



Universidad de Valladolid
Campus de Palencia

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR
DE INGENIERÍAS AGRARIAS

Grado en Ingeniería Agrícola y del Medio Rural

**Estudio aplicado en campo para el control
biológico de la rabia del garbanzo de Fuentesauco
(IGP) mediante pildorado con el hongo beneficioso
*Trichoderma harzianum***

Alumno: Enrique Carrión Molpeceres

Tutor: Jorge Poveda Arias

Cotutor: Óscar Santamaría Becerril

Directora: Irene Pacho Zunzunegui

Noviembre de 2024

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1. SITUACIÓN AGRÍCOLA ACTUAL.....	3
2.2. EL GARBANZO	5
2.2.1. Taxonomía y biología.....	5
2.2.2. Cultivo y producción.....	6
2.2.2.1. Fases del cultivo.....	6
2.2.2.2. Datos del cultivo del garbanzo.....	7
2.2.2.3. Importancia económica y nutricional	14
2.2.3. El garbanzo de Fuentesauco (IGP).....	17
2.3. LA RABIA DEL GARBANZO (<i>Ascochyta rabiei</i>)	18
2.3.1. El agente causante y su desarrollo	18
2.3.2. Ciclo biológico.....	19
2.3.3. Síntomas e infección.....	20
2.3.4. Medidas para combatir la enfermedad.....	21
2.4. <i>Trichoderma</i>	23
2.4.1. Taxonomía y biología.....	23
2.4.2. Mecanismos de acción	24
2.4.3. Formulación y aplicación de <i>Trichoderma</i>	28
2.4.4. Importancia agrícola y mercado.....	29
3. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	31
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
4.1. MATERIAL FÚNGICO Y VEGETAL UTILIZADO.....	32
4.2. MEDIOS DE CULTIVO.....	32
4.3. ENSAYO DE PRODUCCIÓN DEL INÓCULO	32
4.3.1. Procedimiento experimental.....	33
4.3.1.1. Ensayo de medición	33
4.3.1.2. Ensayo de producción masiva de esporas	35
4.4. ENSAYO DE MEDICIÓN DE VIABILIDAD DEL INÓCULO	37
4.4.1. Preparación de las semillas	38
4.4.2. Procedimiento experimental.....	38

4.5.	ENSAYO DE CAMPO CON LAS SEMILLAS INOCULADAS CON <i>T. harzianum</i>	38
4.5.1.	Parcelas de ensayo y ubicación de las mismas.....	39
4.5.2.	Análisis edáfico	42
4.5.3.	Análisis climático	47
4.5.4.	Preparación del terreno y siembra.....	49
4.5.4.1.	<i>Cultivos precedentes en la parcela</i>	50
4.5.4.2.	<i>Preparación del terreno y labores precedentes del cultivo</i>	50
4.5.4.3.	<i>Siembra de las parcelas de ensayo</i>	51
4.5.5.	Toma de datos	52
4.6.	ESTUDIO DE PRODUCCIÓN	56
4.6.1.	Procedimiento experimental.....	56
4.7.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	57
5.	RESULTADOS.....	58
5.1.	ENSAYOS DE LABORATORIO	58
5.1.1.	Ensayo de producción del inóculo.....	58
5.1.2.	Ensayo de viabilidad del inóculo	58
5.2.	ENSAYOS DE CAMPO	59
5.2.1.	Nascencia de las semillas.....	59
5.2.2.	Altura de las plantas	60
5.2.3.	Estado fenológico de las plantas	61
5.2.4.	Estado sanitario de las plantas	62
5.2.4.1.	<i>Incidencia</i>	62
5.2.4.2.	<i>Severidad</i>	63
5.2.4.3.	<i>Enfermedad total</i>	64
5.2.5.	Estudio de la producción	65
6.	DISCUSIÓN.....	67
6.1.	ENSAYOS DE LABORATORIO	67
6.2.	ENSAYOS DE CAMPO	69
7.	CONCLUSIONES.....	76
8.	BIBLIOGRAFÍA	77

1. RESUMEN

Con 14,8 millones de hectáreas dedicadas a su siembra, el garbanzo constituye en la actualidad un cultivo de especial relevancia a nivel mundial por su elevado valor nutritivo. Castilla y León, con más de 8.000 hectáreas cultivadas, es la segunda mayor productora nacional de garbanzo, de especial importancia en nuestro país al ser la leguminosa más consumida en la dieta española. En concreto, la Indicación Geográfica Protegida “Garbanzo de Fuentesauco”, incluye los garbanzos producidos en el sureste de la provincia de Zamora, los cuales gozan de un importante reconocimiento cultural y agronómico, con excepcionales cualidades organolépticas. En la actualidad, su cultivo se encuentra amenazado por factores como la escasa rentabilidad, la restricción en el uso de fitosanitarios y el ataque de enfermedades. Entre estas últimas, destaca la infección conocida como rabia del garbanzo, ocasionada por el hongo *Ascochyta rabiei*, que afecta a la totalidad de la parte aérea de la planta, dando lugar a importantes mermas en la producción.

El género fúngico *Trichoderma* (Deuteromicota) incluye una serie de especies que han demostrado su capacidad como Agentes de Control Biológico (BCA por sus siglas en inglés), por lo que podrían ser usadas para disminuir la afección y los daños ocasionados por la rabia. En base a experiencias anteriores, se analizó el potencial de la especie *Trichoderma harzianum* con la finalidad de constatar si permitía controlar la enfermedad y minimizar sus efectos negativos en la producción.

En una primera parte del estudio, se examinaron una serie de sustratos provenientes de una planta seleccionadora de semillas, con la finalidad de determinar cuál de ellos producía una mayor cantidad de esporas de *T. harzianum*. Entre las especies evaluadas, la avena fue la que mayor cantidad de esporas produjo. Posteriormente, las esporas producidas masivamente en la avena fueron aplicadas a los garbanzos mediante la técnica de pildorado, para su posterior siembra. En otra parte del ensayo, también se determinó la viabilidad de este formato a lo largo del tiempo, determinando que, tras la segunda semana de aplicarse el tratamiento, esta bajó considerablemente.

En la segunda parte del estudio, se probaron distintos tratamientos en varias parcelas de cultivo de la IGP Garbanzo de Fuentesauco (incluido el pildorado con *T. harzianum*) para observar su efectividad en el control de la rabia y otras enfermedades. También se evaluó su influencia en otras variables relacionadas con el desarrollo de la planta, como la nascencia, la altura y el estado fenológico. Se observó que la inoculación con *T. harzianum* no produjo una menor afectación de rabia respecto a los otros tratamientos, aunque sí mostró cierta eficacia en la menor infección por otras enfermedades, especialmente, durante las primeras semanas tras la siembra.

Por último, se evaluó el efecto del pildorado de *T. harzianum* en la producción del cultivo respecto a los otros dos tratamientos en las mismas parcelas de ensayo. En este caso, sí se observaron incrementos significativos entre las plantas inoculadas con *T. harzianum* respecto a las que no lo estaban, lo que sugiere un elevado impacto de este hongo en el rendimiento del cultivo.

El tratamiento de pildorado con *T. harzianum* no demostró la efectividad de este organismo en el control de la rabia, en consonancia con las escasas investigaciones en condiciones de campo. Tampoco se observaron modificaciones sustanciales importantes en parámetros de crecimiento de las plantas, como la altura o el estado fenológico. Sin embargo, el descubrimiento más relevante fue el importante incremento de la producción registrado en aquellas plantas tratadas con *T. harzianum*, lo que evidenció el potencial bioestimulante de este hongo y su trascendencia para lograr una mayor sostenibilidad de la agricultura. Se confirma, por lo tanto, el provechoso papel de *T. harzianum* para el garbanzo y pone en evidencia la necesidad de seguir investigando para confirmar su efecto a nivel de campo en el rendimiento de *C. arietinum*, así como la necesidad de desarrollar métodos eficaces para el control de la rabia del garbanzo.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. SITUACIÓN AGRÍCOLA ACTUAL

Desde la segunda mitad hasta finales del siglo XX, los rendimientos agrícolas experimentaron en todo el mundo un acelerado crecimiento debido al fenómeno conocido como “Revolución Verde”, liderado por Normal E. Borlaug. Gracias a este fenómeno, se consiguió incrementar hasta un 44 % la producción agrícola entre 1965 y 2021 (Gollin et al., 2021). Sin embargo, en las primeras décadas del siglo XXI, la agricultura se enfrenta a una serie de problemas complejos que aparecen interconectados entre sí, y cuyas implicaciones afectan de forma importante a la soberanía alimentaria mundial. El primero lo constituye la población mundial, pues, de acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas, se estima que esta incrementa en casi 2.000 millones de personas para el año 2050. Con ello, se pasaría de los más de 8.100 millones actuales (Wordlometer, 2024), a los 9.700 millones en el año 2050, pudiendo llegar a alcanzarse el pico en el año 2080 con cerca de 10.400 millones. Con todo ello, se espera que la demanda alimentaria incrementa entre un 35 y un 56 % en el período comprendido entre 2010 y 2050 (Van Dijk et al., 2021). Esta tendencia se da sobre todo en los países en vías de desarrollo, ligándose este aumento demográfico con la mejora en la esperanza de vida y los avances médicos (Zarulli et al., 2021). Estos cambios permiten la supervivencia de la población hasta la edad reproductiva, ocasionando cambios de tendencia en las pirámides demográficas por el mayor número y longevidad de sus habitantes (UNFPA, 2023).

A causa de este aumento en la esperanza de vida, se favorecen los movimientos migratorios, lo que propicia una incipiente urbanización del territorio y el aglutinamiento de la población en las áreas urbanas. Esta concentración de la población ocasiona el progresivo abandono de las áreas rurales (Van Dijk et al, 2021). Como resultado, la disminución de la producción de alimentos a nivel nacional lleva a un aumento de las importaciones para cubrir la demanda interna. Esta creciente dependencia de productos alimentarios extranjeros incrementa el riesgo para la seguridad alimentaria, pues el país queda vulnerable a factores externos (Guo et al., 2023).

A todo lo anterior hay que sumar la globalización y el cambio climático asociado, que, junto con el aumento de las temperaturas, los cambios en los patrones de la precipitación y el incremento de fenómenos climáticos extremos, como sequías e inundaciones, ocasiona una afección negativa sobre las producciones de los cultivos, la disponibilidad de agua y el adecuado estado del suelo (FAO, 2011; OECD, 2015). Esto ocasiona la globalización progresiva de las malas cosechas en varias partes del mundo, a diferencia de lo que ocurría en el pasado, donde estas pérdidas se daban de manera localizada. Por lo tanto, este fenómeno puede llegar a provocar un balance deficitario mundial en la producción de alimentos. A modo de ejemplo, en determinados territorios productores, como Europa, las zonas agrícolas propicias se desplazarán hacia el norte, pudiendo perderse hasta el 17 % de la producción en los entornos del Mediterráneo desde la actualidad hasta el 2050 (IPCC, 2022).

A pesar de que la población tiene una tendencia al incremento, su reparto a lo largo del territorio es desigual según el país en que nos encontremos. En España, desde 1960-1980 se ha producido un fuerte éxodo migratorio de las áreas rurales a las urbanas, que se prolonga en menor medida hasta el día de hoy (Collantes & Pinilla, 2022). Según un estudio del Instituto Nacional de

Estadística (INE), la población rural de España constituía en 2015 el 21,9 % del total (Goerlich & Cantarino, 2015). Otro trabajo elaborado por el MITECO (2021) determinó que, para el año 2020, la población censada en municipios rurales había descendido un 7,1 % en la última década. Al fenómeno de la despoblación va ligado el del envejecimiento y el relevo generacional, que, en el campo, es aún más acusado dados sus limitados márgenes comerciales y la alta inversión inicial para una explotación (Maté et al., 2024).

Junto a los problemas de tipo demográfico y climático, hay que sumar el problema ambiental. La agricultura moderna emplea químicos de síntesis para asegurar el mantenimiento y rentabilidad del cultivo. Estos abarcan desde fertilizantes de todo tipo hasta fitosanitarios que controlan los distintos agentes causantes de la merma en el crecimiento y desarrollo del cultivo (fungicidas, herbicidas, insecticidas, etc.) (Foley et al., 2011; Pokhrel et al., 2022). El uso de estos productos provoca importantes daños medioambientales, como la contaminación del aire y el agua, daños en organismos acuáticos o desarrollo de organismos resistentes (Foley et al., 2011).

A mayores, un estudio de la FAO (2009) expuso que es necesario incrementar las tierras de cultivo a nivel mundial para satisfacer la demanda alimentaria. Este aumento se cifra entre 70 y 120 millones de hectáreas para los países en desarrollo, mientras que en los países desarrollados se producirá el abandono de 50 millones de ha. Estas tierras se ocuparán sobre todo en América Latina y África subsahariana, por lo que se requerirá de la roturación de entornos naturales (FAO, 2009).

Como consecuencia de lo expresado en los apartados anteriores, es importante buscar un modelo agronómico que nos permita gozar de seguridad alimentaria a nivel mundial, asegurando el suministro de alimento saludable y sostenible a toda la población, para cubrir, al menos, las necesidades básicas nutricionales. Para ser sostenible, la agricultura debe satisfacer las necesidades de las generaciones presentes y futuras, garantizando, al mismo tiempo, la rentabilidad, salud ambiental, equidad social y económica (Scown, 2020). Es por ello que, en consonancia con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), se debe promover un modelo agrícola que permita erradicar el hambre el mundo, a la par que se cumplan el resto de los ODS (Madyar, 2021).

Debido a la mayor conciencia y preocupación ambiental, ciertos territorios, como la Unión Europea, han desarrollado una serie de políticas que buscan limitar los químicos de síntesis y minimizar así el daño que puedan provocar sobre el medio ambiente y la población. Este es el Pacto Verde Europeo (*Green Deal*) y, en concreto, la estrategia “De la granja a la mesa”, que en su vertiente de medidas relacionadas con la protección del medio ambiente plantea la disminución de un 20 % en el uso de fertilizantes químicos de síntesis o el incremento de la superficie cultivada en ecológico hasta $\frac{1}{4}$ del total de las tierras cultivables del territorio (Farm to Fork Strategy, 2024). Sin embargo, la puesta en vigor de este tipo de normas, unido a la prohibición de varias materias activas anualmente en consonancia con el RD 1311/2012, hacen que la lucha frente a plagas y enfermedades sea cada vez más complicada, debiéndose buscar formas alternativas para afrontarlo y obtener producciones rentables, como lo pueden ser los bioinóculos, que emergen como una de las posibles soluciones para la reducción de los agroquímicos (Creus, 2017).

2.2. EL GARBANZO

2.2.1. Taxonomía y biología

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es una planta anual diploide perteneciente a la división Magnoliophyta, conocidas habitualmente como angiospermas, y caracterizadas fundamentalmente por la posesión de flores con pétalos que, al fecundarse, dan lugar a los frutos. Dentro de esta división, el garbanzo pertenece a la clase Magnoliopsida, sinónima también de las plantas eudicotiledóneas, aquellas caracterizadas por la emergencia de dos cotiledones al momento de la nascencia. Si seguimos con la jerarquía taxonómica, encontraríamos que el garbanzo pertenece al orden de las Fabales y, más concretamente a la familia de las fabáceas, caracterizadas fundamentalmente por el notable contenido proteico de las semillas de sus plantas. Si seguimos avanzando, veremos que el garbanzo pertenece, a mayores, al género *Cicer*. A modo de resumen y para observar la taxonomía en los diferentes niveles, se adjunta una tabla (**Tabla 1**), en donde se pueden apreciar los diferentes eslabones taxonómicos.

Tabla 1. Taxonomía del garbanzo (*Cicer arietinum*).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Subfamilia	Faboideae
Tribu	Cicereae
Género	<i>Cicer</i>
Especie	<i>Cicer arietinum</i>

Como ya hemos mencionado, el garbanzo se trata de una planta anual diploide, con una altura máxima aproximada de 50 a 60 cm, tallos ramificados y pubescentes, y de disposición erecta o rastrera. Las hojas son pelosas y compuestas, presentando una tipología pseudoimparipinnada, pues el foliolo terminal se encuentra desfasado. Nos encontramos, entonces, con unas hojas de tipo paripinnado, con un número variable de foliolos aserrados que oscila entre 6 y 8 (Del Moral et al., 1994; Echevarría et al., 2019).

Posee flores axilares solitarias, con la morfología típica de las inflorescencias papilionáceas, y con un color blanco o violeta característico de las leguminosas. La reproducción dentro de estas plantas es fundamentalmente autogámica, encontrándose el nivel de alogamia en torno al 1 % (Echevarría et al., 2019). Los frutos resultantes son las vainas, que poseen una forma globosa, puntiaguda y un tacto pubescente. Presentan una forma acortada, con un diámetro de 6 a 12 mm, y un interior que suele albergar 1 o 2 semillas, pudiendo llegar hasta 3 (Del Moral et al., 1994; Echevarría et al., 2019). Estas semillas presentan unas dimensiones medias de entre 8-11 mm de largo y 6-8 mm de ancho, con una forma achatada por los laterales y un ápice con forma de pico por el relieve que constituye la radícula (Almada Ackermann et al., 2016). En función del tamaño y la morfología de la semilla se distinguen tres tipologías de garbanzo, que son: Desi (de pequeño tamaño y color amarillo o negro), Kabuli (tamaño medio a grande y color claro) y Gulabi (de tamaño pequeño, liso y color también claro), constituyéndose el Kabuli como aquel con

mayor tamaño de semilla (Enjamio et al., 2017). A su vez, existen varios ecotipos de la propia planta, siendo uno de ellos el de Fuentesauco, que presenta un tamaño de semilla medio-grande (Junta de Castilla y León, 2019).

En cuanto al sistema radicular, el garbanzo presenta raíces fuertes, desarrollando una estructura profunda que puede llegar a alcanzar los 2 m de profundidad, aunque la mayor parte de las mismas se ubican dentro de los primeros 60 cm (Echevarría et al., 2019). El desarrollo de una raíz profunda por parte de la planta permite a esta resistir mejor las temperaturas extremas y la sequía (Tardío et al., 2022). En lo relativo al sustrato, mencionar que la planta presenta preferencia por aquellos suelos carentes de caliza activa y, si la presenta, la preferencia es que esta no se encuentre en forma de sulfatos (yesos), pues repercuten en la calidad de la semilla (Del Moral et al., 1994; Tardío et al., 2022). Sin embargo, aquellos factores edáficos que pueden mejorar la calidad del garbanzo son el incremento en la fertilidad y la cantidad de potasio asimilable (Del Moral et al., 1994).

Como ya mencionamos anteriormente, el garbanzo se encuentra dentro de la familia Fabaceae (leguminosas), siendo una de las características principales de esta familia la asociación simbiótica con bacterias del género *Rhizobium*. Este género de bacterias infecta las raíces de dichas plantas, formando nódulos en donde son capaces de incorporar el nitrógeno atmosférico (N_2) para transformarlo en un primer proceso en amoníaco (NH_3). Esta forma orgánica sufrirá una serie de transformaciones, las cuales darán lugar a compuestos que podrán ser empleados por la planta (Wagner, 2011). La cantidad de nitrógeno fijada por este tipo de asociación es variable según múltiples factores, como lo pueden ser la presencia previa de bacterias *Rhizobium* en el suelo o las características climáticas de cada año. Según un estudio de López et al. (2010), la fijación de nitrógeno media en el cultivo del garbanzo para la serie de años tomada (2002-2007) fue de unos 40 kg/ha para terrenos sin laboreo, y de 30 kg/ha aplicando laboreo, con años donde llegaron a alcanzarse 80 kg/ha de nitrógeno fijado como máximo. Es por ello por lo que el cultivo de leguminosas se considera beneficioso para el suelo en términos de fertilidad, pues incrementan el contenido de nitrógeno en el suelo, mejoran la estructura del mismo con la fragmentación ocasionada por sus raíces, y contribuyen al mantenimiento de la materia orgánica del suelo (López et al., 2010).

2.2.2. Cultivo y producción

2.2.2.1. Fases del cultivo

En lo relativo al garbanzo, al igual que el resto de leguminosas, suele ir en alternativa después de la implantación de un cereal. Por esto, en un primer momento, se suele ejecutar una labor de **alzado** del terreno a profundidades medias de entre 20 y 30 cm, seguida de una serie de pases de grada o cultivador para dejar el suelo suelto y sin terrones. A pesar de que se pueden usar la vertedera o la grada de discos para esta labor, se pueden emplear también el Chísel y el Kongskilde, que perjudican menos a la estructura del suelo, rompen menor cantidad de agregados y no dejan suela de labor. En la última operación, sobre todo de cara a mejorar la facilidad y efectividad en la aplicación del herbicida o la siembra, es conveniente el pase de una rastra de púas para dejar liso el suelo (Govantes & Montañés, 1982; Del Moral et al., 1994).

Tras la preparación del terreno se realizaría la labor de **abonado** en sementera. Sin embargo, esta no es una práctica habitual en España, pues no se acostumbra a abonar los cultivos de leguminosa. A pesar de ello, sería interesante el aporte en sementera de nutrientes como el K y el P, pues la planta no genera cantidades suficientes para su abastecimiento como sí ocurre con el nitrógeno (Govantes & Montañés, 1982; Del Moral et al., 1994). Seguidamente, va la **siembra**, cuyo momento varía según la región geográfica en la que nos encontremos. En España se alternan fundamentalmente dos:

- **Andalucía:** en función del material vegetal y la localidad se puede elegir una fecha de siembra entre mediados de noviembre y mediados de marzo (Nadal et al., 2017).
- **Mesetas (Castilla y León, fundamentalmente):** primavera algo más avanzada (meses de marzo y abril) (Sodebur, 2019).

En cuanto a la forma de siembra, en la actualidad, la mayor parte de se lleva a cabo de forma mecanizada, empleando sembradoras con un espaciamiento de 40 a 70 cm entre líneas de planta y separación en la línea variable según la densidad deseada, que suele oscilar entre 30 – 40 plantas/m² (Sodebur, 2019). Para ello, se pueden emplear sembradoras tradicionales a chorrillo o sembradora monograno, que distribuyen uniformemente la semilla según la separación configurada. En caso de que tras la siembra se produjera costra en el terreno, sería conveniente un pase de escarificador que lo destruya (Nadal et al., 2017).

De manera anterior o posterior a la siembra, pueden **aplicarse los tratamientos fitosanitarios** (Del Moral et al., 1994). De acuerdo a los principios de manejo integrado, previo a la aplicación de químicos, deberá optarse preferentemente por medidas alternativas como las rotaciones, labores culturales o control biológico (Nadal, 2017). Para el caso de España, se deberá consultar el Registro Oficial de Productos Fitosanitarios en su versión más reciente con el fin de aplicar únicamente materias activas autorizadas, empleándose a las dosis estipuladas por el fabricante en consonancia con el RD 1311/2012. Por ejemplo, a fecha de 23/08/2024, materias activas como la pendimetalina y el prosulfocarb están autorizadas como herbicidas, mientras que el deltametrin o el Tau-fluvalinato se pueden usar como insecticidas (Registro de Productos Fitosanitarios, 2024).

Por último, tendríamos la operación de la **cosecha**, que se hace mayoritariamente de forma mecanizada, mediante una cosechadora de cereal adaptada para la recolección de los garbanzos. Se debe tener en cuenta, a su vez, que la dehiscencia de las vainas maduras en las leguminosas es causa de mermas relevantes en la cosecha, por lo que técnicas como la cosecha a horas tempranas con alta humedad ambiental favorece evitar estos problemas (Govantes & Montañés, 1982; Del Moral et al. 1994).

2.2.2.2. Datos del cultivo del garbanzo

Con el fin de conocer la importancia del cultivo del garbanzo a nivel mundial, se analizarán los datos que permiten conocer la situación del mismo en los diferentes territorios contemplados. Se examinarán los datos relativos a la producción y superficie mundiales a través de FAOSTAT (Estadística de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) con la información más reciente, así como datos de la Unión Europea, a través del EUROSTAT, y de España, a través de los datos más recientes del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación

(MAPA). Por último, y dado el ámbito territorial que nos concierne, se tendrán en cuenta los datos de la Comunidad Autónoma de Castilla y León, que extraeremos también del MAPA.

- **Nivel mundial:**

En primer lugar, se analizará la producción a nivel mundial para hacernos una idea de los países con mayores cifras. Para ello, se utiliza la gráfica mostrada en la **Figura 1**, elaborada a partir de los datos existentes en la FAO. Para el año 2022 en el mundo se producían algo más de 18 millones de toneladas de garbanzo, de las cuales, el 75 % (13,5 millones de toneladas de grano) se producían en la India. Este dato refleja la importancia de dicha legumbre en la dieta nacional, por su alto aporte proteico (ICEX, 2022). Tras la India se encuentran Australia, con más de un millón de toneladas, y Turquía, con 588.000 toneladas. El resto de principales productores se reparten por el Próximo Oriente y Norteamérica, con la excepción de Myanmar y Rusia. En cuanto a la Unión Europea, no se han encontrado datos para el año 2022, pues en la FAOSTAT (2022) solo figuran los datos de Portugal. A modo de aproximación, el año más reciente de los datos es el 2017, en el cual la UE de los 27 producía unas 144.000 toneladas de garbanzo seco, ocupando el duodécimo puesto. Entonces la producción mundial era de 15,1 millones de toneladas, pero la India producía poco más de 9 millones de toneladas y Australia, unos 2 millones.



Figura 1. Principales productores de garbanzo en el mundo. Expresado en miles de toneladas.

Fuente: elaboración propia a partir de los datos de FAOSTAT (2022)

A continuación, se expone una gráfica de la superficie cultivada en los diferentes países del mundo (**Figura 2**). La superficie cultivada total mundial en 2022 fue de 14,8 millones de hectáreas, ocupando la India el primer puesto en superficie cultivada del garbanzo (con unos 10,7 millones de ha). Seguidamente nos encontramos a Pakistán que con unas 860.000 hectáreas evidencia los bajos rendimientos del cultivo en el país, pues ocupaba el séptimo puesto en producción. En cuanto a la Unión Europea, nos encontramos en el mismo supuesto que el caso anterior, ocupando para 2017 el décimo puesto en cuanto a superficie, lo que suponía casi 110.000 ha. Entonces la superficie de cultivo se encontraba muy parecida a la actual, con 14,57 millones de ha, pero repartidas de forma diferente: Australia ocupaba el segundo puesto con más de un millón de hectáreas cultivadas, seguida de Pakistán (algo más de 971.000 ha). Se puede decir, entonces, que existe, en la mayoría de los países, un descenso generalizado de la producción en dicho período, que en total no ha disminuido apenas al haber asumido India buena parte de la que han perdido otros países (9,62 millones de hectáreas cultivadas en 2017).

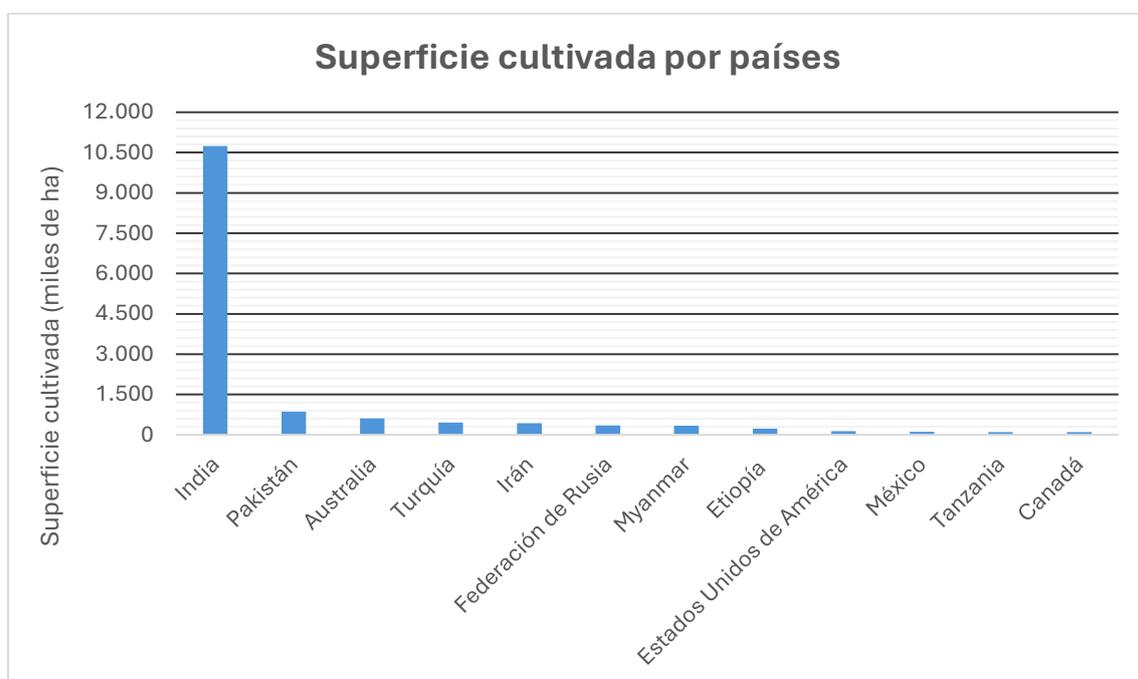


Figura 2. Principales países del mundo en el cultivo del garbanzo por superficie cultivada. Expresado en miles de ha. Fuente: elaboración propia a partir de los datos de FAOSTAT (2022).

- **Nivel Unión Europea:**

Cambiando la unidad territorial dentro de los datos de la FAO, si nos centramos únicamente en la Unión Europea (UE), como hemos visto en las figuras anteriores, esta no ocupa una postura relevante a nivel mundial, sobre todo comparada con los principales productores. Observando la evolución de la producción desde el año 2000 hasta el último del que se tienen registros (2017), observamos que esta experimentó un importante descenso entre el año 2000 (66.553 toneladas de grano) hasta el 2005 (25.538 toneladas de grano seco). Después de esto, el cultivo tuvo un ascenso muy leve hasta el 2012, momento en que se produjo un incremento de la producción, alcanzándose el pico en el último año de la serie (143.254 toneladas). En lo relativo

a la superficie, la tendencia es muy similar, partiendo de 91.578 ha el año 2000, con un mínimo de 35.739 ha en 2006 hasta las 109.010 ha del 2017.

Si profundizamos en los principales productores de la UE, España ocupa el primer puesto, con una producción cercana a las 56.500 toneladas, seguida por Italia (33.541 toneladas), Bulgaria (32.383 toneladas) y Grecia (17.125 toneladas). Teniendo en cuenta que la producción total es de poco más de 143.000 toneladas, España produce cerca del 40 % del total y, si sumamos los cuatro países mencionados, el restante produce menos del 2 % de la producción total, por lo que podríamos deducir que son los países del Mediterráneo y sus alrededores, los hegemónicos productores. En cuanto a la superficie, España es el principal cultivador, con casi la mitad del total (51.856 de 109.010 ha totales); seguido de Bulgaria (22.564 ha); Italia (20.025 ha) y Grecia (11.026 ha) (FAO, 2017).

- **Nivel España:**

Se procede a comentar el panorama nacional, para comprender el lugar que ocupa el garbanzo en la agricultura del país. Para ello, se presenta en la **Tabla 2** un resumen que muestra la superficie, rendimiento y producción del total de las leguminosas en grano, donde se puede observar que, con 43.226 hectáreas sumando secano y regadío, el garbanzo es el tercer cultivo prioritario dentro de las leguminosas en grano. Este supone el 12 % de las mismas y es superado únicamente por leguminosas de tipo forrajero, como el guisante o la veza (MAPA, 2022).

Tabla 2. Resumen nacional de superficie, rendimiento y producción de leguminosas en grano, 2022.

Cultivos	Superficie (hectáreas)			Rendimiento (kg/ha)		Producción (toneladas)	
	(hectáreas)			(kg/ha)		Grano	Paja cosechada
	Secano	Regadío	Total	Secano	Regadío		
Judías secas en cultivo único	2.451	4.487	6.938	1.529	1.890	12.226	1.511
Judías secas asociadas a maíz	1.076	55	1.131	1.442	1.392	1.628	598
JUDÍAS SECAS TOTAL	3.527	4.542	8.069	1.502	1.884	13.854	2.109
Habas secas para consumo animal	15.099	2.850	17.949	967	1.857	19.901	8.283
Habas secas para consumo humano	168	56	224	691	2.874	277	168
HABAS SECAS TOTAL	15.267	2.906	18.173	964	1.877	20.178	8.451
LENTEJAS	39.293	1.193	40.486	597	1.659	25.448	3.861
GARBANZOS	32.806	3.270	36.076	811	1.471	31.403	6.540
Guisantes secos para consumo animal	104.364	18.109	122.473	928	1.989	132.878	26.646
Guisantes secos para consumo humano	24	15	39	787	1.433	41	20
GUISANTES SECOS TOTAL	104.388	18.124	122.512	928	1.989	132.919	26.666
VEZA	70.278	6.690	76.968	658	1.664	57.370	19.334
ALTRAMUZ	2.423	279	2.702	728	1.320	2.131	74
ALMORTAS	932	50	982	771	1.509	796	176
ALHOLVA	52	36	88	956	1.174	92	-
ALGARROBAS	1.104	57	1.161	655	1.035	782	240
YEROS	46.862	1.462	48.324	751	1.716	37.715	4.428
OTRAS LEGUMINOSAS GRANO	5.897	336	6.233	911	2.105	6.082	1.101
TOTAL LEGUMINOSAS	322.829	38.945	361.774	-	-	328.770	72.980

Fuente: MAPA (2022)

En lo relativo a la producción del garbanzo, al igual que el resto de las leguminosas, esta ha ido disminuyendo paulatinamente desde mediados del siglo pasado. Concretamente, las leguminosas en grano disminuyeron en unas 530.000 has en el período comprendido entre 1963 y 2013, requiriendo de la importación de cantidades muy superiores a las producidas, con la finalidad de suplir el déficit interno para abastecer al mercado (González-Bernal et al., 2016). Para la última década disponible de datos, se puede observar que la superficie disminuye entre 2011 (cerca de 550.000 ha) y 2021 (poco más de 350.000 ha), con leves recuperaciones intermedias según el valor de mercado de las leguminosas en ese momento (**Figura 3**) (MAPA, 2022).

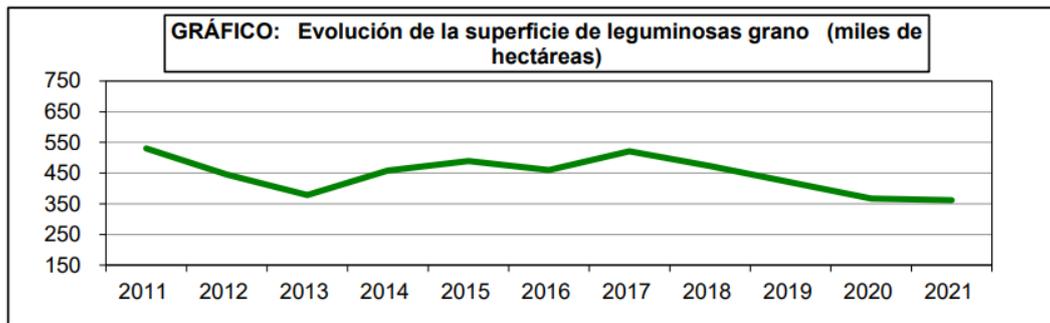


Figura 3. Evolución de la superficie de leguminosas en grano (miles de hectáreas) para el período 2011-2021.
Fuente: MAPA (2022).

