

Cádiz, 1-2 diciembre 2023



# La trufa del desierto: adaptación a ecosistemas semiáridos y áridos

Asunción Morte

Catedrática de Botánica  
Dpto. Biología Vegetal  
**Universidad de Murcia**  
amorte@um.es



UNIVERSIDAD  
DE MURCIA

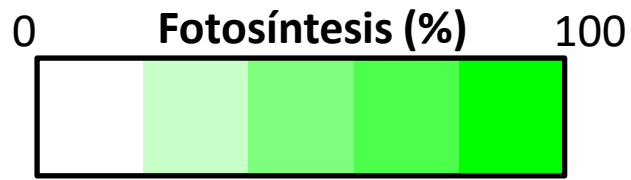


# *Terfezia claveryi* Chatin



- Ascomicete hipogeo comestible que habita en zonas áridas (< 250 mm) y semiáridas (<350 mm)
- Recurso natural de la Región de Murcia (Esteve-Selma et al. 2003)
- Forma *ectendomycorriza* con especies de *Helianthemum* (arbustos leñosos, Cistáceas)
- Primera trufa del desierto cultivada (1999, Murcia) (Morte et al. 2008)





Otoño

Sep-Oct-  
Nov-Dic



Inviern

Dic-Ene-  
Feb-Mar



Primav.  
temp.

Mar-Abr-  
Mayo



Primav.  
tardía

Mayo-Jun



Verano

Jun-Jul-  
Agost-Sep

Crecimiento vegetal

Fructificación turmas

Brotación yemas

Floración

Senescencia foliar

**Tolerancia a la sequía  
plantas micorrizadas**

Modulación de los  
requerimientos  
hídricos de planta  
mediante la **mejora  
de la nutrición**

Modificaciones  
morfológicas y  
anatómicas  
de las raíces

Cambios en la  
**conductividad  
hidráulica de raíz**  
causada por cambios en  
**permeabilidad de la  
membrana plasmática  
al agua**

# 1. Mejora de la nutrición de la planta

*Helianthemum almeriense* x *Terfezia claveryi*

Estrés hídrico:  $\Psi_{\text{soil}}$  -0.5 MPa durante 3 semanas



Plantas	Exp.	%N		%P		%K		%Na	
		tallo	raíz	tallo	raíz	tallo	raíz	tallo	raíz
Regadas	control	1,03a	0,75a	0,13a	0,16a	0,67a	1,71a	0,07a	0,12a
	<i>T.claveryi</i>	1,09a	0,74a	0,14a	0,13a	0,83b	2,27b	0,04a	0,12 <sup>a</sup>
Estresadas	control	0,99a	0,87a	0,15a	0,18b	0,71a	1,59a	0,05a	0,12 <sup>a</sup>
	<i>T.claveryi</i>	1,32b	0,78a	0,18b	0,13a	0,92b	2,46b	0,06a	0,14a

Valores en la misma columna, seguidos por la misma letra, no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) según test de Duncan

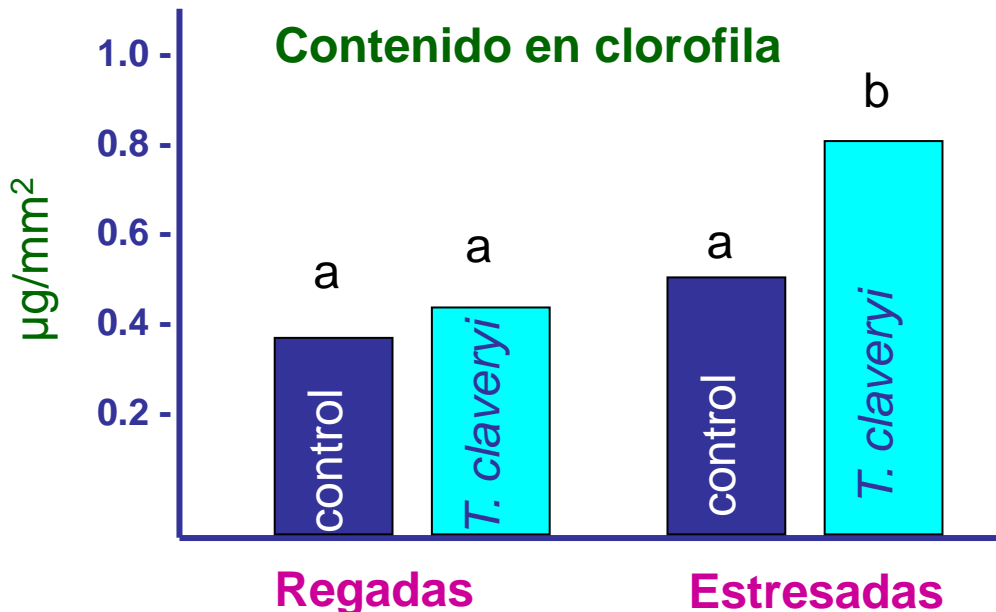
# 1. Mejora de la nutrición de la planta

*Helianthemum almeriense* x *Terfezia claveryi*

Estrés hídrico:  $\Psi_{\text{soil}}$  -0.5 MPa durante 3 semanas

Plantas	Exp.	$\Psi$ (MPa)	Transpiración (mmolxm <sup>-2</sup> xs <sup>-1</sup> )	$g_s$ (mmolxm <sup>-2</sup> xs <sup>-1</sup> )	Fn ( $\mu\text{molxm}^{-2}\text{xs}^{-1}$ )	$g_{\text{plant}}$ (g/planta)
Regadas	control	-1,22 c	3,11 b	144,23 b	8,51 b	2,61 ± 0,48
	<i>T.claveryi</i>	-1,04 d	4,36 c	164,66 d	13,10 c	4,31 ± 0,66
Estresadas	control	-1,94 a	1,47 a	78,67 a	4,79 a	1,02 ± 0,24
	<i>T.claveryi</i>	-1,44 b	2,83 b	114,15 c	9,01 b	3,01 ± 0,54

Valores en la misma columna, seguidos por la misma letra, no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) según test de Duncan



**Sequía**  
**( $\Psi$  -110 KPa)**



**Riego**  
**( $\Psi$  -30 KPa)**



Water Treatment	$\Psi$ soil (KPa)	Mycorrhizal plants	A ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	$g_s$ ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	W.U.E. ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ )
Initial Stress	-37.5 -110	Well-watered	$10.0 \pm 0.9$	$434.2 \pm 28.4$	$23.1 \pm 1.8$
		Drought-stressed	$6.8 \pm 0.3$	$172.1 \pm 17.0$	$39.6 \pm 2.8$
Final stress	- 40 - 137.5	Well-watered	$3.4 \pm 0.3$	$152.3 \pm 12.1$	$22.2 \pm 1.9$
		Drought-stressed	$2.9 \pm 0.3$	$103.2 \pm 11.6$	$28.5 \pm 3.2$
Recovery	-9 -10	Well-watered	$2.7 \pm 0.3$	$119.2 \pm 9.3$	$22.9 \pm 2.0$
		Drought-stressed	$3.3 \pm 0.3$	$128.3 \pm 12.2$	$25.4 \pm 2.4$



La **eficiencia en el uso del agua** de las plantas micorrizadas aumentó en condiciones de **sequía en campo**

Morte et al. (2010) Symbiosis 52: 133-139



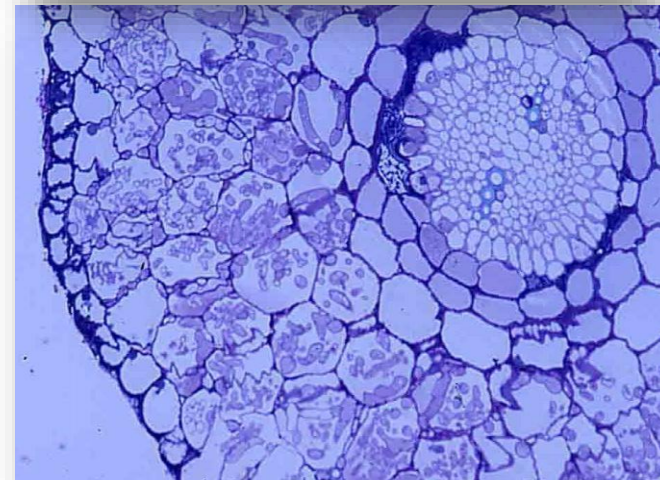
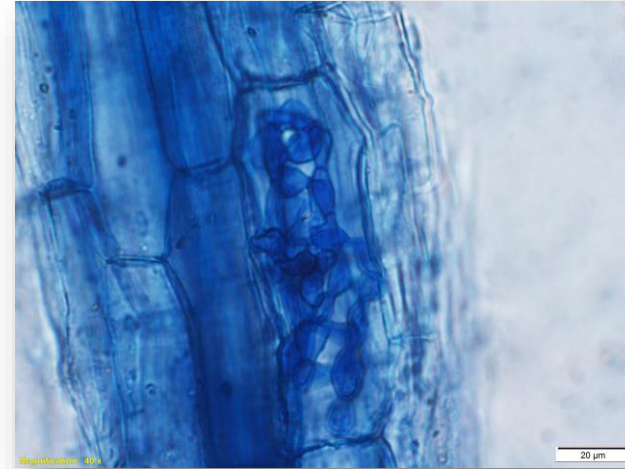
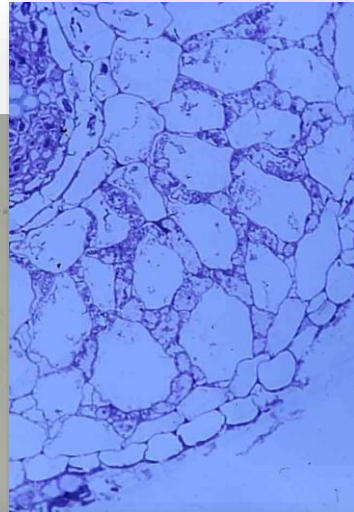
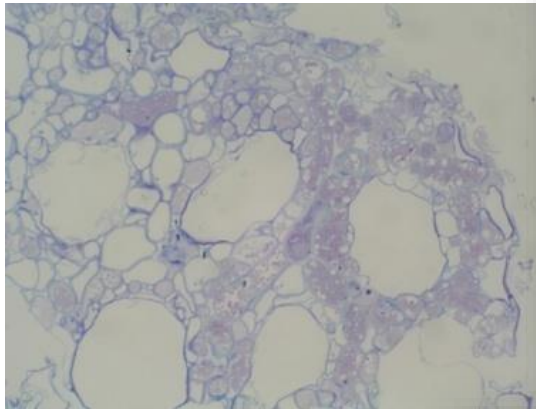
**Supervivencia, tras un año de plantación, y colonización micorrícica al final del experimento en campo**

