

Experiencias en el cultivo de las criadillas o turmas (*Terfezia* sp)

Dra. Asun Morte

488 g





1. Introducción

Diversidad de “turmas o criadillas”
Distribución y ecología
Producción de planta micorrizada

2. Factores que influyen la producción de turmas

1. Riego. Efecto de la sequía sobre:
 - micelio de *Terfezia claveryi*
 - simbiosis micorrícica *Helianthemum almeriense* x *Terfezia claveryi*
 - La expresión de acuaporinas (canales de agua)
2. Marco de plantación
3. Características del suelo y fertilización
4. Eliminación de malas hierbas

Terfezia claveryi



Terfezia boudieri



Terfezia olbiensis



Picoa lefebvrei





PLANTAS HOSPEDANTES



Helianthemum almeriense



Helianthemum canariense



CISTACEAS

Helianthemum violaceum



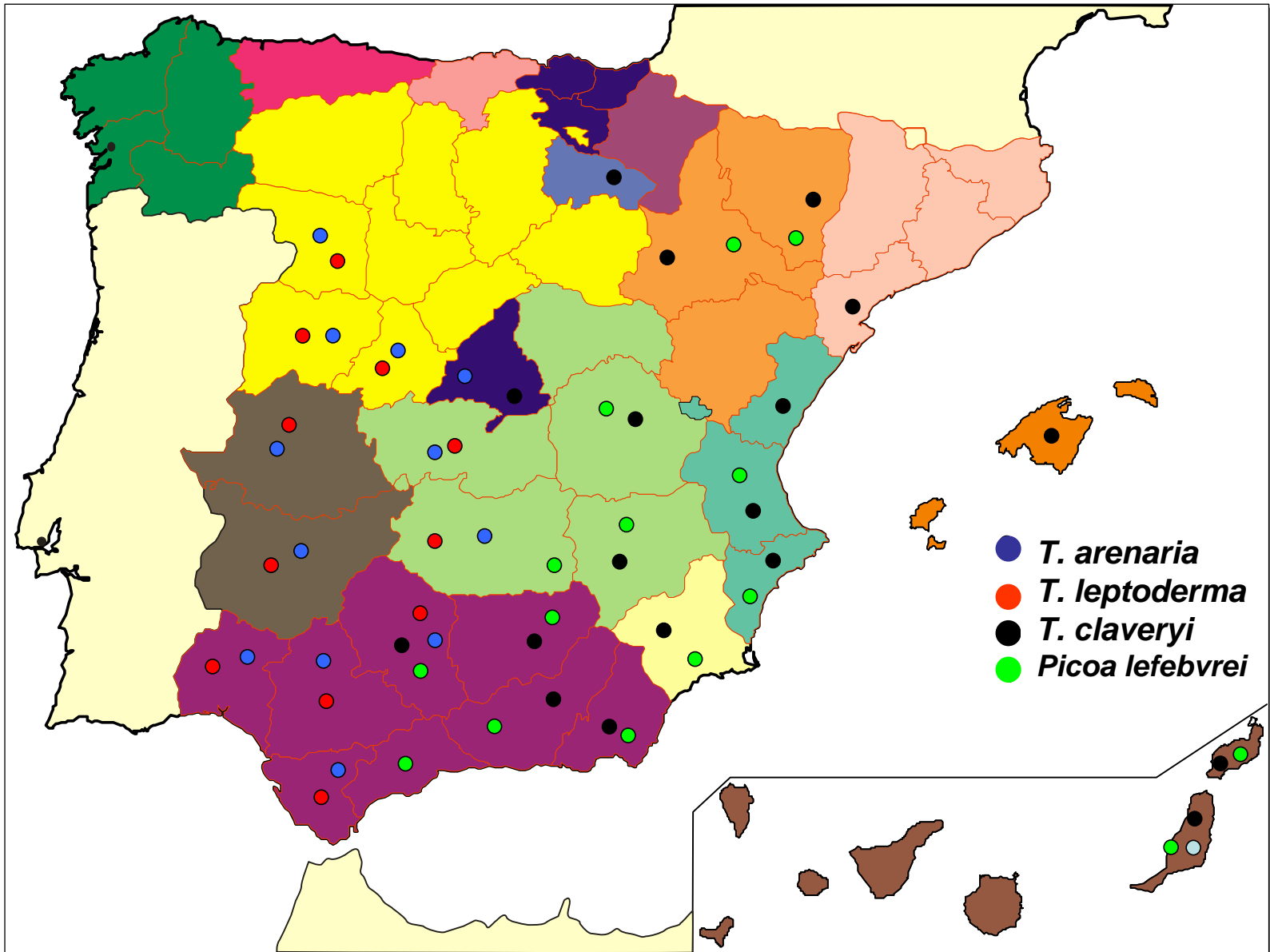
Helianthemum hirtum



Distribución mundial de las Trufas de Desierto



Distribución en España de las Trufas de Desierto





Ecología: matorrales abiertos

Helianthemum
Especies perennes