Si nos centramos en un contexto más actual, los datos de la **Figura 4** representan las diferentes superficies ocupadas por el cultivo del garbanzo en la serie entre 2011 y 2021. La superficie ha disminuido mucho si lo comparamos con los datos de 1996, encontrándose esta para 2011 cerca de 36.000 ha, mientras que en 2021 la misma era de algo más de 43.000 ha. Se aprecia, sin embargo, un crecimiento desde 2013, que alcanza su pico en 2018, debido a los altos precios alcanzados por la legumbre (MAPA, 2022), para luego volver a disminuir en 2020, donde se incrementa levemente hasta la superficie mencionada para 2021, decayendo de nuevo a 36.076 ha para 2022.

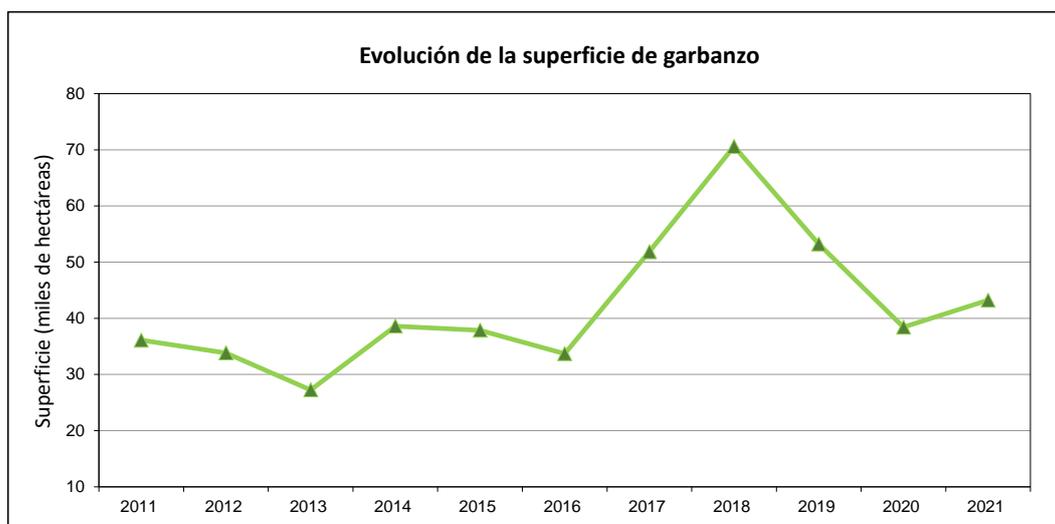


Figura 4. Evolución de la superficie del garbanzo para la serie 2011-2021, expresado en miles de hectáreas.
Fuente: MAPA (2022)

Por último, dentro del panorama nacional, se analizarán cuáles son los principales territorios productores de la legumbre en cuestión. Para ello, se volverá a recurrir al anuario del MAPA, con los datos más recientes, correspondientes a 2022. Con dichos datos se elabora la **Tabla 3**, mostrada a continuación:

Tabla 3. Análisis por comunidades autónomas de superficie, rendimiento y producción para el año 2022.

Comunidad Autónoma	Superficie (hectáreas)			Rendimiento		Producción de grano (toneladas)	Paja cosechada (toneladas)
	Secano	Regadío	Total	Secano	Regadío		
Galicia	13	3	16	885	1.150	15	-
P. de Asturias	-	-	-	-	-	-	-
Cantabria	-	-	-	-	-	-	-
País Vasco	118	-	118	1.397	-	165	-
Navarra	48	49	97	1.199	1.102	112	-
La Rioja	20	5	25	1.200	1.600	32	8
Aragón	49	42	91	847	2.200	134	22
Cataluña	334	48	382	802	1.461	339	-
Islas Baleares	308	-	308	400	-	123	86
Castilla y León	7 714	377	8.091	517	1.509	4.387	1.056
Madrid	648	29	677	711	1.506	504	555
Castilla-La Mancha	3.514	248	3.762	574	1.185	2.310	197
C. Valenciana	5	10	15	716	1.200	16	1
R. de Murcia	37	21	58	1.190	2.200	90	16
Extremadura	2.438	208	2.646	1.458	1.617	3.890	-
Andalucía	17.546	2.229	19.775	902	1.547	19.275	4.599
Islas Canarias	14	1	15	692	1 000	11	-
España	32.806	3.270	36.076	811	1.471	31.403	6.540

Fuente: elaboración propia a partir de los datos del MAPA (2022).

De acuerdo con los datos mostrados en la **Tabla 3**, correspondientes al ejercicio del año 2022, el mayor productor de garbanzo lo constituye la comunidad autónoma de Andalucía, con un 61,4 % (19 275 toneladas) de la producción. Le siguen Castilla y León y Castilla-La Mancha, sumando entre las tres casi un 88 % del total de la producción nacional. En cuanto a la superficie cultivada, Andalucía se encuentra primera con un 54,81 % del total de la superficie cultivada, seguida de Castilla y León y Extremadura, ocupando Castilla-La Mancha el cuarto puesto (MAPA, 2024).

- **Nivel Castilla y León:**

Acudiendo a los datos autonómicos del año 2022, plasmados en la **Tabla 4**, en cuanto a productores, los 3 líderes son Valladolid (1.249 toneladas de grano), Salamanca (1.067 toneladas) y Zamora (961 toneladas). Estos acaparan casi tres cuartas partes del total de producción de esta legumbre en la comunidad (MAPA, 2022). En cuanto a superficie, Valladolid sigue siendo la provincia que ocupa el primer lugar, con 2.498 ha, seguida de Zamora (1.736 ha) y Salamanca (1.715 ha), explicándose esto por los menores rendimientos obtenidos en territorio zamorano.

Tabla 4. Análisis por provincias de Castilla y León en cuanto a superficie, rendimiento y producción para el año 2022.

Provincia	Superficie (hectáreas)			Rendimiento		Producción de grano (toneladas)	Paja cosechada (toneladas)
	Secano	Regadío	Total	Secano	Regadío		
Ávila	172	6	178	287	1.355	57	-
Burgos	626	-	626	500	-	313	94
León	352	61	413	340	1.200	193	68
Palencia	253	15	268	500	800	139	-
Salamanca	1.640	75	1.715	600	1.100	1.067	427
Segovia	457	35	492	700	1.100	358	179
Soria	165	-	165	301	-	50	-
Valladolid	2.498	-	2.498	500	-	1.249	-
Zamora	1.551	185	1.736	500	1.000	961	288
Castilla y León	7.714	377	8.091	517	1.059	4.387	1.056

Fuente: elaboración propia a partir de los datos del MAPA (2022).

2.2.2.3. Importancia económica y nutricional

- **Importancia económica:**

Diversos estudios apuntan a que, en base a los yacimientos encontrados en las actuales regiones del sureste de Turquía y noroeste de Siria, el origen inicial del garbanzo se puede fijar en el Creciente Fértil, concretamente en la zona sureste de Turquía, donde comenzó paulatinamente su domesticación. Este cultivo fue, junto a otros (trigo, cebada, centeno, guisantes, lentejas, lino y veza), uno de los pioneros en domesticarse conjuntamente para satisfacer las necesidades nutricionales en los primeros instantes de la agricultura, así en conjunto con animales como las ovejas, cabras, cerdos y vacuno. Posteriormente, se fue expandiendo hacia el oeste en consonancia con los movimientos migratorios y la expansión de la agricultura. Desde entonces hasta nuestros días, el cultivo se ha perpetuado, surgiendo múltiples variedades y ecotipos adaptados a cada una de las zonas de cultivo en las que se ha ido implantando (Redden & Berger, 2007; Almada Ackermann et al., 2016).

Una vez mencionados los probables orígenes de la leguminosa y la situación de su producción, es importante conocer la dimensión económica que ocupa dicho cultivo a nivel mundial. Para ello, recurriremos a los datos más recientes expuestos en la FAO (FAOSTAT, 2022), mostrándose en la **Figura 5** la producción bruta (en millones de dólares) de los diferentes países líderes. Si nos fijamos en la gráfica, el país con mayor valor de la producción en 2022 fue Irán, cuya producción bruta alcanzó casi los 1.465 millones de dólares, seguida de Turquía (518,32 millones de \$) y países de Norteamérica como México (149,69 millones de \$) y Estados Unidos (122,91 millones de \$). La Unión Europea ocupó el octavo lugar, apenas visible en la gráfica, con una producción bruta de 3,22 millones de \$.

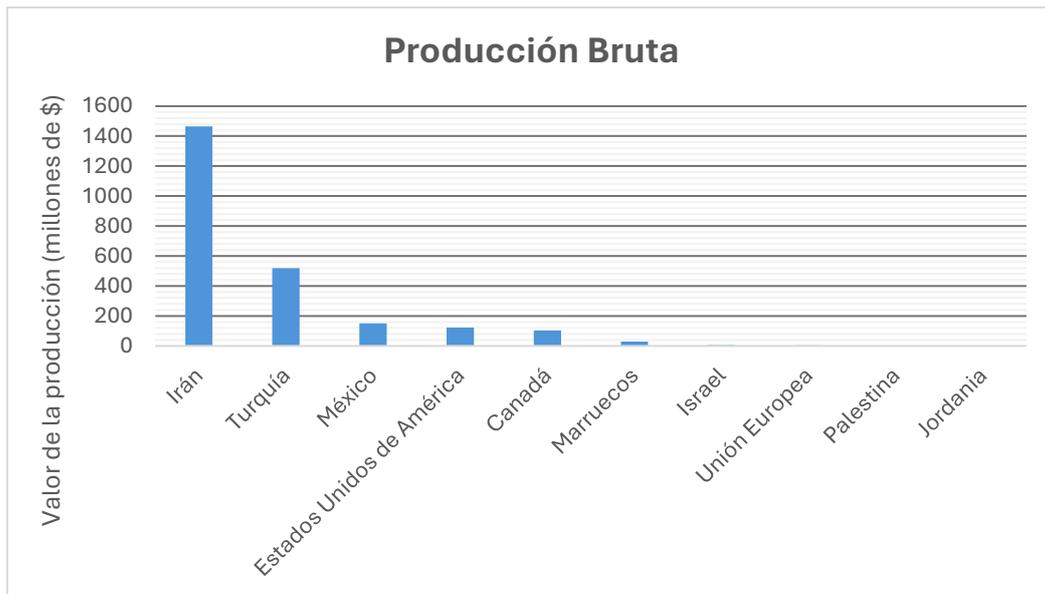


Figura 5. Principales productores brutos de garbanzo en el mundo. Expresado en millones de dólares.
Fuente: elaboración propia a partir de los datos de FAOSTAT (2022).

Otra forma de valorar la importancia económica de un cultivo es observando el comercio que se hace con el mismo. Esto se pudo observar mediante el valor de importaciones y exportaciones de dicho producto. Recurriendo a los datos de la FAO, se ha elaborado la **Figura 6**, en donde se muestran las exportaciones para el garbanzo. Dicho gráfico se muestra a continuación:

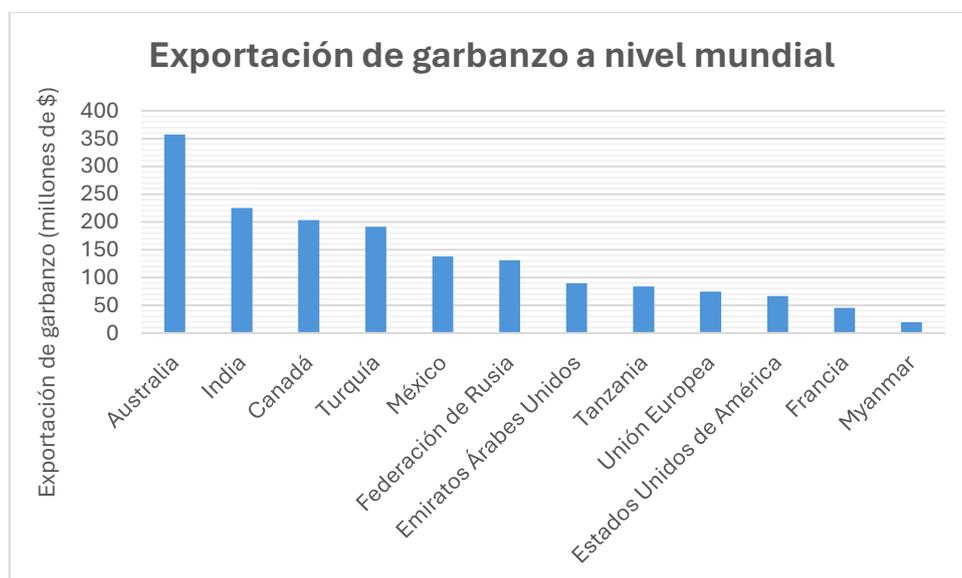


Figura 6. Principales países exportadores de garbanzo a nivel mundial. Expresado en millones de dólares.
Fuente: elaboración propia a partir de los datos de FAOSTAT (2022).

Como se puede observar en el gráfico de la **Figura 6**, para el año 2022, el país que se erigió como principal exportador de garbanzo a nivel mundial fue Australia, con un valor de exportación de 357,4 millones de \$, seguido de la India (225 millones de \$) y Canadá (203,3 millones de \$). Podemos ver que la Unión Europea se posicionó como noveno exportador (74,6 millones de \$), por delante de los Estados Unidos de América.

Una vez presentadas las exportaciones, se pasó a tratar las importaciones, desvelándose de esta manera qué países son deficitarios en la producción del cultivo (**Figura 7**):

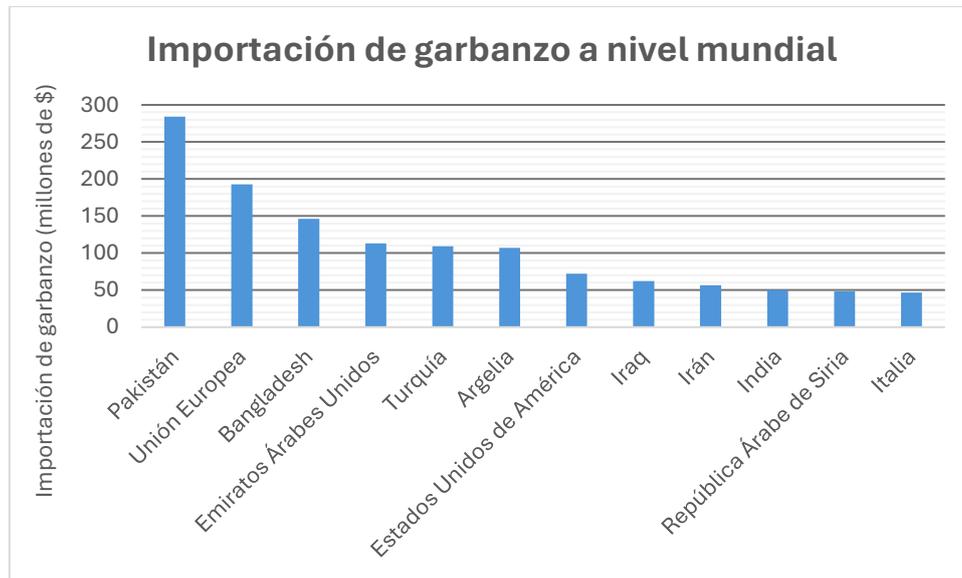


Figura 7. Principales países importadores de garbanzo a nivel mundial. Expresado en millones de dólares.
Fuente: elaboración propia a partir de los datos de FAOSTAT (2022)

Atendiendo al gráfico de la **Figura 7**, se ve que Pakistán lideró en 2022 la importación de garbanzos a nivel mundial con más de 284 millones de \$, siguiéndole la Unión Europea (193,01 millones de \$) y Bangladesh (146,25 millones de \$). Si se avanza en la clasificación, en el puesto 12º se encontró Italia, con importaciones por valor de 46,55 millones de \$, e incluso a España en el quinceavo puesto (43.297 millones de \$). Esto último se respalda con el estudio de González-Bernal et al. (2016), donde se expresa que tanto España como Europa son potencias importadoras de legumbres ante el claro déficit de producción interna.

- **Importancia nutricional:**

De acuerdo con el Informe de Consumo Alimentario más actualizado, el garbanzo constituye en España la legumbre más consumida, con una ingesta media per cápita de 1,41 kg en el año 2023, creciendo ligeramente respecto al ejercicio anterior (2022). Se destaca el incremento del precio medio de los garbanzos, que asciende a 2,03 €/kg (MAPA, 2024).

En lo relativo a su valor nutricional, el garbanzo es un gran alimento, al formar parte de la dieta mediterránea, pues contiene polisacáridos complejos, como aporte de hidratos de carbono, proteínas en una proporción aceptable y una cantidad saludable de fibra, que tiene capacidad saciante y carácter regulador a nivel del sistema digestivo (Murty et al., 2010; Wang et al., 2021). De acuerdo con la Fundación Española de la Nutrición (FEN), el valor energético de 100 g de garbanzos (en peso seco) es de 373 kcal, con 19,4 g de proteínas; 5,00 g de grasas totales; 55 g de hidratos de carbono y 15 g de fibra alimentaria.

2.2.3. El garbanzo de Fuentesauco (IGP)

Tanto la Denominación de Origen Protegida (DOP), como la Indicación Geográfica Protegida (IGP), son una herramienta que emplea la Unión Europea para reconocer la calidad diferenciada de productos agrícolas y alimenticios, ayudando a resaltar sus cualidades y las tradiciones asociadas con ellos. De esta forma, los consumidores pueden reconocer fácilmente la certificación y calidad de su reputación original (ITACyL, 2024). Los productos con IGP “poseen alguna cualidad determinada o reputación u otra característica que pueda atribuirse a un origen geográfico y cuya producción, transformación o elaboración se realice en la zona geográfica delimitada de la que también toma su nombre” (ITACyL, 2024). Hace pocos meses se aprobó el Reglamento (UE) 2024/1143 del Parlamento Europeo y del Consejo, donde se recogen, entre otras, las Indicaciones Geográficas para productos agrícolas, modificando los Reglamentos (UE) nº 1308/2013, (UE) 2019/787 y (UE) 2019/1753, y derogándose el Reglamento (UE) nº 1151/2012.

La IGP Garbanzo de Fuentesauco fue oficialmente certificada por el Reglamento (CE) nº 1485/2007, que en base al Reglamento (CE) nº 510/2006 inscribe ciertas denominaciones de origen en el Registro de Denominaciones de Origen Protegidas y de Indicaciones Geográficas Protegidas. Esta IGP se concede a las semillas de la especie *Cicer arietinum* var. *macrocarpum*, ecotipo “Fuentesauco”, destinadas a consumo humano y producidas a grandes rasgos dentro de la comarca agrícola de La Guareña, ubicada en el sureste de la provincia de Zamora, en la Comunidad Autónoma de Castilla y León (Junta de Castilla y León, 2019). En la actualidad, dentro de la IGP únicamente se cultiva la variedad comercial Cuaiz, distribuida al menos desde el siglo XVI, y proveniente de la selección de una variedad local conservada en el Centro de Recursos Fitogenéticos (INIA-CSIC). Su registro fue solicitado por el ITACyL (Tardío et al., 2022).

En lo relativo a sus **características**, el Garbanzo de Fuentesauco posee un tamaño medio a grande, con una coloración cremosa o apagada, pico curvo y pronunciado, con piel de rugosidad intermedia. Después de cocerse, los garbanzos se mantienen enteros, manifestándose la piel blanda y suave, presentando un albumen mantecoso y uniforme. Una vez en boca, el sabor proporcionado es muy agradable (Tardío et al., 2022).

El ecotipo “Fuentesauco” lo integran una serie de individuos con amplio bagaje histórico en su comarca de origen, los cuales se encuentran adaptados a las condiciones del lugar en el que se han desarrollado. Presentan una serie de diferencias morfológicas y fisiológicas en su desarrollo debidas al propio medio, y reciben por ello como sobrenombre la zona geográfica de su cultivo. Se trata de un cultivo de secano con producciones modestas pero que, en consonancia con las características edafoclimáticas del lugar, es poco exigente. Son los característicos rigores climáticos del entorno, entre otros, los contrastes diurnos y nocturnos de temperatura durante su desarrollo y maduración, los que ocasionan las características organolépticas del garbanzo (Junta de Castilla y León, 2019; Tardío et al., 2022).

Por último, se ha de mencionar que todo garbanzo comercializado con la IGP “Garbanzo de Fuentesauco” deberá venir envasado en recipientes cerrados e identificados con el sello que se muestra en la **Figura 8**, el cual deberá impedir su reutilización para certificar el origen (Junta de Castilla y León, 2019).



Figura 8. Logotipo de la Indicación Geográfica Protegida (IGP) “Garbanzo de Fuentesauco”.

Fuente: ITACyL (2024).

2.3. LA RABIA DEL GARBANZO (*Ascochyta rabiei*)

“La rabia” del cultivo del garbanzo es el nombre de una enfermedad producida por el desarrollo parasitario del hongo *Ascochyta rabiei*. La importancia de la enfermedad es primordial, coincidente con la distribución del garbanzo en las distintas partes del mundo, y pudiendo llegar a ocasionar pérdidas del 10 al 100% de la cosecha (Knights & Hobson, 2016; Sharma & Ghosh, 2016).

2.3.1. El agente causante y su desarrollo

A. rabiei es el nombre de la fase asexual (o anamorfa) del hongo, que puede presentar también forma sexual o teleomorfa (*Didymella rabiei*). Se trata de un organismo haploide, heterotálico y perteneciente a la división Ascomycota, siendo este el causante de la rabia o tizón del garbanzo. Se trata de un hongo necrotrofo, que causa la muerte del tejido hospedante y tiene la capacidad de sobrevivir en los tejidos muertos, lo que deriva en problemas para la producción del garbanzo (Singh et al., 2022).

La forma sexual del hongo, situada en los restos de las cosechas enfermas, está constituido por una serie de cuerpos globosos (75 – 150 x 120 - 250 μm de diámetro) dentro de los cuales se encuentran las ascas, con 8 ascosporas irregulares de forma elipsoidal (12,5-19 x 6,7-7,6 μm) (Del Moral et al., 1995). Para que se produzca la reproducción sexual del hongo, es necesario el emparejamiento de dos talos de signo contrario (MAT1-1 y MAT1-2), los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en la mayor parte de las áreas de cultivo del garbanzo (Singh et al., 2022).

En lo relativo a la fase imperfecta, produce unos corpúsculos de color negro más o menos esféricos (65-245 μm), que afloran en las manchas de los órganos afectados por la enfermedad (picnidios), y con forma de pera, en cuyo interior se encuentran esporas que miden de 6-12 μm de largo por 4-6 μm de ancho (**Figura 9**). Estas pueden ser unicelulares o, más raramente, bicelulares, encontrándose inmersas en un medio mucilaginoso (Del Moral et al., 1995; Pande et al., 2005).

2.3.2. Ciclo biológico

A. rabiei muestra, en su ciclo biológico, tanto el desarrollo anamorfo como teleomorfo en diferentes fases. Como se mencionó antes, la forma sexual *D. rabiei* se desarrolla cuando existen talos de signo contrario en los restos de cosecha durante el invierno (con condiciones de alta humedad y baja temperatura, en torno a 5–10 °C). La fusión de ambas partes conduce a la formación del cuerpo fructificación sexual, denominado pseudotecio, inmerso inicialmente en el tejido del hospedante. El pseudotecio maduro produce numerosas ascas de forma cilíndrica o alargada. Cada asca da lugar a 8 esporas, que, bajo condiciones de humedad, provoca la descarga de estas ascosporas en el aire (Singh et al., 2022). En lo relativo a su forma anamorfa, los picnidios producen un elevado número de esporas asexuales o conidios (Singh et al., 2022).

La progresión de la enfermedad provocada por *A. rabiei* combina los estadios sexuales y asexuales de la siguiente forma: (i) los conidios dispersados a través del aire infectan la planta del garbanzo (ii) mediante la deposición de los mismos en la superficie de las hojas de garbanzo, (iii) comenzando estos a germinar y a formar unas estructuras denominadas “apresorios”, en las puntas de las hifas. (iv) Estos apresorios atraviesan la epidermis e (v) invaden los tejidos subepidérmicos. (vi) En un estadio posterior, se forman los picnidios, que dispersan sus esporas gracias a las gotas de lluvia. (vii) Durante el ciclo sexual, debido a la combinación de individuos de diferente signo, se forma una estructura especializada (pseudotecio) en la planta infectada bajo condiciones húmedas y frías, propias del invierno. Esta formación posee una estructura cóncava con una parte interna fértil (himenio), la cual posee una abertura estrecha denominada “ostiolo”. (viii) El himenio da lugar a las ascas, cada una de las cuales contiene 8 ascosporas. (ix) En primavera, el pseudotecio descarga con fuerza las ascosporas, las cuales pueden ser transportadas por el viento a distancias de más de 10 km. El ciclo biológico de *A. rabiei* se muestra en la **Figura 9** (Singh et al, 2022).

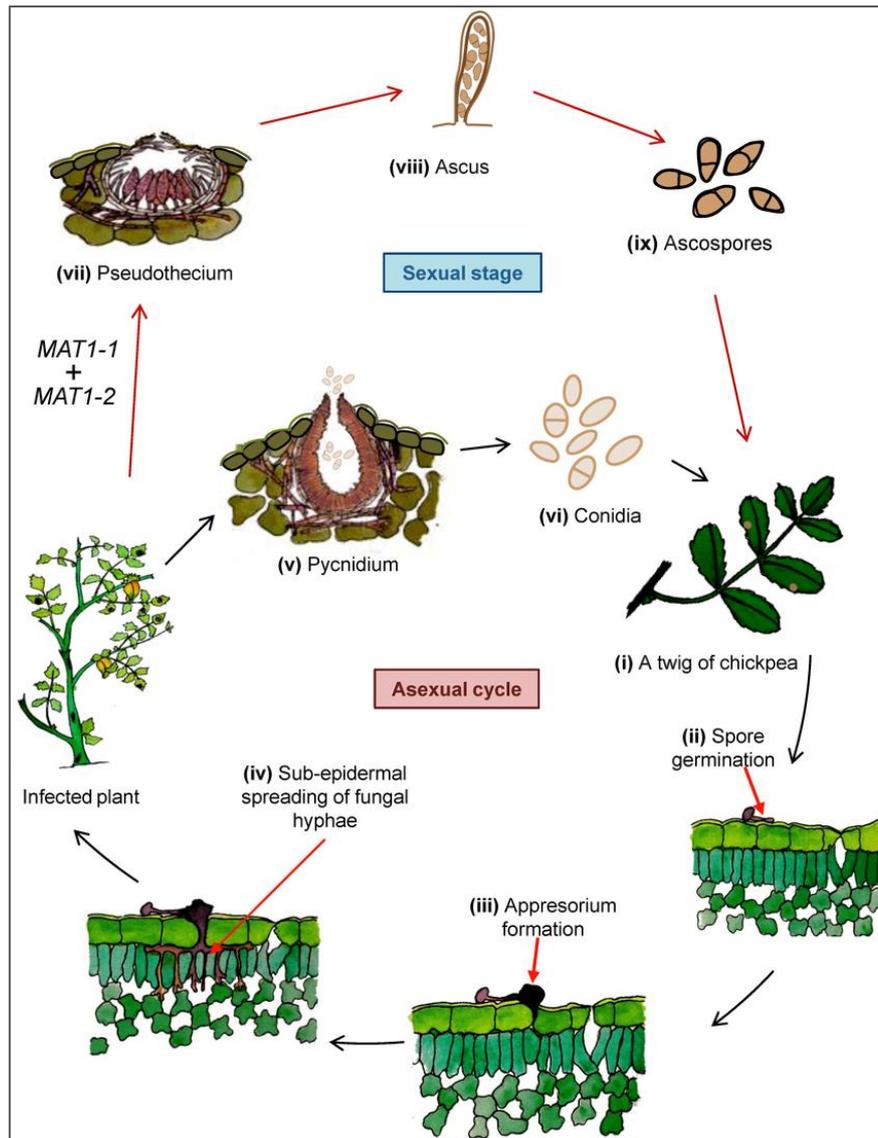


Figura 9. Progresión de la enfermedad causada por *A. rabiei*: fases de desarrollo sexual y asexual del ciclo biológico.
Fuente: Singh et al. (2022).

2.3.3. Síntomas e infección

Los síntomas de la rabia pueden desarrollarse en todas las partes aéreas de la planta. Las semillas infectadas desarrollan lesiones marrones en las plántulas emergidas, cuyo tamaño aumenta paulatinamente. Estas lesiones pueden afectar a hojas, tallos y frutos de los garbanzos enfermos, en los cuales aparecen manchas necróticas circulares u oblongas (**Figura 10**), y en cuyo centro pueden apreciarse picnidios del hongo. Según va aumentando la virulencia de la enfermedad o sensibilidad de la variedad, aumenta también la severidad, tronchándose los tallos lesionados o dando lugar a la muerte de las plántulas (Del Moral et al., 1995; Pande et al., 2005).



Figura 10. Lesiones causadas por *A. rabiei* en hojas (a), tallos (b), vainas (c) y rotura de tallos (d) de *C. arrietinum*.
Fuente: elaboración propia.

Lo normal es que los primeros focos de la enfermedad se desarrollen en plantas aisladas que, al cabo de unas semanas, se extienden, dando lugar a rodales con plantas totalmente muertas y con una separación media de 20-30 m (Del Moral et al, 1995). Esta dispersión está mediada por las condiciones climáticas, siendo la temperatura y la humedad las más importantes. Para el desarrollo de síntomas, la temperatura óptima es de 20 °C, y se requiere un mojado foliar de entre 4–8 h (Manjunatha et al., 2018). Bajo condiciones altamente conductivas (5-30 °C, con alta humedad relativa >95% y 10 h o más de mojado), las lesiones incrementan su tamaño y el hongo es capaz de dispersarse mediante conidios (Pande et al., 2005; Khaliq et al., 2020).

A pesar de que la infección se puede dar en cualquier momento, ésta es más frecuente durante la floración y hasta el crecimiento temprano de los frutos. La dispersión aérea de los conidios y ascosporas ocasiona la propagación en las hojas jóvenes, produciendo pequeñas lesiones que rápidamente se van agrandando. Esta infección también puede producirse por las salpicaduras del agua dentro de la misma planta, infectándose indistintamente tallos, hojas, peciolo, etc. El desarrollo de los picnidios en anillos concéntricos dentro de las lesiones es una característica de la enfermedad (Pande et al., 2005).

2.3.4. Medidas para combatir la enfermedad

A continuación, se muestran algunos de los métodos existentes para el control de la enfermedad, que varían desde los cuidados culturales, el control químico o la selección genética (Manjunatha et al., 2018). Dentro de estos encontramos:

- **Selección de cultivares:** a pesar de la existencia de cultivares moderadamente resistentes, ninguno presenta un mecanismo lo suficientemente eficaz para tolerar la infección. Esto se explica por la amplia variabilidad que presenta el patógeno para desarrollar genes virulentos, sobre todo debido a la reproducción sexual del mismo (Sharma & Ghosh, 2016).

- **Tratamiento de la semilla:** pueden emplearse diversos tratamientos fungicidas (sulfato de cobre, mancozeb, benomilo, ...), capaces algunos de erradicar el patógeno o limitar en gran medida su crecimiento (Gan et al., 2006; Foresto et al., 2023).
- **Rotación y labranza:** debido a la capacidad de supervivencia del hongo en los restos de cosecha, el tratamiento del rastrojo es esencial. El laboreo y posterior enterramiento profundo de restos de cosecha (10-20 cm) limita mucho el tiempo de supervivencia del mismo, disminuyendo sensiblemente la presencia de inóculo en los campos de cultivo (Foresto et al., 2023). Las rotaciones, en cambio, a pesar de ser una buena opción en otras latitudes, para el caso de España no resultan muy eficaces, pues la dispersión del hongo se da en buena parte por el viento, alcanzando grandes distancias (Trapero-Casas et al., 1996).
- **Tratamientos químicos:** ciertos fungicidas han resultado ser eficaces para el control de la rabia del garbanzo (Fanning et al., 2022). Sin embargo, es importante tener en cuenta el momento de su aplicación según la duración del ciclo, pues puede contemplar la diferencia de aplicar producto en 2 ocasiones hasta incluso 10, según las condiciones y momento de aplicación (Gan et al., 2006). A mayores de ello, se ha de tener en cuenta que *A. rabiei* ha desarrollado resistencia frente a varios tratamientos fungicidas (Wise et al., 2009) debido a la aplicación repetida de unos pocos productos, por lo que habrá de revisarse su eficacia para evitar perjuicios económicos y medioambientales (Corkley et al., 2022)
- **Cuidados en la siembra:** la adaptación de la época de siembra también es crucial, pues en función de cuando se realice, puede coincidir con el momento de mayor dispersión de las esporas por parte de *A. rabiei*. De esta manera, variando la siembra se puede evitar el momento de máxima esporulación y minimizar así la cantidad de patógeno. Mayores profundidades de siembra o densidades de plantas no excesivas también contribuyen a minimizar la transmisión y dispersión de la enfermedad (Gan et al., 2006; Foresto et al., 2023).
- **Alternancia de cultivos:** la disposición de barreras con cultivos no hospedantes de forma alterna puede contribuir a limitar la dispersión del patógeno según el porte de dichas plantas (Marzani, 2023). Sin embargo, en explotaciones con fines comerciales, puede resultar complicado, por la dificultad de compatibilizar los cultivos (Gan et al., 2006).
- **Nutrición:** una adecuada nutrición de las plantas ayuda a estas a presentar mayor resistencia y minimizar los momentos de estrés que puedan favorecer el contagio de la rabia (Foresto et al., 2023). Sin embargo, fertilizaciones excesivas con nitrógeno pueden provocar mayor susceptibilidad a enfermedades fúngicas, por lo que aplicar cantidades elevadas de abono tampoco resulta beneficioso (Gan et al., 2006).

Habiendo visto los principales métodos existentes, es importante adoptar un manejo integrado de la enfermedad por motivos económicos y de efectividad para nuestra ubicación, como lo pueden ser el empleo de semilla libre de patógeno, enterramiento de los restos de cosecha infectados y una adecuada sanidad de la planta, proporcionando los cuidados nutricionales

necesarios y aplicando la cantidad justa de fungicidas autorizados en el momento de máxima eficacia (Pande et al., 2005).

A mayores de estas medidas, desde hace varios años se está planteando la posibilidad de utilizar un nuevo método para limitar los daños de la rabia del garbanzo: el control biológico. Este se presenta como una alternativa al control de enfermedades, mostrando claras ventajas respecto al manejo tradicional. Entre estas ventajas encontramos que no genera resistencias en los patógenos, no contamina el medio ambiente, es compatible con la producción ecológica y permite obtener rendimientos de cosecha similares respecto a los métodos tradicionales (Rahman et al., 2018; Foresto et al., 2023). Una de las posibilidades del control biológico es el empleo de agentes de control biológico (BCAs, por sus siglas en inglés), microorganismos que, de forma natural, son antagonistas de los organismos fitopatógenos (Rizvi et al., 2017). De entre todos los BCAs investigados, existe un género de hongos, *Trichoderma*, que ha demostrado su eficacia en el control de múltiples enfermedades fúngicas, debido a la versatilidad de sus mecanismos de acción y la capacidad de adaptación a varios ambientes (Ferreira & Musumeci, 2021).

2.4. *Trichoderma*

2.4.1. Taxonomía y biología

El género *Trichoderma* comprende un gran número de especies de hongos filamentosos rizocompetentes, saprófitos, anamórficos, aerobios y encontrados en una amplia variedad de ecosistemas (Sandle, 2014; Echevarría et al., 2019; Macías-Rodríguez et al., 2020). Este conjunto de hongos pertenece a la división de los ascomicetos, concretamente al orden Hypocreales y a la familia Hypocreaceae (Sandle, 2014). En la **Tabla 5** se muestra la clasificación taxonómica total de *Trichoderma spp.*

Tabla 5. Taxonomía del género Trichoderma.

Dominio	Eukaryota
Reino	Fungi
División	Ascomycota
Subdivisión	Pezizomycotina
Clase	Sordatiomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Hypocreaceae
Género	<i>Trichoderma</i>

Fuente: elaboración propia empleando la información del NCBI Taxonomy (2020).