Tratamiento	Supervivencia	Micorrización(%)
Plantas no-micorrizadas, regadas	0	-
Plantas no-micorrizadas, con estrés		-
Plantas micorrizadas, regadas	90 ± 9	47.7 ± 2.9 a
Plantas micorrizadas, con estrés		70.3 ± 2.5 b

Different letters mean significant differences ( $P < 0.001$ ) by a Chi-square analysis. Percentage ± confidence interval at 95%

# Ectendomicorriza *continuum*

Mycorrhiza 13: 299-307 (2003)  
Mycorrhiza 22: 565-575 (2012)



## 2. Modificaciones anatómicas de las raíces

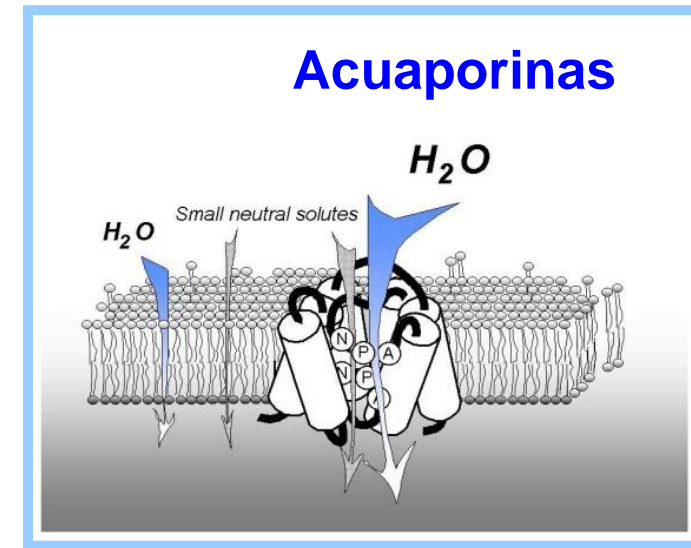
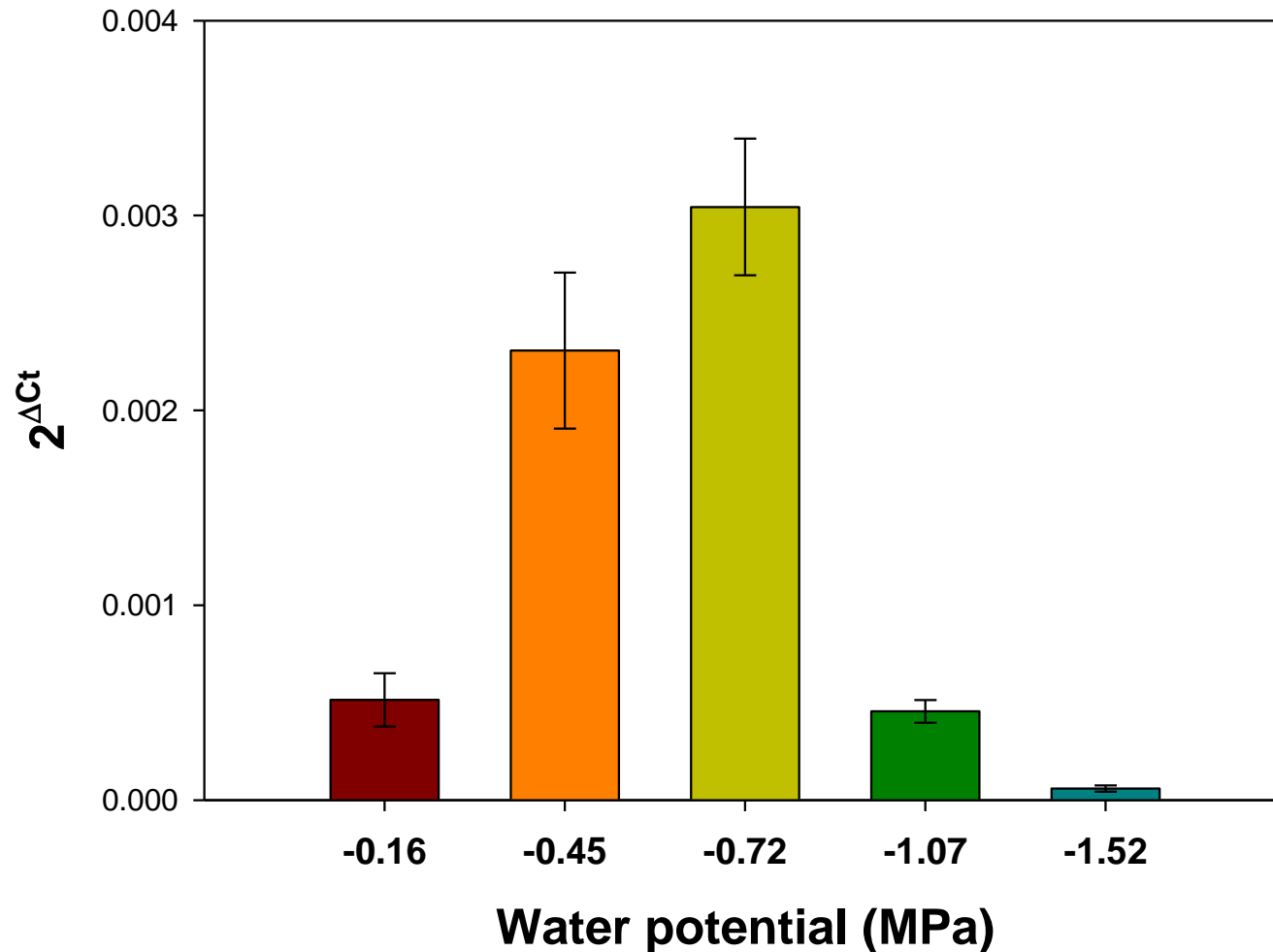
Tratamiento	Colonización (%)	Intracelular (%)	Intra+ Inter (%)	Intercelular (%)
Riego	34.5±3.7 a	15.0±4.9 a	51.5±6.8 a	33.5±6.4 a
Sequía	54.3±5.5 b	53.5±7.5 b	34.7±7.2 b	11.8±4.8 b

Los datos se sometieron al análisis Chi-cuadrado. Una letra diferente en las columnas significa diferencias significativas ( $P < 0,001$ ) según la corrección de Bonferroni. Los valores son el porcentaje  $\pm$  intervalo de confianza al 95%.

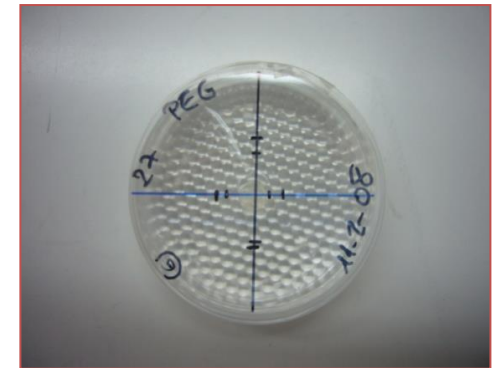
En sequía, la colonización es mayor y más intracelular

### 3. Permeabilidad de las membranas al agua

#### Expresión del gen de acuaporina del hongo *TcAQP1*



Micelio *T. claveryi*



### 3. Permeabilidad de las membranas al agua

Los micelios de *T. claveryi* y *P. lefebvrei* crecieron mejor con estrés hídrico moderado



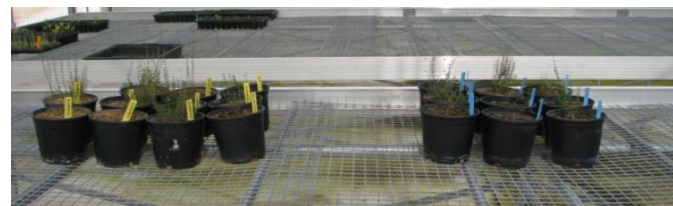
Potencial hídrico (MPa)	Tasa de crecimiento ( $\mu\text{m}/\text{dia}$ )	
	<i>Terfezia claveryi</i>	<i>Picoa lefebvrei</i>
- 0.16	174 $\pm$ 26	389 $\pm$ 89
- 0.45	210 $\pm$ 18	526 $\pm$ 46
- 0.72	186 $\pm$ 21	568 $\pm$ 78
- 1.07	153 $\pm$ 25	415 $\pm$ 34
- 1.52	13 $\pm$ 5	10 $\pm$ 5
- 1.68	10 $\pm$ 3	18 $\pm$ 5
- 1.96	46 $\pm$ 27	10 $\pm$ 6

