterización de micorrizas autóctonas en suelo y raíces provenientes de fincas ganaderas en Montecristi, República Dominicana.
2021	Gregorutti, <i>et al.</i>	Efecto de cultivos de cobertura y adiciones de enmiendas orgánicas, aplicados en la superficie del suelo y sin la presencia de una cobertura vegetal viva, sobre la abundancia y actividad de microorganismos.
2020	González	Aislamientos de esporas de micorrizas autóctonas para su selección y clasificación en Montecristi, República Dominicana.
2020	Morales, <i>et al.</i>	Respuestas a los problemas de degradación de los suelos ocasionados por la intensificación agrícola; los cultivos de cobertura aumentaron el C y el N totales del suelo
2020	Simón	Evaluó la respuesta varietal y un tratamiento a las semillas sobre enfermedades fúngicas en el cultivo del maní ( <i>Arachis hypogaea</i> L).
2019	Soriano & Díaz	Situación de la producción de banano orgánico y se evidencio que el 66.7 % de los productores de bananos usan cobertura de leguminosas.
2019	Cutillas <i>et al.</i>	Analizaron los procesos de contaminación de las aguas, haciendo notoria la necesidad de adoptar cambios en los usos y prácticas agrícolas para mejorar la calidad de las aguas y evitar posibles riesgos para la salud.
5018	Sanchez	Evaluó el efecto biocontrolador de cepas de actinomicetos frente a <i>Rhizoctonia solani</i> y la estimulación del crecimiento en frijol común <i>Phaseolus vulgaris</i> L.
2018	Pansu, <i>et al.</i>	método de modelado centrado en el funcionamiento de los organismos vivos para calcular los parámetros de flujo utilizando datos sobre las existencias de N en los descomponedores.
2018	Sánchez	Evaluó el efecto biocontrolador de cepas de actinomicetos frente a <i>Rhizoctonia solani</i> y la estimulación del crecimiento en frijol común <i>Phaseolus vulgaris</i> L.
2018	González	Determinó el contenido de materia orgánica del suelo con el uso de la técnica de espectroscopia de reflectancia en el visible e infrarrojo cercano en áreas cultivadas con boniato.
2017	Mayer, <i>et al.</i>	Efectos de biocontrol e interacción de miembros importantes de la red alimentaria del suelo, demostrando mayor eficiencia con la presencia de organismos que sin esta.
2016	Boccolini	La densidad microbiana aumenta con la diversidad de cultivos.
2015	Alonso de la Cruz	Aplicó el método de simulación de la actividad de los organismos vivos para calcular los parámetros de flujo utilizando datos sobre las existencias de N en los descomponedores.

Especie	Descripción	Características
<i>Canavalia ensiformis</i> (Frijol machete) (Legel, 1981)	Orden Fabales, originaria del nuevo mundo, con 12 especies potenciales en regeneración de suelo, bianual, herbácea, ramificada, hasta 1 m de altura.	Mejora propiedades del suelo (Alonso, 2017); Fijación de nitrógeno hasta 240 kg/ha (Bunch, 2016); Enfrenta sequias y tierras degradadas; produce 60 t/ha de biomasa, (Rente, et al., 2018).
<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp. (Frijol caupí)	Reino: Plantae Phylum: Magnoliophyta Clase: Liliopsida Orden: favales Familia: fabaceae. Se origina en el continente africano. África es el principal productor, seguidos de India, Estados Unidos y Brasil (Guillén et al., 2016). Crece en las regiones tropicales y subtropicales del mundo debido a su tolerancia a sequía y su capacidad para crecer en suelos de baja fertilidad.	Es utilizado como cultivos de cobertura y como una fuente importante de alimento para los habitantes de los países en desarrollo. En República Dominicana se cultiva en la región sur y se utiliza como forraje y consumo.
Organismos		
<i>Trichoderma harzianum</i> , Persoon, 1794.	Son hongos saprofitos de rápido crecimiento (Villegas, 2005). hongo aeróbico, tolera intervalo de temperaturas entre 25 y 30°C (Rodríguez, 1993). La luz y su espectro influyen su desarrollo. Pueden crecer en óptimo entre 5,5-6,5. La humedad de 60% de capacidad de campo, Se encuentran en suelos con abundante materia orgánica (Arias, 2004).	Capacidad de producir diversos metabolitos y de adaptación. Antibiosis, competencia, micoparasitismo, desactivación de enzimas de los patógenos y otros, como colonizador de las raíces (Harman, 2000). ayuda a la descomposición de materia orgánica (Páez, 2006).
<i>Bacillus subtilis</i> (Ehrenberg, 1835) Cohn, 1872.	bacteria Gram positiva, aerobio (Madigan, 2005). De la clase Bacilli, orden Baccillales, familia Bacillaceae; comúnmente encontrada en el suelo. Sus células suelen tener forma de bastón y miden entre 4 y 10 µm de largo y entre 0,25 y 1,0 µm de diámetro, (Yu, et al., 2014).	Utilizado como organismo modelo de laboratorio, considerado como el equivalente Gram positivo de <i>Echerichia coli</i> , (Nakano, 1998). Produce antibióticos (Paul, et al., 2021).
<i>Beauveria bassiana</i> (Bals)	<i>B. bassiana</i> , es un hongo ascomiceto mitospórico, Orden, Hypocreales, familia clavicipitaceae, descubierto por el entomólogo italiano Agostino Bassi en 1835 como la causante de la devastadora enfermedad muscardina de los gusanos de seda; Es de apariencia polvosa (Fig. 9), de color blanco algodonoso o amarillento cremoso. El ciclo de vida de este hongo consta de dos fases: la patogénica y la saprofitica (García et al., 2018).	<i>B. bassiana</i> Crece de forma natural en los suelos de todo el mundo; Su poder entomopatógeno le hace capaz de parasitar a insectos de diferentes especies y actualmente es utilizado como insecticida biológico (Góngora et al., 2013).