H. almeriense



T. claveryi



Ecología: praderas de xerófitos

Helianthemum especies perennes
y anuales

H. canariense



H. ledifolium



T. claveryi





Producción natural

Incontrolada
Errática
Dependiente de las lluvias
(350-400 mm, 50-170 kg/Ha)



Ascocarpos de *Terfezia claveryi*

Semillas *Helianthemum almeriense*



IN VIVO

IN VITRO

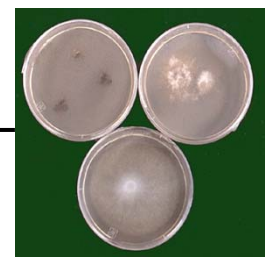
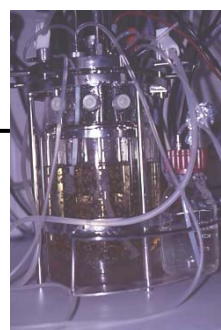
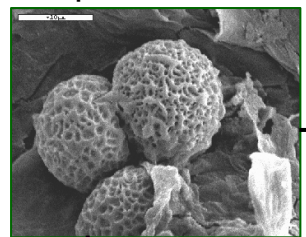
Esporas maduras

Germinación

Micelio en biorreactor

Micropropagación

Cultivo micelio



Inoculación in vivo

Inoculación in vitro



7 meses

7 meses

9 meses

(B)

(C)

(A)

(D)

5 meses



Plantas micorrizadas *H. almeriense*

Morte et al. (2009)

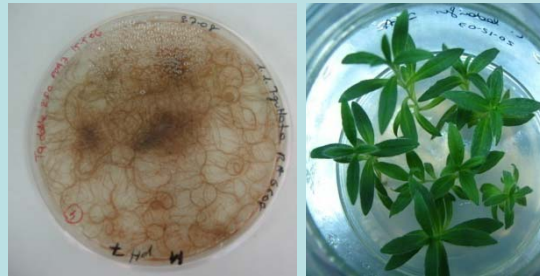
Plantas micorrizadas con hongos comestibles

Biotecnología

Cultivo hongos



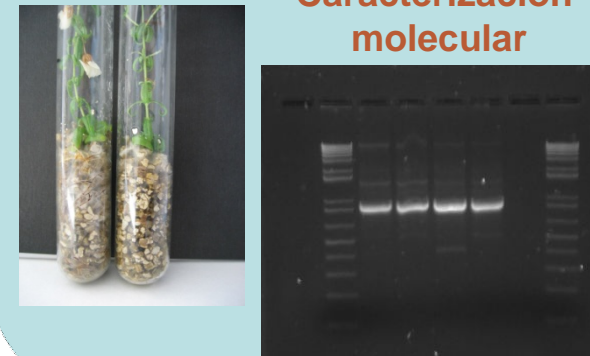
Cultivo planta



Síntesis micorrícica



Caracterización molecular





Morfotipos micorrícicos:



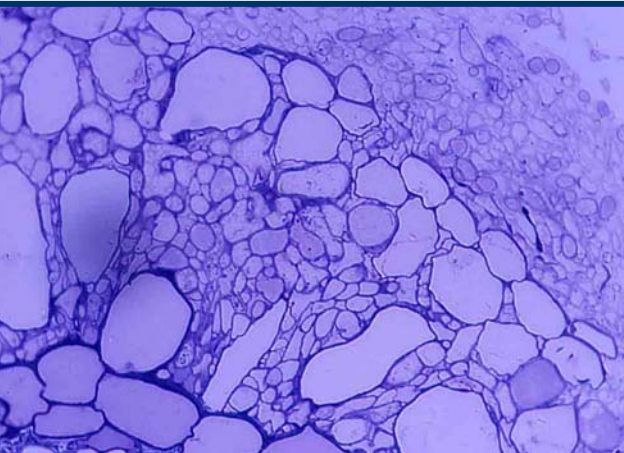
“maza”



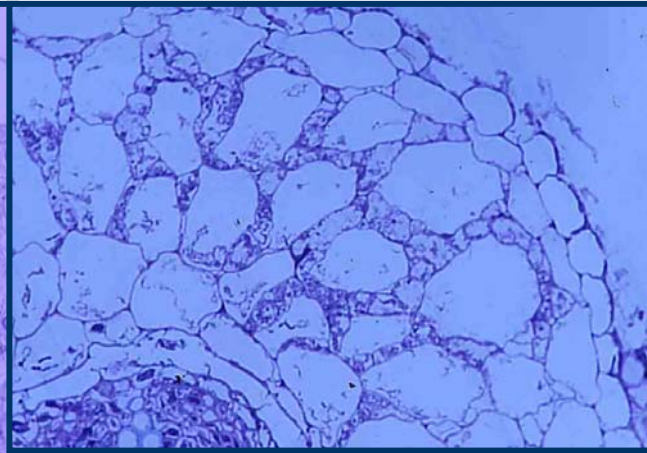
“moniliforme”

Las condiciones de cultivo pueden inducir cambios en la morfología micorrícica

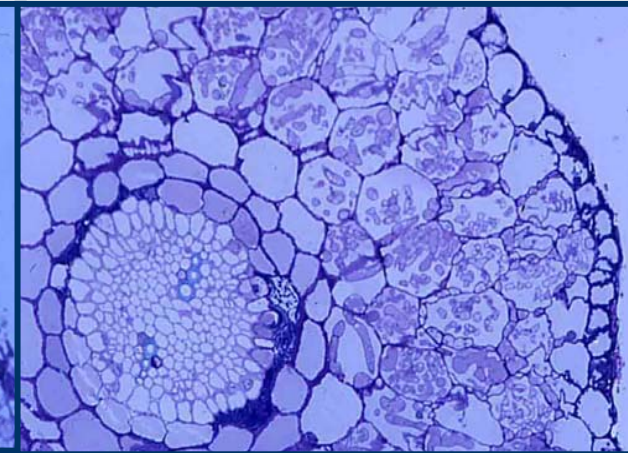
No hay una barrera clara entre los dos tipos principales de organización micorrícica