### 3. Permeabilidad de las membranas al agua

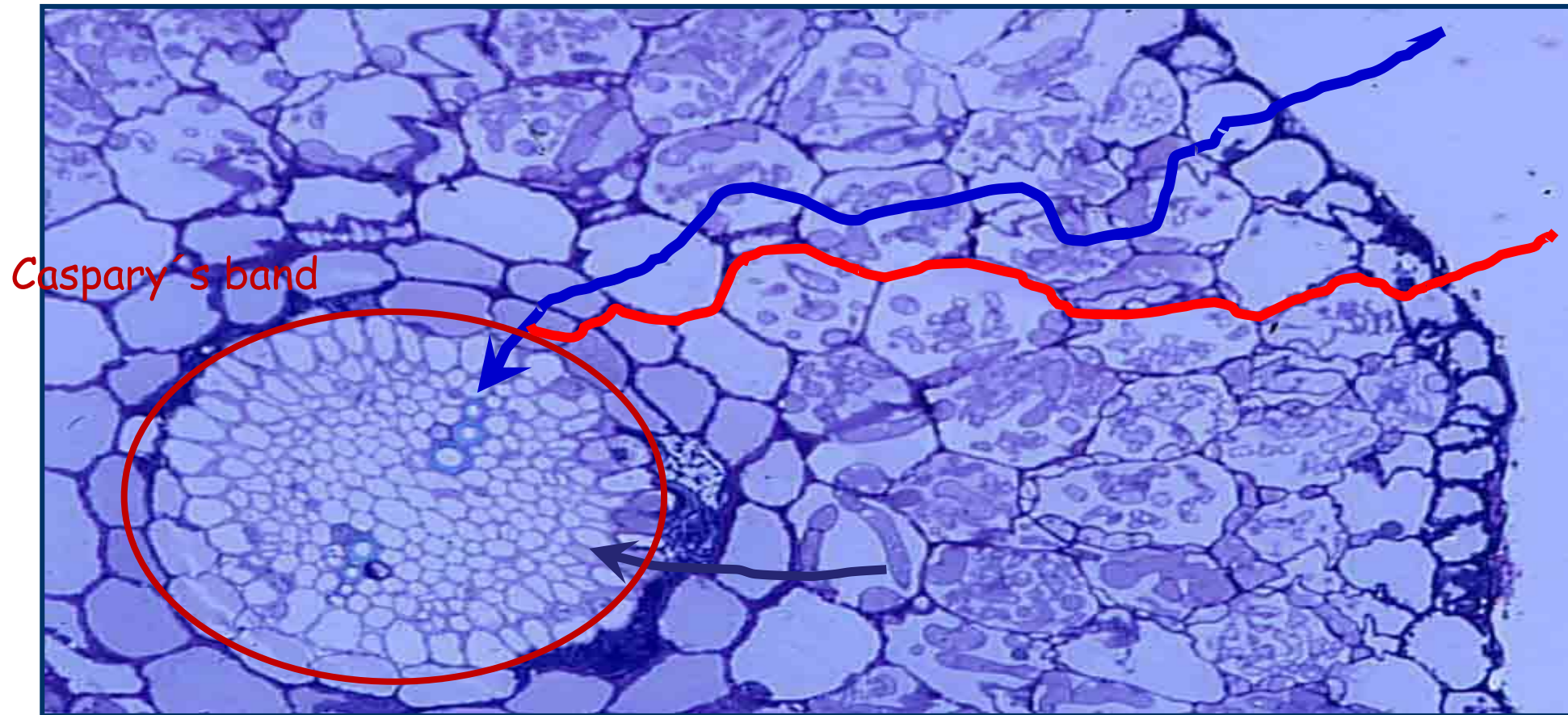
La expresión de la acuaporina del hongo es regulada por la fotosíntesis de la planta simbiote, aumentando la expresión conforme la fotosíntesis disminuye, pero únicamente en plantas sometidas a estrés hídrico.

	hoja					raíz					
	HaTIP1.1	HaPIP1.1	HaPIP1.2	HaPIP2.1	HaPIP2.2	HaTIP1.1	HaPIP1.1	HaPIP1.2	HaPIP2.1	HaPIP2.2	TcAQP1
<b>Drought-Stress Non-Mycorrhizal</b>											
<b>A</b>	-0.983*	-0.692	-0.108	-0.888*	-0.617	-0.935*	-0.385	0.478	0.250	0.199	---
<b>g<sub>s</sub></b>	-0.968*	-0.946*	-0.233	0.573	-0.760	-0.953*	-0.716	0.555	0.387	0.103	---
<b>Drought-Stress Mycorrhizal</b>											
<b>A</b>	-0.024	0.327	0.119	-0.128	0.100	-0.792	0.566	-0.891*	0.548	0.846	-0.889*
<b>g<sub>s</sub></b>	-0.164	0.643	0.024	-0.270	-0.116	-0.922*	0.732	-0.952*	0.175	0.776	-0.755
<b>Well-Watered Non-Mycorrhizal</b>											
<b>A</b>	-0.471	-0.327	0.355	0.157	0.527	-0.420	-0.571	-0.901*	-0.226	-0.882*	---
<b>g<sub>s</sub></b>	-0.688	0.473	0.466	0.218	0.601	-0.781	0.116	-0.666	-0.422	-0.826	---
<b>Well-Watered Mycorrhizal</b>											
<b>A</b>	0.259	0.403	0.491	0.024	0.536	0.247	0.563	-0.247	-0.503	-0.250	-0.863
<b>g<sub>s</sub></b>	0.517	0.677	0.655	0.988 <sup>MS</sup>	0.681	0.098	0.497	-0.381	-0.550	-0.358	-0.866

Pearson's coefficients \* P>0.05 \*\* P>0.01



La combinación de una **colonización intracelular** junto con una **expresión de TcAQP1**, producen una **adaptación morfo-fisiológica** a las condiciones semiáridas



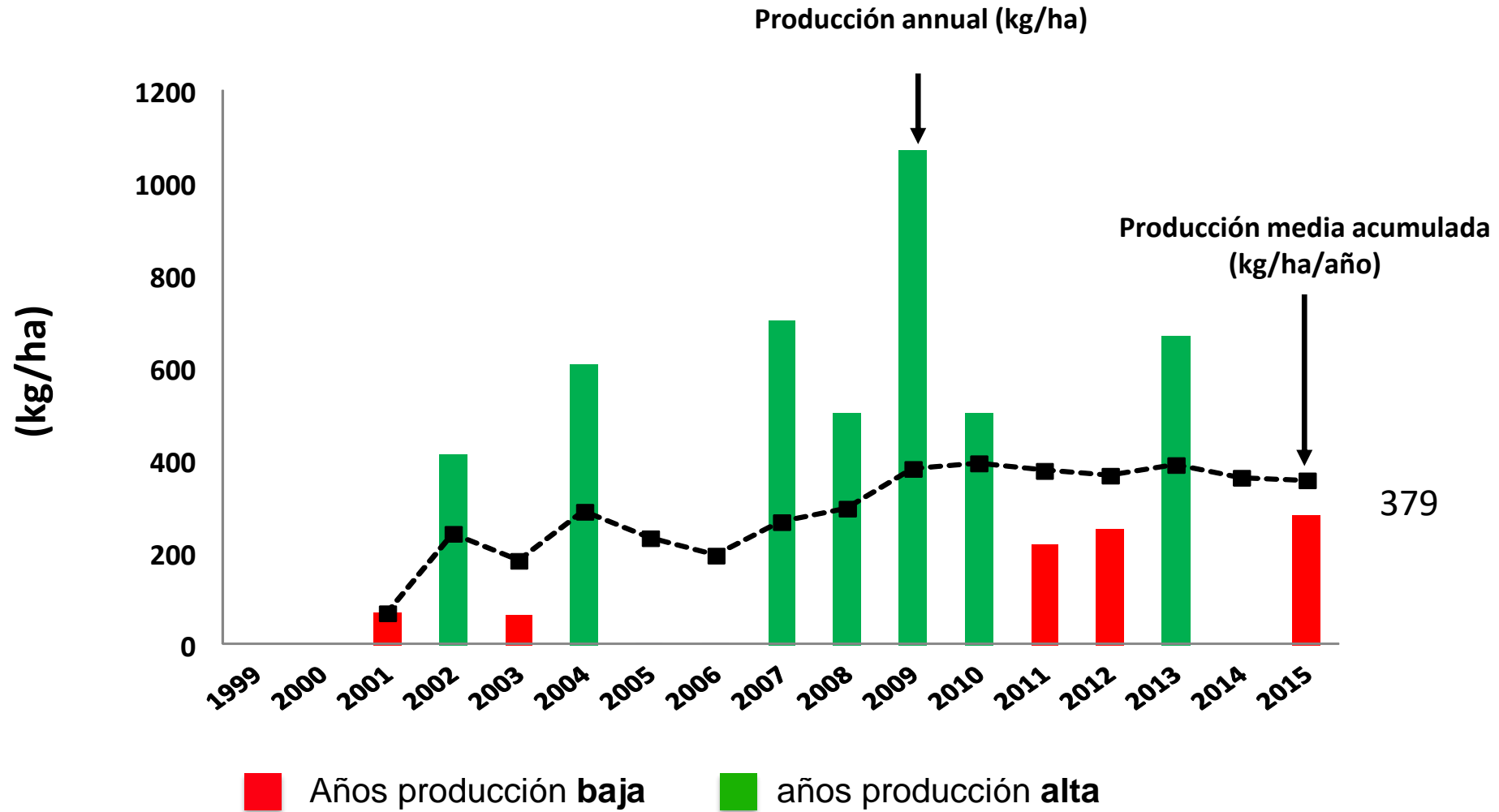






# Producción de turmas

Plantación en Lorca: 1999  
60 plantas, 0,5 x 0,5 m



# PARÁMETROS AGROCLIMATICOS

## Estaciones metereológicas:

Estatat: Zarcilla de Ramos, 15 km de plantación (**LO41**, <http://siam.imida.es>)

Local: a MiniMet automatic weather station (Skye Instruments, Wales, UK)



Datos agroclimáticos diarios de **10 parámetros**:

1. Evapotranspiración (ET<sub>0</sub>, FAO, mm),
2. Punto de rocío (°C)
3. Temperatura media, (°C)
4. Horas bajo 0°C
5. Humedad relativa media (%),
6. Precipitación (mm)
7. Déficit de presión de vapor (VPD, kPa)
8. Índice de aridez: P/ET<sub>0</sub>
9. Potencial hídrico de suelo
10. Anomalía potencial hídrico de suelo (sd)

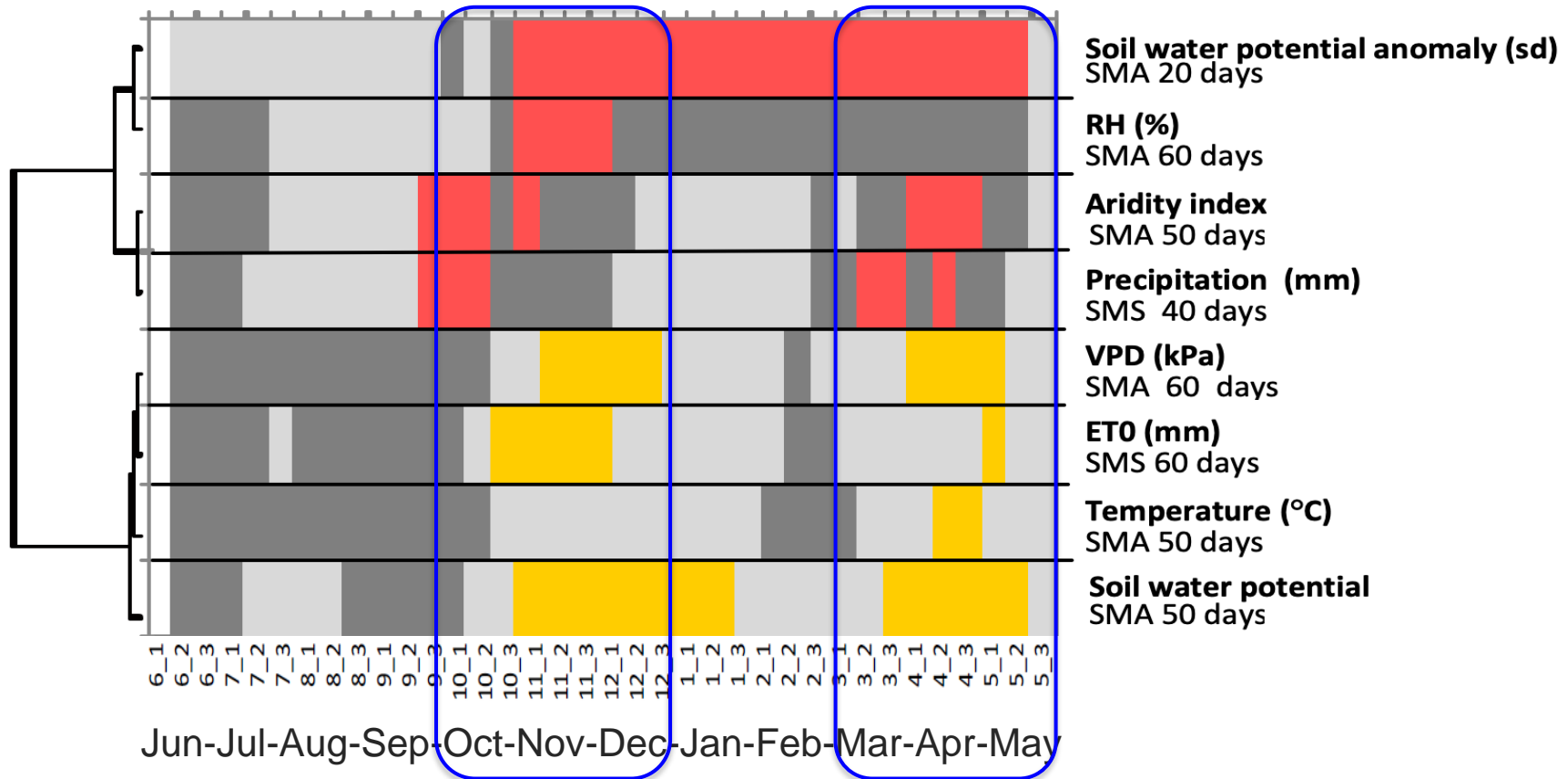
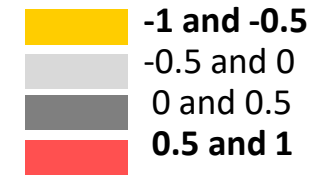
European Drought Observatory  
← (<http://edo.jrc.ec.europa.eu>)

Cada parámetro agroclimático se recalculó para **períodos de 10 días**, lo que proporcionó 36 datos (3 x 12) por parámetro y año.

Heatmap que agrupa las correlaciones significativas ( $P < 0,05$ ) **positivas** y **negativas** de Pearson entre los parámetros agroclimáticos y la cosecha de trufas en períodos de diez días

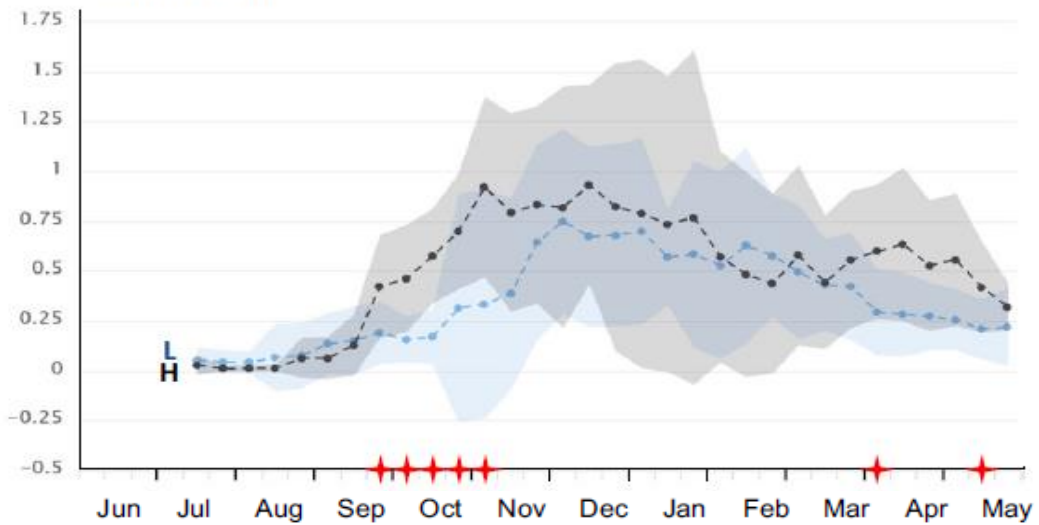
Ocho de diez parámetros mostraron correlaciones significativas de Pearson con la producción de *T. claveryi*

Coefficientes de correlación de Pearson ( $P < 0,05$ ):

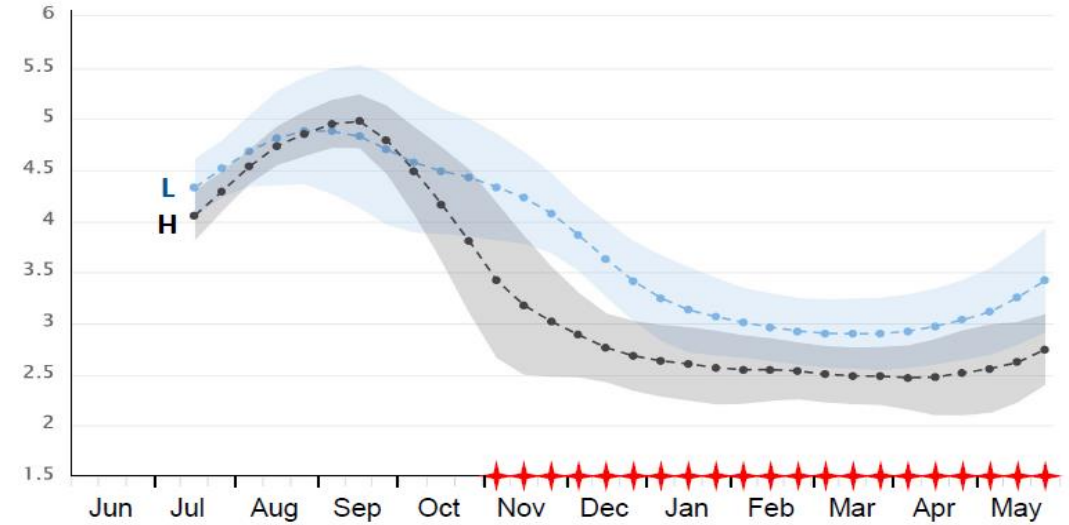




Indice de aridez = Precipitación/ ET0



Potencial hídrico del suelo



- años alta producción de turmas (H)
- años de baja producción de turmas (L)