# METODOLOGÍA

## Localización y descripción

- Instituto Especializado de Estudios Superiores Loyola -San Cristóbal; Finca experimental André Vloebergh (lat. 18.40; log. -70.09).



Fuente: Loyola, 08/22.

- **Temporada:** mayo 2022 – abril 2023
- **Diseño experimental:** Diseño de bloques completos al azar 4 repeticiones.

El experimento será establecido en la finca.

El área experimental será limpiada de malezas y arado dos veces previo al establecimiento de los tratamientos.

Se establecerán 2 sistemas de cultivo de cobertura en parcelas de 3 x 3 metros. Las parcelas estarán distanciadas a 2 metros entre bloques y 2 metros dentro de los bloques.



# METODOLOGIA

Las semillas serán esparcidas al voleo y el terreno será tratado con un cultivador para asegurar el correcto contacto entre las semillas y el suelo.

Posterior a la siembra, se aplicarán 2.5 mm de riego diarios, durante los primeros 3 días, excepto en aquellos casos que se presente lluvia natural. No se realizarán más practicas durante las primeras 8 semanas de crecimiento.

Pasadas 8 semanas de siembra se aplicarán 3 microorganismos beneficiosos de amañera foliar, según la distribución de los tratamientos (Tabla 1).

Dos semanas posteriores a la aplicación de los microorganismos, se procederá a cultivar e integrar los cultivos de cobertura al suelo.



*Canavalia ensiformis*  
<https://www.rarepalmseeds.com/es/ca>



# Descripción de los tratamientos de cultivos de cobertura y microorganismos beneficiosos para sistemas agrícolas en la República Dominicana

No.	Cultivo de cobertura	Densidad de siembra	Microorganismos beneficiosos	Producto/Dosis de aplicación (por hectárea)
1	Canavalia <sup>2</sup>	40 kg/ha	Bacillus thuringiensis	BT NOW®/1.65 L/50 gal
2	Canavalia	40 kg/ha	Trichoderma harzianum	RootShield WP/ 2 lb/50 gal
3	Canavalia	40 kg/ha	Beauveria bassiana	BotaniGard 22WP. / 2lb/50 gal
4	Canavalia sin (T.R.)	Sin tratamiento	Sin tratamiento	Sin tratamiento
5	T. A	Sin cultivo	Sin cultivo	Sin cultivo
6	T. A.	Sin cultivo	Sin cultivo	Sin cultivo
7	T. A.	Sin cultivo	Sin cultivo	Sin cultivo
8	T. A	Sin cultivo	Sin cultivo	Sin cultivo
9	Frijol caupí	5 kg/ha	Bacillus thuringiensis	BT NOW®/1.65 L/50 gal
10	Frijol caupí	5 kg/ha	Trichoderma harzianum	RootShield WP/ 2 lb/50 gal
11	Frijol caupí	5 kg/ha	Beauveria bassiana	BotaniGard 22WP. / 2lb/50 gal
12	Frijol caupí sin	Sin tratamiento	Sin tratamiento	Sin tratamiento