In vitro



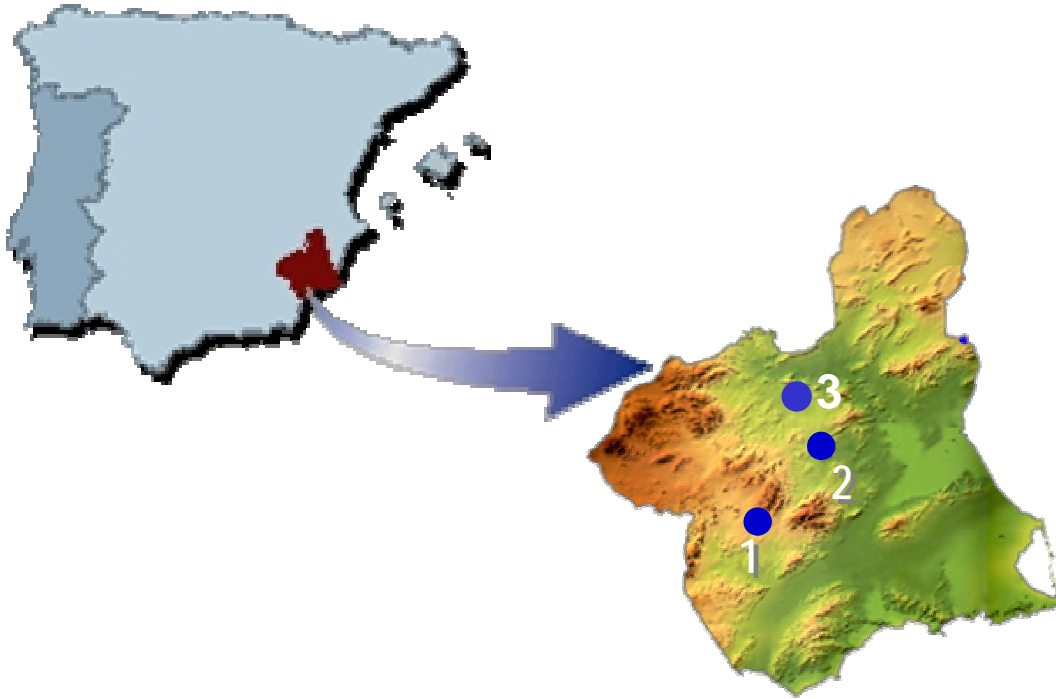
maceta



campo



Plantaciones en la Región de Murcia



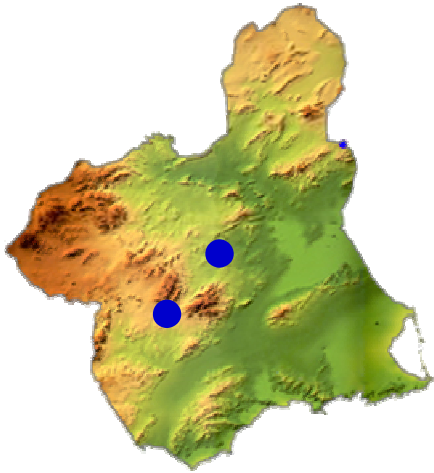
1. Zarzadilla de Totana (Lorca)
2. Mula
3. La Garrobera (Cehegín)



Terfezia claveryi



Helianthemum almeriense
H. violaceum, *H. hirtum*



Nº plantación	Lugar	Fecha de la plantación	Nº Plantas micorrizadas
1	Lorca	Mayo, 1999	60
2	Lorca	Julio, 2001	188
3	Lorca	Marzo, 2002	83
4	Lorca	Marzo, 2002	196
5	Mula	Marzo, 2002	80
6	Lorca	Enero, 2003	640
7	Cehegín (Murcia)	Mayo 2008 Octubre 09	2883

Plantación “La Garrobera”, Cehegín (Murcia)