Agron. Sustain. Dev. (2019) 39:51

# Propuesta de riego

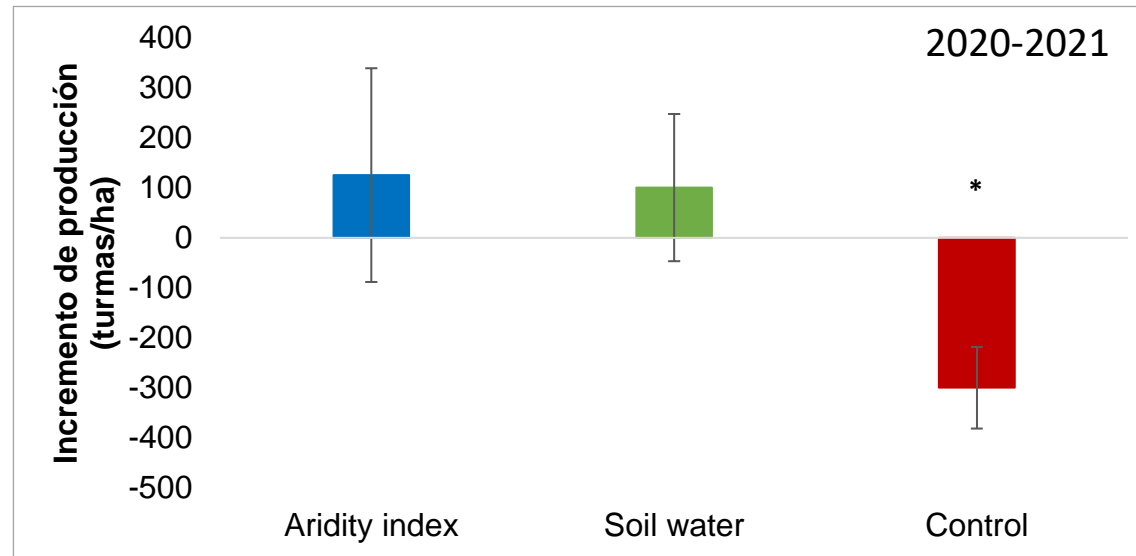
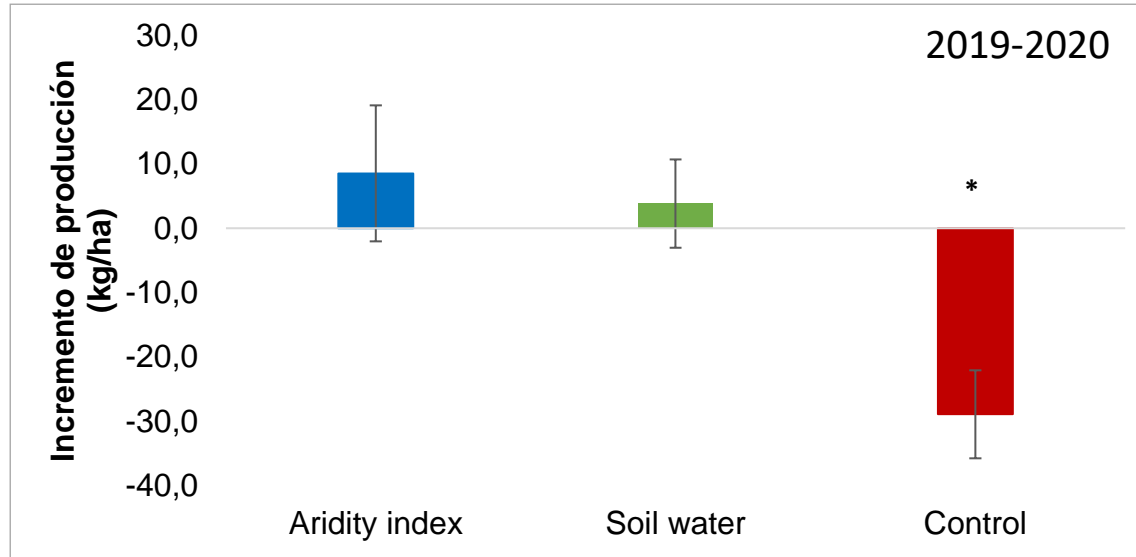
Basado en el índice de aridez ( $AI=P/ET_0$ )

Periods	ET <sub>0</sub>	P	AI	AI threshold	Required water*	Irrigation ** (mm)
Sep21-30	36.7	1.2	0.033	0.35	12.85	11.65
Oct01-10	31.1	2.2	0.0708	0.35	10.89	8.60
Oct11-20	28.8	1.5	0.0503	0.35	10.08	8.58
Oct21-30	29.5	2.0	0.0662	0.35	10.33	8.33
Nov01-10	22.3	1.2	0.0538	0.35	7.81	6.61
Mar21-30	31.2	7.0	0.2238	0.50	15.60	8.6
Apr01-10	35.4	4.3	0.1223	0.50	17.70	13.40
Apr11-20	33.8	6.7	0.1969	0.50	16.90	10.2
Apr21-30	48.1	9.5	0.1963	0.50	24.05	15.05
May01-10	34.1	11.9	0.3496	0.50	17.05	5.15
Total		47.5			143.26	<b>96.17</b>

$$*RW = AI_t \times ET_0$$

$$**I = RW - P$$

# Producción de turmas de *T. claveryi* en plantación de 4 años, con riegos basados en índice de aridez y potencial hídrico del suelo ( $p < 0.05$ )



En las zonas regadas **se mantiene** la producción en **años secos**



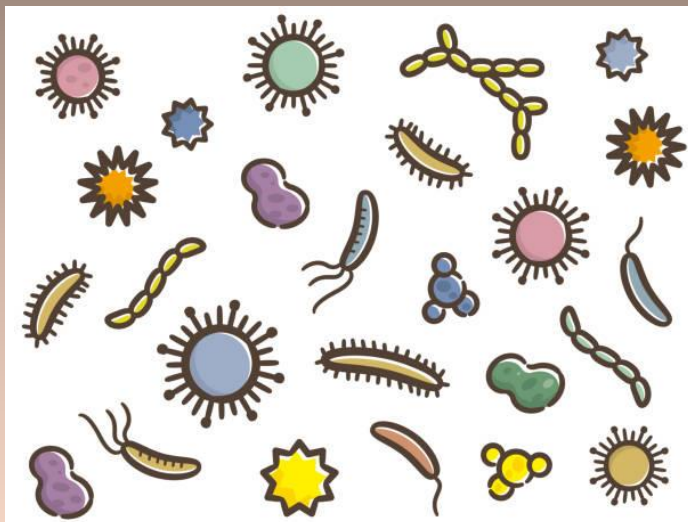
\* Incremento no es igual a cero ( $p < 0.05$ ) según t-Student para un grupo

# Dubai (EAU)



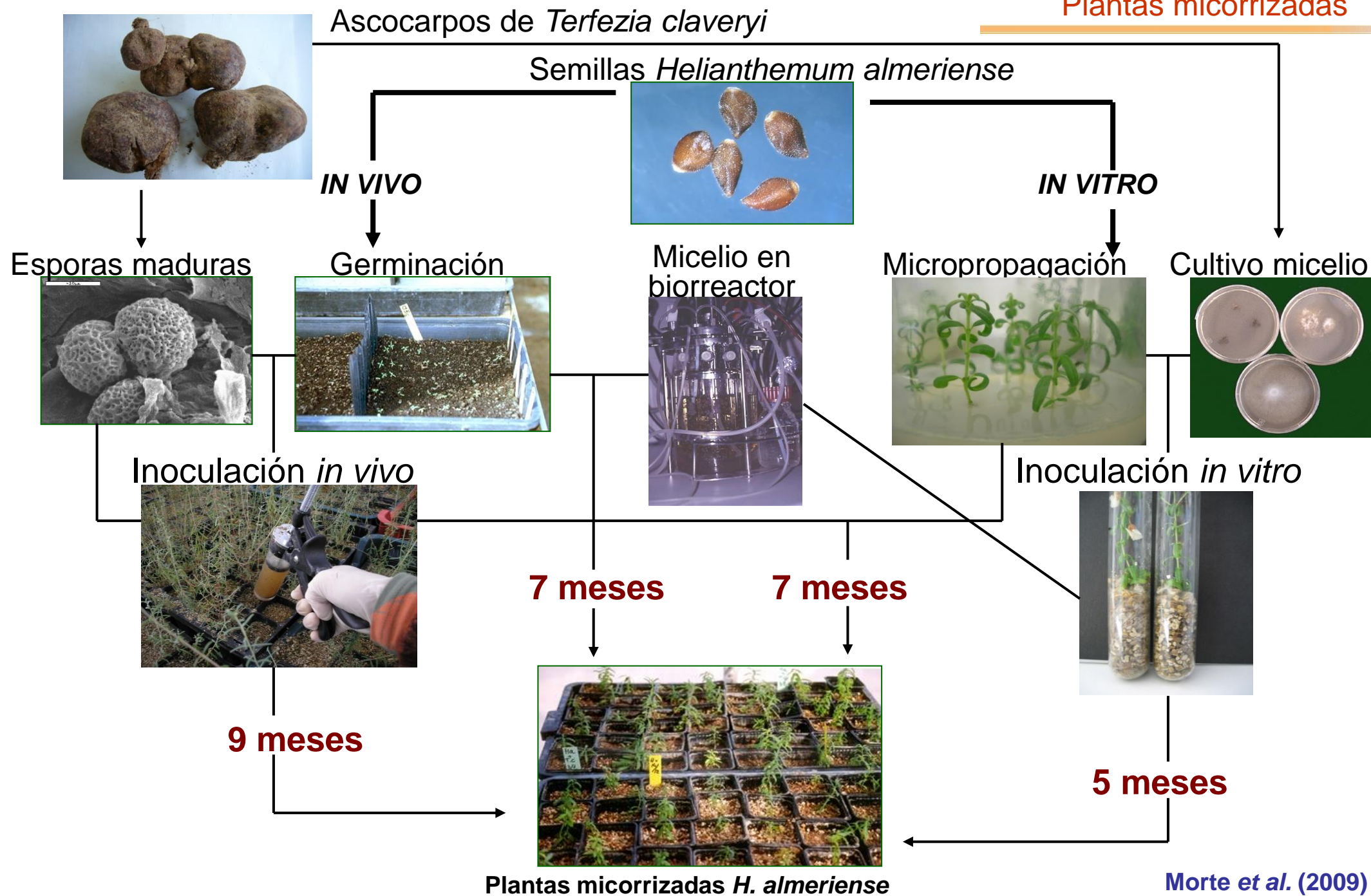
## Bacterias del suelo

que afectan a plantas micorrizadas con trufa del desierto en zonas semiáridas



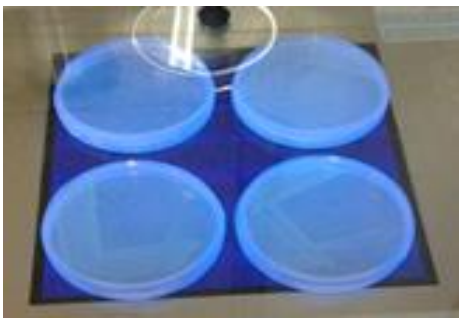
Mycorrhiza 26:769–779 (2016)  
Mycorrhiza 32: 193-202 (2022)  
Environ. Exp. Bot. 207,105228 (2023)