Trichoderma posee una alta densidad poblacional en el suelo, presentando una fácil adaptación y rápido crecimiento en distintos sustratos, tanto sólidos como líquidos (Vásquez, 2010). En cuanto a las condiciones de crecimiento, a pesar de que posee una gran ubicuidad, manifiesta unos rangos medios y óptimos para los diferentes factores en los que se desarrolla (Vásquez, 2010; Sandle, 2014):

- **Temperatura:** se trata de un organismo mesófilo, capaz de sobrevivir a temperaturas de entre 10 y 40 °C, pero crece de manera óptima desde los 25 a los 30 °C.

- **pH:** amplio rango de crecimiento, entre 2 y 9, pero de forma óptima lo hace entre 4 y 7 (Vásquez, 2010). Se ha demostrado que un pH de carácter ácido favorece el crecimiento de varias especies del género *Trichoderma* (Singh et al., 2013).
- **Humedad:** capacidad de adaptarse a medios con humedades entre el 20–90 %, pero crece de forma óptima entre el 70 y el 80 % de humedad relativa (Vásquez, 2010). Existe, sin embargo, cierta discusión acerca de la humedad óptima, pues un exceso provocaría baja disponibilidad de oxígeno y, por tanto, bajo desarrollo del microorganismo. A mayores, compactaría el sustrato e impediría su colonización total. Sin embargo, una baja humedad podría ocasionar la inhibición del crecimiento microbiano al no disponer de suficientes nutrientes en la solución (Elósegui, 2006).
- **Luz:** se trata de una especie fotosensible, pues, aunque presenta mayor esporulación y desarrollo al ser expuesto a la luz, es preferente la alternancia de luz y oscuridad.
- **Nutrición:** es capaz de desarrollarse sobre gran cantidad sustratos, pues posee enzimas amilasas, celulasas, peptidasas y quitinasas, entre otras. Tiene preferencia por aquellos con buen contenido de materia orgánica (Echevarría et al., 2019; Macías-Rodríguez et al., 2020).

En cuanto a su reproducción, la mayor parte de las especies de *Trichoderma* no tienen fase sexual, produciendo únicamente esporas asexuales. La fase teleomorfa de las especies del género *Trichoderma* son los ascomicetos del género *Hypocrea*, los cuales producen ascas con ascosporas bicelulares en su interior (Sandle, 2014).

En lo relativo a su dispersión, la principal forma de propagación son los conidios, productores de esporas asexuales que se dispersan rápidamente con el viento, el agua u otros organismos. También pueden diseminarse mediante el crecimiento de las hifas de su micelio y, en condiciones adversas, son capaces de producir clamidosporas unicelulares (Martínez et al., 2013). Desde un punto de vista microscópico, los conidióforos están muy ramificados, pudiendo encontrarse estos sueltos o más bien compactos, formando en varias ocasiones anillos concéntricos (Sandle, 2014).

2.4.2. Mecanismos de acción

Trichoderma es un organismo que presenta múltiples aplicaciones en el campo de la agricultura. Una de estas es la promoción del crecimiento vegetal, pues incrementa la fertilidad y captación de nutrientes del suelo (Hermosa et al., 2012). Aparte de su papel como promotor en el crecimiento vegetal, también es muy eficiente como Agente de Control Biológico (BCA) contra múltiples enfermedades de las plantas en todo el mundo (Tyśkiewicz et al., 2022). Los mecanismos de los que dispone este hongo como BCA son: la generación de tolerancia frente a estreses abióticos, la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo, el efecto antibiótico y la resistencia inducida en las plantas. (Gajera et al., 2013; Pacheco-Trejo et al., 2022; Yao et al., 2023). De hecho, una prueba de su relevancia en la agricultura moderna es que más del 60 % de los productos biofungicidas del mundo tienen fórmulas basadas en *Trichoderma spp.* (Kubiak et al., 2023). Sin embargo, la variabilidad en las características del entorno puede afectar a la efectividad de *Trichoderma* como BCA (Howell, 2003). Un ejemplo de estos factores ambientales es el tipo de sustrato, que condiciona la formación de enzimas y metabolitos

secundarios, influyendo en la eficacia de *Trichoderma* como controlador de fitopatologías. A continuación, se expondrán por orden las aplicaciones de *Trichoderma* dentro del mundo agrícola.

- **Promoción del crecimiento vegetal:**

De forma similar a como ocurre con el proceso de micorrización, la alta cantidad de hidratos de carbono complejos en la capa de mucigel de las raíces, así como la presencia de mono y disacáridos en el entorno de la rizosfera, estimulan el crecimiento de estos hongos en la porción de suelo circundante a las raíces (Hermosa et al., 2012). De esta forma, los hongos del género *Trichoderma* promueven un mayor crecimiento de las plantas debido a la mejora en la captación de los nutrientes, lo que incrementa la productividad de los cultivos (Pokhrel, 2022). Entre los ensayos que demuestran este fenómeno, se encontrarían el de Yedidia et al. (2001), donde se ve un incremento en el desarrollo de las raíces y tallo en las plantas de pepino, o el de Vargas et al. (2009), observándose un incremento en la tasa fotosintética de la planta de maíz, lo que ocasiona un mayor crecimiento. Esto es debido a que el desarrollo de *Trichoderma* conlleva la transmisión a la planta de metabolitos (péptidos con diferentes radicales) que incrementan el crecimiento de la planta (Lombardi et al., 2020), así como la mejor asimilación a nivel radicular de P y Fe, ocasionada por la secreción de fitasa y ferritina (Yao et al., 2023). Además, se ha constatado la capacidad de este hongo para incrementar las poblaciones de microorganismos beneficiosos vegetales en la rizosfera las plantas (Khan et al., 2017). De esta forma, la aplicación de biofertilizantes con inóculo de *Trichoderma* puede ayudar a conseguir las mismas producciones que las que se lograrían con abonos químicos, lo que ayudaría a reducir el uso de estos últimos (Harman, 2011; Khan et al., 2017).

- **Tolerancia frente a estreses abióticos**

Se ha comprobado que la aplicación de *Trichoderma* incrementa la tolerancia frente a estreses abióticos (Pacheco-Trejo et al., 2022). Uno de estos es la sequía, con experiencias que prueban el incremento de tolerancia en plantas de tomate (Mona et al., 2017) o el mantenimiento en el crecimiento del arroz (Bashyal et al., 2021). Otros ensayos muestran mayores tolerancias frente a las bajas temperaturas (Cornejo-Ríos et al., 2021). También se ha documentado una mejora del desarrollo frente a condiciones salinas (Sánchez-Montesinos et al., 2019). Además, *Trichoderma* ha mostrado eficacia en la tolerancia frente a metales pesados (Maurya et al., 2019). Estos beneficios aportados a sus hospedantes se deben a la capacidad de *bio-priming*, a la cual se le atribuye la inducción de una respuesta que mejora la capacidad de adaptación de las plantas frente a diferentes situaciones estresantes abióticas (Mauch-Mani et al., 2017).

- **Competencia:**

Los integrantes del género *Trichoderma* tienen la capacidad de resistir, en la mayoría de ocasiones, el efecto fungistático del suelo causado por los metabolitos secundarios de otras especies (incluyendo plantas). Esto se debe a que, de forma natural, pueden sobrevivir en presencia de compuestos tóxicos, incluyendo herbicidas, fungicidas e insecticidas (Chet et al., 1997). Además, *Trichoderma* tiene una capacidad superior respecto a otros organismos para movilizar nutrientes del suelo, explicándose esto por la elevada cantidad de enzimas que es capaz de producir, las cuales le permiten asimilar azúcares de múltiples fuentes de su entorno

(celulosa, glucano, quitina, ...) (Chet et al., 1997). De esta forma, colonizan rápidamente los sustratos y desplazan a especies de crecimiento más lento (Oszust, 2020).

En relación a la competencia, otra estrategia utilizada por *Trichoderma*, implica a unas moléculas conocidas como sideróforos, necesarias para la captación de Fe en situaciones de déficit de este nutriente. En gran parte de los organismos, incluidos los hongos filamentosos, la toma de Fe es esencial para su supervivencia y, bajo carencias de este nutriente, buena parte de los estos excretan moléculas peptídicas de bajo peso molecular que tienen carácter de quelantes férricos (sideróforos), capaces de captar Fe del ambiente (Hoffmeister & Keller, 2007; Gajera, 2013). En este caso, *Trichoderma* también produce sideróforos, siendo capaz de detener el crecimiento de algunos hongos patógenos, como demostraron Cui et al. (2024) para el caso de la fusariosis de la banana. A mayores de ello, estos complejos moleculares quelantes son capaces de incrementar el crecimiento de la propia planta (Cui et al., 2024), incluso bajo ambientes estresantes salinos, como en el caso del pepino (Zhao et al., 2014).

- **Micoparasitismo:**

Esta interacción corresponde a un tipo de interacción inter-fúngica en la cual un hongo parásito se beneficia de otro (huésped), obteniendo de este los nutrientes necesarios para completar su crecimiento y reproducción, pudiendo causar al primero perjuicio e incluso la muerte. Cuando se produce la muerte del hongo parasitado, se denomina parasitismo necrotrofo, con el fin de distinguirlo del parasitismo biotrofo, dentro del cual la interacción solo puede ocurrir con las células vivas del huésped (Poveda, 2018). Para ello, *Trichoderma* primero reconoce y se une al hongo patógeno, excretando posteriormente enzimas líticas extracelulares, como β -1,3-glucanasas, quitinasas, proteasas y lipasas (Geraldine et al., 2013).

Aparte de los hongos, estudios recientes han demostrado el posible papel de control que puede ejercer *Trichoderma* sobre los nematodos, reportándose numerosas investigaciones sobre ello (Sahebani & Hadavi, 2008). El mecanismo de control parece implicar a las enzimas quitinasa y proteasa, que influyen en este papel nematocida (Suarez et al., 2004; Rajinikanth, 2016; Contina et al., 2017), ya sea a través del parasitismo de huevos y larvas, o bien mediante la inducción de respuestas en las plantas con la resistencia sistémica (Suárez et al., 2004; Sahebani & Hadavi 2008).

- **Antibiosis:**

El mecanismo de antibiosis se basa en “la inhibición del crecimiento de un organismo por los metabolitos secundarios (SMs) producidos por otro, sin que medie contacto físico entre ellos”. (Poveda, 2018). Estas moléculas no están involucradas directamente en el crecimiento, desarrollo o reproducción de los organismos, pero juegan un papel crucial en la interacción entre organismos (Keller, 2005; Hoffmeister & Keller, 2007). Numerosas especies del género *Trichoderma* son capaces de producir metabolitos secundarios, algunos de los cuales presentan un efecto tóxico para patógenos fúngicos de las plantas, constituyendo otra vía en que *Trichoderma* puede usarse como BCA (Reino et al.; 2007 Vinale et al., 2009; Vinale et al., 2014). Algunos de ellos son los peptaiboles, policétidos, péptidos no ribosómicos, pirones, azafilones, o viridios (Hoffmeister & Keller, 2007; Vinale et al., 2014).

- **Resistencia inducida en las plantas**

Para inducir la resistencia en las plantas, en primer lugar, *Trichoderma* debe adherirse a las raíces de las plantas. La colonización de las raíces implica la capacidad del hongo para reconocer y adherirse a las células de la misma, penetrar en la planta y resistir los metabolitos tóxicos producidos por la planta en defensa propia. En el caso de *Trichoderma*, esta adhesión puede estar mediada por hidrofobinas, pequeñas proteínas hidrofóbicas en la capa más exterior de la célula fúngica, así como por proteínas expansivas ligadas al desarrollo de la pared celular (Hermosa et al., 2012). Estas juegan un papel esencial en la formación de la estructura de infección, la agregación de las hifas y la unión de las células a superficies hidrofóbicas (Benítez et al. 2004). Las enzimas implicadas en la degradación de la pared celular también están involucradas en la colonización de las raíces, como es el caso de la endopoligalacturanosa de *Trichoderma harzianum* (Morán-Díez et al., 2009). Una vez las hifas traspasan la epidermis de las raíces, el hongo se multiplica en esta y progresa hasta el córtex, principalmente mediante el crecimiento intercelular (Yedidia et al., 1999).

Esta colonización fúngica implica la respuesta de la planta, que induce a las células de alrededor a producir compuestos obstructores (calosa) y sintetizar sustancias antimicrobianas, como derivados fenólicos, fitoalexinas y flavonoides, entre otros (Shoresh, 2010; Gupta & Bar, 2020), restringiendo la progresión hacia el sistema vascular (Gupta & Bar, 2020). Esto provoca una estimulación del crecimiento de raíces por parte de *Trichoderma*, disponiendo de esta forma de más espacio para desarrollarse y obteniendo la planta un beneficio mutuo por la expansión de las mismas. En este contexto se produce, a causa de la colonización radicular de *Trichoderma* y del reconocimiento de los patrones moleculares asociados a microorganismo (MAMPs, por sus siglas en inglés), un cambio tanto a nivel del transcriptoma como del proteoma (Hermosa et al., 2012; De Palma et al., 2019).

Dependiendo de la especie y cepa de *Trichoderma* de la que se trate, las plantas son capaces de desarrollar dos tipos de resistencia principales: resistencia sistémica inducida (ISR, por sus siglas en inglés) y resistencia sistémica adquirida (SAR, por sus siglas en inglés). La SAR, por lo general, se desencadena a consecuencia de exponer a las plantas hospedantes a patógenos biotróficos o hemibiotróficos, que causan una infección local. Entre sus consecuencias, estaría el incremento en acumulación interna de ácido salicílico (SA, por sus siglas en inglés) como molécula señalizadora, la activación de los genes relacionados con patogénesis (PR, por sus siglas en inglés) y la posibilidad de acumular fitoalexinas o compuestos antimicrobianos similares. Este tipo de resistencia viene asociada a reacciones hipersensibles, lesiones o fitotoxicidad en las plantas (Nawrocka & Małolepsza, 2013; Gupta & Bar., 2020). Por otra parte, la ISR suele estar potenciada por organismos beneficiosos, siendo eventualmente producida por insectos herbívoros o patógenos necrotrofos (Nawrocka & Małolepsza, 2013). *Trichoderma*, tratándose de un hongo con efectos beneficiosos, generalmente produce una activación de la respuesta ISR, que deriva en la acumulación de compuestos asociados a las rutas del ácido jasmónico (JA) y del etileno (ET), como lo son la fenilamonioliasa y peroxidasa (Contreras-Cornejo et al., 2011; Gupta & Bar, 2020). Sin embargo, no parece esclarecerse la diferencia exacta entre la activación de SAR o de ISR por *Trichoderma*, pues diariamente surge información que evidencia la difuminación de ambos términos (Segarra et al., 2007; Morán-Díez et al., 2009). A consecuencia de este tipo de respuestas, las plantas que muestran alguno de los dos

mecanismos poseen una respuesta defensiva más rápida y fuerte después de haber sido infectados por un patógeno. Esta respuesta se denomina *priming*, y acelera la actividad del sistema inmune de la planta, activando la respuesta frente a estreses bióticos o abióticos (Conrath, 2015; Gupta & Bar, 2020).

Volviendo al proceso de infección, una vez *Trichoderma* ha colonizado el espacio radicular de la planta, existe un reconocimiento molecular a través de una red de señalización que implica las fitohormonas JA, SA y ET. Una vez activada la respuesta de defensa en la planta, se induce la expresión de una serie de genes que deriva en la síntesis y secreción por parte de esta de compuestos antimicrobianos, como lo son las fitoalexinas y los compuestos fenólicos (Pacheco-Trejo et al., 2022). De esta manera, a mayores de la propia respuesta local que pueda producir *Trichoderma* sobre el patógeno, al inhibir el crecimiento y la reproducción del patógeno, la planta obtiene una resistencia local o sistémica frente al mismo, siendo más eficiente en el control del mismo (Yao et al., 2023).

2.4.3. Formulación y aplicación de *Trichoderma*

Como vimos anteriormente, *Trichoderma* es capaz de producir propágulos en forma de micelio, clamidiosporas y esporas (Sala et al., 2019). Las clamidiosporas son el propágulo más resistente debido a su mayor tamaño y paredes más finas. Sin embargo, la forma más común de multiplicación de *Trichoderma* es a través de las esporas, que se producen de forma masiva. Debido a su mayor facilidad para producción en masa, estas últimas son el propágulo más empleado de *Trichoderma* para su diseminación como BCA (Yuan et al., 2019; Cao et al. 2023).

Dichos propágulos se pueden producir por fermentación en estado sólido (SSF, por sus siglas en inglés) o fermentación sumergida (SmF, por sus siglas en inglés). Durante el proceso de SSF, no existe agua libre, creciendo entonces el microorganismo en sustrato sólido (Ejaz & Sohail, 2021). En cambio, en la SmF el caldo de cultivo es líquido y está optimizado con nutrientes para el crecimiento microbiano (Behl et al., 2023). Entre estos dos, el SSF es el más empleado para la producción por esporas, pues éstas tienen características bioquímicas y morfológicas que las hacen más resistentes a las condiciones ambientales respecto al método SmF (Sala et al., 2019). A mayores, esta técnica tiene la gran ventaja de que no requiere tecnologías muy complejas o personal experimentado (Saldaña-Mendoza et al., 2023b).

Una formulación correcta que contenga los propágulos fúngicos debe ser fácil de preparar, mantener las propiedades funcionales (viabilidad, tasas de germinación y actividad enzimática) durante un almacenamiento prolongado, facilitando además la aplicación dentro del organismo objetivo (Harman & Custis, 2006). Las formulaciones de BCAs suelen integrarse por: el principio activo (células o metabolitos secundarios del microorganismo en cuestión), excipientes (materiales que contienen el principio activo y lo posicionan adecuadamente) y adyuvantes (nutrientes adicionales, protectores, estabilizadores, adherentes, etc.) (Teixidó et al., 2022). Dentro de estas formulaciones, podemos encontrarnos dos grandes grupos de formatos: sólidos (polvos, granulados y microgranulados) y líquidos (emulsiones, suspensiones concentradas, dispersiones de aceite o suspensiones encapsuladas) (Martínez et al., 2023). El formato dependerá del tipo de aplicación deseada, pues cuando se requiere de una actuación más rápida por parte del producto las formulaciones líquidas con tensioactivos producen mejor efecto, al

tener más superficie de contacto. En cambio, las formulaciones granuladas presentan efectos más duraderos (Saldaña-Mendoza et al., 2023b).

En el campo de las soluciones sólidas, aquellas con composición mineral (vermiculita, biochar, etc.), han demostrado importantes ventajas, como la alta capacidad de retención de agua para el crecimiento posterior de los hongos (Martínez et al., 2023; Elshahawy et al. 2017). Sin embargo, un importante avance de la técnica SSF es la posibilidad del uso de residuos agroindustriales como sustrato (posos de café, paja de trigo, grano, etc.), contribuyendo a la mitigación del impacto negativo en la producción de residuos y la generación de nuevos recursos a través de la economía circular (Saldaña-Mendoza et al. 2023a, 2023b).

Las formulaciones en formato seco son las más comunes para los productos comerciales, debido a la estabilidad de sus propiedades respecto a las fórmulas líquidas, así como la mayor dificultad de contaminación en este tipo de formatos (Martínez et al., 2023). A mayores, el producto seco ofrece una serie de ventajas como la disminución de los costes en transporte, prolongación de la vida útil y la evitación de conservarlo a bajas temperaturas (Jones & Burges, 1998).

Por último, en cuanto al principio activo de estos bioformulados, nos encontraríamos con las especies del género *Trichoderma*, las cuales se suelen encontrar en concentraciones de entre 10^5 – 10^9 Unidades Formadoras de Colonia por gramo (UFC/g) de producto (Sokhandani et al., 2016; Natsiopoulos et al., 2022). Dentro de las especies más empleadas, la mayoría de estos productos se formulan a partir de las especies *T. viridae*, *T. virens*, y en mayor proporción, de *T. harzianum* (Benítez et al., 2004; Vargas-Hoyos & Gilchrist-Ramelli, 2015). En lo relativo a la composición de la formulación, la gran mayoría de los preparados están compuestos, según la etiqueta, de una sola especie (67 %), incluyendo el resto del preparado combinaciones de especies conocidas o desconocidas, aislados, o mezclas de *Trichoderma* con otros microorganismos beneficiosos, como micorrizas (sobre todo *Glomus*) y/o bacterias (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*) (Woo et al., 2014).

2.4.4. Importancia agrícola y mercado

Como mencionamos en el apartado anterior, cerca del 60 % de los productos biofungicidas existentes a lo largo del mundo poseen fórmulas basadas en *Trichoderma* spp., probando de esta manera su eficacia en la agricultura moderna (Kubiak et al., 2023). Las especies del género *Trichoderma*, debido a los mecanismos de acción nombrados en apartados anteriores, están entre los microorganismos más comúnmente usados como BCAs, encontrándose presentes en el mercado con múltiples aplicaciones: biopesticidas, biofertilizantes, y estimulantes de la resistencia natural de las plantas. Su aplicación está tan extendida que representan entre el 50-60 % de BCAs fúngicos que existen en todo el mundo (Tyśkiewicz et al., 2022). En el campo de la nutrición y suplementación vegetal, como se mencionó al comienzo del apartado anterior, la aplicación de fertilizantes con inóculo de *Trichoderma* puede ayudar a disminuir el empleo de fertilizantes químicos para obtener las mismas producciones (Harman, 2011; Woo et al. 2014; Khan et al., 2017).

El éxito comercial de sus productos puede atribuirse al gran volumen de propágulos que pueden ser producidos de forma fácil y rápida, en gran diversidad de sustratos y a bajo coste (Motta & Santana, 2012; De La Cruz Quiroz et al. 2015). Para la producción de *Trichoderma*, India es, con

diferencia, el mayor productor de formulados que emplean especies certificadas de este hongo a nivel global. Las especies utilizadas con este fin son principalmente *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. gamsii*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. polysporum*, *T. virens*, y *T. viride* (Woo et al., 2014; Hernández-Melchor et al., 2019). De acuerdo al primer autor, otra zona que se está desarrollando rápido en términos de productos a base de *Trichoderma* para las enfermedades de las plantas es Centro y Suramérica, principalmente Brasil. En cuanto a su uso, aquellos territorios donde *Trichoderma* ha sido autorizado para su uso (Woo et al., 2014) son: países de la UE (Bélgica, Chipre, Francia, Italia, Países Bajos, España, Suecia, Eslovenia y Reino Unido), Turquía, dos países norteamericanos (EE.UU. y Canadá), África (Suráfrica y Marruecos), Asia (India y Vietnam) y Oceanía (Australia y Nueva Zelanda).

3. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

El presente trabajo se **justifica** en la necesidad de encontrar alternativas para el manejo integrado de la enfermedad “rabia del garbanzo”, disminuyendo así el empleo de fitosanitarios de origen químico, en consonancia con la creciente preocupación por la protección medioambiental y los principios de la agricultura sostenible. En línea con estas premisas, se plantea que el hongo beneficioso *Trichoderma harzianum*, aplicado en un formato adecuado y eficaz sobre las semillas de garbanzo, podría constituir una nueva vía sostenible y efectiva para el control de la rabia del garbanzo. Con esta aplicación se conseguiría un incremento en el rendimiento económico del cultivo por la mejora sanitaria de las plantas. También se lograría limitar el uso de fitosanitarios químicos y los efectos nocivos que acarrea su uso. Todo esto derivaría en un menor riesgo para la salud de las personas y un incremento en la seguridad alimentaria.

La **hipótesis** de la presente investigación consiste en que la aplicación del hongo *T. harzianum* sobre las semillas de garbanzo mediante la técnica del pildorado consigue minimizar la afección de la enfermedad de la rabia del garbanzo, causada por *A. rabiei*, sobre las propias plantas del garbanzo en campo. Consecuentemente, éstas podrían desarrollarse en mejores condiciones sanitarias e incrementar la producción.

El **objetivo principal** consiste en analizar la efectividad de control ejercida por *T. harzianum* sobre *A. rabiei*, siendo la finalidad última la de disminuir el impacto de la infección de la rabia sobre las plantas de garbanzo. Con esta premisa, se plantean una serie de objetivos secundarios:

1. Desarrollar un método que permita la producción industrial de inóculo de *T. harzianum*, utilizando subproductos de plantas seleccionadoras de semillas. Con esta premisa, se estudiará el sustrato más eficiente para la producción masiva de esporas de *T. harzianum*.
2. Analizar la viabilidad del inóculo de *T. harzianum* aplicado sobre las semillas de garbanzo mediante pildorado.
3. Estudiar en campo el efecto del bioinoculante de *T. harzianum* como BCA para el cultivo del garbanzo de Fuentesauco. Para ello, se tomaron diferentes variables a lo largo del cultivo del garbanzo, elaborando un análisis con la finalidad de observar el efecto del tratamiento sobre el estado sanitario de las plantas.
4. Examinar en el mismo ensayo de campo la posible influencia del bionoculante de *T. harzianum* sobre la producción de las plantas de garbanzo.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. MATERIAL FÚNGICO Y VEGETAL UTILIZADO

El microorganismo empleado para este estudio fue el hongo *T. harzianum*. Este se conservó en placas Petri con medio de cultivo PDA hasta el inicio de los ensayos. El hongo *T. harzianum* (EN1) fue obtenido de la colección interna del GIR AGROBIOTECH de la Universidad de Valladolid, aislado de la corteza de diferentes especies de *Pinus* en la provincia de Palencia (Castilla y León, España).

Aparte de este microorganismo, también se utilizaron garbanzos, concretamente semillas certificadas R1, pertenecientes a la especie *C. arietinum* var. Cuaiz, las cuales poseen una pureza mínima del 98 % y un porcentaje de germinación no inferior al 80 %. Estas semillas fueron cedidas amablemente por el Consejo Regulador de la IGP “Garbanzo de Fuentesauco”, siendo el número del lote el ES-08-37-0081-23CUAI5102 y la fecha de su precintado en febrero de 2023.

4.2. MEDIOS DE CULTIVO

Se emplearon dos medios de cultivo para la realización de los ensayos en laboratorio. En primer lugar, se utilizó Agar de Patata y Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés), suministrado por Scharlab (Barcelona). El otro medio de cultivo utilizado fue Base de Agar Selectiva para *T. harzianum* (medio selectivo para el crecimiento de *T. harzianum*), suministrado por HiMedia (India). La composición de este último (expresado por L de producto disuelto) es: 0,2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,9 g K_2HPO_4 , 1,0 g de NH_4NO_3 , 0,15 g de KCl, 3,0 g de glucosa (dextrosa), 0,15 g de Rosa de bengala y 20,0 g de agar.

4.3. ENSAYO DE PRODUCCIÓN DEL INÓCULO

La finalidad de este ensayo consistió en la evaluación del crecimiento y esporulación de *T. harzianum* sobre diferentes subproductos de planta seleccionadora de semillas, para conocer en cuál de ellos el hongo generó mayor número de esporas. Con esta información, se pudo saber qué sustrato resulta más eficiente para la producción masiva de *T. harzianum*.

En este ensayo de producción del inóculo se emplearon una serie de subproductos de semillas, cedidos amablemente por la empresa RAGT Ibérica, situada en Villamuriel de Cerrato (Palencia). Estos subproductos pertenecían a derivados de la toma de muestras para análisis en laboratorio de la propia empresa, y correspondieron a especies de las familias Poaceae y Fabaceae. Estos subproductos de semillas correspondían a 9 especies de las siguientes variedades:

- Avena RGT-Insignia (*Avena sativa*).
- Cebada RGT-Planet (*Hordeum vulgare*).
- Centeno KWS-Receptor (*Secale cereale*).
- Festuca RGT-Aprilia (*Festuca spp.*).
- Guisante Lapony (*Pisum sativum*).
- Trigo blando RGT-Tocayo (*Triticum aestivum*).
- Trigo duro RGT-Aventadur (*Triticum durum*).

- Triticale RGT-Coplac (x *Triticosecale*).
- Veza RGT-Amelia (*Vicia sativa*).

4.3.1. Procedimiento experimental

Este ensayo se dividió en dos partes según el objetivo perseguido, y se realizó por duplicado en cada una de ellas para asegurar la fiabilidad y reproducibilidad de los resultados. En la primera fase se midió la cantidad de esporas producida en cada una de las especies de semillas de subproducto. Tras conocer el sustrato en que se obtuvo mayor cantidad de esporas, se procedió a repetir la inoculación de *T. harzianum* sobre este sustrato con objetivo de producir esporas de forma masiva. Con las esporas resultantes de este último experimento, se inocularon semillas de garbanzo en otro ensayo posterior, las cuales fueron sembradas después en campo.

4.3.1.1. Ensayo de medición

Para la producción de esporas en cada una de las 9 especies de semillas, se emplearon tarros de vidrio de 0,5 L de capacidad. Posteriormente, se llevó a cabo el conteo de las esporas producidas en cada una de las especies de semillas. Se hicieron 4 repeticiones para cada especie en este tipo de envase. El procedimiento se dividió en 4 fases:

➤ Acondicionamiento del medio de cultivo:

En primer lugar, se llevó a cabo una pequeña preparación de los subproductos empleados (cereales y leguminosas), con la finalidad de que estos se encontraran en un estado de humedad óptimo para el crecimiento de *T. harzianum*.

Se pesaron 50 g de subproducto seco para cada uno de los tarros. Una vez medida la masa, se lavaron cada una de las porciones 3 veces bajo el grifo con ayuda de un escurridor. Tras escurrir cada una de las porciones, fueron depositadas en su correspondiente tarro. A continuación, se añadió agua destilada hasta cubrir completamente las semillas en el envase, y se dejaron reposando durante 12 horas para que las mismas absorbieran agua y aumentaran su peso (**Figura 11**).



Figura 11. Subproducto preparado en sus respectivos envases durante la fase de remojo de las semillas.

Fuente: foto del autor

Transcurridas las 12 horas, se drenó el contenido de cada tarro y se pesó la masa del subproducto húmedo. En cada tarro se dejaron únicamente 50 g de subproducto húmedo, eliminando el sobrante. Con la masa justa pesada, se cerró cada tarro con cinta Micropore de 3M (USA) para autoclavarlos durante 30 minutos a 120 °C, eliminando así cualquier microorganismo que pudiera contaminar el sustrato.

➤ **Preparación del inóculo:**

Paralelamente, dentro de la campana de flujo del laboratorio, se preparó el inóculo a partir de placas Petri con medio selectivo de *T. harzianum*, las cuales se encontraban colonizadas por este. Primeramente, se vertieron 5 mL de agua destilada estéril sobre la superficie de la placa. Seguidamente, se raspó el micelio humedecido mediante una punta de pipeta, teniendo cuidado para no extraer también el medio de cultivo. Después de haber raspado, se obtuvo una mezcla de micelio con agua destilada, la cual se pipeteó y pasó, a través de un filtro Miracloth de Millipore (USA) esterilizado, a un tubo Falcon de 15 mL. El filtro Miracloth de Millipore impidió el paso del micelio, permitiendo únicamente el flujo de las esporas en suspensión y el agua destilada.

Con la finalidad de conocer la concentración de esporas en la disolución, esta fue llevada a un tubo Eppendorf, donde se diluyó con agua destilada estéril hasta una concentración de 1:100. Posteriormente, se llevó a cabo el conteo de las esporas mediante una cámara de Neubauer. Se introdujeron 100 μ L en cada una de sus dos hendiduras, tapando posteriormente el líquido con un cubreobjetos. Para realizar el conteo de esporas, se requirió la siguiente fórmula matemática.

$$\text{Esporas/mL} = \chi \cdot 25 \cdot 10^4 \cdot 10^2$$

Siendo χ la media aritmética de las esporas encontradas en los diferentes cuadrantes de la cámara y 10^2 el factor de corrección por la dilución.

Se requirió conocer el número de esporas en la disolución para que la cantidad dispensada sea idéntica en todos los tarros. Esta cantidad fue de 1 mL de inóculo con una concentración de $1 \cdot 10^7$ esporas/mL para cada tarro. El procedimiento se fundamenta en que, independientemente de la concentración inicial de disolución con esporas, siempre se disponga de una disolución final con concentración estándar. Esto se logra mediante la operación matemática:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

Siendo C la concentración inicial (1) y final (2), y V el volumen de disolución inicial (1) y final (2).

Con una concentración media de $1,45 \cdot 10^8$ esporas/mL, se pipetearon 2,76 mL de esta disolución concentrada para la preparación de 40 mL de disolución con concentración de $1 \cdot 10^7$ esporas/mL. Los 2,76 mL se vertieron en un tubo Falcon, que contenía el volumen restante de agua destilada estéril.

➤ **Inoculación del medio:**

Dentro de la campana de flujo, cada tarro con sustrato autoclavado se inoculó con 1 mL, de concentración conocida ($1 \cdot 10^7$ esporas/mL). Seguidamente, se agitó el tarro para homogeneizar

el contenido y facilitar el contacto de la disolución con las semillas. Una vez inoculados, ambos recipientes fueron cerrados con cinta Micropore de 3M (USA) para evitar contaminaciones. Tras haberse realizado el procedimiento en todos los envases, estos fueron llevados a una cámara de cultivo durante 7 días, bajo una temperatura de 28 °C y en ausencia de luz para que se produjera una esporulación abundante.

➤ **Extracción de esporas:**

Transcurridos 7 días en la cámara de cultivo, *T. harzianum* se había desarrollado y esporulado en cada uno de los sustratos. Dentro de la cámara de flujo laminar, se abrieron de nuevo los tarros, vertiéndose en cada uno de ellos 200 mL de agua destilada autoclavada, y agitándose después suavemente para homogeneizar la mezcla. Posteriormente, se removió el contenido con una pipeta grande y se extrajeron 2 mL de la solución. Esta disolución fue filtrada por un filtro Miracloth de Millipore (USA) y transferida a un tubo Falcon de 15 mL. De la disolución de esporas, se tomaron 2 μ L y se echaron a un Eppendorf para su disolución con 198 μ L de agua destilada (proporción 1:100). Por último, se realizó el conteo de esporas con la cámara Neubauer empleando la misma fórmula que en la preparación del inóculo. De esta forma, se obtuvo el dato de las esporas producidas en cada sustrato por mL de disolución.

4.3.1.2. Ensayo de producción masiva de esporas

Tras medir la cantidad de esporas producida por cada especie de subproducto, se analizaron los resultados estadísticamente en el apartado **5. Resultados**. El análisis arrojó que la especie que produjo mayor número de esporas fue la avena, por lo que se escogió esta para la producción masiva de las esporas. Sin embargo, el formato para este procedimiento fue en bolsas de autoclave de 0,5 L de capacidad, pues el mayor tamaño de estas permitió introducir una cantidad de semillas superior. De esta forma, se pudo producir más cantidad de esporas. Además, la superficie de contacto con el inóculo era mayor, incrementando la esporulación. Para este ensayo se emplearon un total de 5 bolsas. El procedimiento para la producción en masa de las esporas de *T. harzianum* fue similar al realizado para la medición de la cantidad de esporas en cada especie, aunque difiere en algún paso. Las fases para este ensayo fueron:

➤ **Acondicionamiento del medio de cultivo:**

El procedimiento fue similar al caso anterior. Sin embargo, en este caso, se pesaron 750 g de semilla para las 5 bolsas de autoclave. Una vez lavada, la avena humedecida se dispuso extendida en una bandeja de plástico para su mejor manejo. Se añadió agua destilada hasta cubrir completamente las semillas en la bandeja y se dejó reposar 12 h. Transcurrido el tiempo, se escurrió el agua y se pesaron 150 g de semillas húmedas para cada bolsa de autoclave, desechando el sobrante. Por último, se sellaron las bolsas con cinta Micropore de 3M (USA) y se autoclavaron.