Nº de línea	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10
Nº mangas de riego	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1
Nº de plantas	101	231	273	593	580	290	276	140	129	270
Distancia entre plantas (m)	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1
Especies plantadas	<i>H.a.; H.v.</i>	<i>H.a.; H.v.</i>	<i>H.a.; H.v.</i>	<i>H.a.; H.v.</i>	<i>H.a.; H.v.; H.c.</i>	<i>H.a.; H.v.</i>	<i>H.a.; H.v.</i>	<i>H.a.; H.v.</i>	<i>H.a.; H.v.</i>	<i>H.a.; H.v.</i>
Fecha de plantación	MAYO 2008 OCTUBRE 2009	OCTUBRE 2009	OCTUBRE 2009	ABRIL 2008	ABRIL 2008	OCTUBRE 2009	MAYO 2008 OCTUBRE 2009	MAYO 2008 OCTUBRE 2009	MAYO 2008 OCTUBRE 2009	MAYO 2008 OCTUBRE 2009
Observaciones	<i>Tirmania</i> sp. A pie de almendro	CONTROL A pie de almendro	<i>Terfezia claveryi</i>	<i>Terfezia claveryi</i> A pie de almendro	<i>Terfezia claveryi</i> Caballón	<i>Terfezia claveryi</i> A pie de almendro	<i>Terfezia claveryi</i>	<i>Terfezia claveryi</i> A pie de almendro	<i>Terfezia claveryi</i>	<i>Terfezia claveryi</i> A pie de almendro

Nº plantas: 2883

Plantación Abu Dhabi (EAU)