# Aislamiento de bacterias beneficiosas

suelo  
raíces  
peridio

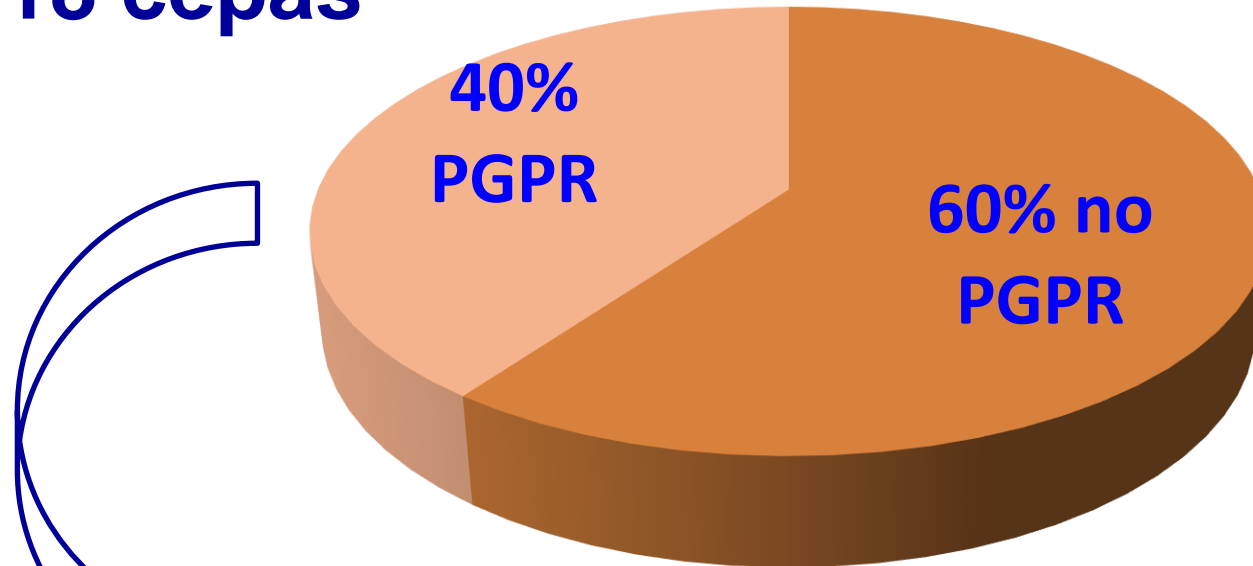


45 cepas



## Aislamiento de bacterias beneficiosas

**18 cepas**



**Solubilización de fósforo**  
**Producción de auxinas**  
**Producción de sideróforos**  
**ACC desaminasa**

# Las bacterias aumentaron las tasas de supervivencia y la micorrización, redujeron el tiempo de producción y aumentaron la calidad de la planta



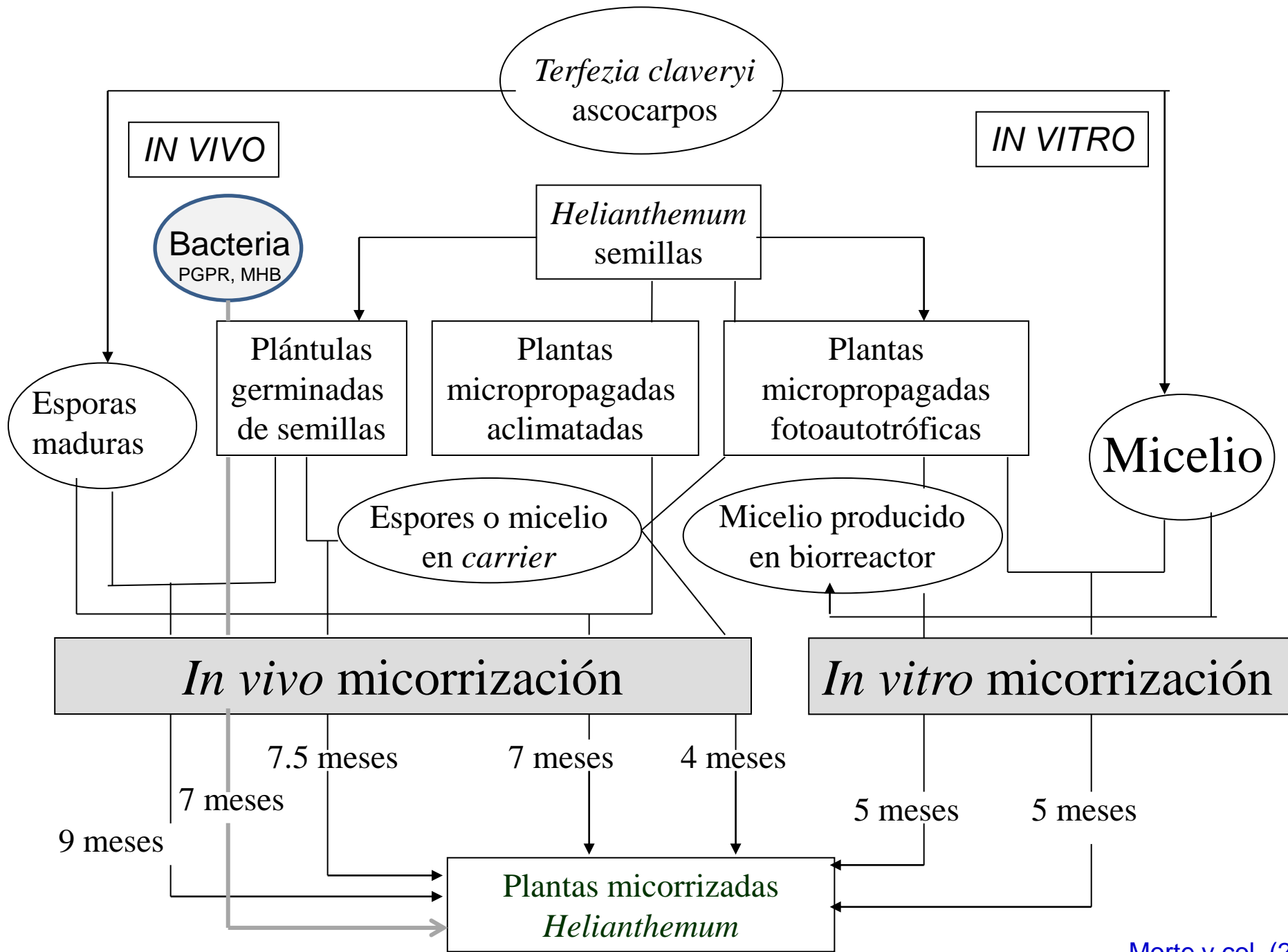
*Pseudomonas fluorescens*

*Pseudomonas mandelii*

	4 semanas		12 semanas	
		Supervivencia (%)	Raíz / tallo	Mic (%)
Control		44±3	1.50±0.10	33±9
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	5	62±4*	3.39±0.04**	60±9••
	15	18±2	2.37±0.07*	32±9
<i>Pseudomonas mandelii</i>	29	42±4	1.60±0.10	84±7•••
	43	52±4	4.16±0.03***	57±9••
	5+7	94±5***	2.53±0.05*	49±9•
	34+7	53±4	2.42±0.07*	60±0.9•
	15+40	98±5***	1.83±0.04	68±9•
	43+21	63±4**	2.10±0.10	24±8

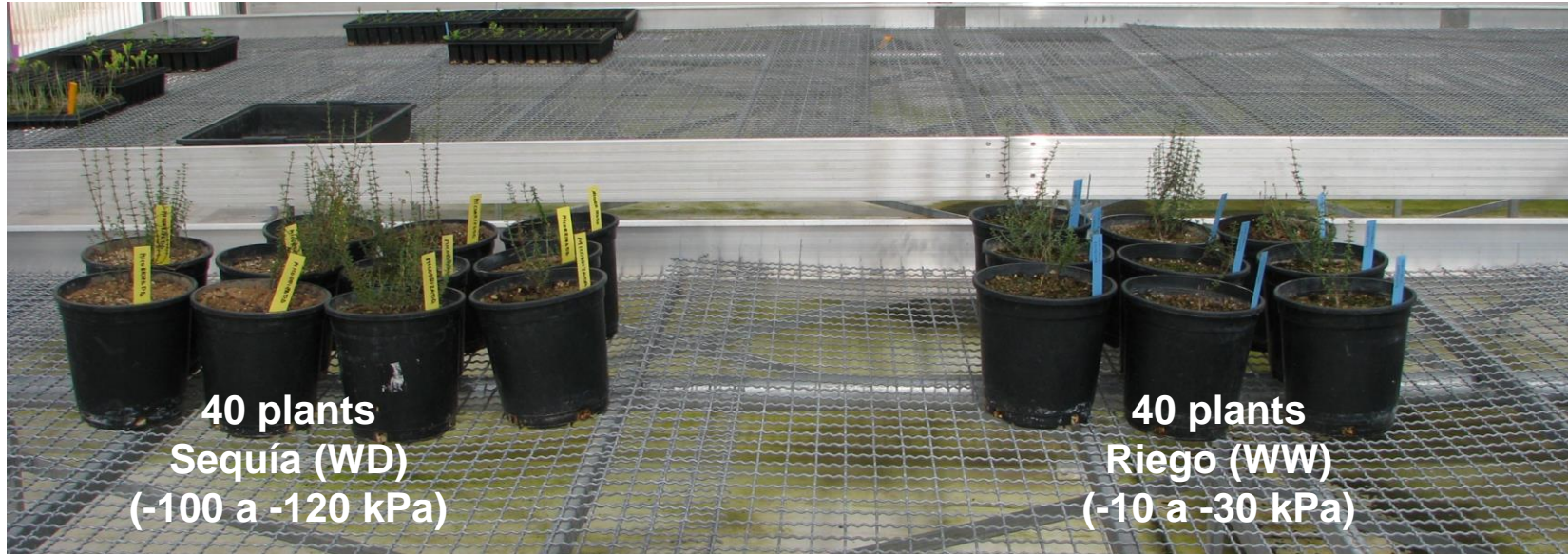
MHB

\*P≤0.05, \*\* P≤0.01,\*\*\* P≤0.001, level of significance with respect to the non-bacterial control according to Dunnett's test;  
 •P≤0.05, •• P≤0.01,••• P≤0.001, level of significance with respect to the non-bacterial control according to Chi-square test.