➤ **Preparación del inóculo:**

La metodología fue la misma que para los tarros de vidrio, con la puntualización de que para inocular cada bolsa de avena fueron necesarios 3 mL de disolución de esporas con concentración

de $1 \cdot 10^7$ esporas/mL. En este caso, se prepararon 20 mL de disolución con concentración $1 \cdot 10^7$ esporas/mL. Para ello fueron necesarios 1,38 mL de disolución con $1,45 \cdot 10^8$ esporas/mL.

➤ **Inoculación del medio:**

El protocolo para esta fase fue idéntico al realizado para la inoculación en los tarros de vidrio, salvo en la cantidad pipeteada de disolución con esporas. De esta disolución se tomaron 3 mL y se aplicaron sobre las semillas de avena en la bolsa, masajeando posteriormente el contenido para homogeneizarlo. Acto seguido, se cerró con cinta Micropore de 3M (USA), y se dejó reposar una semana en cámara de cultivo (**Figura 12**).

➤ **Extracción de esporas:**

En primer lugar, se abrieron las bolsas en el interior de la cámara de flujo con ayuda de unas tijeras, para verter después 300 mL de agua destilada autoclavada dentro. A continuación, se removió bien para favorecer la salida de las esporas y se mezcló el contenido. Seguidamente, se extrajeron 35 mL de cada bolsa con ayuda de una pipeta, que fueron transferidos a través de un filtro Miracloth de Millipore (USA) a un tubo Falcon de 50 mL, obteniendo así una disolución de las esporas filtradas sin micelio. Después, se tomó una alícuota de 2 μ L de cada bolsa para mezclarlos en un tubo Eppendorf con 198 μ L de agua destilada autoclavada (proporción 1:100). Se realizó el conteo de esporas mediante una cámara de Neubauer de igual forma que antes, averiguando su concentración en la disolución.

Los tubos Falcon de 50 mL con la disolución de esporas fueron centrifugados para que las mismas precipitasen. Una vez centrifugados (**Figura 13**), se retiró el sobrenadante de los mismos, quedando una suspensión de esporas que fue transferida a un vidrio estéril (**Figura 14**). Este vidrio con la suspensión se dejó secar en la cabina de flujo laminar durante 12 h para mantener la esterilidad. Cuando se secó, la fina película resultante fue raspada con ayuda de una espátula pequeña. Como resultado, se obtuvieron las esporas secas en un formato pulverulento. El producto seco se guardó en un tubo Falcon para su posterior uso en el pildorado de las semillas de garbanzo. La cantidad de esporas necesarias de *T. harzianum* para pildorar 1 kg de garbanzos fue de $6 \cdot 10^7$. Para el ensayo se requirió un saco de 25 kg de garbanzos, por lo que fueron necesarias $1,5 \cdot 10^9$ esporas.



Figura 12. Bolsa con *A. sativa* una semana después de la inoculación.

Fuente: foto del autor.

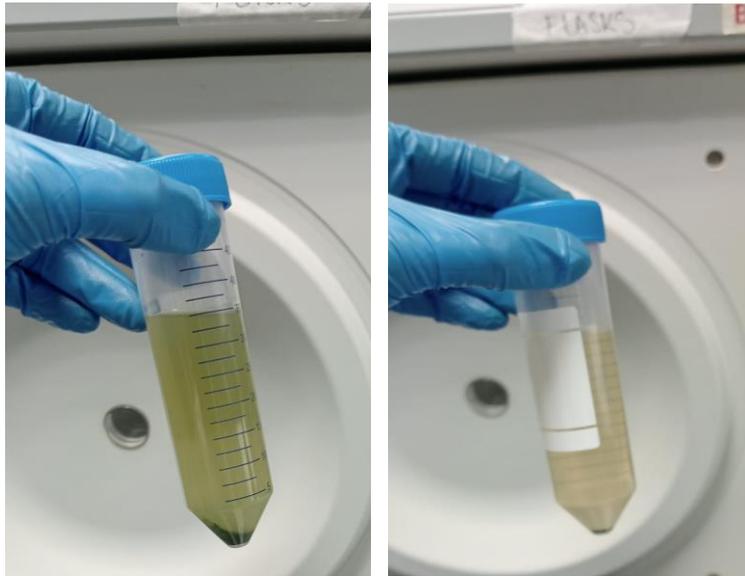


Figura 13. Tubos Falcon con esporas en disolución antes y después del centrifugado.
Fuente: foto del autor.

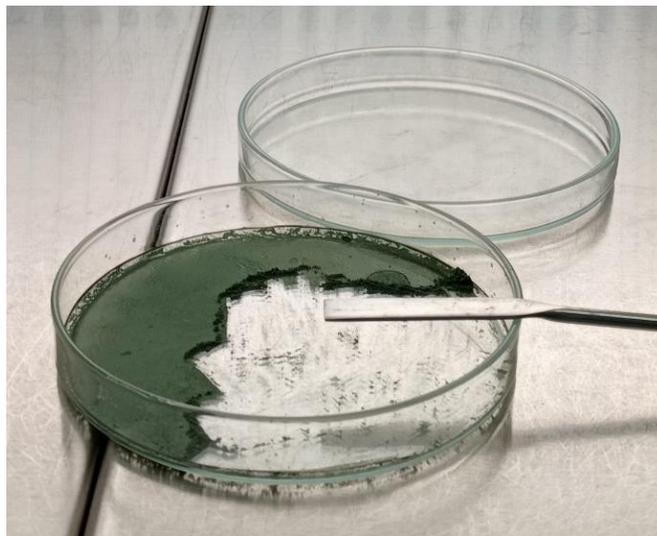


Figura 14. Esporas de *T. harzianum* después del secado en campana de flujo.
Fuente: foto del autor.

4.4. ENSAYO DE MEDICIÓN DE VIABILIDAD DEL INÓCULO

En este ensayo el objetivo consistió en evaluar la vida útil que tuvo el inóculo en el formato de pildorado sobre la semilla de garbanzo, con la finalidad de conocer la posible capacidad de almacenamiento que tendría este sin perder viabilidad. El inóculo de *T. harzianum* sobre los garbanzos fue realizado mediante un procedimiento industrial en la empresa Rooteco Agriculture S.L., utilizando las esporas obtenidas en el ensayo anterior.

4.4.1. Preparación de las semillas

Después de haber obtenido las esporas secas en el ensayo anterior, se llevó a cabo el tratamiento de pildorado, en el que se adhirieron las esporas de *T. harzianum* a las semillas de garbanzo mediante una mezcla de arcilla con aditivos. La pildoración de las semillas de garbanzo se realizó con la siguiente fórmula por kg de semilla: 90 g de arcilla caolín + 2 gramos de quitosán + 2 gramos de goma Xantana + 40 mL de agua + $6 \cdot 10^7$ esporas de *T. harzianum*.

4.4.2. Procedimiento experimental

Para la medición de la viabilidad se utilizaron los garbanzos inoculados mediante el proceso industrial de pildorado. Dentro de la campana de flujo en ambiente esterilizado, primeramente, se introdujeron 4 garbanzos inoculados en un tubo Falcon de 15 mL, adicionándose seguidamente 5 mL de agua destilada estéril. Después de sumergir los garbanzos, se sometió al tubo Falcon durante unos segundos a agitación de su contenido mediante un agitador Vortex, con la finalidad de diluir el pildorado en el agua destilada. Tras mezclar el contenido, en la campana de flujo, se transfirió la disolución a través de un filtro Miracloth de Millipore (USA), a un tubo Falcon de 15 mL para dejar pasar las esporas disueltas e impedir el paso del micelio. Después de esto, se realizaron 6 disoluciones seriadas desde la propia disolución madre original en proporción 1:10, en sucesivas repeticiones. Posteriormente, se tomaron 20 μ L de cada disolución seriada y se extendieron sobre el medio selectivo de *T.harzianum* dispuesto en una placa de Petri con ayuda de una punta de pipeta. Por último, se cerraron las placas con Parafilm y se dejaron a temperatura ambiente en ausencia de luz durante un período no inferior a 2 días. El ensayo se realizó con 4 repeticiones de cada disolución para asegurar la fiabilidad de los datos obtenidos.

Transcurridos al menos dos días, las esporas comenzaron a germinar. Para medir su viabilidad, el conteo se realizó el tercer día a simple vista, sin necesidad de microscopio. Este cálculo se realizó contando cada una de las colonias formadas en las placas de Petri anteriores, las cuales se manifestaban como puntos en la base de la placa con una orla alrededor. En ocasiones, el número de colonias formadas fue tan elevado que resultó incontable, por lo que figura como “NC” en las tablas de resultados. El procedimiento de medición de viabilidad descrito se realizó todas las semanas desde el primer día del pildorado hasta que la cantidad de esporas germinadas llegó a ser nula en casi todas las disoluciones, habiendo una caída drástica también en aquellas de mayor concentración.

4.5. ENSAYO DE CAMPO CON LAS SEMILLAS INOCULADAS CON *T. harzianum*

El objetivo del ensayo es evaluar la influencia de la inoculación de *T. harzianum* en las semillas de garbanzo sobre la mitigación de los daños provocados por el patógeno *A. rabiei*, para constatar si puede utilizarse en la supresión de la rabia. A pesar de que el objetivo principal del ensayo consistió en evaluar la influencia de *T. harzianum* sobre la mitigación de los daños provocados por *A. rabiei*, también se tuvieron en cuenta una serie de parámetros relacionados con el estado sanitario y desarrollo del cultivo del garbanzo. En cuanto al estado sanitario, se tomaron datos de la incidencia y severidad del ataque de *A. rabiei* sobre las plantas de garbanzo, así como de otras enfermedades. En lo relativo al desarrollo del cultivo, se estudió la evolución

en la nascencia, estado fenológico y altura de las plantas a lo largo de su ciclo de cultivo. Por último, también se estudió el efecto de *T. harzianum* sobre la producción en la cosecha.

4.5.1. Parcelas de ensayo y ubicación de las mismas

Antes de conocer las operaciones realizadas sobre el terreno es necesario saber cómo son y dónde se van a ubicar las parcelas que se emplearon para el ensayo de campo. Dos de las parcelas se localizaron dentro del término municipal de Fuentesauco, mientras que la tercera se ubicó en el término de Villamor de los Escuderos. Ambas localidades colindan y se ubican en la comarca de La Guareña, al sureste de la provincia de Zamora (Castilla y León, España). Para la realización del ensayo, se escogieron 3 puntos geográficos diferentes donde se constató la presencia de rabia en los años anteriores. Estos 3 puntos geográficos se encontraron dentro de unas parcelas catastrales, que denominaremos “parcelas de agricultor”. En el interior de cada una de estas parcelas de agricultor se ubicaron 3 “parcelas de ensayo”, con unas dimensiones aproximadas de 6 x 10-12 m. A su vez, cada parcela de ensayo se dividió en 2 subparcelas, para tener el ensayo duplicado, dentro de las cuales se sembraron las semillas de garbanzo con cada uno de los siguientes 3 tratamientos:

- **Control:** garbanzos sin ningún tipo de tratamiento.
- **Pildorado:** garbanzos recubiertos con la arcilla caolín y demás aditivos del pildorado, pero sin inóculo de *T. harzianum*.
- **Pildorado con arcilla y *T. harzianum*:** garbanzos pildorados con *T. harzianum*, adherido el inóculo a las semillas mediante la arcilla y aditivos añadidos en el proceso industrial.

Cada uno de los tres grupos de semillas con diferente tratamiento se dispuso en dos líneas de siembra distintas en cada parcela de ensayo. Las semillas con tratamiento de pildorado fueron sembradas 48 horas tras el proceso industrial. De esta forma, se lograron, en total, cuatro surcos con semillas de cada tratamiento por parcela de ensayo (12 en total). Las semillas con cada uno de los tres tratamientos se colocaron en la sembradora con orden: Control – *T. harzianum* – Arcilla – Arcilla – *T. harzianum* – Control. Se eligió esta disposición para minimizar la influencia del efecto borde fuera de la parcela sobre los tratamientos de pildorado aplicados, así como para no tener que desinfectar las botas de siembra si se hubiera querido cambiar la distribución de los tratamientos. Para su mejor comprensión, en la **Figura 15** aparece una representación esquemática de las líneas de siembra presentes en cada parcela de ensayo, con su respectivo tratamiento.

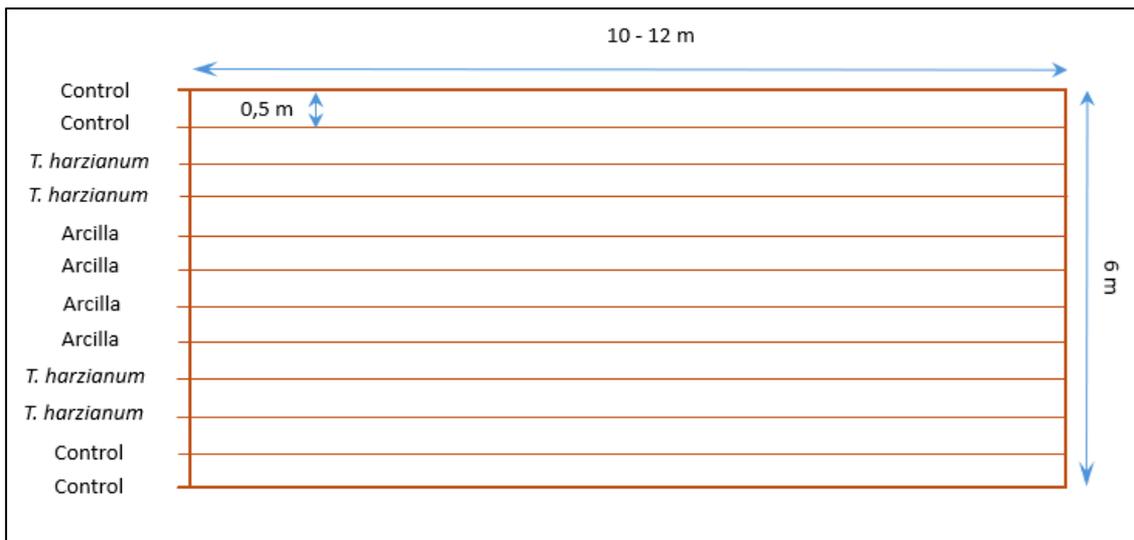


Figura 15. Representación esquemática de cada uno de los tratamientos en las líneas de siembra de la parcela de ensayo.

Fuente: elaboración propia.

Para especificar la ubicación concreta de cada parcela de ensayo, se recurrió al Sistema de Información Geográfica QGIS, que utiliza los datos del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL) de mayor actualidad (2022). Con ayuda de este software, se elaboró una composición (**Figura 16, Figura 17, Figura 18, Figura 19**) donde se muestra la situación de cada parcela del agricultor y el emplazamiento de cada una de las tres parcelas de ensayo contenidas en cada parcela de agricultor. Las coordenadas de cada una de las parcelas de agricultor se muestran más abajo. Sin embargo, se ha de puntualizar que estas correspondieron al centroide de la figura, es decir, el punto donde reposa el centro de gravedad del polígono geométrico. Por tanto, las coordenadas del centroide de cada parcela de agricultor fueron:

- **Parcela de agricultor 1:** 41° 13' 32,55" N, 5° 29' 32,59" O.
- **Parcela de agricultor 2:** 41° 12' 51,04" N, 5° 31' 15,44" O.
- **Parcela de agricultor 3:** 41° 16' 18,92" N, 5° 31' 5,48" O.

A mayores de las coordenadas, se recurrió al registro administrativo del Catastro para tener un mayor conocimiento de las parcelas donde se ubicaron las experiencias. Las referencias catastrales y superficie de cada parcela fueron:

- **Parcela de agricultor 1:**
 - **Polígono 1, Parcela 348. Referencia Catastral:** 49094A001203480000SU.
 - **Superficie:** 11,98 ha.
- **Parcela de agricultor 2:**
 - **Polígono 1, Parcela 10446. Referencia Catastral:** 49094A001104460000SR.
 - **Superficie:** 4,18 ha.

- **Parcela de agricultor 3:**

- **Polígono 501, Parcela 1150. Referencia Catastral: 49284A50101150000UJ.**
- **Superficie: 10,93 ha.**



Figura 16. Localización de las parcelas de agricultor. (Izda.) Mapa de España con sus provincias, resaltada en rojo la provincia de Zamora. (Centro) Comarca de La Guareña en la provincia de Zamora. (Dcha.) Localización de las parcelas de agricultor a nivel municipal (puntos rojos).

Fuente: elaboración propia.

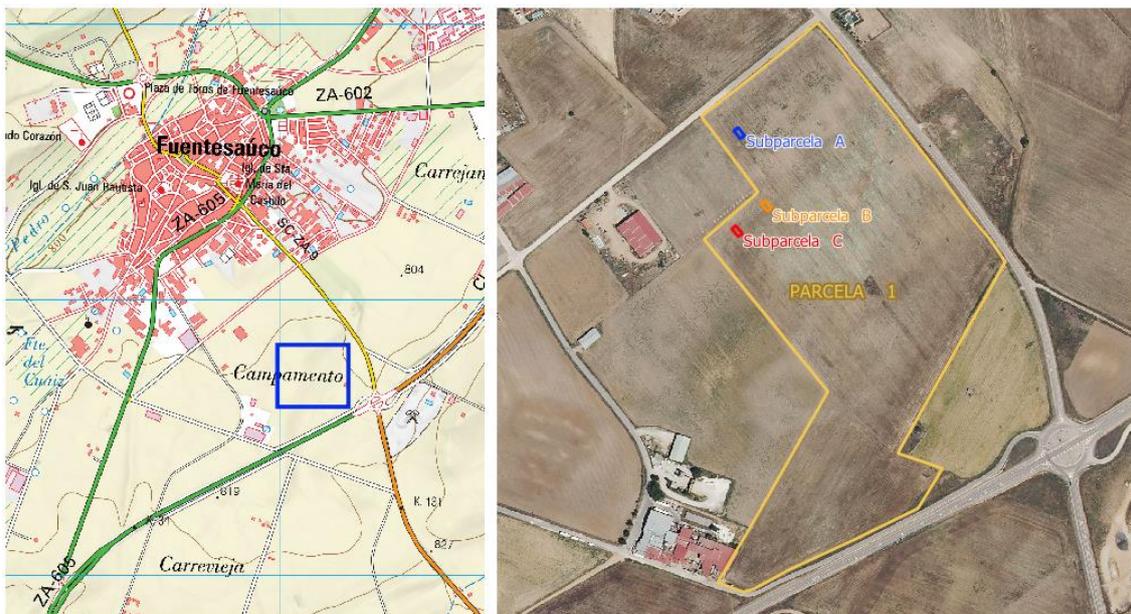


Figura 17. Localización de la primera parcela de agricultor ("PARCELA" en el plano) y emplazamiento de las parcelas de ensayo ("Subparcelas" en el plano) en el ámbito de Fuentesauco (cuadro azul).

Fuente: elaboración propia.

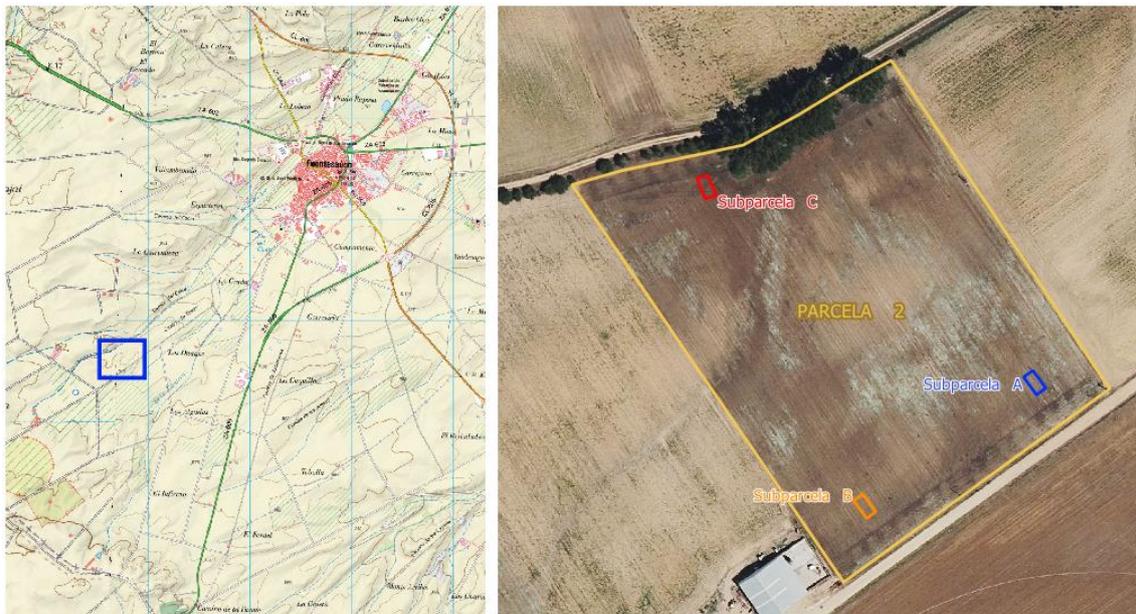


Figura 18. Localización de la segunda parcela de agricultor ("PARCELA" en el plano) y emplazamiento de las parcelas de ensayo ("Subparcelas" en el plano) en el ámbito de Fuentesauco (cuadro azul).

Fuente: elaboración propia.



Figura 19. Localización de la tercera parcela de agricultor ("PARCELA" en el plano) y emplazamiento de las parcelas de ensayo ("Subparcelas" en el plano) en el ámbito de Fuentesauco (cuadro azul).

Fuente: elaboración propia.

4.5.2. Análisis edáfico

Con el fin de tener en cuenta la posible influencia del suelo en el estudio, se tomaron datos del mismo en todas las parcelas de ensayo donde se fuera a sembrar. Para que la muestra pudiera ser lo más representativa posible, se cogieron tres submuestras en cada parcela de ensayo. Estas submuestras se realizaron en forma de diagonal ascendente desde la esquina inferior izquierda

de la parcela de ensayo. Posteriormente, se mezclaron estas tres tomas en una bolsa para su análisis conjunto en laboratorio.

Para obtención de cada submuestra, se excavó un pequeño hoyo mediante una azada, con la cual se profundizó entre 10 – 20 cm de suelo, tomándose después una pequeña cantidad de suelo a través de una pala de mano. Tras la extracción y embolsado de las 9 muestras, estas fueron depositadas en el Centro Tecnológico Agrario y Agroalimentario (ITAGRA), para su análisis detallado (**Tabla 6, Tabla 7, Tabla 8, Tabla 9, Tabla 10, Tabla 11, Tabla 12, Tabla 13, Tabla 14**). De este análisis se obtuvieron los resultados que se mostrarán en los siguientes apartados. Aparte del resultado numérico para el parámetro medido, también figura una interpretación del propio ITAGRA según la cantidad que presente el nutriente respecto a una escala del centro.

- **Parcela de agricultor 1; Parcela de ensayo A:**

- Coordenadas del centroide: 41° 13' 38,40'' N, 5° 29' 38,02'' O.

Tabla 6. Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 1 A.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
pH (1:2,5) *	6.42 ±0.11	---	Potenciometría PNT-S-01
Conductividad	0.06 mS/cm	---	Conductivímetro (1:5)
Arena ISSS	79.72 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Limo ISSS	6.28 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Arcilla ISSS	14.00 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Textura ISSS	Franco arenoso	---	---
Materia orgánica oxidable	0.59 g/100g	Muy bajo	Volumetría redox. PNT-S-05
Carbonatos	No detectable	No detectable	Bernard. PNT-S-03
Caliza activa	No detectable	No detectable	Bernard
P asimilable	39.8 ±4.4 mg/kg	Alto	Olsen. PNT-S-04
K asimilable	170 ±22 mg/kg	Bajo	ICP-OES PNT-S-07
Ca asimilable	5.7 ±0.7 meq/100g	Bajo	ICP-OES. PNT-S-06
Mg asimilable	1.17 ±0.18 meq/100g	Bajo	ICP-OES. PNT-S-06
Na asimilable	0.03 meq/100g	Muy bajo	ICP-OES. PNT-S-07
N total	0.05 g/100g	---	Kjeldahl modificado

Fuente: laboratorio del ITAGRA (2024).

- **Parcela de agricultor 1; Parcela de ensayo B:**

- Coordenadas del centroide: 41° 13' 35,69'' N, 5° 29' 36,58'' O.

Tabla 7. Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 1 B.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
pH (1:2,5) *	5.58	---	Potenciometría PNT-S-01
Conductividad	0.03 mS/cm	---	Conductivímetro (1:5)
Arena ISSS	81.72 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Limo ISSS	5.28 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Arcilla ISSS	13.00 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Textura ISSS	Franco arenoso	---	---

Tabla 7 (cont.). Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 1 B.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
Materia orgánica oxidable	0.53 g/100g	Muy bajo	Volumetría redox. PNT-S-05
Carbonatos	No detectable	No detectable	Bernard. PNT-S-03
Caliza activa	No detectable	No detectable	Bernard
P asimilable	34.2 ±4.4 mg/kg	Alto	Olsen. PNT-S-04
K asimilable	141 ±9 mg/kg	Bajo	ICP-OES PNT-S-07
Ca asimilable	4.7 meq/100g	Bajo	ICP-OES. PNT-S-06
Mg asimilable	1.66 meq/100g	Alto	ICP-OES. PNT-S-06
Na asimilable	0.03 meq/100g	Muy bajo	ICP-OES. PNT-S-07
N total	0.05 g/100g	---	Kjeldahl modificado

Fuente: laboratorio del ITAGRA (2024).

- **Parcela de agricultor 1; Parcela de ensayo C:**

- Coordenadas del centroide: 41° 13' 34,71" N, 5° 29' 37,99" O.

Tabla 8. Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 1 C.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
pH (1:2,5) *	5.68	---	Potenciometría PNT-S-01
Conductividad	0.03 mS/cm	---	Conductivímetro (1:5)
Arena ISSS	80.72 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Limo ISSS	4.28 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Arcilla ISSS	15.00 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Textura ISSS	Franco arenoso	---	---
Materia orgánica oxidable	0.51 g/100g	Muy bajo	Volumetría redox. PNT-S-05
Carbonatos	No detectable	No detectable	Bernard. PNT-S-03
Caliza activa	No detectable	No detectable	Bernard
P asimilable	38.7 ±4.4 mg/kg	Alto	Olsen. PNT-S-04
K asimilable	170 ±22 mg/kg	Bajo	ICP-OES PNT-S-07
Ca asimilable	5.4 ±0.7 meq/100g	Bajo	ICP-OES. PNT-S-06
Mg asimilable	1.96 meq/100g	Normal	ICP-OES. PNT-S-06
Na asimilable	0.03 meq/100g	Bajo	ICP-OES. PNT-S-07
N total	0.05 g/100g	---	Kjeldahl modificado

Fuente: laboratorio del ITAGRA (2024).

- **Parcela de agricultor 2; Parcela de ensayo A:**

- Coordenadas del centroide: 41° 12' 49,86" N, 5° 31' 11,10" O.

Tabla 9. Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 2 A.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
pH (1:2,5) *	5.48	---	Potenciometría PNT-S-01
Conductividad	0.02 mS/cm	---	Conductivímetro (1:5)
Arena ISSS	77.72 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Limo ISSS	6.28 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Arcilla ISSS	16.00 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos

Tabla 9 (cont.). Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 2 A.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
Textura ISSS	Franco arcillo arenoso	---	---
Materia orgánica oxidable	0.37 g/100g	Muy bajo	Volumetría redox. PNT-S-05
Carbonatos	No detectable	No detectable	Bernard. PNT-S-03
Caliza activa	No detectable	No detectable	Bernard
P asimilable	20.5 ±3.4 mg/kg	Normal	Olsen. PNT-S-04
K asimilable	97 mg/kg	Bajo	ICP-OES PNT-S-07
Ca asimilable	5.8 ±0.7 meq/100g	Bajo	ICP-OES. PNT-S-06
Mg asimilable	2.81 meq/100g	Alto	ICP-OES. PNT-S-06
Na asimilable	0.03 meq/100g	Muy bajo	ICP-OES. PNT-S-07
N total	0.04 g/100g	---	Kjeldahl modificado

Fuente: laboratorio del ITAGRA (2024).

- **Parcela de agricultor 2; Parcela de ensayo B:**

- Coordenadas del centroide: 41° 12' 47,56" N, 5° 31' 15,01" O.

Tabla 10. Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 2 B.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
pH (1:2,5) *	5.37	---	Potenciometría PNT-S-01
Conductividad	0.02 mS/cm	---	Conductivímetro (1:5)
Arena ISSS	77.72 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Limo ISSS	5.28 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Arcilla ISSS	17.00 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Textura ISSS	Franco arcillo arenoso	---	---
Materia orgánica oxidable	0.48 g/100g	Muy bajo	Volumetría redox. PNT-S-05
Carbonatos	No detectable	No detectable	Bernard. PNT-S-03
Caliza activa	No detectable	No detectable	Bernard
P asimilable	20.5 ±3.4 mg/kg	Normal	Olsen. PNT-S-04
K asimilable	130 ±9 mg/kg	Bajo	ICP-OES PNT-S-07
Ca asimilable	7.2 ±1.0 meq/100g	Bajo	ICP-OES. PNT-S-06
Mg asimilable	2.96 meq/100g	Alto	ICP-OES. PNT-S-06
Na asimilable	0.02 meq/100g	Muy bajo	ICP-OES. PNT-S-07
N total	0.04 g/100g	---	Kjeldahl modificado

Fuente: laboratorio del ITAGRA (2024).

- **Parcela de agricultor 2; Parcela de ensayo C:**

- Coordenadas del centroide: 41° 12' 53,18" N, 5° 31' 18,95" O.

Tabla 11. Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 2 C.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
pH (1:2,5) *	5.66	---	Potenciometría PNT-S-01
Conductividad	0.02 mS/cm	---	Conductivímetro (1:5)
Arena ISSS	79.72 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Limo ISSS	7.28 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos

Tabla 11 (cont.). Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 2 C.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
Arcilla ISSS	13.00 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Textura ISSS	Franco arenoso	---	---
Materia orgánica oxidable	0.50 g/100g	Muy bajo	Volumetría redox. PNT-S-05
Carbonatos	No detectable	No detectable	Bernard. PNT-S-03
Caliza activa	No detectable	No detectable	Bernard
P asimilable	26.4 ±4.4 mg/kg	Alto	Olsen. PNT-S-04
K asimilable	111 ±9 mg/kg	Bajo	ICP-OES PNT-S-07
Ca asimilable	4.8 meq/100g	Bajo	ICP-OES. PNT-S-06
Mg asimilable	1.40 ±0.18 meq/100g	Bajo	ICP-OES. PNT-S-06
Na asimilable	0.03 meq/100g	Muy bajo	ICP-OES. PNT-S-07
N total	0.05 g/100g	---	Kjeldahl modificado

Fuente: laboratorio del ITAGRA (2024).

- **Parcela de agricultor 3; Parcela de ensayo A:**

- Coordenadas del centroide: 41° 16' 9,15" N, 5° 31' 2,64" O.

Tabla 12. Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 3 A.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
pH (1:2,5) *	6.37 ±0.11	---	Potenciometría PNT-S-01
Conductividad	0.05 mS/cm	---	Conductivímetro (1:5)
Arena ISSS	78.72 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Limo ISSS	4.28 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Arcilla ISSS	17.00 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Textura ISSS	Franco arcillo arenoso	---	---
Materia orgánica oxidable	0.73 g/100g	Muy bajo	Volumetría redox. PNT-S-05
Carbonatos	No detectable	No detectable	Bernard. PNT-S-03
Caliza activa	No detectable	No detectable	Bernard
P asimilable	58.8 ±5.6 mg/kg	Muy alto	Olsen. PNT-S-04
K asimilable	204 ±22 mg/kg	Normal	ICP-OES PNT-S-07
Ca asimilable	9.1 ±1.0 meq/100g	Bajo-Normal	ICP-OES. PNT-S-06
Mg asimilable	1.73 meq/100g	Normal	ICP-OES. PNT-S-06
Na asimilable	0.02 meq/100g	Muy bajo	ICP-OES. PNT-S-07
N total	0.06 g/100g	---	Kjeldahl modificado

Fuente: laboratorio del ITAGRA (2024).

- **Parcela de agricultor 3; Parcela de ensayo B:**

- Coordenadas del centroide: 41° 16' 9,70" N, 5° 31' 1,77" O.

Tabla 13. Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 3 B.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
pH (1:2,5) *	6.46 ±0.11	---	Potenciometría PNT-S-01
Conductividad	0.05 mS/cm	---	Conductivímetro (1:5)
Arena ISSS	73.72 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos

Tabla 13 (cont.). Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 3 B.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
Limo ISSS	4.28 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Arcilla ISSS	22.00 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Textura ISSS	Franco arcillo arenoso	---	---
Materia orgánica oxidable	0.82 g/100g	Muy bajo	Volumetría redox. PNT-S-05
Carbonatos	No detectable	No detectable	Bernard. PNT-S-03
Caliza activa	No detectable	No detectable	Bernard
P asimilable	55.6 ±5.6 mg/kg	Muy alto	Olsen. PNT-S-04
K asimilable	199 ±22 mg/kg	Normal	ICP-OES PNT-S-07
Ca asimilable	12.4 ±2.9 meq/100g	Alto	ICP-OES. PNT-S-06
Mg asimilable	2.91 meq/100g	Alto	ICP-OES. PNT-S-06
Na asimilable	0.02 meq/100g	Muy bajo	ICP-OES. PNT-S-07
N total	0.05 g/100g	---	Kjeldahl modificado

Fuente: laboratorio del ITAGRA (2024).

- **Parcela de agricultor 3; Parcela de ensayo C:**

- Coordenadas del centroide: 41° 16' 11,71" N, 5° 30' 59,41" O.

Tabla 14. Análisis fisicoquímico del suelo para la parcela de ensayo 3 C.

Parámetros	Resultado	Interpretación	Método
pH (1:2,5) *	8.09 ±0.13	---	Potenciometría PNT-S-01
Conductividad	0.12 mS/cm	---	Conductivímetro (1:5)
Arena ISSS	70.72 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Limo ISSS	5.28 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Arcilla ISSS	24.00 g/100g	---	Densímetro Bouyoucos
Textura ISSS	Franco arcillo arenoso	---	---
Materia orgánica oxidable	0.71 g/100g	Muy bajo	Volumetría redox. PNT-S-05
Carbonatos	No detectable	No detectable	Bernard. PNT-S-03
Caliza activa	No detectable	No detectable	Bernard
P asimilable	45.3 ±4.4 mg/kg	Muy alto	Olsen. PNT-S-04
K asimilable	132 ±9 mg/kg	Bajo	ICP-OES PNT-S-07
Ca asimilable	24.4 meq/100g	Muy alto	ICP-OES. PNT-S-06
Mg asimilable	3.63 meq/100g	Alto	ICP-OES. PNT-S-06
Na asimilable	0.02 meq/100g	Muy bajo	ICP-OES. PNT-S-07
N total	0.07 g/100g	---	Kjeldahl modificado

Fuente: laboratorio del ITAGRA (2024).

*La determinación del pH se realizó a una temperatura de 20,7°C.