Nº plantas: 3000
Año: 2011





Nº plantas: 1000
Año: 2010



**Plantación 1
(1999)**



1 mes



6 meses



1 año



2 años

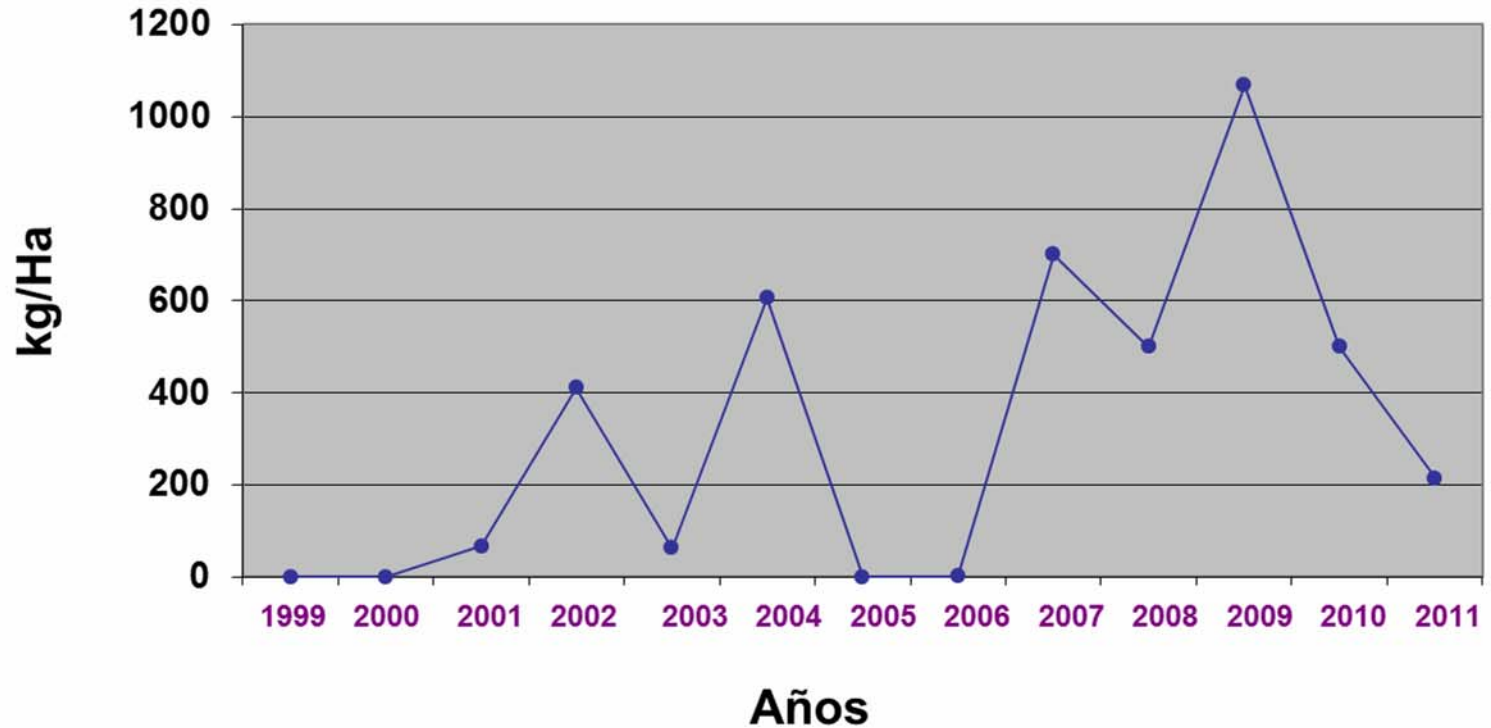


6 años



PRODUCCIÓN "TURMAS"

Plantación 1
(60 plantas, 0,5x0,5 m)



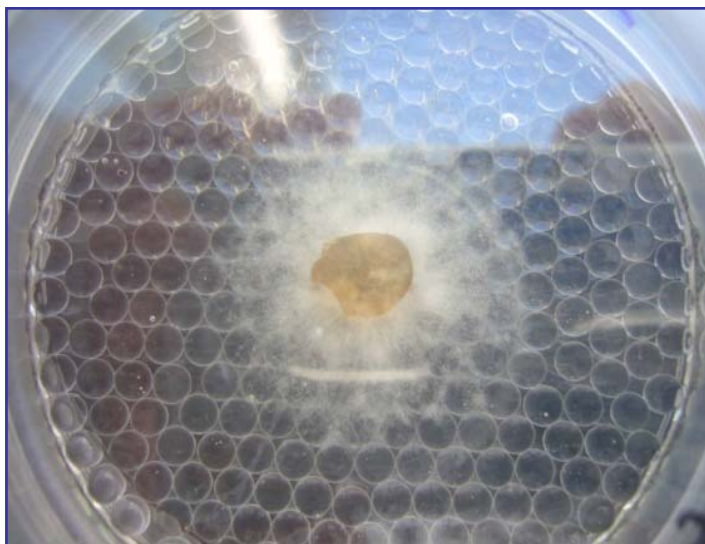


RIEGO:



Regar una/dos veces en veranos secos, a finales de agosto-principios septiembre, en torno a 60-150 l/m²

Efecto del déficit hídrico sobre el micelio



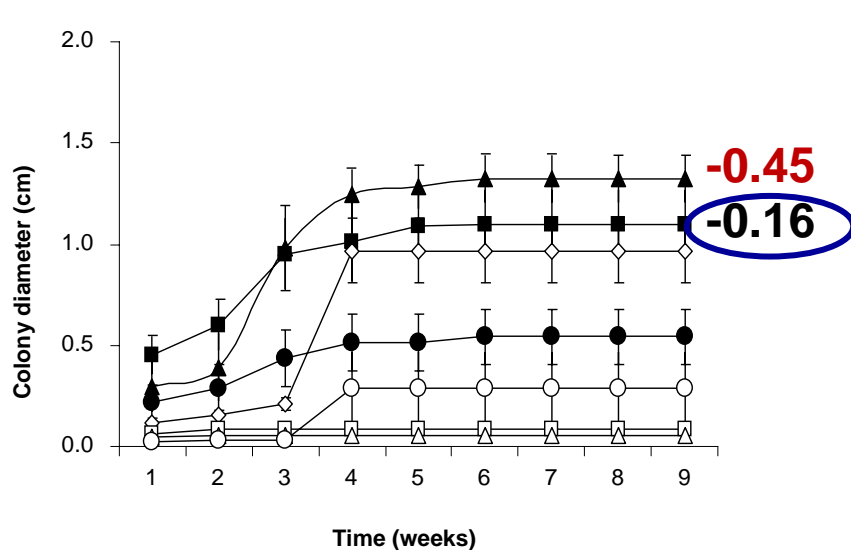
% PEG	Water potential (MPa)
0	- 0,16
10	- 0,45
15	- 0,72
20	- 1,07
25	- 1,52
27	- 1,68
30	- 1,96
35	- 2,52
40	- 3,14
50	- 4,72