# ¿Qué efecto tiene MHB en las plantas micorrizadas en condiciones de sequía?

80 plantas micorrizadas *Helianthemum almeriense* con *Terfezia claveryi*



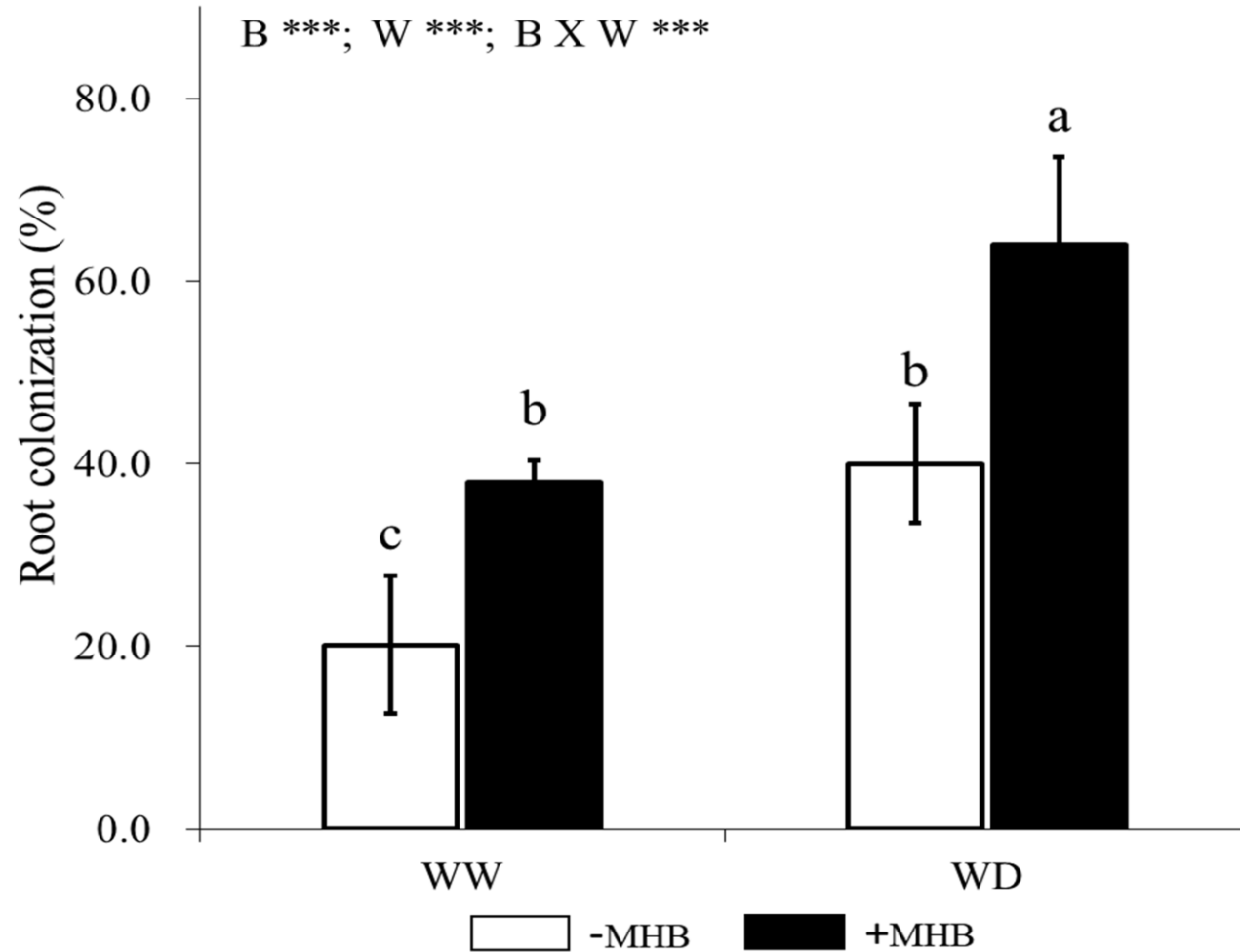
*Pseudomonas mandelii* #29  
mycorrhizal helper bacterium  
(MHB) y solubilizadora P

**WW+B:** regadas + inoculadas con *P. mandelii* #29

**WW-B:** regadas sin bacteria

**WD+B:** sequía + inoculadas con *P. mandelii* #29

**WD-B:** sequía sin bacteria



aumento de la micorrización

**Figure 1. Root colonization (%)** in *H. almeriense* plants inoculated (B) or not (-B) with the MHB *P. mandelii* #29 and submitted to two water regimes (well-watered or water-deficit). Bars represent the means  $\pm$  SE (n=6). Different letters on the bars indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) based on multiple comparisons (Tukey's HSD test) in ANOVA. P-values of the two-way ANOVA of water (W), bacteria (B) and their interactions (W  $\times$  N) are indicated. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ; ns, not significant.

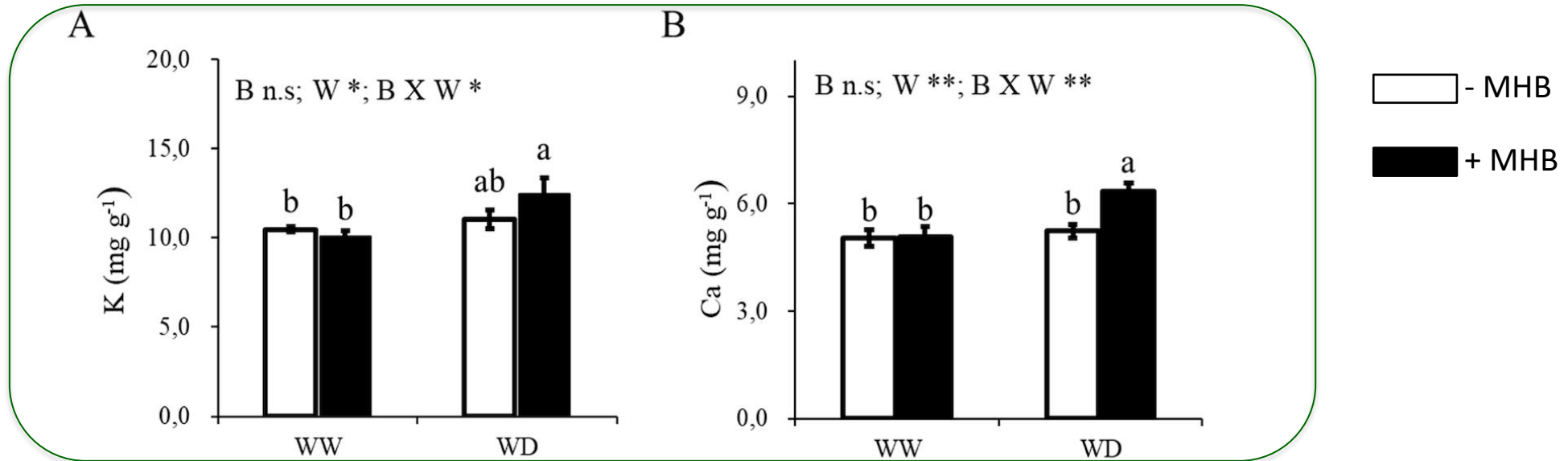
**Plant biomass and leaf morphology** in *H. almeriense* plants inoculated (B) or not (-B) with the MHB *P. mandelii* #29 and submitted to two water regimes (well-watered or water-deficit). Mean values are represented  $\pm$  standard error. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) based on multiple comparisons (Tukey's HSD test) in ANOVA. P-values of the two-way ANOVA of water (W), bacteria (B) and their interactions ( $W \times B$ ) are indicated. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ; ns, not significant.