4.5.3. Análisis climático

A mayores del suelo, también se procedió a realizar un análisis de los principales indicativos climáticos en el entorno de la zona de estudio. Este análisis fue ejecutado para relacionar el valor de las variables climáticas con su posible influencia sobre el ensayo. Debido a la escasa variabilidad de los factores climáticos por la proximidad entre las diferentes parcelas de

agricultor, se han supuesto los parámetros meteorológicos como iguales para todas ellas. Estos valores han sido provistos amablemente por la Delegación Territorial de la Asociación Estatal de Meteorología (AEMet) en Castilla y León. Los datos pertenecen al observatorio climático de Fuentesauco, con coordenadas 41° 14' 12" N, 5° 28' 53" O, indicativo "2555B" y situado a 811 m de altitud. La serie de datos abarca el período de tiempo del ensayo de campo, desde la última semana de marzo hasta la última semana de julio de 2024. Con los datos en bruto, se ha procedido a elaborar un resumen en el que figuran diferentes parámetros meteorológicos para períodos temporales de diez días a fin de simplificar su interpretación. En el caso del viento, en cambio, este se expresará mensualmente. Las variables meteorológicas que se contemplaron en este caso fueron:

- Variables térmicas (medidas en °C) (**Tabla 15**):
 - Temperatura máxima absoluta del período (T'a).
 - Temperatura media de las máximas registradas (T).
 - Temperatura media del período de tiempo (tm).
 - Temperatura media de las mínimas (t).
 - Temperatura mínima absoluta (t'a).

Tabla 15. Cuadro resumen de las variables térmicas durante el ensayo.

	MARZO	ABRIL			MAYO			JUNIO			JULIO		
°C	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª
T'a	24,2	23,8	27,5	20,2	27,0	25,8	30,4	32,1	27,0	33,1	35,6	35,5	38,0
T	15,0	16,1	22,6	15,9	19,0	18,9	24,3	27,0	18,9	28,1	30,5	30,7	35,0
tm	9,6	11,0	14,1	9,2	12,3	12,7	16,1	19,1	16,6	20,8	21,8	22,5	25,7
t	4,2	5,8	5,6	2,5	5,6	6,6	7,8	11,2	9,5	13,5	13,2	14,3	16,5
t'a	1,0	0,4	0,4	-1,6	1,8	3,5	4,3	6,2	6,3	8,6	9,5	10,5	11,6

Fuente: elaboración propia a partir de los datos de la AEMet.

- Variables pluviométricas (medidas en mm) (**Tabla 16**):
 - Precipitación acumulada en el período de tiempo considerado (P).

Tabla 16. Cuadro resumen de las variables pluviométricas durante el ensayo.

	MARZO	ABRIL			MAYO			JUNIO			JULIO		
	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª
P (mm)	41	16,8	0	8,8	11,2	10,8	0	2,6	16,2	9,4	0	1	0

Fuente: elaboración propia a partir de los datos de la AEMet.

- Vientos de la zona (medidos en km/h) (**Tabla 17**):
 - Velocidad media del viento.
 - Velocidad máxima del viento.
 - Dirección de la velocidad máxima del viento.
 - Racha de viento máxima mensual.
 - Dirección de la racha de viento máxima mensual.

Tabla 17. Cuadro resumen de las variables relacionadas con el viento durante el ensayo.

	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO
Vmed (km/h)	30,9	23,9	24,2	25,0	22,2
Vmáx (km/h)	63,0	46,0	40,0	40,0	32,0
Dir. Vmáx	Suroeste	Suroeste	Suroeste	Suroeste	Oeste
Racha máx mensual (km/h)	96,0	71,0	58,0	62,0	56,0
Dir. Racha Max	Suroeste	Oeste	Suroeste	Oeste	Oeste

Fuente: elaboración propia a partir de los datos de la AEMet.

Para facilitar la interpretación de los datos numéricos, se aporta un gráfico (**Figura 20**) en el que se refleja la temperatura media del período contemplado y la precipitación acumulada durante el mismo.

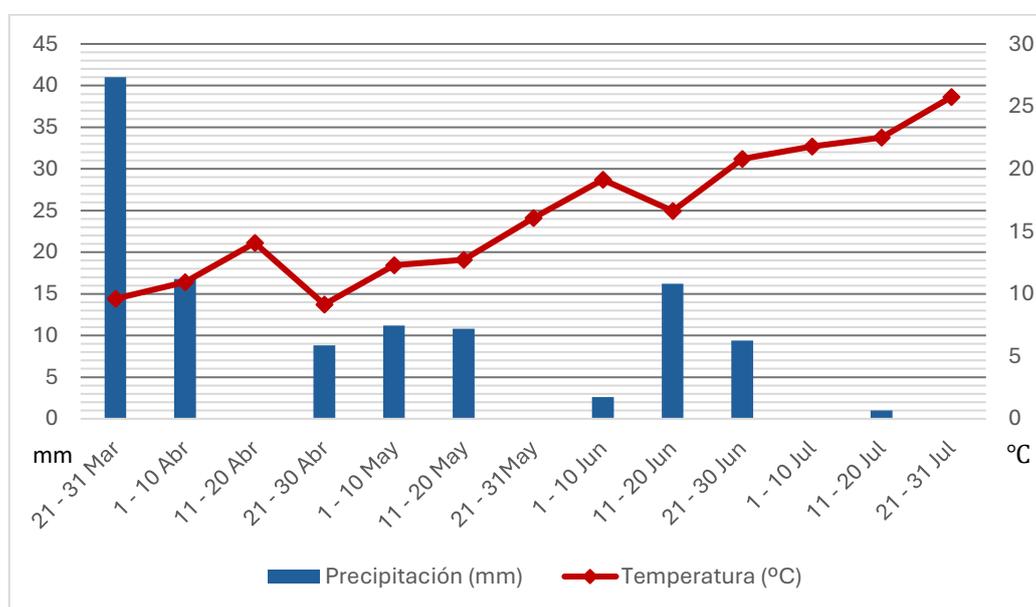


Figura 20. Climodiagrama durante el período de estudio.

Fuente: elaboración propia a partir de los datos de la AEMet.

4.5.4. Preparación del terreno y siembra

En esta sección se describen el conjunto de operaciones que se llevaron a cabo en el terreno durante el período de tiempo previo a la siembra, así como la propia operación de sembrado y las características de la misma. Las tres parcelas de agricultor descritas pertenecían a dos agricultores diferentes, que aplicaron una serie de tratamientos íntegros en el terreno antes de la siembra de sus propios garbanzos. Nuestras parcelas de ensayo, emplazadas dentro de estas parcelas de agricultor, recibieron entonces los mismos tratamientos antes de la siembra que la parcela del agricultor. Sin embargo, después de la siembra, las parcelas de ensayo no recibieron ninguna intervención más. Las condiciones y trabajos previos a la siembra que se realizaron en nuestra parcela fueron:

4.5.4.1. Cultivos precedentes en la parcela

Es importante conocer los cultivos previos en las diferentes parcelas de agricultor durante los dos años anteriores a la siembra de la leguminosa. Se realiza con la finalidad de observar la posible influencia que pudieran tener los cultivos anteriores al ensayo sobre la extracción de nutrientes o la conformación del suelo. Se estudian los cultivos de las dos campañas previas a nuestra siembra:

- **Parcela de agricultor 1:**
 - **Hace 1 año:** cebada.
 - **Hace 2 años:** barbecho.
- **Parcela de agricultor 2:**
 - **Hace 1 año:** trigo.
 - **Hace 2 años:** barbecho.
- **Parcela de agricultor 3:**
 - **Hace 1 año:** trigo.
 - **Hace 2 años:** girasol.

4.5.4.2. Preparación del terreno y labores precedentes del cultivo

En este apartado se exponen de forma cronológica las labores realizadas previamente a la siembra de los garbanzos en las diferentes parcelas de agricultor. Estas labores comprenden la preparación del terreno y los tratamientos fitosanitarios.

- **Parcelas de agricultor 1 y 2:**
 - **1ª semana de diciembre:** alzado con vertedera.
 - **1ª semana de marzo:** pase de grada de púas.
 - **2ª – 3ª semana de marzo:** pase de cultivador.
 - **22/03/2024:** segundo pase de cultivador.
 - **23/03/2024:** siembra de garbanzos, exceptuando nuestra parcela de ensayo.
 - **23/03/2024:** tratamiento de herbicida en preemergencia con las materias activas pendimetalina, a dosis de 2 L/ha y prosulfocar, a dosis de 2 L/ha.
- **Parcela de agricultor 3:**
 - **21/12/2023:** alzado con vertedera.
 - **20/03/2024:** pase de cultivador.
 - **21/03/2024:** segundo pase de cultivador.
 - **22/03/2024:** tratamiento de herbicida en preemergencia con pendimetalina a dosis de 1,25 L/ha.
 - **22/03/2024:** siembra de garbanzos, exceptuando nuestra parcela de ensayo.
 - **23/03/2024:** tratamiento de herbicida en preemergencia con pendimetalina a dosis de 1,25 L/ha y prosulfocar a dosis de 2 L/ha.

4.5.4.3. Siembra de las parcelas de ensayo

En este epígrafe se detallará el procedimiento de la siembra que se llevó cabo dentro de las parcelas de ensayo. A partir de este momento, las plantas no recibieron más tratamientos hasta la cosecha. La siembra se llevó a cabo durante la mañana del día 25 de marzo en las diferentes parcelas de ensayo mencionadas antes. Para su realización, se empleó un tractor de 110 CV de potencia, al que fue acoplado una sembradora monograno equipada con 6 botas de siembra. En cada una de estas botas de siembra se depositaron las semillas con los tres tratamientos en el siguiente orden: Control – Control – *T. harzianum* – *T. harzianum* – Arcilla – Arcilla. Al depositarse las semillas con cada tratamiento siempre dentro de la misma bota, cuando se agotaban y se procedía a rellenar la sembradora con más simiente, no era necesario desinfectar estas ni limpiarlas, pues seguían transportando el material vegetal con idéntico tratamiento.

La sembradora, después de cargar las botas de siembra, se encargó de enterrar cada una de las semillas a una profundidad constante (5 cm aprox.) y con una separación uniforme (50 cm), siendo el espaciamiento aproximado entre semillas de la misma línea de 8 cm. Tras abrir el terreno y depositar la semilla, la propia sembradora se ocupó, mediante unos rodillos calibrados de enterrarla en el surco de siembra. El mecanismo que utilizó la sembradora para la distribución de la semilla fue de tipo neumático de succión. En este sistema, el ventilador de la sembradora genera un vacío en el dosificador de las semillas. Las semillas son succionadas y se adhieren a los orificios del disco dosificador, que gira y las lleva a la posición de siembra. Al espaciamiento calibrado, el vacío se interrumpe y la semilla cae en el surco en una posición precisa. Se puede observar una foto del apero en la **Figura 21** y de la separación de las semillas en la línea de siembra en la **Figura 22**:



Figura 21. Sembradora monograno empleada para la siembra de los garbanzos.

Fuente: foto del autor.



Figura 22. Espaciamiento y profundidad de los garbanzos en el surco de siembra (franja inferior de la fotografía).

Fuente: foto del autor.

Cada parcela estuvo constituida por 12 líneas de siembra, con las plantas pertenecientes a los 3 tratamientos mencionados. Sin embargo, la máquina sembradora únicamente podía sembrar 6 líneas simultáneamente. Para cubrir las 12 líneas de siembra, el tractor, una vez completó las primeras 6 líneas, cambió el sentido y continuó con la siguiente tanda dentro de la parcela de ensayo (**Figura 23**).



Figura 23. Aspecto de una parcela de ensayo después de realizarse la siembra.

Fuente: foto del autor.

4.5.5. Toma de datos

Los datos comenzaron a tomarse a partir de la nascencia de las semillas, tres semanas después de la siembra. El espaciamiento entre visitas fue de 3 semanas. Para cada obtención de datos se empleó una estructura metálica cuadrada de 1 x 1 m, lo que permitió recoger las variables referentes a 1 m² de superficie dentro de cada una de las 9 parcelas de ensayo.

A lo largo de cada par de surcos con semillas del mismo tratamiento, se realizaron 4 lanzamientos aleatorios del marco metálico, midiéndose todas las variables en cada una de ellas. Se tomaron cuatro variables en total para cada muestra del ensayo. Sin embargo, la medición de cada variable no se realizó en todas las visitas. A continuación, se explican las variables que fueron tomadas en cada visita:

- **1ª visita:**

- Nº de plantas germinadas: se tomó el número de plántulas cuya plúmula, al menos, hubiera emergido por encima de la superficie del suelo.
- Altura media de las plantas: de entre todas las plantas emergidas, se seleccionó aquella representativa de la altura promedio dentro de cada marco metálico. La medición del ejemplar modelo se hizo desde la base hasta el límite superior de sus hojas en estado erguido.
- Estado fenológico: mediante un visado general del conjunto de las plantas, se estableció el estado fenológico medio en muestra tomada. Para establecer los diferentes estadios fenológicos de las plantas se empleó la escala del GRDC (2018), donde definen cada uno de los estados fenológicos de las plantas de garbanzo (**Tabla 18**):

Tabla 18. Estadios fenológicos de la planta de garbanzo.

Estado vegetativo (Estado V) en garbanzos		
Designación	Estado de crecimiento	Descripción
VG	Germinación	Los cotiledones permanecen subterráneos dentro de los tegumentos y proporcionan energía para el rápido crecimiento primario de las radículas y plúmula.
VE	Emergencia	La plúmula emerge y las dos primeras hojas se expanden. La primera hoja verdadera tiene dos o tres pares de folíolos junto con un folíolo terminal.
V1	Primer nódulo	Las hojas imparipinnadas unidas al primer nódulo están completamente expandidas y aplanadas, mientras que la primera hoja unida al nódulo superior empieza a desarrollarse.
V2	Segundo nódulo	La primera hoja unida al segundo nódulo está completamente expandida y aplanada, mientras que la segunda hoja del nódulo superior comienza a desarrollarse.
V3	Tercer nódulo	La segunda hoja unida al tercer nódulo está completamente expandida y aplanada, mientras que la tercera hoja del nódulo superior comienza a desarrollarse. La mayor parte del rendimiento de cosecha se encuentra en las hojas a partir del tercer nódulo.

V(n)	Enésimo nódulo	Un nódulo se cuenta cuando su hoja se desenrolla y sus foliolos están aplanados.
Estado reproductivo (Estado R) en el garbanzo		
R0	Falsa floración	En la transición del estado vegetativo a reproductivo, un conjunto de flores falsas puede desarrollarse desde las yemas axilares. Dichas yemas florales carecen de pétalos verdaderos y usualmente se desarrollan cuando la floración es provocada por una temperatura insuficiente para el desarrollo de las flores verdaderas, más aún cuando hay un alto contenido de humedad en el suelo.
R1	Inicio de floración	Aparición de una yema floral en cualquier nódulo del tallo principal.
R2	Apertura del cáliz	La yema crece, pero aún es estéril. Comienzan a formarse los sépalos.
R3	Antesis	La polinización ocurre antes de la apertura de la yema floral.
R4	Apertura de pétalos	Los pétalos se extienden para formar la flor.
R5	Colapso de la corola	La flor colapsa y los pétalos se secan, doblándose el pedúnculo. Por eso, la vaina en desarrollo normalmente cuelga debajo de su hoja subyacente.
R6	Inicio de la vaina	Existe una vaina en algún nudo del tallo principal.
R7	Vaina completa	Hay alguna vaina completamente expandida que se adecúa a las dimensiones características de la variedad.
R8	Inicio del semillado	Hay alguna vaina completamente expandida en la que el crecimiento interno de la semilla es visible cuando esta es cortada transversalmente.
R9	Llenado de la semilla	Hay alguna vaina con el espacio aparentemente lleno por las semillas cuando está verde.
R10	Comienzo de madurez	Alguna vaina del tallo principal empieza a tornarse amarillenta.
R11	50% de vainas doradas	El 50 % de las vainas de la planta están maduras.
R12	90% de vainas doradas	El 90 % de las vainas de la planta están maduras, normalmente tras 140 – 200 días después de la siembra, dependiendo de la variedad y la estación.

Fuente: GRDC (2018).

- **2ª, 3ª, 4ª y 5ª visita:**
 - Altura media de las plantas
 - Estado fenológico

- **Estado sanitario:** para evaluar el estado sanitario de las plantas se recurrió a dos variables diferentes:
 - **Incidencia:** reflejó el % de plantas afectadas por fitopatologías fúngicas. Para su medición, se calculó el porcentaje de afección respecto al total de plantas de la muestra. Se tomaron dos índices de esta misma variable:
 - ✓ **Incidencia de rabia:** únicamente se tomó el porcentaje de plantas con síntomas visibles de rabia respecto al total.
 - ✓ **Incidencia de enfermedades:** se anotó la totalidad de plantas con síntomas de infección por cualquier patología, incluida la rabia, respecto al total.
 - **Severidad:** esta magnitud se definió únicamente para aquellas plantas infectadas por rabia. Hizo referencia al grado de afección de la planta. Para su definición, primeramente, se estableció una escala de daños según los síntomas que presentasen los individuos afectados (**Figura 24**). Esta escala abarca desde el 0 hasta el 3 y constituiría los siguientes niveles de ataque:
 - ✓ **Nivel 0:** la planta no tiene síntomas visibles.
 - ✓ **Nivel 1:** la planta tiene síntomas observables en las hojas (manchas necróticas). Las manchas existentes poseen forma orbicular o elipsoidal.
 - ✓ **Nivel 2:** la planta tiene síntomas observables en el tallo y/o comienza la defoliación. Las manchas son redondeadas o alargadas, de color pardo.
 - ✓ **Nivel 3:** rotura del tallo debido a la estrangulación causada por la mancha necrótica.



Figura 24. Niveles de severidad (0-3) de *A. rabiei* sobre la planta de garbanzo.

Fuente: elaboración propia.

Conociendo la escala de daños de *A. rabiei*, se expone la fórmula necesaria para calcular el Índice de Severidad Media (DS, por sus siglas en inglés) (Fernández-San Millán et al., 2022). Este índice es necesario para calibrar la intensidad de ataque del hongo en la estadística de los datos tomados.

$$DS = \frac{\sum(C \cdot i)}{N \cdot i_{\text{máx}}} \cdot 100$$

Siendo C el número de plantas en cada grado de la escala de daños, i el valor en la escala de daños, $i_{\text{máx}}$ el valor más alto de la escala de daños y N el número total de plantas examinadas.

- **6ª visita:**
 - Estado sanitario de la enfermedad
 - Incidencia de rabia e incidencia de enfermedades.
 - Severidad

Como se mencionó al inicio, para la medición de las variables en campo se hicieron seis visitas periódicas cada 3 semanas, con observación directa de cada muestreo tomado. Estas visitas comprendieron desde la germinación de las plantas hasta la cosecha de las mismas, coincidiendo esta última con la 4ª semana de julio.

4.6. ESTUDIO DE PRODUCCIÓN

El presente estudio tiene como objetivo evaluar el impacto sobre la producción que tiene la aplicación de *T. harzianum* en las semillas de garbanzo respecto a los otros dos tratamientos aplicados.

4.6.1. Procedimiento experimental

Después de que las plantas alcanzaran la madurez, la 4ª semana de julio se procedió a su cosecha. Para estimar la producción de las plantas según el tratamiento recibido en la siembra, se realizaron una serie de muestreos con el marco metálico de 1 m². Al igual que antes, se lanzó este marco al azar 2 veces en cada par de líneas de siembra con homólogo tratamiento. En cada muestreo se arrancaron manualmente todas las vainas de las plantas ubicadas dentro del cuadro metálico, así como aquellas semillas caídas dentro del mismo. Cada una de las muestras tomadas fue introducida en una bolsa y etiquetada para su posterior análisis.

Posteriormente, el contenido de cada una de las bolsas se extendió por separado en el suelo de un exterior sobre periódicos, para que se secase totalmente. Transcurridos dos días, se recogieron por separado cada una de las muestras ya secas, para cribar los granos del resto de impurezas. En esta operación de trillado, primeramente, se dispuso el contenido de cada bolsa hermética en un tamiz de luz estrecha, pisándose, a continuación, para romper las vainas y extraer los garbanzos. Posteriormente, para separar los granos de la paja, se aplicó aire con un compresor. Seguidamente, se transfirieron los garbanzos de cada muestra a una balanza para medir su masa, obteniéndose la producción por hectárea. Por último, se obtuvo el número de semillas de cada muestra con ayuda de un contador automático de semillas.

4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos, tanto de los ensayos de laboratorio, que incluyen producción y medición de la viabilidad del inóculo, como de campo, que engloban características fisiológicas y sanitarias, así como producción de la planta, fueron procesados empleando el lenguaje de programación R (The R Project for Statistical Computing). Para evaluar las variables obtenidas en cada uno de estos ensayos, se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA), y un test de comparaciones múltiples. Con este fin, previo al análisis ANOVA, fue necesario verificar que se cumplieran las condiciones de normalidad y homogeneidad de la varianza, a través de los Test Shapiro y Barlett, respectivamente. En aquellas ocasiones donde se cumplieron tanto normalidad como homocedasticidad, se llevó a cabo un ANOVA clásico de un factor y un test HSD Tukey para las comparaciones múltiples.

Sin embargo, para aquellos factores donde no se cumplieron ambas premisas, fue necesaria la aplicación de métodos robustos (García-Pérez, 2010). Concretamente, se realizó un análisis ANOVA no paramétrico y un test de comparaciones múltiples empleando el procedimiento generalizado de Welch, con un recorte de colas de 0,1. A tal efecto, se utilizó el paquete Wilcox Robust Statistics (WRS2), implementado en el lenguaje de programación R.

5. RESULTADOS

5.1. ENSAYOS DE LABORATORIO

5.1.1. Ensayo de producción del inóculo

Los datos analizados no mostraron normalidad en su distribución. No obstante, sí manifestaron homogeneidad en sus varianzas (Barlett's K-squared = 14,15; $p = 0,08$). El análisis ANOVA no paramétrico expuso la existencia de diferencias significativas en la producción de esporas asociadas a cada una de las especies de semillas testadas ($F_{we} = 67,04$; $p < 0,001$). En concreto, el test de comparaciones múltiples reveló diferencias significativas entre la producción de esporas en guisante respecto al resto de las semillas, siendo este el que produjo menor cantidad de esporas ($8,00 \cdot 10^7$ esporas/g de semilla). La producción de esporas en el resto de las semillas no tuvo diferencias significativas, a excepción de la avena, la cual produjo una cantidad de esporas significativamente superior respecto al resto de los sustratos ($7,30 \cdot 10^8$ esporas/g de semilla) (Figura 25).

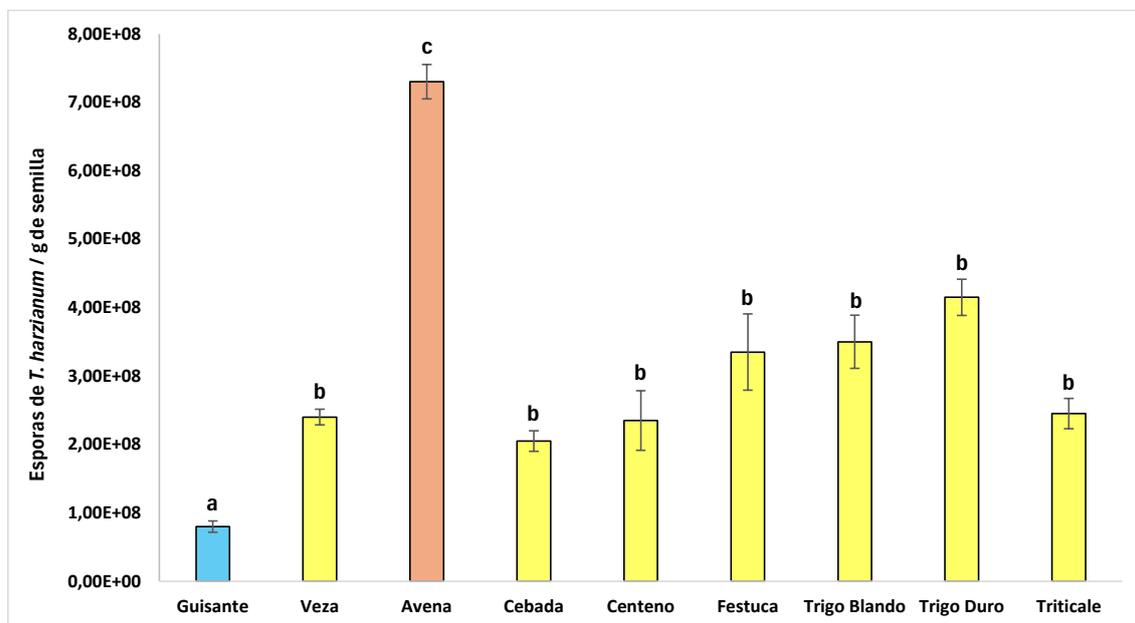


Figura 25. Número de esporas de *T. harzianum* por gramo de semilla. Distintas letras indican diferencias significativas entre los sustratos testados.

Como se expuso en el apartado 4. Materiales y Métodos, tras conocer que el sustrato sobre el que se produjeron mayor cantidad de esporas fue la avena, se decidió emplear esta para la producción masiva de conidios en bolsas, las cuales abarcaban mayor cantidad de semillas debido a su mayor tamaño y, por tanto, una generación superior de esporas. Después de realizar este ensayo, se obtuvo una producción media de $4,98 \cdot 10^8$ esporas/g de semillas, con una desviación típica de $2,89 \cdot 10^8$ esporas/g de semillas.

5.1.2. Ensayo de viabilidad del inóculo

Para la interpretación de resultados en el presente ensayo, se optó por tomar la disolución seriada con mayor concentración de conidios viables/g de garbanzo. Sin embargo, debido a que

en las 2 primeras semanas el número de conidios fue calificado como incontable por su inabarcable cantidad, se optó por recurrir a la disolución seriada más concentrada en la que existieran datos cuantificables desde la primera semana. Debido a esto, se seleccionó la dilución con concentración 1:10.000 respecto a la disolución madre original para la evaluación del número de conidios viables de *T. harzianum*/g de garbanzo. A partir de estos datos, se calculó el promedio y desviación típica en cada una de las 4 réplicas, y se descartaron aquellos datos extremos anómalos que pudieran distorsionar los resultados (**Figura 26**).

Durante las dos primeras semanas, se produjo una disminución sostenida en el número de conidios viables de *T. harzianum*/g de garbanzo, pero sin diferencias estadísticas significativas. Posteriormente, entre la 2ª y la 3ª semana del ensayo se produjo un descenso significativo brusco en la producción de esporas, pasando de $5,75 \cdot 10^8$ conidios viables de *T. harzianum*/g de garbanzo en la semana 2, a $1,25 \cdot 10^7$ conidios viables de *T. harzianum*/g de garbanzo en la semana 3. La cantidad de esporas generadas continuó disminuyendo hasta la semana 5, en la cual se produjo un pequeño aumento, aunque no constituyó una diferencia significativa. Por último, entre la semana 5 y la 6 se volvió a producir un descenso brusco en el número de conidios viables de *T. harzianum*/g de garbanzo, apreciándose una diferencia significativa al pasar de $1,50 \cdot 10^7$ conidios viables de *T. harzianum*/g de garbanzo a $1,68 \cdot 10^6$ conidios viables de *T. harzianum*/g de garbanzo. Después de la semana 6, dado el bajo número de conidios viables, se decidió suspender los ensayos al ser la capacidad de reproducción del inóculo muy escasa (**Figura 26**).

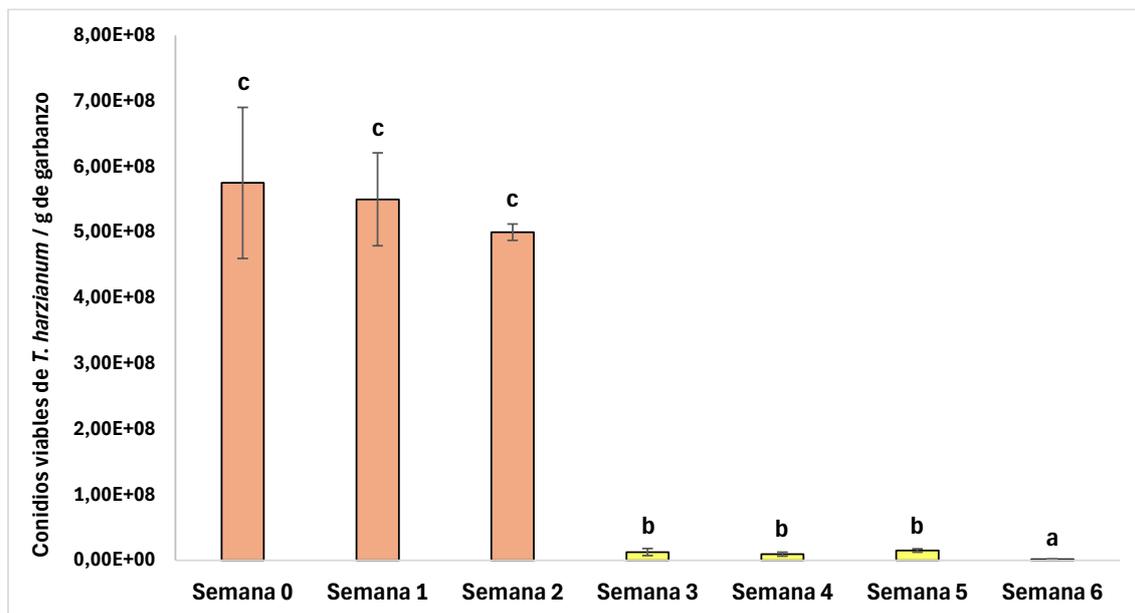


Figura 26. Evolución en el número de conidios viables de *T. harzianum* por gramo de garbanzo. Distintas letras indican diferencias significativas entre semanas de medición de la viabilidad.

5.2. ENSAYOS DE CAMPO

5.2.1. Nascencia de las semillas

A las 3 semanas de la siembra, en la parcela de agricultor 1, se constató la homogeneidad de varianzas (Barlett's K-squared = 2,72; $p = 0,26$), aunque no todos los datos siguieron una

distribución normal. El análisis ANOVA no paramétrico mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos aplicados ($F_{we} = 8,65$; $p < 0,001$). Concretamente, se produjeron diferencias significativas entre las semillas inoculadas con *T. harzianum* respecto a los otros dos tratamientos, evidenciando una menor tasa de germinación en las semillas tratadas con el hongo respecto al control y las semillas recubiertas con arcilla. En el resto de las parcelas, a pesar de presentar una tendencia similar a la mencionada, la germinación no experimentó diferencias significativas en los resultados. Transcurridas 6 semanas de la siembra, ninguna parcela mostró diferencias significativas en el análisis de sus resultados, a pesar de que en la parcela 1 el valor p se encontró próximo a 0,05 ($p = 0,13$) (Figura 27).

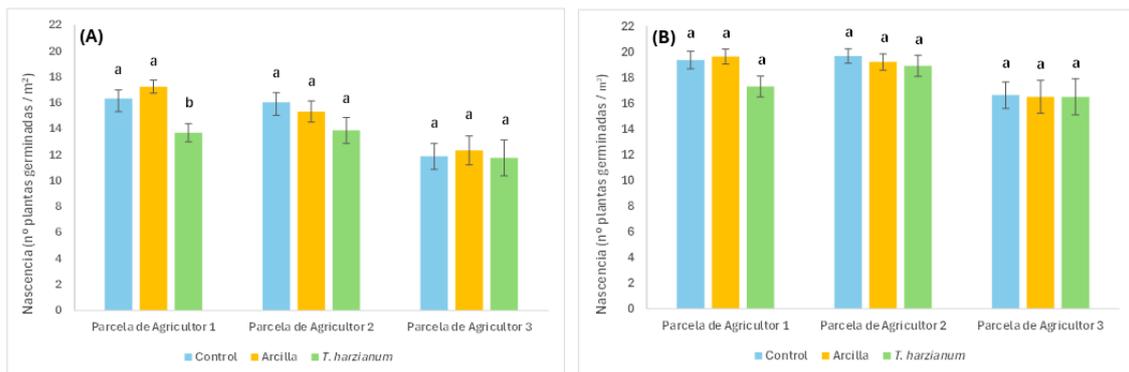


Figura 27. Nascencia de las semillas (nº plantas germinadas/m²) a las 3 semanas (A) y 6 semanas de la siembra (B) en cada parcela de agricultor. Distintas letras indican diferencias significativas dentro de una misma parcela de agricultor.

5.2.2. Altura de las plantas

En esta variable, las únicas diferencias significativas apreciables acontecieron transcurridas 3 semanas tras la siembra, en la parcela de agricultor 1. En este caso, los datos no mostraron una distribución normal, aunque sí presentaron homogeneidad en sus varianzas (Barlett's K-squared = 3,79; $p = 0,15$). Tras la realización del ANOVA no paramétrico, se pudieron apreciar diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($F_{we} = 3,55$; $p = 0,039$), concretamente entre la arcilla y el control, por la mayor altura de las plantas con recubrimiento de arcilla respecto a aquellas del control. En las demás parcelas de agricultor también se tomó la altura media de las plantas, pero en ningún caso se apreció que hubiera diferencias significativas entre los resultados obtenidos. De forma similar ocurrió tras 6, 9, 12 y 15 semanas de producirse la siembra, puesto que, aunque se acudió en estas cuatro ocasiones más para la toma de datos, los análisis estadísticos mostraron la inexistencia de diferencias significativas entre la altura de las plantas con distintos tratamientos en la semilla, evidenciando la homogeneidad en este parámetro (Figura 28).

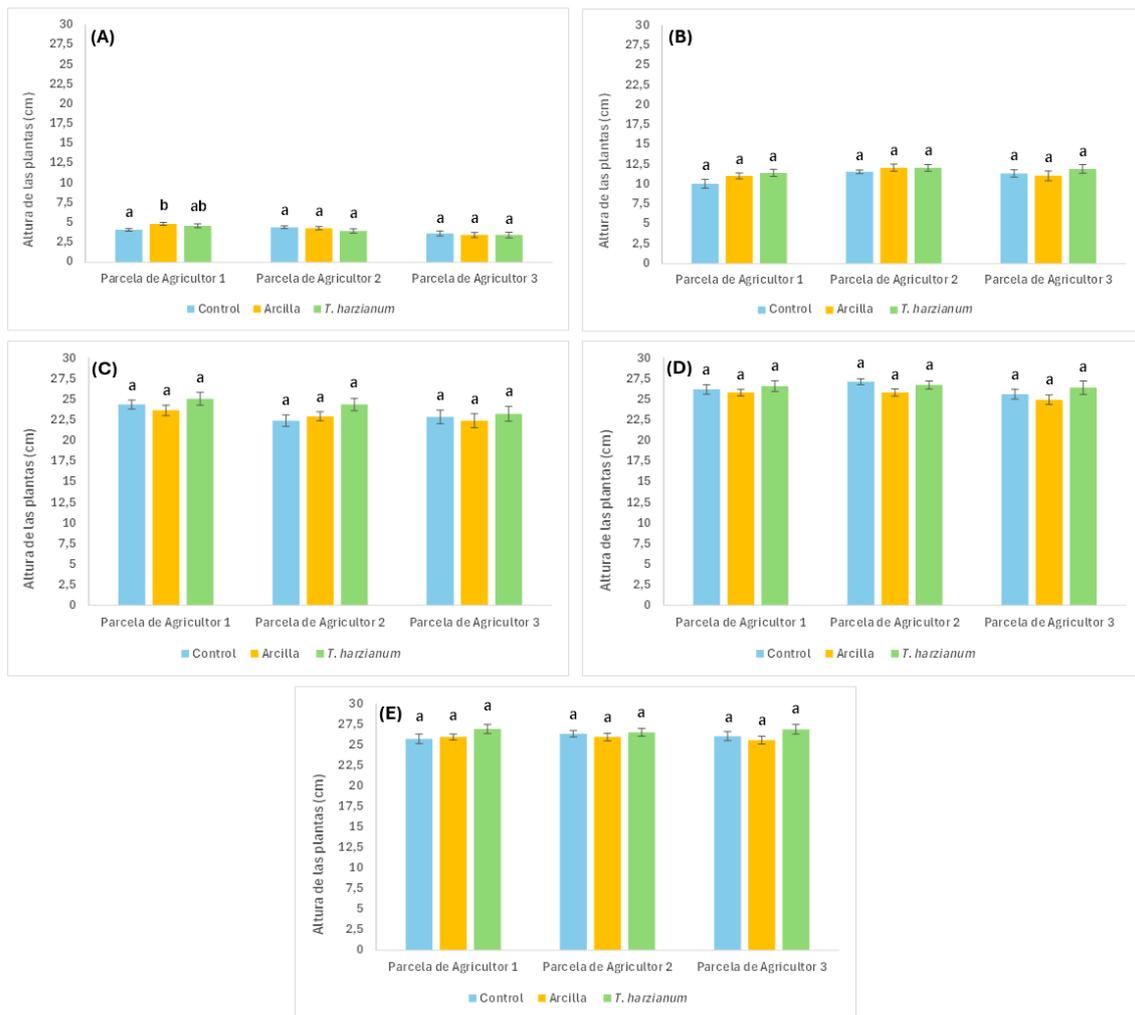


Figura 28. Altura de las plantas (cm) a las 3 semanas (A), 6 semanas (B), 9 semanas (C), 12 semanas (D) y 15 semanas (E) desde la siembra en cada parcela de agricultor. Distintas letras indican diferencias significativas entre los tratamientos dentro de una misma parcela de agricultor.