control

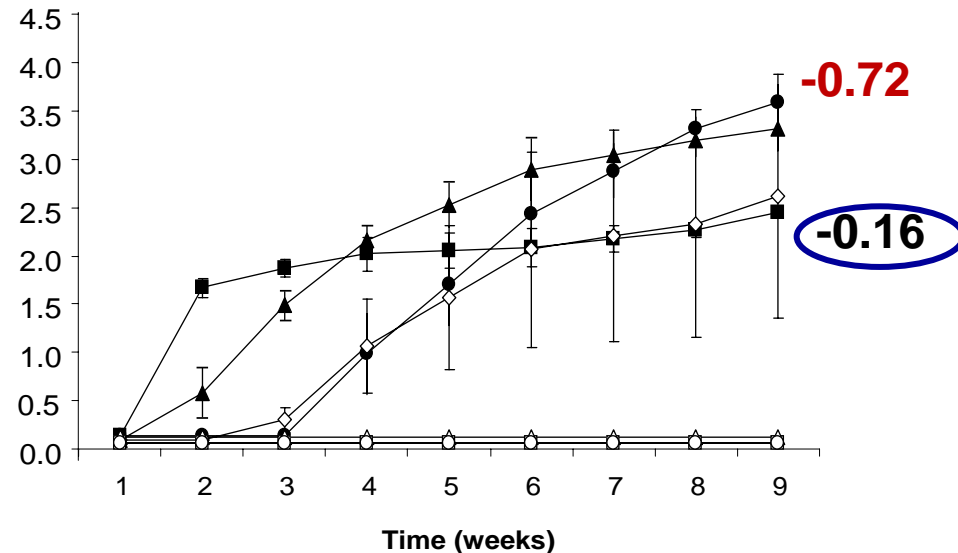
No creció



Ambas especies de hongos son tolerantes a un estrés hídrico moderado



T. claveryi strain TcS2



P. lefebvrei strain OL2



Ambos micelios crecieron más rápido en un déficit hídrico moderado

Water potential (MPa)	Growth rate ($\mu\text{m}/\text{day}$)	
	<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	86 \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

Table 2 Average growth rates ($\mu\text{m}/\text{day}$) of the *T. claveryi* and *P. lefebvrei* mycelia grown on PEG-amended liquid MMN media with different water potentials, at 23°C for 9 weeks. Values are the average of six replicates (\pm standard error).

Efecto del déficit hídrico sobre el micelio



La actividad fosfatasa alcalina es un indicador biológico del micelio, indicando su adaptación a las condiciones de estrés hídrico

Water potential (-MPa)	<i>Terfezia claveryi</i>		<i>Picoa lefebvrei</i>	
	ALP (U.E. / mg protein)		ALP (U.E. / mg protein)	
	Soluble	Cell wall – bound	Soluble	Cell wall – bound
0.16	0.036 ± 0.01 a	0.062 ± 0.02 a	0.095 ± 0.04 a	0.150 ± 0.03 a
0.45	0.059 ± 0.01 ab	0.093 ± 0.03 b	0.045 ± 0.01 b	0.221 ± 0.08 a
0.72	0.056 ± 0.01 ab	0.072 ± 0.01 a	0.088 ± 0.02 a	0.314 ± 0.13 b
1.07	0.061 ± 0.01 b	0.091 ± 0.00 ab	0.050 ± 0.01 b	0.267 ± 0.08 a

Values followed by the same letter are not significantly different ($P \leq 0.05$) according to Student's test