	Total plant dry weight (g)	Root dry weight (g)	Shoot dry weight (g)	R/S ratio	LMA ( $\text{g m}^{-2}$ )	SPAD
WW+B	2.26 $\pm$ 0.28a	0.72 $\pm$ 0.01a	1.43 $\pm$ 0.14ab	0.63 $\pm$ 0.05b	129 $\pm$ 37a	19.3 $\pm$ 0.7a
WW-B	2.55 $\pm$ 0.15a	0.86 $\pm$ 0.12a	1.58 $\pm$ 0.26a	0.43 $\pm$ 0.07c	95 $\pm$ 19a	15.8 $\pm$ 3.1ab
WD+B	1.01 $\pm$ 0.14b	0.53 $\pm$ 0.15a	0.48 $\pm$ 0.07c	1.17 $\pm$ 0.16a	96 $\pm$ 10a	17.6 $\pm$ 0.6a
WD-B	1.49 $\pm$ 0.15b	0.68 $\pm$ 0.08a	0.94 $\pm$ 0.09bc	0.83 $\pm$ 0.08ab	120 $\pm$ 18a	11.3 $\pm$ 2.1b
Bacteria (B)	N.S	N.S	*	*	N.S	***
Water Regime (W)	***	N.S	***	***	N.S	N.S
B X W	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S

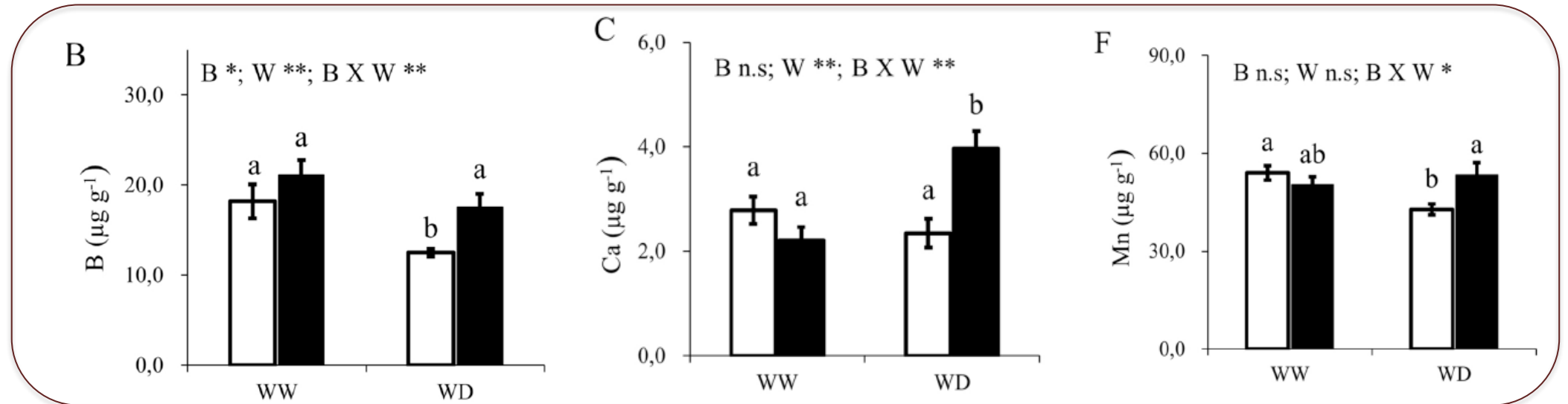


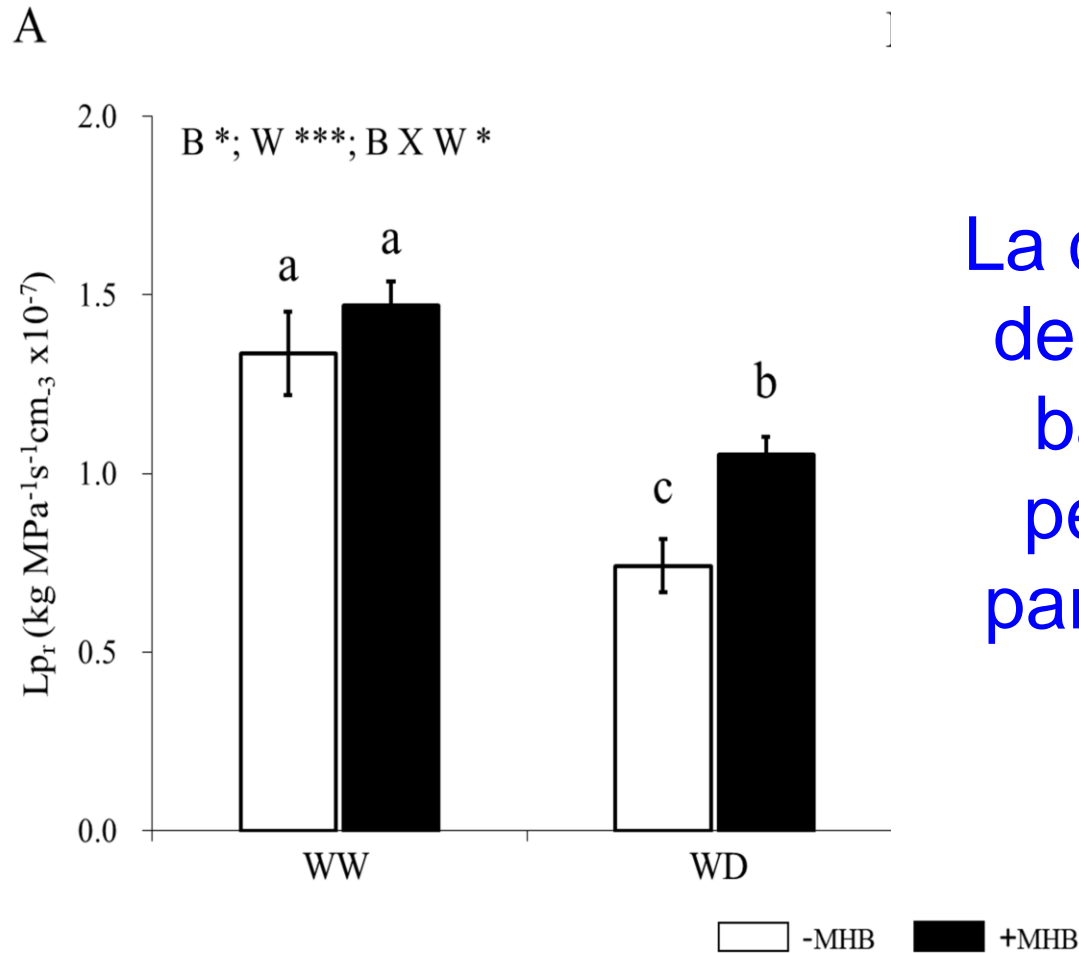
## Micronutrientes

Hojas



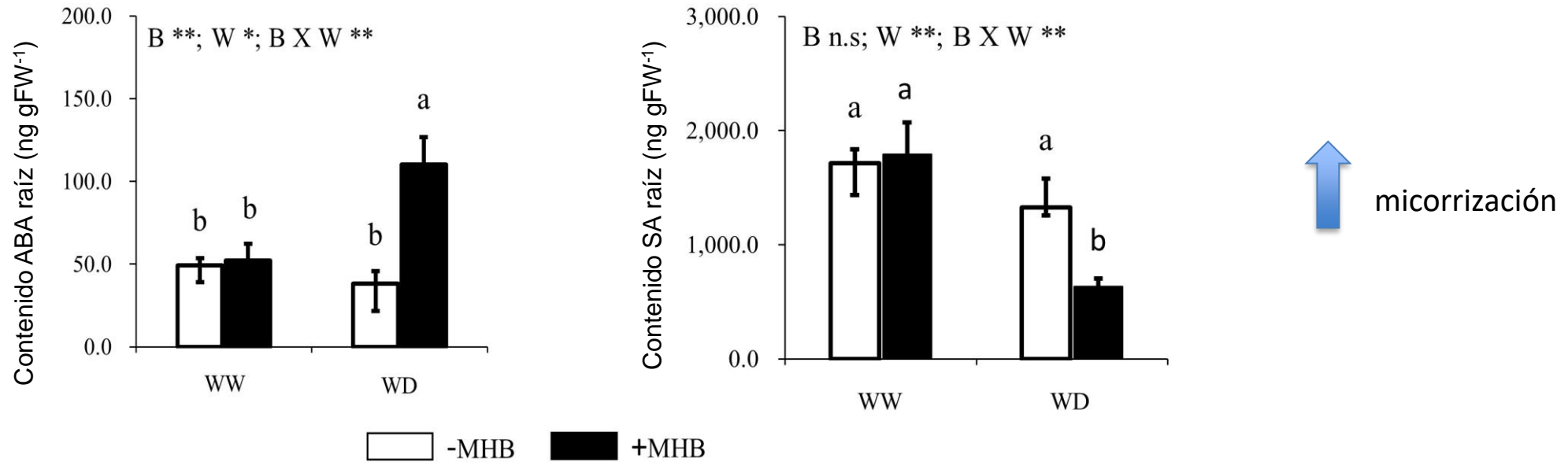
Raíces





La conductividad hidráulica de la raíz ( $L_{pr}$ ) disminuyó bajo estrés por sequía, pero esta reducción fue parcialmente mitigada por la bacteria MHB

Measures of **whole-root hydraulic conductivity ( $L_{pr}$ )** (A) in mycorrhizal plants *H. almeriense* inoculated (B) or not (-B) with the MHB *P. mandelii* #29 and submitted to two water regimes (well-watered or water-deficit). Bars represent the means  $\pm$  SE (n=10). Different letters on the bars indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) based on multiple comparisons (Tukey's HSD test) in ANOVA. P-values of the two-way ANOVA of water (W), bacteria (B) and their interactions (W  $\times$  N) are indicated. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ; ns, not significant.



**SA and ABA concentrations in root** in mycorrhizal plants *H. almeriense* inoculated (B) or not (-B) with the MHB *P. mandelii* #29 and submitted to two water regimes (well-watered or water-deficit). Bars represent the means  $\pm$  SE (n=6). Different letters on the bars indicate significant differences (P < 0.05) based on multiple comparisons (Tukey's HSD test) in ANOVA. P-values of the two-way ANOVA of water (W), bacteria (B) and their interactions (W  $\times$  N) are indicated. \*P < 0.05; \*\*P < 0.01; \*\*\*P < 0.001; ns, not significant.

- La aplicación de *P. mandelii* #29 podría tener beneficios para el cultivo de la trufa del desierto, no sólo en la producción de plantas micorrizadas en **invernadero** sino también en el **campo**, ya que durante las estaciones secas podría ayudar a la planta a mantener su vigor sin perder su capacidad de formar micorrizas, siendo incluso más importante ante un escenario de cambio climático en el que la sequía se hace más intensa.



UNIVERSIDAD  
DE MURCIA



Muchas gracias



Dr. Alfonso  
Navarro



Dr. Francisco  
Arenas

Dr. José Eduardo  
Marqués



Ángel L.  
Guranizo