5.2.3. Estado fenológico de las plantas

El estado fenológico de las plantas no recibió un estudio estadístico de sus datos al tener un componente cualitativo y ser difícilmente interpretable desde el punto de vista aritmético. Sin embargo, para poder facilitar su análisis de forma visual, se optó por transformar la escala fenológica a una escala numérica fácil de comprender. Los valores de esta escala progresaron de forma ascendente desde el primer estadio medible (VG), que se correspondió con el valor 0, hasta el valor V18, considerado el último de la escala vegetativa en nuestro caso, y equivalente al valor 18 de la escala numérica. Posteriormente, se inició la fase reproductiva R0 en el valor 19, aumentando linealmente según progresaron los diferentes estadios, de acuerdo con la **Tabla 18**.

Al no existir un análisis estadístico de los datos, las diferencias que se señalaron únicamente se obtuvieron a través de los datos transformados y su visualización gráfica (**Figura 29**). Esta evolución en el estado fenológico fue ascendente de forma continuada en todas las parcelas visitadas a lo largo del tiempo, con muy pocas diferencias apreciables. Estas diferencias fueron más patentes en las primeras visitas, donde pudo apreciarse un avance inicial más rápido de las

plantas tratadas con *T. harzianum*, más notable en la parcela de agricultor 2. Sin embargo, el estado fenológico progresó de forma casi idéntica con los distintos tratamientos aplicados, pues las variaciones entre estos fueron prácticamente imperceptibles, y se homogeneizaron casi totalmente a partir de las 9 semanas tras la siembra (**Figura 29**).

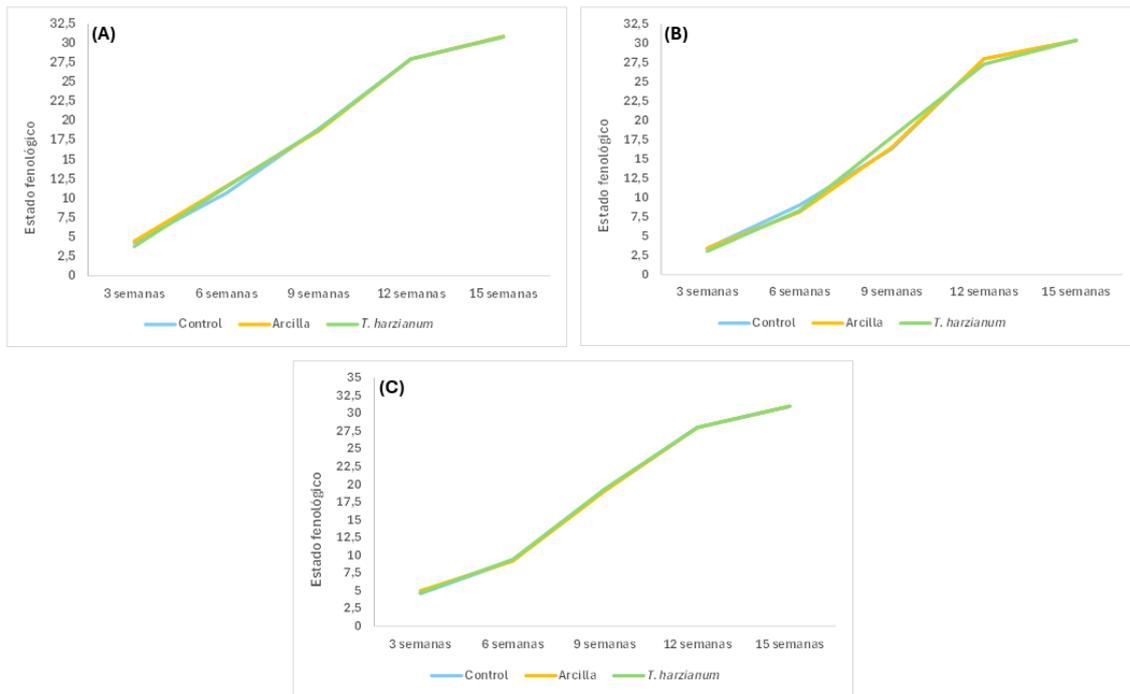


Figura 29. Evolución en el estado fenológico de las plantas a las 3 semanas, 6 semanas, 9 semanas, 12 semanas y 15 semanas desde la siembra en la parcela de agricultor 1 (A), 2 (B) y 3 (C).

5.2.4. Estado sanitario de las plantas

5.2.4.1. Incidencia

El análisis estadístico de los datos correspondientes a la incidencia de la rabia sobre las plantas de garbanzo no mostró diferencias significativas en ninguna de las cinco visitas que se hicieron desde la 6ª a la 17ª semana del cultivo, dentro de cada una de las parcelas de agricultor contempladas. Los niveles de significación más bajos se encontraron a las 12 semanas de producirse la siembra, concretamente en las parcelas de agricultor 1 y 2, donde el valor de p fue de 0,09 y 0,07, respectivamente. Sin embargo, al ser $p > 0,05$, estas diferencias no pudieron considerarse significativas (**Figura 30**).

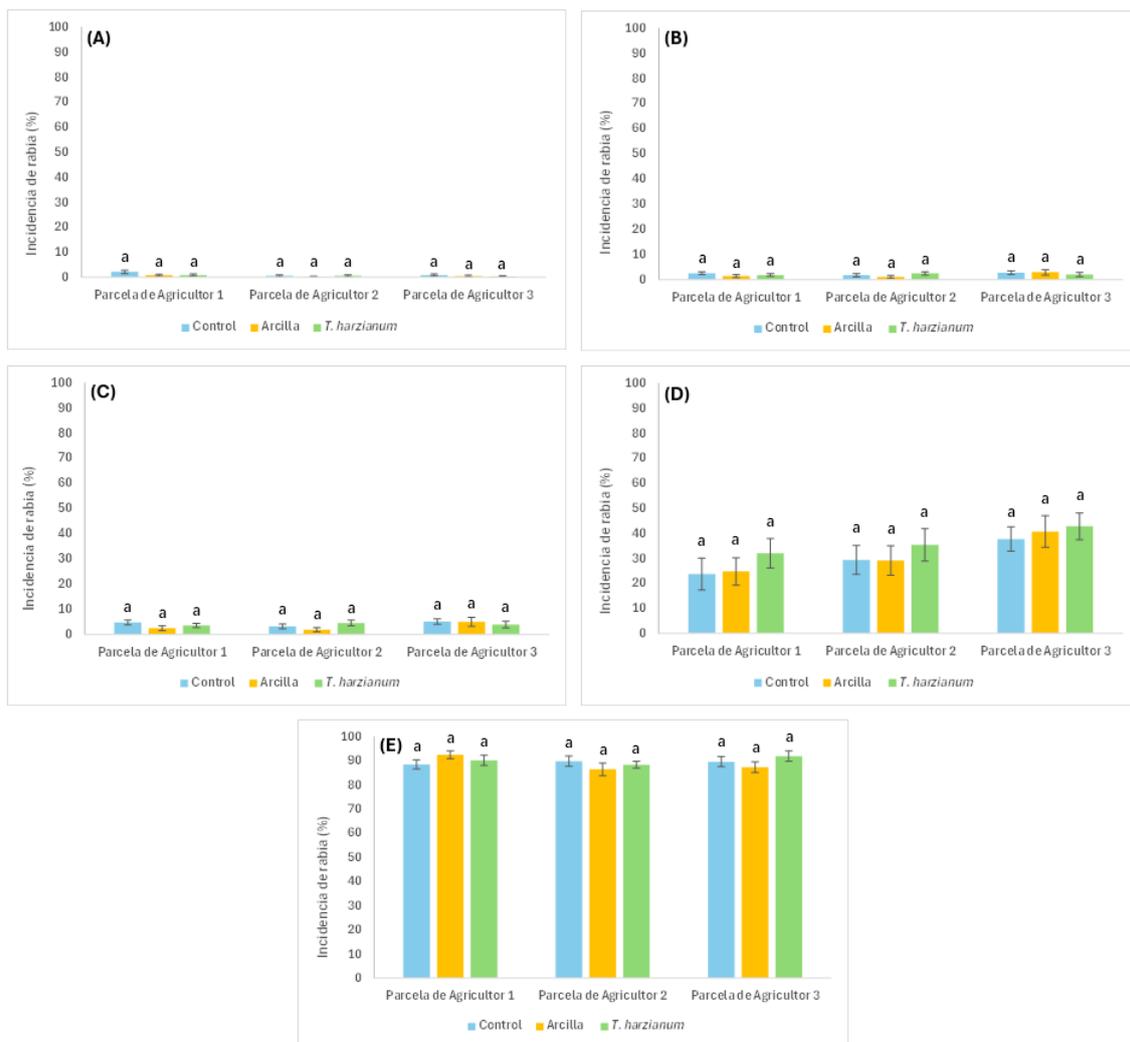


Figura 30. Incidencia de rabia (%) a las 6 semanas (A), 9 semanas (B), 12 semanas (C), 15 semanas (D) y 17 semanas (E) desde la siembra en cada parcela de agricultor. Distintas letras indican diferencias significativas entre los tratamientos dentro de una misma parcela de agricultor.

5.2.4.2. Severidad

El análisis estadístico de los datos relativos a la severidad de la enfermedad en las plantas tampoco arrojó diferencias estadísticas significativas en los resultados obtenidos, a pesar de haberse realizado 5 visitas durante todo el ciclo de cultivo. De forma similar a la incidencia de la rabia, se produjeron algunos casos en los que el nivel de significación de los datos se aproximó a 0,05. Al igual que sucedió con la incidencia, a las 12 semanas de producirse la siembra el valor p fue de 0,08 en la parcela de agricultor 1, y de 0,051 en la parcela de agricultor 2. En estos casos $0,05 < p < 0,10$, mas las diferencias se consideraron irrelevantes y no fueron tenidas en cuenta por no presentar significación suficiente (**Figura 31**).

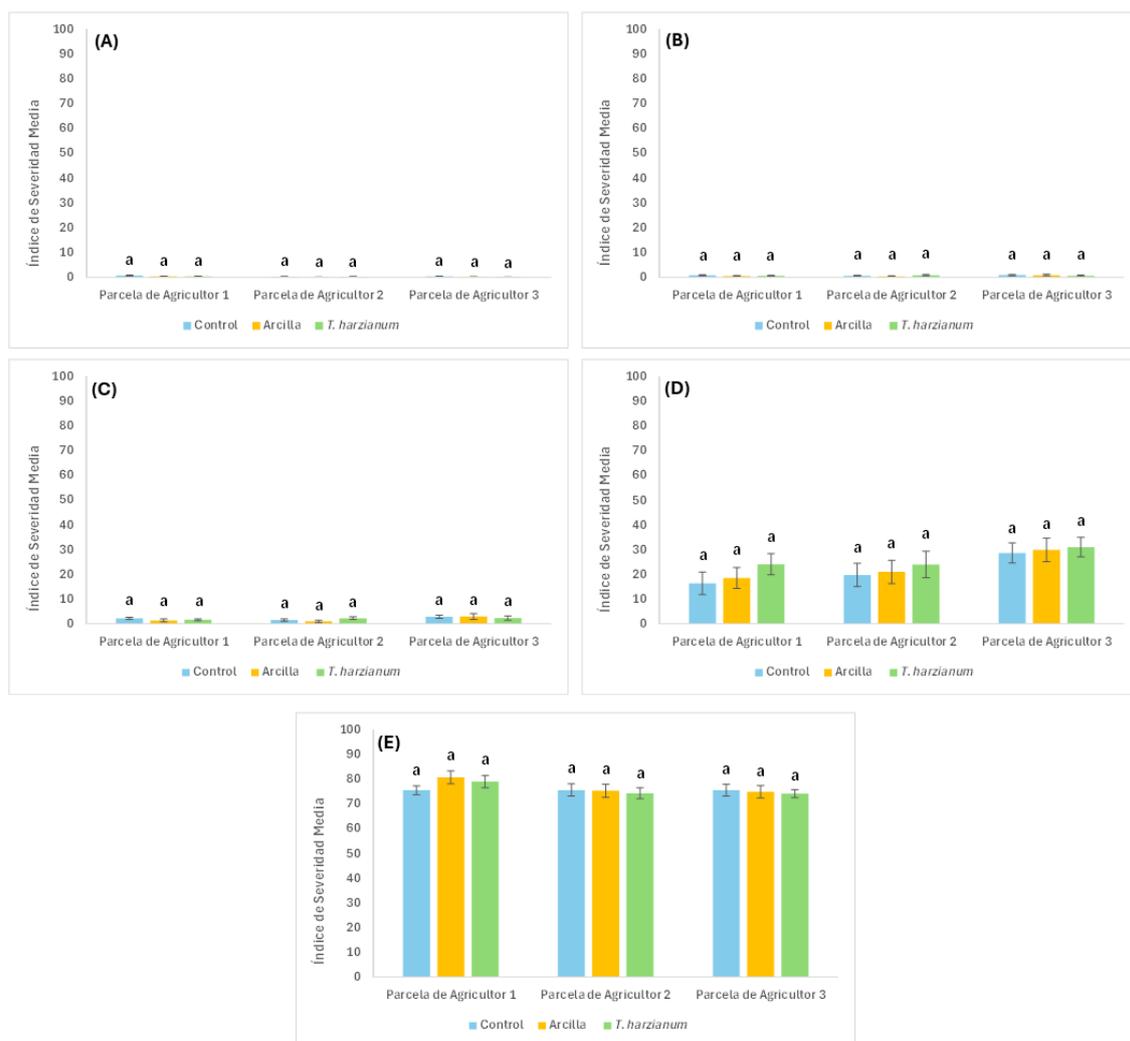


Figura 31. Índice de Severidad Media de las plantas infectadas con rabia a las 6 semanas (A), 9 semanas (B), 12 semanas (C), 15 semanas (D) y 17 semanas (E) desde la siembra en cada parcela de agricultor. Distintas letras indican diferencias entre los tratamientos dentro de una misma parcela de agricultor.

5.2.4.3. Enfermedad total

Bajo esta denominación se aglutinó a todas aquellas plantas que mostraron algún síntoma de patología (tanto rabia como cualquier otra) dentro del conjunto total analizado. Se calculó mediante la suma de porcentajes de las plantas afectadas por rabia, junto con aquellas que mostraron síntomas de otras enfermedades diferentes a la rabia.

Únicamente se apreciaron diferencias estadísticas significativas a las 9 semanas tras la siembra, concretamente en la parcela de agricultor 1. En este caso, los datos no presentaron normalidad en su distribución, aunque sí se apreció homogeneidad en las varianzas estudiadas (Barlett's K-squared = 3,54; $p = 0,17$). Tras realizarse el ANOVA no paramétrico, se pudo apreciar la existencia de diferencias significativas entre los datos ($F_{we} = 5,81$; $p = 0,006$). En concreto, después de realizarse el test de comparaciones múltiples, se obtuvo que dichas diferencias se dieron entre las plantas tratadas con arcilla respecto a aquellas que se inocularon con *T. harzianum*, existiendo una afectación menor de enfermedades en estas últimas. Posteriormente, al igual que en las variables anteriores, no se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos

aplicados, a pesar de que se hicieron 5 visitas en cada una de las tres parcelas. Nuevamente, se dieron algunos casos en que los ANOVAs realizados para el resto de las visitas expusieron niveles de significación bajos. En concreto, el valor p fue de 0,056 a las 12 semanas de producirse la siembra en la parcela de agricultor 1, y de 0,08 a las 9 semanas de producirse la siembra en la parcela de agricultor 2. Sin embargo, al ser p superior al valor 0,05, las diferencias estadísticas no fueron significativas y, por tanto, no aportaron datos concluyentes sobre el ensayo. Por último, es importante mencionar que los datos pertenecientes a las 12, 15 y 17 semanas después de producirse la siembra presentaron muy poca variabilidad, siendo incluso nula en determinados casos, por lo que los datos pertenecientes a la última visita no fueron representados gráficamente. Este fenómeno se produjo debido a que, en las últimas visitas, la afectación de las plantas por enfermedades fue muy alta para todos los tratamientos aplicados, apreciándose una gran homogeneidad en las varianzas resultantes del análisis de sus datos. Esto provocó el error en el programa R, por lo que no fue posible realizar su análisis (**Figura 32**).

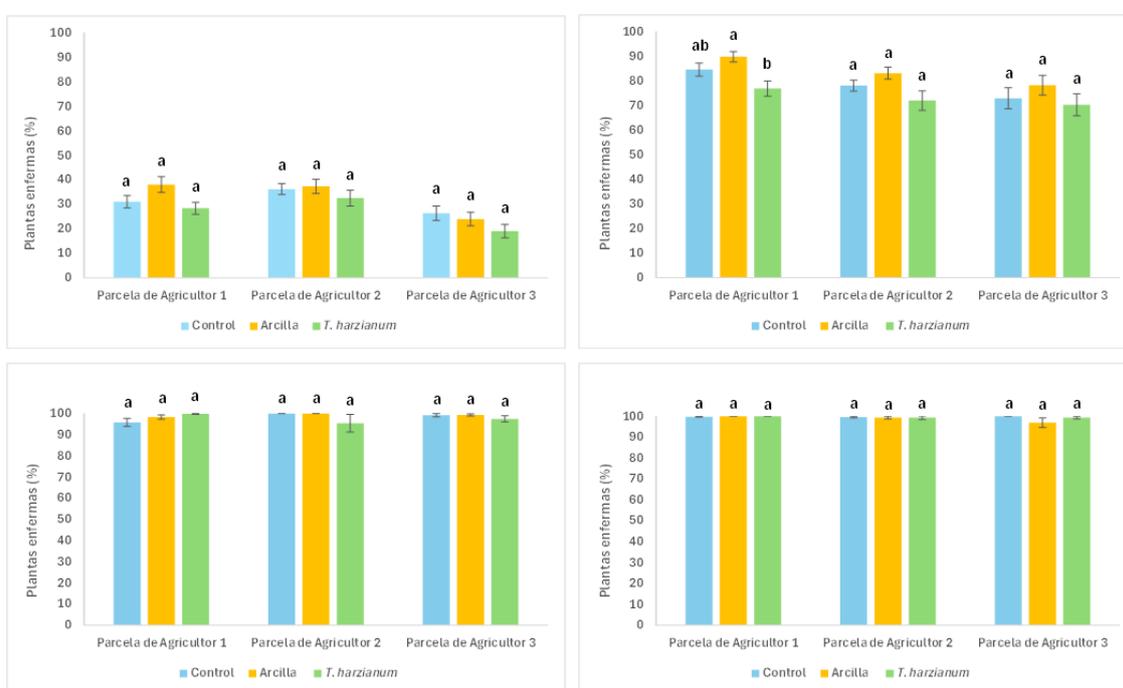


Figura 32. Plantas enfermas sobre el total (%) a las 6 semanas (A), 9 semanas (B), 12 semanas (C), 15 semanas (D) y 17 semanas (E) desde la siembra en cada parcela de agricultor. Distintas letras indican diferencias entre los tratamientos dentro de una misma parcela de agricultor.

5.2.5. Estudio de la producción

Como se expuso en el apartado 4.6.1, la producción fue medida en rendimiento (kg/ha) y rendimiento de granos (nº de granos/m²). Por tanto, el análisis estadístico se realizó teniendo en cuenta ambas mediciones, las cuales nos permitieron cuantificar la producción del cultivo.

En la primera parcela de agricultor, tanto el rendimiento como la cantidad de granos/m² mostraron normalidad en los datos analizados. Sin embargo, no existió homogeneidad en sus varianzas (Barlett's K-squared = 7,84; p = 0,02 y Barlett's K-squared = 11,36; p = 0,003, respectivamente), por lo que se debió aplicar un ANOVA no paramétrico en ambos casos. Los análisis ANOVA realizados mostraron diferencias estadísticas significativas, tanto en el caso del

rendimiento ($F_{we} = 13,13; p < 0,001$), como del rendimiento de granos/m² ($F_{we} = 13,09; p < 0,001$). En concreto, tras los test de comparaciones múltiples, se evidenció una producción muy superior de las plantas tratadas con *T. harzianum* respecto a las semillas pildoradas con arcilla y el control (semillas sin tratar). Este incremento de producción en las plantas inoculadas con *T. harzianum* respecto a arcilla y control fue de entre un 100-115% para el rendimiento, respectivamente, y de entre el 95-105% para el rendimiento en granos (**Figura 33**).

En la segunda parcela de agricultor, rendimiento y rendimiento de granos mostraron tanto normalidad como homogeneidad de los datos analizados (Barlett's K-squared = 1,18; $p = 0,55$ y Barlett's K-squared = 1,50; $p = 0,47$, respectivamente). Los ANOVAs realizados revelaron nuevamente la existencia de diferencias significativas en los datos correspondientes a la producción, tanto en rendimiento ($F = 27,12; p < 0,001$), como en rendimiento de granos ($F = 24,27; p < 0,001$). El análisis post-hoc de Tukey mostró la importante diferencia de producción entre las plantas tratadas con *T. harzianum* respecto a aquellas del control, o las tratadas con arcilla. El incremento del rendimiento de las plantas inoculadas con *T. harzianum* fue del 80 % respecto a las tratadas con arcilla, y del 92 % en comparación con el control. En el caso del rendimiento de granos, las plantas inoculadas produjeron un aumento del 73 % respecto a las pildoradas con arcilla, y del 89 % en comparación al control (**Figura 33**).

En la tercera parcela de agricultor, los datos relativos a rendimiento del cultivo y nº de granos/m² no mostraron normalidad en su distribución, ni tampoco homogeneidad en la distribución de sus varianzas (Barlett's K-squared = 16,19; $p < 0,001$ y Barlett's K-squared = 15,81; $p < 0,001$). El análisis ANOVA no paramétrico mostró la existencia de diferencias significativas en el análisis de los valores del rendimiento ($F_{we} = 14,86; p < 0,001$) y del rendimiento de granos ($F_{we} = 11,45; p = 0,001$). En concreto, a través del test de comparaciones múltiples, se observó una clara diferencia de producción entre las plantas inoculadas con *T. harzianum* respecto a aquellas pildoradas con arcilla, tanto en rendimiento (97 %) como en rendimiento de granos (83 %), mostrando el tratamiento con arcilla una producción inferior (**Figura 33**).

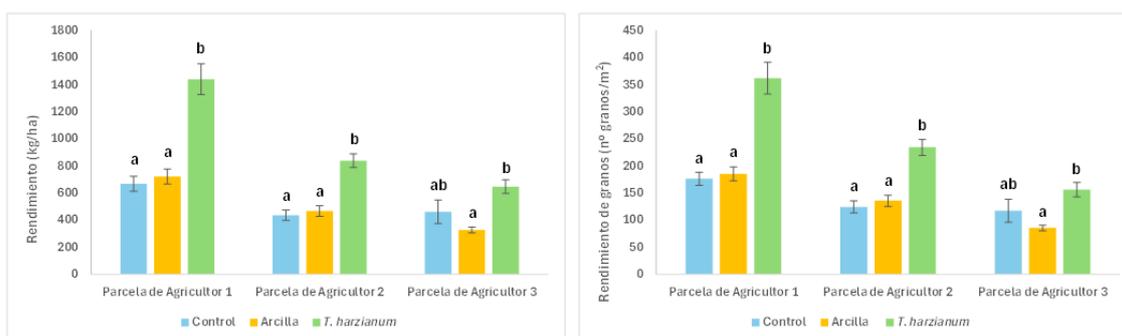


Figura 33. Rendimiento (kg/ha) y rendimiento en granos (granos/m²) de cada parcela de agricultor.

6. DISCUSIÓN

6.1. ENSAYOS DE LABORATORIO

En el **ensayo de producción de inóculo** se buscó estudiar el sustrato sobre el que se produjeran mayor cantidad de esporas, con la finalidad de valorar cuál de ellos sería el más útil para una producción económica a gran escala, a la par que se creaba valor en un subproducto de la industria de las semillas. Gracias a esto, se conseguiría reutilizar un residuo de la industria seleccionadora de semillas, dotándolo de un valor económico para la empresa y evitando así su desperdicio al tener utilidad y poder generar nuevos ingresos. Gran parte de los ensayos realizados con *T. harzianum* y su producción masiva han sido ejecutados en países de clima tropical, por lo que resulta complicado encontrar información en lo relativo a la producción de *T. harzianum* sobre sustrato perteneciente a plantas de latitudes más templadas (Bhagat and Sitasu, 2007; Jegathambi et al., 2010; Yadav, 2020).

En el presente estudio, únicamente mostraron diferencias significativas dos especies de semillas: guisante y avena. En el caso del primero, este quedó descartado para la producción masiva de esporas de *T. harzianum*, pues dado el bajo número en comparación con el resto no es útil con el propósito buscado. En cambio, la avena demostró ser el sustrato con mayor producción de esporas de *T. harzianum* transcurridos 7 días de la inoculación, doblando la producción respecto a la especie de semillas con la segunda mayor producción, el trigo duro. Es posible que, de haberse mantenido más días de incubación fúngica, especies con producciones menores lograran incrementar hasta producir diferencias significativas. Otros factores externos también podrían haber interferido con la esporulación, pero dado que las muestras se encontraban en condiciones controladas dentro de la cámara de cultivo ($T^a = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ y oscuridad continua), se descarta que en el presente ensayo pudieran tener relevancia.

Aunque no se encontraron resultados de los sustratos estudiados, sí se localizaron productos similares para poder compararlos. Por ejemplo, Sala et al. (2021) obtuvieron, tras 5-6 días desde la inoculación con *T. harzianum*, una producción de $7,5 \cdot 10^9$ conidios/g de sustrato para el bagazo de cebada, mientras que en la paja de trigo la producción fue de $2,5 \cdot 10^9$ conidios/g de sustrato. Los ensayos fueron realizados en condiciones similares a las nuestras, por lo que nuestra producción es, en comparación, bastante inferior, incluso si lo comparamos con la producción de conidios obtenidos de la avena. Sin embargo, otros investigadores encontraron resultados más similares a los nuestros, como Mishra (2016), que encontró que el bagazo de trigo produjo $2,1 \cdot 10^8$ conidios/g de sustrato 14 días después de producirse la inoculación, o Bhagat y Sitasu (2007), que obtuvieron una producción de $1,04 \cdot 10^8$ esporas/g de sustrato tras 15 días desde la inoculación. Este último autor también obtuvo una producción de $9,1 \cdot 10^7$ esporas/g de sustrato. Estos resultados se encuentran más próximos a los $3,5 \cdot 10^8$ conidios/g de sustrato de trigo blando, que resultó ser el más similar a los mencionados.

Otro ejemplo de sustrato para la producción de *T. harzianum* fue la cáscara de maíz, donde Yadav (2020) encontró una concentración de $1,2 \cdot 10^8$ conidios de *T. harzianum*/g de sustrato tras 14 días de incubación. Dabire et al. (2023), en cambio, descubrió una concentración de $2,97 \cdot 10^{10}$ esporas de *T. harzianum*/g de sustrato 7 días después de realizarse la inoculación. También se realizaron ensayos de *T. harzianum* con cascarilla de arroz, donde se encontraron $9,1 \cdot 10^7$

conidios/g de sustrato tras 15 días de inoculación (Bhagat & Sitasu, 2007), o $5 \cdot 10^5$ esporas/g de sustrato después de 14 días de la inoculación (Yadav, 2020). Asimismo, se encontraron experiencias en paja de sorgo, donde se contabilizó una concentración de $3,1 \cdot 10^8$ esporas de *T. harzianum*/g de sustrato tras 7 días de incubación, o en salvado de leguminosas, donde se registró una concentración de $7,1 \cdot 10^7$ conidios de *T. harzianum*/g de sustrato a los 15 días de ocurrir la inoculación.

Según lo descrito previamente, la máxima producción de conidios se dio en avena, que alcanzó una concentración de $7,3 \cdot 10^8$ esporas/g de semillas, mientras que el ensayo posterior en bolsas reunió una concentración media total de $4,98 \cdot 10^8$ esporas/g de semillas. Si lo comparamos con los resultados de estudios anteriores, a pesar de no tener el mismo sustrato de referencia, la producción de esporas se considera elevada respecto a buena parte de los resultados anteriores. Por el contrario, otros ensayos como el de Sala et al. (2021) y Dabire et al. (2023) muestran una producción bastante superior a la nuestra, lo cual podría deberse en parte a la mayor concentración de inóculo aplicada, pues Dabire et al. (2023) aplicaron una disolución inicial con concentración de 10^8 esporas/mL, frente a la nuestra, que varió entre 1 o 3 mL de disolución con 10^7 esporas/mL para bolsas y botes, respectivamente. También es posible que el formato de inoculación influyera en la esporulación y fueran más convenientes formatos de mayor capacidad, como bandejas plásticas, para conseguir una mayor cantidad de esporas por gramo de sustrato. Según lo mencionado anteriormente, la influencia de las condiciones ambientales para la esporulación se descartó al haber sido mantenidas en cámara de cultivo.

La variabilidad de resultados anterior evidencia la necesidad de investigar más en este ensayo con la finalidad de obtener conclusiones más certeras que permitan contrastar con las existentes. Por lo tanto, sería aconsejable la realización de nuevas experiencias con un mayor número de repeticiones para afianzar los resultados que se obtuvieran, dada la importancia para aclarar estos estudios.

Además, la producción de conidios de *T. harzianum* mediante los restos de clasificación de una planta seleccionadora de semillas constituye una importante oportunidad, tanto para la empresa seleccionadora como para el ámbito agrícola regional, pues permite generar un nuevo insumo beneficioso para los cultivos, a la vez que evita los efectos dañinos de los fitosanitarios, tanto para el ser humano, como para el medio ambiente. Aparte de la creación de valor para la propia empresa, este proceso tiene una serie de ventajas, como lo es el importante ahorro económico en la obtención de inóculo de *T. harzianum*, puesto que los medios de cultivo de este hongo tienen un valor considerable y, por tanto, resulta inviable su empleo para la producción a gran escala. A mayores, se limitaría el empleo de productos sintéticos en la obtención del inóculo, a la vez que se genera un insumo ecológico que puede ayudar a mejorar el rendimiento de nuestro cultivo, evitando los efectos nocivos de fitosanitarios y fertilizantes de síntesis. Todo ello repercutiría positivamente también en la empresa seleccionadora, pues se generaría un valor añadido al producir el sustrato de un bioinoculante que pudiera estar en auge en los próximos años, y en una zona en la que la principal materia prima (cereales y leguminosas) se encuentra muy disponible por el amplio cultivo de cereales y leguminosas en la región.

El **estudio de viabilidad** mostró que el recubrimiento de *T. harzianum* con el resto de aditivos presentó una viabilidad buena las dos primeras semanas respecto al conteo original,

disminuyendo bruscamente a partir de la tercera. Hasta la sexta semana, la viabilidad se mantuvo baja, pero aceptable. Sin embargo, en adelante esta fue mínima y no se siguió estudiando. Se desprende, por lo tanto, que la capacidad de multiplicación de *T. harzianum* fue muy buena las dos primeras semanas, aceptable hasta la sexta semana y prácticamente inviable a partir de entonces. Por lo tanto, este formato de inoculación de *T. harzianum* permite que no sea necesario sembrar instantáneamente tras el proceso de pildorado, pero no admite un almacenamiento en el largo plazo, pues la capacidad de multiplicación del hongo es casi nula a partir de la sexta semana. Autores como Prasad et al. (2002) exponen que la mínima concentración de esporas recomendada para garantizar la capacidad de multiplicación de inóculos es de 10^6 esporas/g. Estos mismos autores llevaron a cabo una experiencia en la que mezclaron los conidios secos de *T. harzianum* con caolín en proporción 1:2 y goma de acacia, y conservaron esta mezcla en bolsas de polietileno cerradas. La concentración inicial de inóculo fue de 10^8 esporas/g, y no varió durante los primeros 30 días. A los 180 días de iniciarse el experimento, los niveles de inóculo siguieron manteniéndose por encima de 10^6 esporas/g, por lo que siguieron siendo viables. Aunque el número de conidios inicial es similar al nuestro, los resultados de Prasad et al. (2002) contrastan con los obtenidos, pues en su caso, la viabilidad se mantiene de forma más continuada y prolongada en el tiempo respecto a la nuestra. En otro ensayo, Bhai (2020) mezcló una suspensión de *Trichoderma spp.* con alginato de sodio 0,6% en proporción 1:4, y obtuvo que, tras seis años, la viabilidad de *Trichoderma spp.* seguía siendo adecuada, pues era capaz de inhibir patógenos como *F. oxysporum* en una magnitud muy similar a antes de ser conservada.

Ambos ensayos demuestran la elevada capacidad de preservación de los conidios durante largos períodos de tiempo si los formatos son adecuados. Es posible que, en nuestro ensayo, por tanto, las condiciones de conservación no hayan sido las óptimas y, por tanto, la viabilidad se vea fuertemente mermada tras dos semanas de su aplicación. Según Fernández-Sandoval (2012), la duración mínima de la viabilidad en un producto comercializado debiera ser de 1-2 años, por lo que nuestro inóculo se encontraría muy alejado de esta estimación, y, por tanto, de poder comercializarse sin ninguna modificación. Otra posibilidad es que el producto se deteriore más rápidamente en contacto con el garbanzo, por lo que podría ser conveniente conservar la mezcla de *T. harzianum* y el resto de aditivos de forma hermética, y pildorar los garbanzos cuando se fuera a usar, lo que podría minimizar el deterioro de la viabilidad y potenciar la capacidad de conservación del producto.

6.2. ENSAYOS DE CAMPO

En lo relativo a la **edafología**, se estudió fundamentalmente la influencia de los niveles de P y K, debido a la importante demanda que la planta tiene de estos (Del Moral et al., 1994). Aunque cabría esperar mayor crecimiento y rendimiento en aquellas parcelas donde el contenido de P es mayor, en nuestro ensayo no se cumplió dicha suposición, pues la parcela con mayor cantidad de P asimilable fue aquella con menor producción. En contraposición a nuestros resultados, Tripathi et al. (2013) registraron un incremento de hasta el 10% en la altura y del 50% en el rendimiento de las plantas tratadas con 90 kg/ha de P respecto a aquellas del control. En lo relativo al K, la tendencia observada fue igual que en el P, pues la parcela de agricultor 3, con los contenidos más altos de este mineral, registró las menores producciones de la campaña. Sin

embargo, Ali et al. (2007) corroboraron un aumento de hasta un 25 % de la altura y de hasta un 75 % en el rendimiento en aquellas parcelas tratadas con 150 kg K₂O/ha respecto a aquellas del control.