<sup>2</sup>Canavalia (*Canavalia ensiformis*); Mani forrajero (*Arachis pintoi*); Caupí (*Vigna unguiculata*)

BT NOW: *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* strain EVB-113-19

RootShield WP: *Trichoderma harzianum*, Rifai strain KRL-AG2

BotaniGard 22WP: *Beauveria bassiana* Strain GHA; T. A.: Testigo absoluto; T. R.: Testigo relativo



# VARIABLES

## Análisis de salud de suelo



- Al iniciar el proyecto se realizará un muestreo general de suelo compuesto de 12 submuestras en el área experimental como línea base previo al establecimiento de los tratamientos.
- Ocho semanas posteriores a la siembra de los cultivos de cobertura se tomarán muestras de suelo compuestas de 6 submuestras por parcela de cultivo de cobertura; 3 muestras x 4 repeticiones = 12 muestras.
- Cuatro semanas posteriores a la integración de los cultivos de cobertura en suelo, se tomarán muestras de suelo compuestas de 6 submuestras por cada tratamiento; 9 tratamientos x 4 repeticiones = 36 muestras.
- Todas las muestras serán almacenadas en contenedores herméticos con bolsas de gel frío y enviadas al laboratorio para análisis de salud de suelo.

## Biomasa aérea y densidad de cultivo de cobertura

Se tomarán muestras de biomasa y densidad de los tratamientos de cobertura a las 4 y 8 semanas posterior a la siembra, utilizando un cuadrante de 50 cm x 50 cm colocado aleatoriamente dentro de cada parcela.

Las muestras se colectarán cortando las plantas en la base del troco y colocándolas en un horno de secado a 45°C por 5 días. Posterior al secado, las muestras serán pesadas. La densidad de planta será evaluada contando todas las plantas pertenecientes al tratamiento dentro de cada cuadrante.

## Índice de área foliar del cultivo de cobertura

Se tomarán muestras de índice de área foliar de cada parcela de los cultivos de cobertura a las 4 y 8 semanas después de la siembra.

Los muestreos se realizarán con un analizador de canopia LAI-2200C (Licor), tomando muestras sobre la canopia del cultivo y en la base.

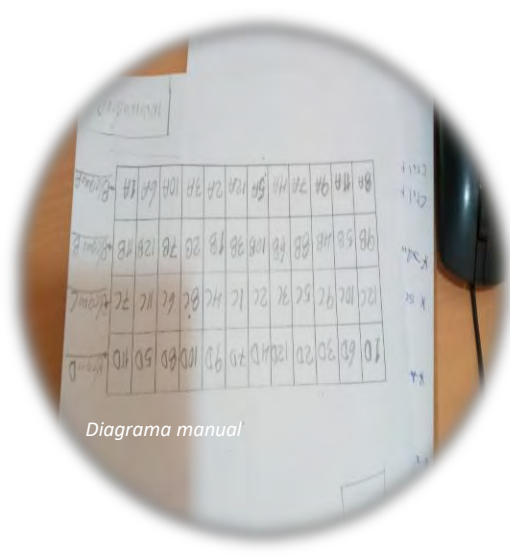
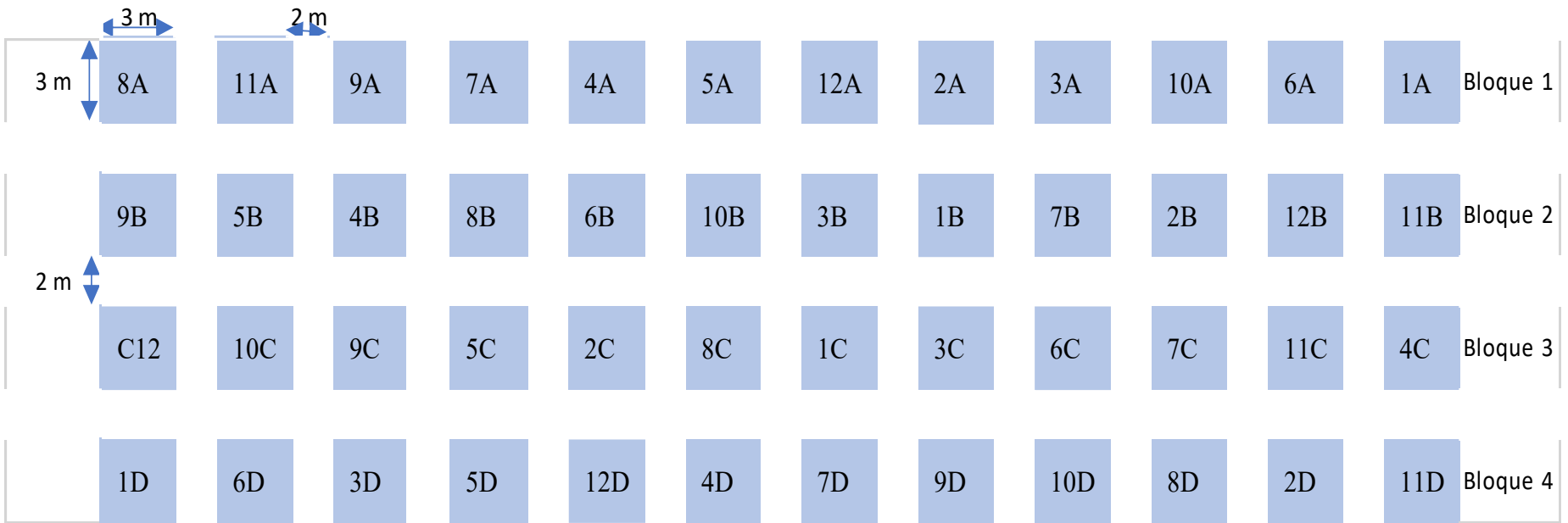
# Muestreo de microorganismos