Ambos ensayos contradicen nuestra suposición inicial, pues en nuestro caso, pareciera que un incremento en la disponibilidad de estos minerales asimilables no se traduce en mayores crecimientos o producciones. Sin embargo, de acuerdo con la Ley del mínimo de Liebig (Liebig, 1840), es posible que exista algún nutriente limitante que impida una producción mayor de las plantas, por lo que la esta última no incrementaría sin el aumento de la disponibilidad de este nutriente limitante, independientemente del adecuado contenido del resto de elementos.

La **nascencia de las semillas**, a pesar de que únicamente mostró diferencias significativas en la primera parcela de agricultor, pareció ser inferior en el caso de aquellas que se encontraban inoculadas con *T. harzianum*. Esta reducción fue, de media, un 15 % entre las semillas tratadas con *T. harzianum* y las del control. Sin embargo, a las 6 semanas de haberse producido la siembra, no se apreciaron diferencias en la germinación entre las semillas con cada uno de los tratamientos. Por lo tanto, se deduciría que *T. harzianum* únicamente influye en la germinación de los garbanzos durante las primeras semanas tras la siembra. Esto se podría deber a la síntesis de algún compuesto por parte del hongo, que podría funcionar como inhibidor de la germinación, lo que causaría una interferencia con la nascencia de las semillas.

Varios autores han constatado el comportamiento de herbicida biológico que tienen algunas especies del género *Trichoderma* (Javaid & Ali, 2015; Yin et al., 2020; Zhu et al., 2020), lo que explicaría la menor germinación de los garbanzos durante las primeras semanas. Por ejemplo, Yin et al. (2020) descubrieron dos compuestos herbicidas (Harzianum A y Harzianum B), provenientes de *T. brevicompactum*, los cuales fueron capaces de inhibir considerablemente la germinación de *B. chinensis* a concentraciones superiores a 2 µg/mL. Javaid & Ali (2011) testaron el papel herbicida de 4 especies de *Trichoderma*, y reportaron la capacidad de *T. harzianum* de inhibir la germinación de *Phalaris minor* hasta un 41%, y la de *Rumex dentatus*, hasta un 46 %, además de la disminución en el crecimiento de tallos y raíces en plantas tratadas. Por lo tanto, es bastante posible que la capacidad herbicida de *T. harzianum* inhibiera la germinación de los garbanzos durante las primeras semanas, pues este efecto desapareció a las 6 semanas desde la siembra.

Sin embargo, estos hallazgos contrastan con los resultados obtenidos por otros investigadores, los cuales registraron mayores tasas de germinación en aquellas semillas tratadas con *T. harzianum* frente a los controles. Por ejemplo, Kumar et al. (2014) registraron una tasa de germinación del 92 % en garbanzos tratados con *T. harzianum*, mientras que Chaurasia & Bara (2018) detectaron una tasa de germinación del 85,3 % para semillas tratadas con *T. harzianum*, frente al 60 % detectado para el control. Experiencias como la de Tripathi (2009) también avalan esta afirmación, pues este obtuvo unas tasas de germinación de entre el 56-61 % para semillas tratadas con *T. harzianum* frente al 39 % registrado en el control.

En el caso de la **altura**, a pesar de que en un caso se detectaron diferencias significativas entre las plantas tratadas con arcilla y el control, se consideró un fenómeno aislado que no tiene relevancia para el estudio, puesto que su efecto no se mantuvo en el tiempo y más adelante no se produjeron diferencias significativas. En el resto de las mediciones no se detectó ninguna

variación significativa de la altura entre plantas con diferentes tratamientos, siendo más acusada la homogeneidad de este parámetro en las últimas visitas. Por lo tanto, se puede inferir que, en base a la baja variabilidad de alturas en las plantas, los diferentes tratamientos no influyeron apenas en esta variable.

Estos resultados contrastan con la mayoría de las experiencias anteriores de otros autores, donde se detectó una altura de hasta 6 cm más en plantas de garbanzo inoculadas con *T. harzianum*, respecto con el control (Srivastava et al., 2008), llegando incluso a doblarse la altura de las plantas de garbanzo tratadas con el hongo en comparación a las que no lo estaban (Javaid et al., 2021). Experiencias similares obtuvo Yedidia (2001) en las plantas de pepino, que observó cómo la altura de las plantas inoculadas con *T. harzianum* aumentó frente al control. No obstante, en ensayos más prolongados como el de Martínez-Martínez (2020), superior a los 100 días, la altura incrementó solamente un 3% en plantas inoculadas (10^8 conidios/g de semilla) frente a aquellas no inoculadas. De forma similar, Boureghda & Bouznad (2009) también aplicaron *T. harzianum* a plantas de garbanzo y obtuvieron un incremento de altura del 8% frente a aquellas plantas no inoculadas. Es posible, por lo tanto, que la concentración y formato en que fue aplicado el inóculo de *T. harzianum* también influyera en los resultados obtenidos.

Si atendemos al **estado fenológico**, las plantas progresaron de forma muy pareja, independientemente del tratamiento que hubieran recibido sus semillas. En todo caso, se pudo ver en alguna parcela un desarrollo más precoz de aquellas plantas que fueron tratadas con *T. harzianum*, pero en ninguna ocasión este incremento fue relevante. Por lo tanto, de forma similar a como sucedió con la altura, es posible que la inoculación de *T. harzianum* no influyera significativamente en el desarrollo de las plantas de nuestro ensayo. La comparación con experiencias similares resulta complicada para este parámetro, pues en los ensayos de inoculación de *T. harzianum* no se han encontrado datos relativos al estado fenológico de las plantas. Sin embargo, sí existen estudios donde se analizó el estado fenológico a lo largo del cultivo del garbanzo. Por ejemplo, en la región noreste de Irán, para el cultivar Hashem, con temperaturas máximas medias entre los 5 y 40 °C, y mínimas entre los -3,5 y los 27 °C, la germinación se produjo a los 6 días de media desde la siembra, la floración a los 42 días y el comienzo de la madurez de las vainas a los 82 días (Soltani et al., 2006). En otro ensayo al oeste de la India, las temperaturas medias máximas fueron de 26-40 °C, mientras que las mínimas fueron de entre 9-24 °C. Para este caso, la germinación se produjo alrededor del día 6 tras la siembra, ocurriendo la floración de media a los 45 días, la formación de las vainas en el día 71 y la cosecha el día 115 desde la siembra (Gudadhe et al., 2013).

En nuestro caso, el comienzo de cada estado fenológico no pudo determinarse con certeza debido al espaciado de las visitas, aunque sí pueden darse unos valores aproximados. La germinación se produjo entre 10-15 días tras la siembra, la floración en torno al día 63 días, el llenado de las vainas a los 84 días, la madurez de las vainas transcurridos 98 días y la cosecha a los 119 días. En ambas investigaciones, el desarrollo fenológico del cultivo se dio de forma más precoz a nuestro caso, ya que, al tratarse de latitudes más cálidas, junto con la influencia de los diferentes cultivares, es razonable que las plantas se desarrollaran más rápido. A esto hay que sumarle la falta de conocimiento exacto sobre el inicio de las fases para nuestro estudio, lo que también podría provocar retrasos en la detección de los mismos. Por lo tanto, el estado fenológico de las plantas resulta coherente con las temperaturas propias de la zona de estudio.

En cuanto a la **incidencia de la rabia** sobre nuestras plantas, no se encontraron diferencias significativas entre las distintas visitas. Por lo tanto, en este ensayo, la inoculación de *T. harzianum* pareció no tener apenas influencia en esta variable del estado sanitario. Sin embargo, en el caso de la parcela 3, aunque no existieron diferencias significativas respecto a los otros dos tratamientos, es posible apreciar una leve disminución de la incidencia hasta las 12 semanas tras la siembra, incrementándose a partir de entonces. En este caso, es posible que el efecto de aplicación de *T. harzianum* se mantuviera activo durante este período de tiempo, perdiendo eficacia a partir de las 12 semanas. En caso de que se confirmara esta tendencia, podría plantearse una aplicación de *T. harzianum* a mitad del ciclo de cultivo para compensar la disminución de eficacia que tiene el tratamiento a partir de la 12ª semana desde la siembra. Puesto que se trata de un hongo radicular, el inóculo se podría aportar disuelto mediante spray en el suelo, o esparciéndose en formato de gránulos similares al abono sintético.

Los resultados de otros autores en ensayos *in vitro* demostraron una reducción notoria en el crecimiento de *A. rabiei* por el efecto antagónico de *T. harzianum*. Morcuende et al. (2024) observaron una reducción considerable del área colonizada por el patógeno en presencia de *T. harzianum*. Mientras que Ahmad et al. (2021), registraron una disminución en el crecimiento de *A. rabiei* de entre un 17 y un 41 %, con aplicaciones de *T. harzianum* a concentraciones variables de entre 10^5 y 10^7 conidios/mL. En cambio, en los ensayos realizados *in planta* y en condiciones de campo, los resultados son menos claros. En este caso, en ensayos con *C. arietinum*, Morcuende et al. (2024) no encontraron diferencias significativas entre la aplicación de diferentes especies de *Trichoderma* y las plantas control en cuanto a daños causados por la enfermedad. Por el contrario, en dichas plantas infectadas con rabia, estos autores sí registraron una mayor tasa de supervivencia en ejemplares inoculados con *T. harzianum* respecto a otros inoculados con otras especies del género *Trichoderma*, y respecto al control, lo cual plantearía la efectividad de *T. harzianum* como BCA en ensayos *in vivo*. En el ensayo de Amin & Melkamu (2014), en condiciones naturales de infección de *A. rabiei*, y mediante la aplicación de otros tratamientos fungicidas, tampoco se registraron reducciones importantes de la incidencia de *A. rabiei* sobre las plantas de garbanzo. En este ensayo, a los 62 días tras la siembra, la afección de las plantas tratadas era del 95 %, y la de las no tratadas, del 100 %. En resumen, los anteriores ensayos podrían sugerir que aún no se ha localizado un tratamiento capaz de combatir efectivamente a *A. rabiei* en largos plazos de tiempo similares a los ciclos de cultivo y a las condiciones de campo.

Con respecto a la **severidad de la rabia**, ocurre algo similar a la incidencia. En consonancia con esta última, el nivel de severidad dentro de las parcelas de agricultor normalmente fue muy homogéneo, por lo que resultó difícil apreciar diferencias entre los distintos tratamientos aplicados. En este caso, también se apreció únicamente una ligera tendencia de mejora en las plantas tratadas con *T. harzianum* respecto a los otros dos tratamientos en la parcela de agricultor 3, hasta las 12 semanas tras la siembra. En este caso también podría ser recomendable una aplicación en mitad del ciclo de cultivo para potenciar el posible efecto de *T. harzianum* a partir de las 12 semanas.

Para esta variable, los resultados de otros autores sí muestran diferencias en la severidad de ataque de *A. rabiei* entre plantas de garbanzo no tratadas frente a aquellas que sí lo están. Sin embargo, esta diferencia es, por lo general, muy estrecha, por lo que tampoco plantea grandes

diferencias frente a los resultados que han sido obtenidos. Normalmente este contraste es pequeño, por lo que concuerda en gran medida con los resultados obtenidos. Naseer et al., (2022) apreciaron diferencias de severidad entre las plantas de garbanzo tratadas con *T. harzianum* frente a aquellas no inoculadas en las condiciones de aplicación de Ahmad et al. (2021). No obstante, estas diferencias no fueron excesivamente notorias, pues las plantas inoculadas con *T. harzianum* reportaron una severidad media del 63%, mientras que en el control esta fue del 75%. En la experiencia de Amin & Melkamu (2014) también se apreció una leve reducción de la severidad a los 62 días tras la siembra entre las plantas de garbanzo no tratadas (35%), frente a aquellas con aplicación de fungicidas (Mancozeb y Top) (31% y 29 % respectivamente). Estos estudios sugieren la elevada dificultad de combatir a *A. rabiei* en el cultivo del garbanzo, al menos a través de una única aplicación de BCA o fungicida.

A diferencia de los dos anteriores, Kumar et al. (2019), sí observaron una importante reducción desde la severidad a los 90 días tras la siembra entre las plantas de garbanzo no tratadas (78 %) y aquellas tratadas con aplicación de *T. harzianum* (55 %). Sin embargo, en este ensayo *A. rabiei* fue inoculado 35 días tras la siembra y *T. harzianum* comenzó a aplicarse a los 50 días tras la siembra, pero repitiéndose las aplicaciones 2 veces más a espacios de 15 días. Es posible que, por tanto, repetir la aplicación de *T. harzianum* pudiera tener un importante efecto beneficioso en la resistencia del garbanzo frente a *A. rabiei*, lo que avalaría nuestra hipótesis anterior.

Para los estudios anteriores, se ha de tener en cuenta que en la mayor parte de las investigaciones se sigue la escala de Chen et al. (2004) o similar para medir la severidad. En esta escala, los niveles de afección varían entre el 0-9, desde la absoluta ausencia de síntomas, a la muerte total de la planta por la infección. A pesar de no ser la misma escala, los valores 3, 6 y 9 se corresponden a grandes rasgos con nuestros valores 1, 2 y 3, por lo que las posibles diferencias que pudieran existir se consideran tan mínimas que este índice también resulta compatible para medir los resultados de nuestro estudio.

Por otra parte, los **factores climáticos**, aparte de influir sobre el crecimiento y producción de las plantas (Kheiri et al., 2021), también tienen relevancia en la propagación de la rabia. De acuerdo con Manjunatha et al. (2018), los síntomas de esta enfermedad se desarrollan a partir de los 20 °C y con un mojado foliar de entre 4-8 h. En nuestro ensayo, los 20 °C de temperatura media no se alcanzaron hasta la tercera semana de junio, en la que además se registraron precipitaciones. Por lo tanto, resulta coherente que el incremento más virulento de la rabia se produjera entre las 15-17 semanas tras la siembra, pues es cuando se reunieron las condiciones térmicas y de humedad necesarias para que la enfermedad se propagara con mayor rapidez. De esta forma, se evidenciaría la elevada correlación de las variables climáticas en la propagación de la rabia a nivel de campo.

En cuanto a la **cantidad de plantas enfermas** sobre el total, que incluye también aquellas infectadas por la rabia, en este caso sí se observaron diferencias significativas a las 9 semanas de la siembra en la parcela de agricultor 1, donde se corroboró una menor afección de las plantas tratadas con *T. harzianum* frente a las semillas pildoradas únicamente con arcilla. Aparte de esta ocasión, aunque no fue estadísticamente significativo, también se observaron a las 9 y a las 12 semanas menores afecciones de enfermedad en las plantas tratadas con *T. harzianum* frente a aquellas que no lo estuvieron. A partir de las 15 semanas esta tendencia desapareció, por lo que

de nuevo se planteó la posibilidad de que el tratamiento de *T. harzianum* únicamente presentara buena eficacia hasta un determinado momento, que en nuestra investigación se dio transcurridas 12 semanas desde la siembra. A partir de entonces, podría resultar interesante aplicar *T. harzianum* en alguno de los formatos antes mencionados, con la finalidad de investigar si se mantendría el mejor estado sanitario de las plantas inoculadas frente a aquellas que no lo estuvieran.

Para comprender esta tendencia, es importante tener en cuenta que, aparte de *A. rabiei*, *C. arietinum* también puede ser atacado por otros patógenos fúngicos de relevancia. Entre los más importantes, encontraríamos la seca del garbanzo, causada por *Fusarium spp.* (*F. oxysporum*, fundamentalmente) y la podredumbre, ocasionada por *Botrytis cinerea* (Del Moral et al., 1995). Aparte de *A. rabiei*, *T. harzianum* también demostró efectividad en el control y disminución de daños ocasionados por estos organismos. Por ejemplo, Marzani et al. (2017) descubrieron una disminución en la incidencia de *F. oxysporum* en aquellos casos donde aplicó inóculo de *T. harzianum*. Concretamente, se produjo una disminución del 15 % de incidencia con 5 g *T. harzianum*/kg de garbanzos, y del 25 % con 10 g de *T. harzianum*/kg de garbanzos. Otra experiencia con *F. oxysporum* también determinó la menor afección en campo de aquellas plantas tratadas con *T. harzianum*. En particular, se inoculó este en cantidad de 10^6 esporas/10 g de garbanzos, y se consiguió un incremento de entre el 10-15 % en la nascencia respecto al control, y una disminución de la incidencia de entre el 20-40 % respecto al control (Dubey et al., 2007).

En lo relativo a *B. cinerea*, *T. harzianum* registró una disminución en la incidencia de entre el 34-70% frente al control, según si el formato de aplicación fue inóculo sólido o suspensión de esporas, respectivamente. En este ensayo, el inóculo se aplicó en cantidad de 20 mL por planta con concentración de inóculo de 10^8 esporas/mL (Geng et al., 2022). Las experiencias anteriores confirman la capacidad de BCA de *T. harzianum* sobre otros patógenos del garbanzo aparte de *A. rabiei*, lo cual repercutió positivamente en el estado sanitario de la planta. De esta forma, los resultados obtenidos fueron coherentes con los estudios previos, pues al poder minimizar los daños de otras enfermedades del garbanzo, *T. harzianum* contribuyó a generar un estado sanitario más favorable de las plantas inoculadas con respecto a aquellas del control.

Por último, los **análisis de la producción** mostraron un claro incremento en las plantas inoculadas con *T. harzianum* frente a aquellas que recibieron otros tratamientos. Esta llegó a ser de más del doble en algunos casos, tanto en rendimiento como en rendimiento de granos. Dicho incremento podría estar relacionado con la promoción del crecimiento vegetal de *T. harzianum* sobre *C. arietinum*, así como con la capacidad de resistir mejor la infección de *A. rabiei* frente a las plantas no tratadas, a pesar de que padecieran igualmente la infección. Es decir, aunque las plantas inoculadas se hallaran infectadas con rabia, teóricamente estas habrían sido capaces de resistir mejor la enfermedad, evitando así que influyera en la producción de garbanzos.

Ambas variables relativas a la producción están correlacionadas, pues un incremento en el rendimiento de granos se tradujo en un incremento en el rendimiento general. Aunque no se analizó el peso individual de los granos en los diferentes tratamientos, se supone que buena parte del incremento en el rendimiento de la cosecha se debe a un mayor número de granos/m² y no tanto al mayor peso de cada garbanzo. Otros autores también registraron este fenómeno

de incremento en el rendimiento de los cultivos inoculados con *T. harzianum*. Poveda (2021) obtuvo un incremento aproximado en la producción de granos de hasta el 40 % en plantas de garbanzo inoculadas con 1 mL de disolución de esporas de *T. harzianum* (concentración de $2 \cdot 10^7$ esporas/mL) respecto a las plantas del control.

La producción de estas plantas se dio en invernadero, por lo que es posible que su crecimiento y producción se viera, limitados por las dimensiones de la maceta. Dubey et al. (2007) descubrió que, hasta en dos campañas, el rendimiento de las plantas tratadas con *T. harzianum* respecto a las de control fue superior al 100 %, lo que revalidaría nuestros resultados. Martínez-Martínez (2020) registró un incremento en el número de flores de hasta el 35%, y del número de vainas en hasta un 25% en aquellas plantas de garbanzo que fueron inoculadas con *T. harzianum* (10^8 conidios/g de semilla). Este incremento en las estructuras reproductivas explica, en parte, el aumento en la producción de las plantas al generarse más granos individualmente. Experiencias similares se dieron para el pepino (Draie, 2024), donde se registró hasta un incremento del 80% en plantas tratadas con *T. harzianum* respecto al control, o para la caña de azúcar, con rendimientos entre un 7-35 % mayores según la cantidad de *T. harzianum* inoculada (Srivestava et al., 2006).

Sin embargo, esta mejora en el rendimiento no es aplicable a todas las especies, como sucede con el tomate, pues que tanto Bal & Altintas (2006), como Nzanza et al. (2012), no encontraron incrementos en la producción de las plantas inoculadas con *T. harzianum* respecto a aquellas del control. Esto sugiere la posibilidad de que el efecto de *T. harzianum* no sea aplicable a todas las especies, o al menos no en determinados formatos, por lo que sería interesante conocer aquellos organismos donde sí fuera útil su aplicación a fin de incrementar los beneficios y diversificar el uso de este bioinoculante.

Volviendo a la producción en el cultivo del garbanzo, el hallazgo descubierto en el presente estudio debería contrastarse en nuevas campañas, a fin de afianzar los resultados obtenidos, pues, de confirmarse, podría postularse como una gran oportunidad para el cultivo del garbanzo de Fuentesauco. Este incremento en la producción reportaría un aumento de beneficios por la mayor producción, así como por los menores costes asociados a la misma, pues el agricultor sería capaz de incrementar el rendimiento sin invertir más insumos que los que estaba destinando, aparte del bioinoculante de *T. harzianum*. A mayores, el resultado en este ensayo podría sugerir una mayor tolerancia de las plantas de garbanzo frente a *A. rabiei*. Esto se confirma porque, a pesar de manifestar sus síntomas, la producción incrementó, aun siendo muy similar tanto incidencia como severidad frente a los otros dos tratamientos.

Por lo tanto, se sugiere que, en terrenos más afectados por la rabia, estas diferencias se incrementarían frente a plantas no tratadas, causando mayores diferencias en la producción. En resumen, este incremento de la producción podría repercutir en la rentabilidad del garbanzo de Fuentesauco, generando la puesta en cultivo de mayor superficie destinada a su obtención y fomentando, también, la recuperación valores culturales asociados a este al mismo. En cuanto al aspecto demográfico, además de los beneficios asociados a la recuperación de un cultivo leguminoso de secano, este ayudaría a fijar población en los núcleos de producción y generaría empleo tanto directo como indirecto en los mismos, contribuyendo repoblamiento de las localidades y el relevo generacional de la agricultura.

7. CONCLUSIONES

1. El subproducto de la planta seleccionadora de semillas correspondiente a la especie *Avena sativa* resultó ser el que mayor producción de esporas de *T. harzianum* registró tras su inoculación, convirtiéndolo en el mejor sustrato de entre los testados para la multiplicación de este hongo.
2. La viabilidad del inóculo de *T. harzianum* en formato de pildorado sobre el garbanzo disminuyó bruscamente tras 2 semanas, resultando mínima a partir de la semana 6.
3. La nascencia de las semillas a las 3 semanas de producirse la siembra resultó significativamente menor cuando se encontró inoculada con *T. harzianum*, lo que pudo evidenciar la secreción de compuestos inhibitorios de la germinación por parte de *T. harzianum* en condiciones de campo. Sin embargo, tras la semana 6 de la medición no se apreciaron diferencias entre los tratamientos.
4. No se apreciaron incrementos en la altura de las plantas tratadas con *T. harzianum*, lo que sugiere un efecto mínimo o nulo del pildorado de *T. harzianum* en condiciones de campo sobre esta variable.
5. No se registraron cambios sustanciales en la incidencia ni la severidad de *A. rabiei* sobre las plantas inoculadas con *T. harzianum*, lo que evidencia la posibilidad del bajo o nulo impacto de *T. harzianum* como controlador de *A. rabiei* en condiciones de campo.
6. Las plantas inoculadas con *T. harzianum* registraron una menor afectación de enfermedades, en general, durante las primeras semanas tras la siembra, que se fue igualando más adelante con el resto de los tratamientos aplicados.
7. Las plantas tratadas con *T. harzianum* experimentaron un elevado incremento de la producción, lo cual corrobora el papel de este hongo como bioestimulante en condiciones de campo.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmad, S., Khan, M. A., Ahmad, I., Iqbal, Z., Ahraf, E., Atiq, M., Ali, Y., & Naseer, S. (2021). Efficacy of fungicides, plant extracts and biocontrol agents against *Ascochyta* blight (*Ascochyta rabiei*) of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under field conditions. *Plant Science Today*, 8(2), 255–262. <https://doi.org/10.14719/pst.2021.8.2.1007>
- Ali, A., Nadeem, M. A., Tanveer, A., & Hussain, M. (2007). Effect of different potash levels on the growth, yield and protein contents of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 39(2), 523-527. https://www.researchgate.net/publication/267792678_Effect_of_different_potash_levels_on_the_growth_yield_and_protein_contents_of_chickpea_Cicer_arietinum_L
- Almada Ackermann, B., Aguilar, R., Albrecht, J. C., Alemanno, G., Allende, M. J., Ateca, N., Ávalos Susana, Badini, R., Beltramini, V., Biderbost, E., Bologna, S., Cantareno, M., Caramello, D., Carreras, J., Castro, R., Cavenio, M., & Cisternas, P. (2016). *El cultivo del garbanzo en Argentina*. (J. Carreras, V. Mazzuferi, & M. Karlin, Eds.). Universidad de Córdoba.
- Amin, M., & Melkamu, F. (2014). Management of *Ascochyta* Blight (*Ascochyta rabiei*) in Chickpea Using a New Fungicide. *Research in Plant Sciences*, 2(1), 27–32. <https://doi.org/10.12691/plant-2-1-6>
- Bal, U., & Altintas, S. (2006). Effects of *Trichoderma harzianum* on the yield and fruit quality of tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) grown in an unheated greenhouse. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46(1), 131. <https://doi.org/10.1071/ea04003>
- Barbaree, J. M., & Sanchez, A. (1982). Cross-contamination during lyophilization. *Cryobiology*, 19(4), 443–447. [https://doi.org/10.1016/0011-2240\(82\)90173-0](https://doi.org/10.1016/0011-2240(82)90173-0)
- Bashyal, B. M., Parmar, P., Zaidi, N. W., & Aggarwal, R. (2021). Molecular Programming of Drought-Challenged *Trichoderma harzianum*-Bioprimed Rice (*Oryza sativa* L.). *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.655165>
- Behl, M., Thakar, S., Ghai, H., Sakhuja, D., & Bhatt, A. K. (2023). Basic Biotechniques for Bioprocess and Bioentrepreneurship. In *Elsevier eBooks* (pp. 313–328). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816109-8.00021-0>
- Benítez, T., Rincón, A.M., Limón, M.C., & Codon, A.C. (2004) Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Int Microbiol* 7(4), 249–260. https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1139-67092004000400003&script=sci_abstract

- Bhagat, S., & Pan, S. (2007). Mass multiplication of *Trichoderma harzianum* on agricultural byproducts and their evaluation against seedling blight (*Rhizoctonia solani*) of mungbean and collar rot (*Sclerotium rolfsii*) of groundnut. *The Indian Journal of Agricultural Sciences* 77(9), 583-588. https://www.researchgate.net/publication/292012802_Mass_multiplication_of_Trichoderma_harzianum_on_agricultural_byproducts_and_their_evaluation_against_seedling_blight_Rhizoctonia_solani_of_mungbean_and_collar_rot_Sclerotium_rolfsii_of_groundnut
- Bhai, R. (2020). *Bhai, R. (2020)*. Preservation and long-term storage of *Trichoderma spp.* by sodium alginate encapsulation. *Journal of Plantation Crops*, 2020, 48(1), 36–44. <https://doi.org/10.25081/jpc.2020.v48.i1.6215>
- Bouregghda, H., & Bouznad, Z. (2009). Biological control of Fusarium wilt of chickpea using isolates of *Trichoderma atroviride*, *T. harzianum* and *T. longibrachiatum*. *Acta Phytopathologica Et Entomologica Hungarica*, 44(1), 25–38. <https://doi.org/10.1556/aphyt.44.2009.1.4>
- Cao, Q., Liang, Y., Tian, Y., Lian, H., Jiang, X., & Li, M. (2023). Survival Dynamics of *Trichoderma longibrachiatum* Tr58 in Conidia- and Chlamydo-spore-Amended Soils with Different Moisture Levels. *Agriculture*, 13(2), 238. <https://doi.org/10.3390/agriculture13020238>
- Chaurasia, B. P. N., & Bara, B. M. (2018). Influence of priming on seed yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(2), 753-755. <https://www.semanticscholar.org/paper/Influence-of-priming-on-seed-yield-parameters-of-Chaurasia-Bara/4eff77ede9e6da2c494873ff101dd9727b2db9c9>
- Chen, W., Coyne, C. J., Peever, T. L., & Muehlbauer, F. J. (2004). Characterization of chickpea differentials for pathogenicity assay of ascochyta blight and identification of chickpea accessions resistant to *Didymella rabiei*. *Plant Pathology*, 53(6), 759–769. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2004.01103.x>
- Chet, I., Inbar, J. and Hadar, Y. (1997) Fungal Antagonists and Mycoparasites. Wicklow, D.T. and Söderström, B., Eds., *The Mycota*, Vol. 4, Environmental and Microbial Relationships, Springer-Verlag, Berlin, 165-184. <https://scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2236941>
- Collantes, F., & Pinilla, V. (2022). De camino hacia otra parte: Jordi Nadal y la despoblación rural. *Revista de Demografía Histórica-Journal of Iberoamerican Population Studies* 40(1). 61–129.

- Conrath, U., Beckers, G. J., Langenbach, C. J., & Jaskiewicz, M. R. (2015). Priming for enhanced defense. *Annual Review of Phytopathology*, 53(1), 97–119. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120132>
- Contina, J., Dandurand, L., & Knudsen, G. (2017). Use of GFP-tagged *Trichoderma harzianum* as a tool to study the biological control of the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Applied Soil Ecology*, 115, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.03.010>
- Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Beltrán-Peña, E., Herrera-Estrella, A., & López-Bucio, J. (2011). *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal- and camalexin-dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungi *Botrytis cinerea*. *Plant Signaling & Behavior*, 6(10), 1554–1563. <https://doi.org/10.4161/psb.6.10.17443>
- Corkley, I., Fraaije, B., & Hawkins, N. (2021). Fungicide resistance management: Maximizing the effective life of plant protection products. *Plant Pathology*, 71(1), 150–169. <https://doi.org/10.1111/ppa.13467>
- Cornejo-Ríos, K., Del Pilar Osorno-Suárez, M., Hernández-León, S., Reyes-Santamaría, M. I., Juárez-Díaz, J. A., Pérez-España, V. H., Peláez-Acero, A., Madariaga-Navarrete, A., & Saucedo-García, M. (2021). Impact of *Trichoderma asperellum* on Chilling and Drought Stress in Tomato (*Solanum lycopersicum*). *Horticulturae*, 7(10), 385. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100385>
- Creus, C. M. (2017). Inoculantes microbianos: piezas de un rompecabezas que aún requiere ser ensamblado. *Revista Argentina De Microbiología*, 49(3), 207–209. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.07.001>
- Croan, S. C. (2000). Lyophilization of hypha-forming tropical wood-inhabiting Basidiomycotina. *Mycologia*, 92(4), 810–817. <https://doi.org/10.1080/00275514.2000.12061223>
- Cui, H., Cheng, Q., Jing, T., Chen, Y., Li, X., Zhang, M., Qi, D., Feng, J., Vafadar, F., Wei, Y., Li, K., Zhao, Y., Zhou, D., Wang, W., & Xie, J. (2024). A newly isolated high-yield siderophores from *Trichoderma viride* XZ11-1 with high antifungal activity against *Fusarium oxysporum* and growth-promoting ability in bananas. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4342308/v1>
- Dabire, T. G., Ouologueme, M. Y., Bonzi, S., & Somda, I. (2023). Search for a suitable substrate for mass propagation of a local strain of *Trichoderma harzianum* (ThTab) isolated in Burkina Faso.

International Journal of Environment Agriculture and Biotechnology, 8(6), 156–166.
<https://doi.org/10.22161/ijeab.86.16>

De La Cruz Quiroz, R., Roussos, S., Hernández, D., Rodríguez, R., Castillo, F., & Aguilar, C. N. (2015). Challenges and opportunities of the bio-pesticides production by solid-state fermentation: filamentous fungi as a model. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(3), 326–333.
<https://doi.org/10.3109/07388551.2013.857292>

De Palma, M., Salzano, M., Villano, C., Aversano, R., Lorito, M., Ruocco, M., Docimo, T., Piccinelli, A. L., D'Agostino, N., & Tucci, M. (2019). Transcriptome reprogramming, epigenetic modifications and alternative splicing orchestrate the tomato root response to the beneficial fungus *Trichoderma harzianum*. *Horticulture Research*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s41438-018-0079-1>

Del Moral, J. & Guisado, A. M. (1995). Sanidad del cultivo del garbanzo. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. *Hojas Divulgadoras* 12(95).

Del Moral, J., Morillo, M. L., & Guisado, A. M. (1994). El cultivo del garbanzo: diseño para una agricultura sostenible. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. *Hojas Divulgadoras* 12(94).

Descripción del cultivo del garbanzo. (8 de enero de 2018). Sodebur - Agenbur.
<https://sodebur.es/herramientas/bioeconomia/cultivos-garbanzo/descripcion/>

DOP e IGP - ITACyL Portal Web. (2024). ITACyL Portal Web. <https://www.itacyl.es/calidad-diferenciada/dop-e-igp>

Draie, R. (2024). Effect of Treatment with Some Biostimulants on the Productivity of Cucumber Crop (*Cucumis sativus*). *International Research Journal of Innovations in Engineering and Technology* 8(10), 62-71. <https://doi.org/10.47001/IRJIET/2024.810011>

Dubey, S. C., Suresh, M., & Singh, B. (2007). Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. *Biological Control*, 40(1), 118–127. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.06.006>

Dusunceli, F., Meyveci, K., Cetin, L., Avci, M., Surek, D., Albustan, S., Mert, Z., Akan, K., Karacam, M., & Strange, R. N. (2007). Determination of agronomic practices for the management of blight of chickpea caused by *Ascochyta rabiei* in Turkey: 1. Appropriate sowing date. *European Journal of Plant Pathology*, 119(4), 449–456. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9185-x>

- Echevarría, A., Triana, A., Rivero, D., Rodríguez, A., & Martínez, B. (2019). Generalidades del cultivo de garbanzo y alternativa biológica para el control de la Marchitez. *Cultivos Tropicales*, 40(4). <https://www.redalyc.org/journal/1932/193263189010/html/>
- Ejaz, U., & Sohail, M. (2021). *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science*. En *Elsevier eBooks* (pp. 1–13). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819720-2.00001-1>
- Elósegui O. (2006). Métodos artesanales de producción de bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas.
- Elshahawy, I. E., Saied, N., Abd-El-Kareem, F., & Morsy, A. (2017). Biocontrol of onion white rot by application of *Trichoderma* species formulated on wheat bran powder. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 50(3–4), 150–166. <https://doi.org/10.1080/03235408.2016.1276423>
- Enjamio, L., Rodríguez, P., Valero, T., Ruíz, E., Ávila, J., M., & Varela, G. (2017). Informe sobre Legumbres, Nutrición y Salud. Fundación Española de la Nutrición. Ministerio de Sanidad.
- Fanning, J., Brand, J., Santa, I. M., McDonald, L., Taylor, J., & Hollaway, G. (2022). Management of chickpea *Ascochyta* blight using fungicides and cultivar resistance improves grain yield, quality, and grower profitability. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.942220>
- FAO (2009). *Global agriculture towards 2050. High Level Expert Forum - How to Feed the World in 2050*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.
- FAO (2011). *Climate change, Water and Food Security*, FAO Water Report No. 36, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome. *Organisation for Economic Co-operation and Development*, OECD
- FAOSTAT. (2022 y 2017). Recuperado el 14 de agosto de 2024, de <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>
- FAO (2024). *Alimentación y agricultura sostenibles*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/sustainability/es/>
- Farm to fork strategy*. (2024). Food Safety. European Commission. Recuperado el 13 de agosto de 2024, de https://food.ec.europa.eu/horizontal-topics/farm-fork-strategy_en

- Ferreira, F. V., & Musumeci, M. A. (2021). *Trichoderma* as biological control agent: scope and prospects to improve efficacy. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(5). <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03058-7>
- Fernández-Sandoval, M., Ortiz-García, M., Galindo, E., & Serrano-Carreón, L. (2012). Cellular damage during drying and storage of *Trichoderma harzianum* spores. *Process Biochemistry*, 47(2), 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.10.006>
- Fernández-San Millán, A., Gamir, J., Larraya, L., Farran, I., & Veramendi, J. (2022). Towards understanding of fungal biocontrol mechanisms of different yeasts antagonistic to *Botrytis cinerea* through exometabolomic analysis. *Biological Control*, 174, 105033. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105033>
- Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., Mueller, N. D., O'Connell, C., Ray, D. K., West, P. C., Balzer, C., Bennett, E. M., Carpenter, S. R., Hill, J., Monfreda, C., Polasky, S., Rockström, J., Sheehan, J., Siebert, S., Zaks, D. P. M. (2011). Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 478(7369), 337–342. <https://doi.org/10.1038/nature10452>
- Foresto, E., Carezzano, M. E., Giordano, W., & Bogino, P. (2023). Ascochyta blight in Chickpea: an update. *Journal of Fungi*, 9(2), 203. <https://doi.org/10.3390/jof9020203>
- Gajera, H. P., Domadiya, R., Patel, S., & Golakiya, B. A. (2013). Molecular mechanism of *Trichoderma* as bio-control agents against phytopathogen system – a review. *Current Research in Microbiology and Biotechnology*, 1(4): 133-142. https://www.researchgate.net/publication/267571641_Molecular_mechanism_of_Trichoderma_as_bio-control_agents_against_phytopathogen_system_-_a_review
- Gan, Y., Siddique, K., MacLeod, W., & Jayakumar, P. (2006). Management options for minimizing the damage by ascochyta blight (*Ascochyta rabiei*) in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Research*, 97(2–3), 121–134. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.10.002>
- García Pérez, A. (2010). Estadística básica con R (1st ed.).
- Geng, L., Fu, Y., Peng, X., Yang, Z., Zhang, M., Song, Z., Guo, N., Chen, S., Chen, J., Bai, B., Liu, A., & Ahammed, G. J. (2022). Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea* in tomato plants. *Biological Control*, 174, 105019. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105019>

- Geraldine, A. M., Lopes, F. a. C., Carvalho, D. D. C., Barbosa, E. T., Rodrigues, A. R., Brandão, R. S., Ulhoa, C. J., & Lobo, M., Junior. (2013). Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. *Biological Control*, 67(3), 308–316. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.09.013>
- Goerlich, F.J. & Cantarino, I. (2015) *Estimaciones de la población rural y urbana a nivel municipal*. Estadística Española
- Gollin, D., Hansen, C. W., & Wingender, A. M. (2021). Two blades of grass: The impact of the Green Revolution. *Journal of Political Economy*, 129(8), 2344–2384. <https://doi.org/10.1086/714444>
- González-Bernal, M.J. & Rubiales, D. (2016). Las leguminosas grano en la agricultura española y europea. *Arbor*, 192(779): a311. doi: <http://dx.doi.org/10.3989/arbor.2016.779n3001>
- Govantes, F., & Montañés, J.A. (1982). El cultivo del garbanzo. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. *Hojas Divulgadoras* 5(82).
- GrowNote (2018). *Chickpea: Section 4 - Plant growth and physiology*. Grains Research and Development Corporation (GRDC). <https://grdc.com.au>
- Gudadhe, N. N., Kumar, N., Pisal, R., Mote, B. M., & Dhonde, M. B. (2013). Evaluation of Agrometeorological Indices in Relation to Crop Phenology of Cotton (*Gossipium spp.*) and Chickpea (*Cicer aritinum L.*) at Rahuri region of Maharashtra. *Trends in Biosciences* 6(3), 246–250. https://www.researchgate.net/publication/288493704_Evaluation_of_Agrometeorological_Indices_in_Relation_to_Crop_Phenology_of_Cotton_Gossipium_spp_and_Chickpea_Cicer_aritinum_L_at_Rahuri_region_of_Maharashtra
- Guo, A., Yue, W., Yang, J., Xue, B., Xiao, W., Li, M., He, T., Zhang, M., Jin, X., & Zhou, Q. (2023). Cropland abandonment in China: Patterns, drivers, and implications for food security. *Journal of Cleaner Production*, 418, 138154. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.138154>
- Gupta, R., & Bar, M. (2020). Plant Immunity, Priming, and Systemic Resistance as Mechanisms for *Trichoderma* spp. Biocontrol. *Rhizosphere biology*, 81–110. https://doi.org/10.1007/978-981-15-3321-1_5

- Harman G., E., Custis, D. (2006). Formulations of viable microorganisms and their methods of production and use. United States Patent US9090884B2. <https://patents.google.com/patent/US9090884B2/en>
- Harman, G. E. (2011). Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity. *New Phytologist*, 189(3), 647–649. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03614.x>
- Héraux, F. M., Hallett, S. G., Ragothama, K., & Weller, S. C. (2005). Composted Chicken Manure as a Medium for the Production and Delivery of *Trichoderma virens* for Weed Control. *HortScience*, 40(5), 1394–1397. <https://doi.org/10.21273/hortsci.40.5.1394>
- Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., & Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158(1), 17–25. <https://doi.org/10.1099/mic.0.052274-0>
- Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Science*, 35. <https://doi.org/10.4067/s0719-38902019005000205>
- Hoffmeister, D., & Keller, N. P. (2007). Natural products of filamentous fungi: enzymes, genes, and their regulation. *Natural Product Reports*, 24(2), 393–416. <https://doi.org/10.1039/b603084j>
- Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87(1), 4–10. <https://doi.org/10.1094/pdis.2003.87.1.4>
- IPCC. (2022). *Climate change 2022: Impacts, adaptation and vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, M. Tignor, E.S. Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Craig, S. Langsdorf, S. Löschke, V. Möller, A. Okem, & B. Rama. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781009325844>
- Javaid, A., & Ali, S. (2011). Herbicidal activity of culture filtrates of *Trichoderma* spp. against two problematic weeds of wheat. *Natural Product Research*, 25(7), 730–740. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.528757>

- Javaid, A., Ali, A., Shoaib, A., & Khan, I. (2021). Alleviating stress of *Sclerotium rolfsii* on growth of chickpea var. Bhakkar-2011 by *Trichoderma harzianum* and *T. viride*. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 31(6). <https://doi.org/10.36899/japs.2021.6.0378>
- Jegathambi, V., Wijeratnam, R. W., & Wijesunder, R. (2010). Effect of *Trichoderma* sp. on *Sclerotium rolfsii*, the Causative Agent of Collar Rot on *Zamioculcas zamiifolia* and an on Farm Method to Mass Produce *Trichoderma* species. *Plant Pathology Journal*, 9(2), 47–55. <https://doi.org/10.3923/ppj.2010.47.55>
- Jones, K.A., Burges, H.D. (1998) *Technology of formulation and application*. Springer, Netherlands, Dordrecht, 7–30 https://doi.org/10.1007/978-94-011-4926-6_2
- Junta de Castilla y León (2019). *Pliego de condiciones de la IGP “Garbanzo de Fuentesauco”*
- Keller, N. P., Turner, G., & Bennett, J. W. (2005). Fungal secondary metabolism — from biochemistry to genomics. *Nature Reviews Microbiology*, 3(12), 937–947. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1286>
- Khaliq, I., Fanning, J., Melloy, P., Galloway, J., Moore, K., Burrell, D., & Sparks, A. H. (2020). The role of conidia in the dispersal of *Ascochyta rabiei*. *bioRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory)*. <https://doi.org/10.1101/2020.05.12.091827>
- Khan, M. Y., Haque, M. M., Molla, A. H., Rahman, M. M., & Alam, M. Z. (2017). Antioxidant compounds and minerals in tomatoes by *Trichoderma*-enriched biofertilizer and their relationship with the soil environments. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(3), 691–703. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(16\)61350-3](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(16)61350-3)
- Kheiri, M., Kambouzia, J., Deihimfard, R., Yaghoubian, I., & Moghaddam, S. M. (2021). Response of rainfed chickpea yield to Spatio-Temporal variability in climate in the northwest of Iran. *International Journal of Plant Production*, 15(3), 499–510. <https://doi.org/10.1007/s42106-021-00153-5>
- Knights, E.J. & Hobson, K.B. (2016) *Encyclopedia of food grains*, Vol. 1, 2nd edition. Cambridge: Academic Press, pp. 316–323.
- Kubiak, A., Wolna-Maruwka, A., Pilarska, A. A., Niewiadomska, A., & Piotrowska-Cyplik, A. (2023). Fungi of the *Trichoderma* Genus: Future Perspectives of Benefits in Sustainable agriculture. *Applied Sciences*, 13(11), 6434. <https://doi.org/10.3390/app13116434>

- Kumar, A., Kumar, V., Kumar, G., & Jackson, K. S. (2019). In vitro and in vivo bio efficacy of some new generation fungicides and antagonistic microbes against *Ascochyta* blight caused by *Ascochyta rabiei* on Chickpea. *Think India Journal*, 22(34), 262–282. <https://www.researchgate.net/publication/339947480> [In vitro and in vivo bio efficacy of some new generation fungicides and antagonistic microbes against *Ascochyta* blight caused by *Ascochyta rabiei* on Chickpea](https://www.researchgate.net/publication/339947480)
- Kumar, V., Shahid, M., Srivastava, M., Singh, A., Sonika, P., & Sharma, A. (2014). Enhancing Seed Germination and Vigor of Chickpea by Using Potential and Effective Strains of *Trichoderma* Species. *Virology & Mycology* 3(2). <https://doi.org/10.4172/2161-0517.1000128>
- Liebig, J. V. 1840. *Die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Agricultur und Physiologie (Organic chemistry in its applications to agriculture and physiology)*. Friedrich Vieweg und Sohn Publishing Company, Braunschweig, Germany.
- Lombardi, N., Salzano, A. M., Troise, A. D., Scaloni, A., Vitaglione, P., Vinale, F., Marra, R., Caira, S., Lorito, M., D’Errico, G., Lanzuise, S., & Woo, S. L. (2020). Effect of trichoderma bioactive metabolite treatments on the production, quality, and protein profile of strawberry fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(27), 7246–7258. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01438>
- López, L., Benítez-Vega, J., López-Bellido R.J., Muñoz, V., & López-Bellido F.J. (2010). Fijación de nitrógeno de las leguminosas en función del sistema de laboreo. *Vida Rural*. ISSN: 1133-8938
- Macías-Rodríguez, L., Contreras-Cornejo, H. A., Adame-Garnica, S. G., Del-Val, E., & Larsen, J. (2020). The interactions of *Trichoderma* at multiple trophic levels: inter-kingdom communication. *Microbiological Research*, 240, 126552. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126552>
- Madyar, U. (2021). The Role of the FAO in Reducing Migration Pressures and Implementing Sustainable Development Goals (Zero Hunger). *Insignia: Journal Of International Relations*, 81-87. <https://doi.org/10.20884/1.ins.2021.0.0.3862>
- Manjunatha, L., Saabale, P. R., Srivastava, A. K., Dixit, G. P., Yadav, L. B., & Kumar, K. (2018). Present status on variability and management of *Ascochyta rabiei* infecting chickpea. *Indian Phytopathology*, 71(1), 9–24. <https://doi.org/10.1007/s42360-018-0002-6>
- Marín-Guirao, J. I., Rodríguez-Romera, P., Lupión-Rodríguez, B., Camacho-Ferre, F., & Tello-Marquina, J. C. (2016). Effect of *Trichoderma* on horticultural seedlings’ growth promotion depending on

inoculum and substrate type. *Journal of Applied Microbiology*, 121(4), 1095–1102. <https://doi.org/10.1111/jam.13245>

Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma spp.* y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista Protección Vegetal*, 28, 1–11. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1010-27522013000100001

Martínez-Martínez, T. O., Guerrero-Aguilar, B. Z., Pecina-Quintero, V., Rivas-Valencia, P., González-Pérez, E., & Angeles-Núñez, J. G. (2020). Antagonismo de *Trichoderma harzianum* contra la fusariosis del garbanzo y su efecto biofertilizante. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 11(5), 1135–1147. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i5.2325>

Martínez, Y., Ribera, J., Schwarze, F. W. M. R., & De France, K. (2023). Biotechnological development of *Trichoderma*-based formulations for biological control. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(18), 5595–5612. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12687-x>

Marzani, Q. A. (2023). Management of ascochyta blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labrouse) using chickpea-based mixed cropping systems through different combinations of companion crops. *Australasian Plant Pathology*, 52(3), 215–223. <https://doi.org/10.1007/s13313-023-00912-0>

Marzani, Q. A., Fatah, K. M., & Mustafa, M. H. (2017). Field efficacy of the commercial formulation of the antagonistic *Trichoderma harzianum* on chickpea wilt caused by *Fusarium oxysporum*. *Science Journal of University of Zakho*, 5(1), 64–69. <https://doi.org/10.25271/2017.5.1.303>

Maté, V. (15 de julio de 2024). El campo se jubila. *El País*. https://elpais.com/economia/2024-07-15/el-campo-se-jubila.html?event_log=oklogin

Mauch-Mani, B., Baccelli, I., Luna, E., & Flors, V. (2017). Defense priming: an adaptive part of induced resistance. *Annual Review of Plant Biology*, 68(1), 485–512. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042916-041132>

Maurya, S., Rashk-E-Eram, N., Naik, S. K., Choudhary, J. S., & Kumar, S. (2019). Heavy Metals Scavenging Potential of *Trichoderma asperellum* and *Hypocrea nigricans* Isolated from Acid Soil of Jharkhand. *Indian Journal of Microbiology*, 59(1), 27–38. <https://doi.org/10.1007/s12088-018-0756-7>

Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. (2022). Superficie y Producciones de Cultivos. En *Anuario de Estadística*. Recuperado el 10 de agosto de 2024, de

<https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/superficies-producciones-anuales-cultivos/>

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (2024). *Informe del consumo de alimentación en España 2023*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Ministerio de Transición Ecológica y Reto Demográfico (2021). *Demografía de la población rural en 2020*. Subdirección General de Análisis, Coordinación y Estadística. *Agrinfo nº 31*.

Minorsky, P.V. (2009). *Plant Physiology*, Volume 151, Issue 2, 792–808, <https://doi.org/10.1104/pp.109.143370>

Mishra, N., & Sundari, S. K. (2016). Designing low cost SSF strategy for mass production of bioinoculant *Trichoderma harzianum* KSNM with longer. *Asian Journal of Microbiology Biotechnology and Environmental Sciences*, 18(2), 447–458. https://www.researchgate.net/publication/313900665_Designing_low_cost_SSF_strategy_for_mass_production_of_bioinoculant_Trichoderma_harzianum_KSNM_with_longer_shelf_life

Mona, S. A., Hashem, A., Abd Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Soliman, D. W. K., Wirth, S., & Egamberdieva, D. (2017). Increased resistance of drought by *Trichoderma harzianum* fungal treatment correlates with increased secondary metabolites and proline content. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(8), 1751–1757. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(17\)61695-2](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(17)61695-2)

Morán-Diez, E., Hermosa, R., Ambrosino, P., Cardoza, R. E., Gutiérrez, S., Lorito, M., & Monte, E. (2009). The THPG1 endopolygalacturonase is required for the *Trichoderma harzianum*–Plant beneficial interaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22(8), 1021–1031. <https://doi.org/10.1094/mpmi-22-8-1021>

Morcuende, J., Martín-García, J., Velasco, P., Sánchez-Gómez, T., Santamaría, Ó., Rodríguez, V. M., & Poveda, J. (2024). Effective biological control of chickpea rabies (*Ascochyta rabiei*) through systemic phytochemical defenses activation by *Trichoderma* roots colonization: From strain characterization to seed coating. *Biological Control*, 193, 105530. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2024.105530>

Morgan, C. A., Herman, N., White, P. A., & Vesey, G. (2006). Preservation of micro-organisms by drying; A review. *Journal of Microbiological Methods*, 66(2), 183–193. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2006.02.017>

- Motta, F. L., & Santana, M. H. A. (2012). Biomass production from *Trichoderma viride* in nonconventional oat medium. *Biotechnology Progress*, 28(5), 1245–1250. <https://doi.org/10.1002/btpr.1578>
- Murty, C. M., Pittaway, J. K., & Ball, M. J. (2010). Chickpea supplementation in an Australian diet affects food choice, satiety and bowel health. *Appetite*, 54(2), 282–288. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2009.11.012>
- Nadal, S., Córdoba, E.M., González-Verdejo, C.I., Millán T., Rubio, J.M. (2017). *Guías de cultivo. Serie leguminosas: el garbanzo*. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, 2017. pp 1-18.
- Naseer, S., Ali, Y., Mustafa, A., Shah, J. A., Saeed, S., Aatif, H. M., Ahmad, S., Yousaf, M. J., Shakoore, A., & Ramzan, M. (2022). In vitro and in vivo evaluation of different measures to control Ascochyta blight in chickpea. *Plant Science Today*, 9(SP3), 31–36. <https://doi.org/10.14719/pst.1781>
- Natsiopoulou, D., Tziolias, A., Lagogiannis, I., Mantzoukas, S., & Eliopoulos, P. A. (2022). Growth-Promoting and Protective Effect of *Trichoderma atroviride* and *T. simmonsii* on Tomato against Soil-Borne Fungal Pathogens. *Crops*, 2(3), 202–217. <https://doi.org/10.3390/crops2030015>
- Nawrocka, J., & Małolepsza, U. (2013). Diversity in plant systemic resistance induced by *Trichoderma*. *Biological Control*, 67(2), 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.07.005>
- Nzanza, B., Marais, D., & Soundy, P. (2012). Yield and nutrient content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* and *Glomus mosseae* inoculation. *Scientia Horticulturae*, 144, 55–59. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.06.005>
- OECD (2015), Climate change, Water and Agriculture towards resilient systems, OECD Studies on Water. Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD.
- Fondo de Población de las Naciones Unidas, UNFPA (2023). *Informe sobre el Estado de la Población Mundial en 2023*. Organización de las Naciones Unidas, New York.
- Oszust, K., Cybulska, J., & Frąć, M. (2020). How Do *Trichoderma* Genus Fungi Win a Nutritional Competition Battle against Soft Fruit Pathogens? A Report on Niche Overlap Nutritional Potentials. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(12), 4235. <https://doi.org/10.3390/ijms21124235>

- Pacheco-Trejo, J., Aquino-Torres, E., Reyes-Santamaría, M. I., Islas-Pelcastre, M., Pérez-Ríos, S. R., Madariaga-Navarrete, A., & Saucedo-García, M. (2022). Plant Defensive Responses Triggered by *Trichoderma spp.* as Tools to Face Stressful Conditions. *Horticulturae*, 8(12), 1181. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8121181>
- Pande, S., Siddique, K. H. M., Kishore, G. K., Bayaa, B., Gaur, P. M., Gowda, C. L. L., Bretag, T. W., & Crouch, J. H. (2005). Ascochyta blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review of biology, pathogenicity, and disease management. *Australian Journal of Agricultural Research*, 56(4), 317. <https://doi.org/10.1071/ar04143>
- Pani, S., Kumar, A., & Sharma, A. (2021). *Trichoderma harzianum*: An Overview. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.*, 10(6) 32–39. Online ISSN 2277-1808 https://www.researchgate.net/publication/352312147_Trichoderma_harzianum_An_Overvie
[w](#)
- Parafati, L., Vitale, A., Restuccia, C., & Cirvilleri, G. (2015). Biocontrol ability and action mechanism of food-isolated yeast strains against *Botrytis cinerea* causing post-harvest bunch rot of table grape. *Food Microbiology*, 47, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.013>
- Población Mundial: Billones de Personas (2024) - Worldometer.* (2024). Recuperado el 07 de agosto de 2024, de <https://www.worldometers.info/es/poblacion-mundial/>
- Pokhrel, A., Adhikari, A., Oli, D., Paudel, B., Pandit, S., Bigyan, & G.C., Tharu, B.R.R. (2022). Biocontrol Potential and Mode of Action of *Trichoderma* Against Fungal Plant Diseases. *Acta Scientific Agriculture* 6(10) 10-21. <https://doi.org/10.31080/ASAG.2022.06.1184>
- Poveda, J. (2018). *Investigación básica y aplicada en la interacción Trichoderma-Brassicaceae*. Instituto Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal.
- Poveda, J. (2021). Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* and *Ascochyta rabiei* infecting protected geographical indication Fuentesauco-Chickpea by *Trichoderma* species. *European Journal of Plant Pathology*, 160, 825–840. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02286-9>
- Prasad, R. D., Rangeshwaran, R., Anuroop, C. P., & Phanikumar, P. R. (2002). Bioefficacy and Shelf Life of Conidial and Chlamydo-spore Formulations of *Trichoderma harzianum* Rifai. *Journal of Biological Control*, 16(2), 145–148. <https://doi.org/10.18311/jbc/2002/4124>

Proteína orgánica en la India: apuesta por el futuro. (23 de diciembre de 2012). Ministerio de Economía, Comercio y Empresa. <https://www.icex.es/es/quienes-somos/donde-estamos/red-exterior-de-comercio/in/documentos-y-estadisticas/estudios-e-informes/proteina-organica-india.html>

Rabia o tizón del garbanzo (Ascochyta rabiei) (5 de julio de 2022). Herbario Virtual Fitopatología. https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=481

Rahman, S. F. S. A., Singh, E., Pieterse, C. M., & Schenk, P. M. (2018). Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science*, 267, 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.11.012>

Rajinikanth, R., M.S. Rao, K.V. Pavani & Umamaheswari, R. (2016). Molecular Characterization of Chitinase (chi18-5) and its Expression in *Trichoderma viride*: Role on Nematode Egg Parasitism. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 5(12): 56-64. doi: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.512.006>

Real Decreto 1311/2012, de 14 de septiembre. Por el que se establece el marco de actuación para conseguir un uso sostenible de los productos fitosanitarios. (16 de septiembre de 2012). BOE-A-2012-11605. Recuperado el 18 de agosto de 2024, de <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2012-11605>

Redden, R.J. & Berger J.D. (2007). *History and Origin of Chickpea*. Extraído de https://www.researchgate.net/publication/289134705_History_and_origin_of_chickpea

Registro Oficial de Productos Fitosanitarios (2024). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Recuperado el 23 de agosto de 2024, de <https://servicio.mapa.gob.es/regfiweb>

REGLAMENTO (CE) N ° 1485/2007 510/2006 DEL CONSEJO de 20 de marzo de 2006. Sobre la protección de las indicaciones geográficas y de las denominaciones de origen de los productos agrícolas y alimenticios. (31 de marzo de 2006). Diario Oficial de la Unión Europea. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/ALL/?uri=CELEX%3A32006R0510>

REGLAMENTO (CE) N ° 1485/2007 DE LA COMISIÓN de 14 de diciembre de 2007. Por el que se inscriben ciertas denominaciones en el Registro de Denominaciones de Origen Protegidas y de Indicaciones Geográficas Protegidas [Carne de Bísaro Transmontano o Carne de Porco Transmontano (DOP), Szegedi szalámi o Szegedi téliszalámi (DOP), Pecorino di Filiano (DOP), Cereza del Jerte (DOP), Garbanzo de Fuentesauco (IGP), Lenteja Pardina de Tierra de Campos (IGP), Λουκούμι Γεροσκήπου (Loukoumi Geroskipou) (IGP), Skalický trdelník (IGP)]. (15 de

diciembre de 2007). Diario Oficial de la Unión Europea. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2007/1485/oj>

Reglamento (UE) 2024/1143 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 11 de abril de 2024, relativo a las indicaciones geográficas para vinos, bebidas espirituosas y productos agrícolas, así como especialidades tradicionales garantizadas y términos de calidad facultativos para productos agrícolas, por el que se modifican los Reglamentos (UE) nº 1308/2013, (UE) 2019/787 y (UE) 2019/1753, y se deroga el Reglamento (UE) nº 1151/2012. Recuperado el 23 de noviembre de 2024, de <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2024-80556>

Reino, J. L., Guerrero, R. F., Hernández-Galán, R., & Collado, I. G. (2007). Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry Reviews*, 7(1), 89–123. <https://doi.org/10.1007/s11101-006-9032-2>

Rizvi, A., Zaidi, A., Khan, M. S., Saif, S., Ahmed, B., & Shahid, M. (2017). *Growth improvement and management of vegetable diseases by plant growth-promoting rhizobacteria*. In A. Zaidi & M. Khan (Eds.), *Microbial strategies for vegetable*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54401-4_5

Sahebani, N., & Hadavi, N. (2008). Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(8), 2016–2020. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.03.011>

Sala, A., Barrena, R., Artola, A., & Sánchez, A. (2019). Current developments in the production of fungal biological control agents by solid-state fermentation using organic solid waste. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 49(8), 655–694. <https://doi.org/10.1080/10643389.2018.1557497>

Sala, A., Vittone, S., Barrena, R., Sánchez, A., & Artola, A. (2021). Scanning agro-industrial wastes as substrates for fungal biopesticide production: Use of *Beauveria bassiana* and *Trichoderma harzianum* in solid-state fermentation. *Journal of Environmental Management*, 295, 113113. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113113>

Saldaña-Mendoza, S. A., Chavez-González, M. L., & Gonzalez, C. N. A. (2023a). Protocol for the production of *Trichoderma* spores for use as a biological control agent through the revalorization of agro-industrial waste. En *Methods and protocols in food science* (pp. 169–176). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3303-8_12

- Saldaña-Mendoza, S. A., Pacios-Michelena, S., Palacios-Ponce, A. S., Chávez-González, M. L., & Aguilar, C. N. (2023b). *Trichoderma* as a biological control agent: mechanisms of action, benefits for crops and development of formulations. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(10). <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03695-0>
- Sánchez-Montesinos, B., Diánez, F., Moreno-Gavira, A., Gea, F. J., & Santos, M. (2019). Plant Growth Promotion and Biocontrol of *Pythium ultimum* by Saline Tolerant *Trichoderma* Isolates under Salinity Stress. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(11), 2053. <https://doi.org/10.3390/ijerph16112053>
- Sandle, T. (2014). *Encyclopedia of Food Microbiology - Second edition*. Pages 644 – 646.
- Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hottton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., Mcveigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database, 2020. <https://doi.org/10.1093/database/baaa062>
- Scown, M. W., Brady, M. V., & Nicholas, K. A. (2020). Billions in misspent EU agricultural subsidies could support the sustainable development goals. *One Earth*, 3(2), 237–250. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2020.07.011>
- Segarra, G., Casanova, E., Bellido, D., Odena, M. A., Oliveira, E., & Trillas, I. (2007). Proteome, salicylic acid, and jasmonic acid changes in cucumber plants inoculated with *Trichoderma asperellum* strain T34. *PROTEOMICS*, 7(21), 3943–3952. <https://doi.org/10.1002/pmic.200700173>
- Sharma, M., & Ghosh, R. (2016). An update on genetic resistance of chickpea to *Ascochyta* blight. *Agronomy*, 6(1), 18. <https://doi.org/10.3390/agronomy6010018>
- Shoresh, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology*, 48(1), 21–43. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114450>
- Singh, A., Shahid, M., Srivastava, M., Sonika, P., Sharma, A., & Kumar, V. (2013). Optimal physical parameters for growth of *Trichoderma* species at Varying pH, temperature and agitation. *Virology and Mycology*, 3, 1–7. <https://doi.org/10.4172/2161-0517.1000127>

- Singh, R., Kumar, K., Purayannur, S., Chen, W., & Verma, P. K. (2022). *Ascochyta rabiei*: A threat to global chickpea production. *Molecular Plant Pathology*, 23(9), 1241–1261. <https://doi.org/10.1111/mpp.13235>
- Sokhandani, Z., Moosavi, M. R., & Basirnia, T. (2016). Optimum Concentrations of *Trichoderma longibrachiatum* and Cadusafos for Controlling *Meloidogyne javanica* on Zucchini Plants. *Journal of Nematology*, 48(1), 54–63. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2017-009>
- Soltani, A., Hammer, G., Torabi, B., Robertson, M., & Zeinali, E. (2006). Modeling chickpea growth and development: Phenological development. *Field Crops Research*, 99(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.02.004>
- Srivastava, A., Singh, R. P., Srivastava, A. K., Saxena, A. K., & Arora, D. K. (2008). Growth Promotion and Charcoal Rot Management in Chickpea by *Trichoderma harzianum*. *Journal of Plant Protection Research*, 48(1), 81–92. <https://doi.org/10.2478/v10045-008-0009-6>
- Srivastava, S. N., Singh, V., & Awasthi, S. K. (2006). *Trichoderma* induced improvement in growth, yield and quality of sugarcane. *Sugar Tech*, 8(2–3), 166–169. <https://doi.org/10.1007/bf02943654>
- Suárez, B., Rey, M., Castillo, P., Monte, E., & Llobell, A. (2004). Isolation and characterization of PRA1, a trypsin-like protease from the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* CECT 2413 displaying nematocidal activity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65(1). <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1610-x>
- Szabó, M., Csepregi, K., Gálber, M., Virányi, F., & Fekete, C. (2012). Control plant-parasitic nematodes with *Trichoderma* species and nematode-trapping fungi: The role of chi18-5 and chi18-12 genes in nematode egg-parasitism. *Biological Control*, 63(2), 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.06.013>
- Tan, C. S., Vlug, I. A., Stalpers, J. A., & Van Ingen, C. W. (1994). Microscopical observations on the influence of the cooling rate during freeze-drying of conidia. *Mycologia*, 86(2), 281–289. <https://doi.org/10.1080/00275514.1994.12026409>
- Tardío, J., Pardo de Santayana, M., Lázaro, A., Aceituno, L., & Molina, M. (2022). *Inventario español de los conocimientos tradicionales relativos a la biodiversidad agrícola. (Vol. 2: Fichas)*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

- Teixidó, N., Usall, J., & Torres, R. (2022). Insight into a Successful Development of Biocontrol Agents: Production, Formulation, Packaging, and Shelf Life as Key Aspects. *Horticulturae*, 8(4), 305. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8040305>
- Trapero-Casas, A., Navas-Cortés, J. A., & Jiménez-Díaz, R. M. (1996). Airborne ascospores of *Didymella rabiei* as a major primary inoculum for Ascochyta blight epidemics in chickpea crops in southern Spain. *European Journal of Plant Pathology*, 102(3), 237–245. <https://doi.org/10.1007/bf01877962>
- Tripathi, B. (2009). Effect of *Trichoderma* spp. used as seed treatment on germination and mortality of chickpea. *Annals of Agriculture Research New Series*, 30 (1&2), 71–72. <https://epubs.icar.org.in/ejournal/index.php/AAR/article/view/42741>
- Tripathi, L. K., Thomas, T., & Kumar, S. (2014). Impact of nitrogen and phosphorus on growth and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *An Asian Journal of Soil Science*, 8(2), 260–263. https://www.researchgate.net/publication/281137740_Impact_of_nitrogen_and_phosphorus_on_growth_and_yield_of_chickpea_Cicer_arietinum_L
- Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., & Jaroszuk-Ścisień, J. (2022). *Trichoderma*: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2329. <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>
- Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., & Jaroszuk-Ścisień, J. (2022). *Trichoderma*: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2329. <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>
- United Nations. (s.f.). *Población | Naciones Unidas*. <https://www.un.org/es/global-issues/population>
- Van Dijk, M., Morley, T., Rau, M. L., & Saghai, Y. (2021). A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nature Food*, 2(7), 494–501. <https://doi.org/10.1038/s43016-021-00322-9>
- Vargas, W. A., Mandawe, J. C., & Kenerley, C. M. (2009). Plant-Derived Sucrose Is a Key Element in the Symbiotic Association between *Trichoderma virens* and Maize Plants. *PLANT PHYSIOLOGY*, 151(2), 792–808. <https://doi.org/10.1104/pp.109.141291>

- Vargas-Hoyos, H., & Gilchrist, E. (2015). Producción de enzimas hidrolíticas y actividad antagonista de *Trichoderma asperellum* sobre dos cepas de *Fusarium* aisladas de cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*). *Revista Mexicana de Micología*, 42, 9–16.
- Vásquez, J.A. (2010). Caracterización microbiológica y producción de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viridae* en cultivo artesanal. (2010). Pontificia Universidad Javeriana. <http://hdl.handle.net/10554/8662>
- Vinale, F., Ghisalberti, E. L., Sivasithamparam, K., Marra, R., Ritieni, A., Ferracane, R., Woo, S., & Lorito, M. (2009). Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 48(6) 705-11. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2009.02599.x>
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Woo, S. L., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Ruocco, M., Lanzuise, S., Manganiello, G., & Lorito, M. (2014). *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *The Open Mycology Journal*, 8, 127-139. <https://doi.org/10.2174/1874437001408010127>
- Wagner, S. C. (2011) Biological Nitrogen Fixation. *Nature Education Knowledge* 3(10):15 <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/biological-nitrogen-fixation-23570419/>
- Wang, J., Li, Y., Li, A., Liu, R. H., Gao, X., Li, D., Kou, X., & Xue, Z. (2021). Nutritional constituent and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): A review. *Food Research International*, 150, 110790. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110790>
- Wise, K. A., Bradley, C. A., Pasche, J. S., & Gudmestad, N. C. (2009). Resistance to QoI Fungicides in *Ascochyta rabiei* from Chickpea in the Northern Great Plains. *Plant Disease*, 93(5), 528–536. <https://doi.org/10.1094/pdis-93-5-0528>
- Woo, S. L., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Lanzuise, S., Manganiello, G., & Lorito, M. (2014). *Trichoderma*-based Products and their Widespread Use in Agriculture. *The Open Mycology Journal* 8, 71-126. <https://doi.org/10.2174/1874437001408010071>
- Yadav, L. (2020). Antagonistic activity of *Trichoderma* sp and evaluation of various agro wastes for mass production. *Indian Journal of Plant Sciences* 41(2), 109–112. <https://www.semanticscholar.org/paper/ANTAGONISTIC-ACTIVITY-OF-TRICHODERMA-SP-AND-OF-AGRO-Yadav/b4b5ed84f0e16c49d050401a4da960dbebd91384>

- Yao, X., Guo, H., Zhang, K., Zhao, M., Ruan, J., & Chen, J. (2023). *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>
- Yedidia, I., Benhamou, N., & Chet, I. (1999). Induction of Defense Responses in Cucumber Plants (*Cucumis sativus* L.) by the Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3), 1061–1070. <https://doi.org/10.1128/aem.65.3.1061-1070.1999>
- Yedidia, I., Srivastva, A.K., Kapulnik, Y., & Chet, I. (2001). Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and Soil* 235, 235–242. <https://doi.org/10.1023/A:1011990013955>
- Yin, M., Fasoyin, O. E., Wang, C., Yue, Q., Zhang, Y., Dun, B., Xu, Y., & Zhang, L. (2020). Herbicidal efficacy of harzianums produced by the biofertilizer fungus, *Trichoderma brevicompactum*. *AMB Express*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01055-x>
- Yuan, M., Huang, Y., Jia, Z., Ge, W., Zhang, L., Zhao, Q., Song, S., & Huang, Y. (2019). Whole RNA-sequencing and gene expression analysis of *Trichoderma harzianum* Tr-92 under chlamydospore-producing condition. *Genes & Genomics*, 41(6), 689–699. <https://doi.org/10.1007/s13258-019-00812-y>
- Zarulli, V., Sopina, E., Toffolutti, V., & Lenart, A. (2021). Health care system efficiency and life expectancy: A 140-country study. *PLoS ONE*, 16(7), e0253450. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253450>
- Zhao, L., Wang, F., Zhang, Y., & Zhang, J. (2014). Involvement of *Trichoderma asperellum* strain T6 in regulating iron acquisition in plants. *Journal of Basic Microbiology*, 54(S1). <https://doi.org/10.1002/jobm.201400148>
- Zhu, H., Ma, Y., Guo, Q., & Xu, B. (2020). Biological weed control using *Trichoderma polysporum* strain HZ-31. *Crop Protection*, 134, 105161. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105161>