*Canavalia ensiformis*  
<https://www.rarepalmseeds.com/es/ca>

- Se medirá la presencia y cantidad de los organismos por tratamiento dos semanas después de su aplicación foliar a los cultivos de cobertura. Se medirá al momento de la aplicación foliar, y se medirá 4 semanas posterior a la aplicación.
- De igual manera, mediremos presencia y cantidad de los microorganismos 4 semanas después de que los cultivos de cobertura fueron integrados en el suelo.
- El crecimiento de los microorganismos en las hojas (biomasa) de los cultivos de cobertura y su presencia y cantidad en las muestras de suelo se medirán:
  - Observación y conteo de colonias
  - Procesamiento de muestra: extracción de ADN.

• Diagrama de campo



# AVANCES DE RESULTADOS

## Preparación del terrero y muestreo de suelo



Finca antes



Muestreo de suelo



Preparacion de parcelas

# RESULTADOS

## Adquisición y siembra de semillas



Identificación de parcelas



Foto: Ambrosio, Loyola, V. 10 Agosto, 2022.



Siembra

Pesado de semillas/

# RESULTADOS

## Biomasa aérea y densidad del cultivo



# Índice de área foliar del cultivo



Foto: Conferencia P., Loyola



# Instalación de sensores para la temperatura y la humedad



# Peso seco



# Peso fresco y seco



# Preparación para secado al horno



# Horno de secado de muestras



## Incorporación de estudiantes de ingeniería agroalimentaria y educación ambiental



# Asesoría de tesis de grado



# CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

No.	Actividades	Trimestres												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1	Preparación del terreno y diseño del experimento	Logrado												
2	Muestreo y análisis de suelo	Logrado												
3	Siembra	Logrado												
4	Muestreo para biomasa aérea y densidad de cultivos		Logrado											
5	Indicie de área foliar		Logrado	Logrado										
6	Inoculación			Logrado										
7	Muestreo de microorganismos				Logrado									
8	Análisis y procesamiento de datos													
9	Presentación de trabajos en eventos científicos													
10	Envío de manuscritos a publicar en revistas científicas													
11	Entrega de la tesis y predefensa													
12	Defensa de la tesis													



## RESULTADOS ESPERADOS

Con la realización de este estudio se espera generar datos que provean informaciones útiles para el manejo de una agricultura sostenible en la República Dominicana, por lo que se pretende, además, que arroje los siguientes resultados:

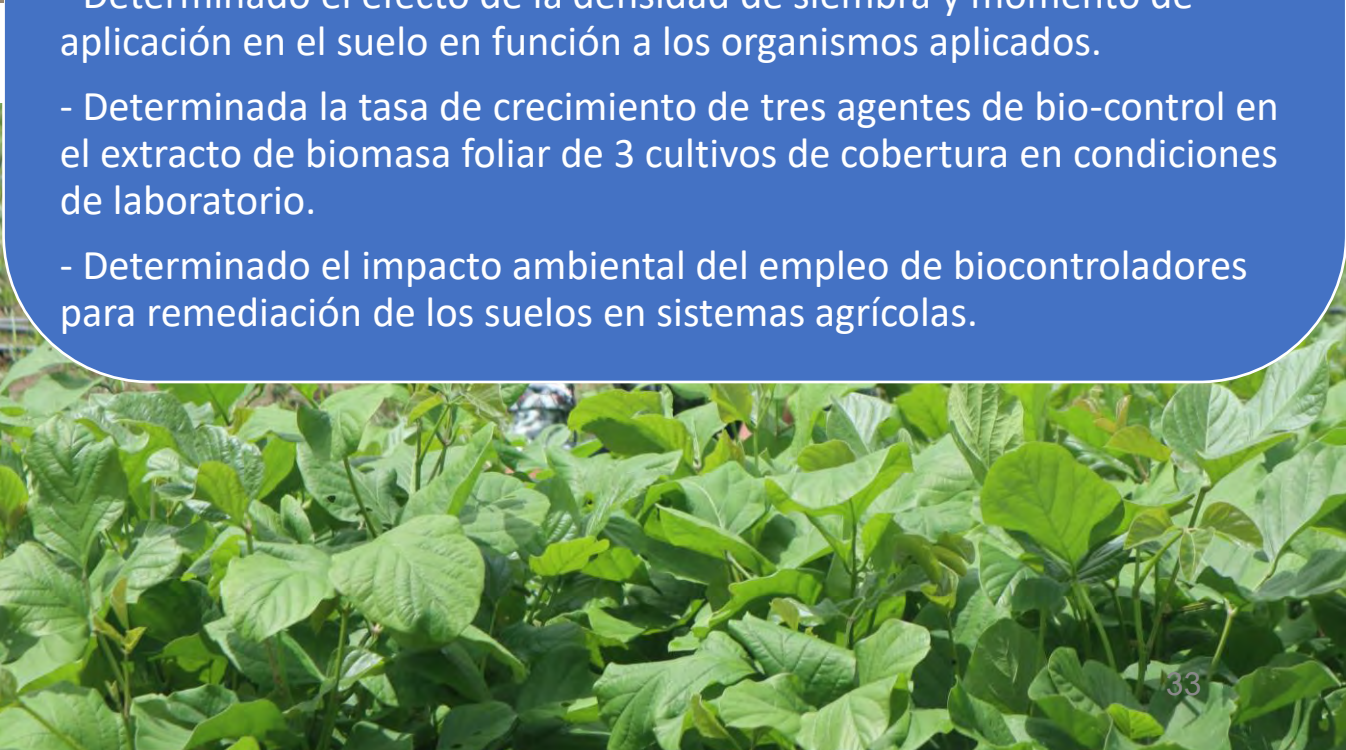
- Evaluada la interacción de tres sistemas de cultivo de cobertura de leguminosas en combinación con tres biorremediadores de suelo para una agricultura sostenible.
- Determinado el efecto de la densidad de siembra y momento de aplicación en el suelo en función a los organismos aplicados.
- Determinada la tasa de crecimiento de tres agentes de bio-control en el extracto de biomasa foliar de 3 cultivos de cobertura en condiciones de laboratorio.
- Determinado el impacto ambiental del empleo de biocontroladores para remediación de los suelos en sistemas agrícolas.



Semillas de Caupi



Semillas de Canavalia



Maní forrajero



- La propuesta de utilización de biorremediadores con fitorremediadores es pionera en el país para la mejora de la producción de los suelos en un esquema que es de fácil absorción por las características que posee, proveer una técnica apropiada para los productores como parte de un proceso de educación ambiental y sostenibilidad.
- Los conectores biológicos (especies y cultivos) incrementan el nivel de interacción entre las relaciones de las propiedades ecológicas que aumenten la estabilidad y variabilidad, de ahí, se espera demostrar que esa mejoría de suelo lograda, si se consigue que la haga el productor se genera un proceso de educación ambiental y lo convierte en un aliado de la sostenibilidad, se está cambiando un paradigma que puede, incluso incidir sobre las autoridades.





Gracias