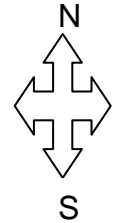
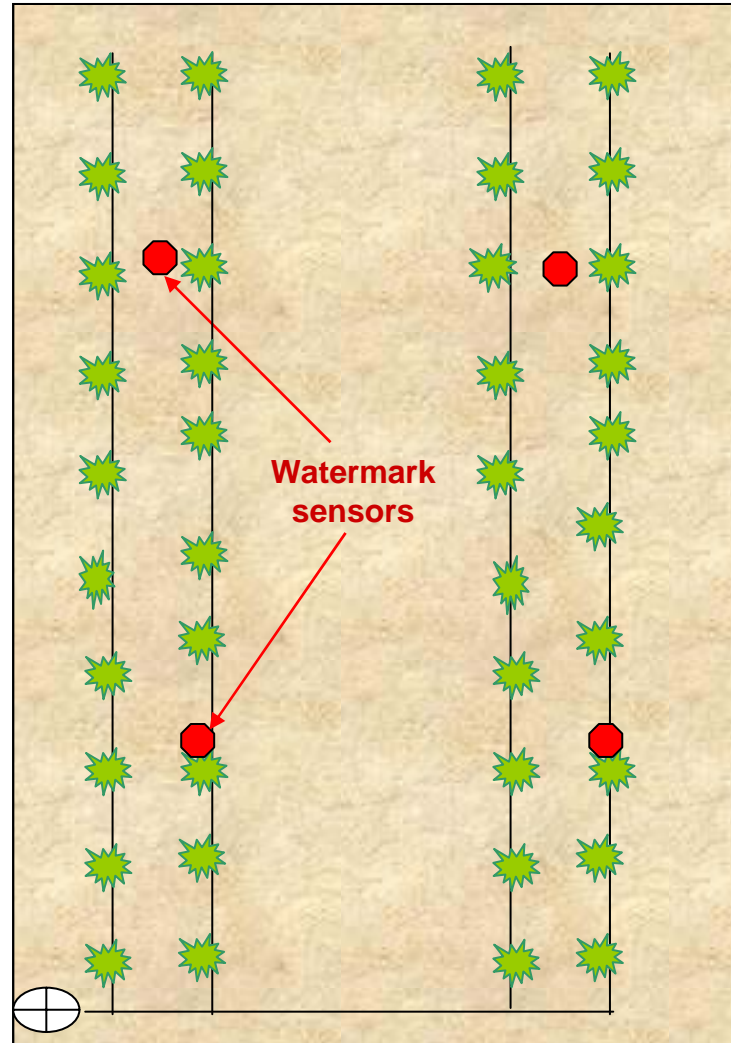


Mycorrhizal plants: 40

- Experimental plot in Campus Espinardo
- September 2008
- Plantation frame: 1 x 1 meters
- One-year-old mycorrhizal seedlings
- Localized irrigation: drippers
- Weather station

Well-watered plants (20)

Drought-stressed plants (20)



Efecto del déficit hídrico en *H.almeriense* x *T. claveryi*



Plantas en sequía
 Ψ : -120 KPa



Plantas regadas capac. campo
 Ψ : -35 KPa



Stress period: four months 7 March - 19 June 2009
Recovery: 20 June – 2 July 2009



Supervivencia, tras un año de plantación, y colonización micorrícica al final del experimento.

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

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



Water Treatment	Ψ 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 (May'09)	-37.5	Well-watered	10.0 ± 0.9	434.2 ± 28.4	23.1 ± 1.8
	-110	Drought-stressed	6.8 ± 0.3	172.1 ± 17.0	39.6 ± 2.8
Final stress (June'09)	-40	Well-watered	3.4 ± 0.3	152.3 ± 12.1	22.2 ± 1.9
	-137.5	Drought-stressed	2.9 ± 0.3	103.2 ± 11.6	28.5 ± 3.2
Recovery (July'09)	-9	Well-watered	2.7 ± 0.3	119.2 ± 9.3	22.9 ± 2.0
	-10	Drought-stressed	3.3 ± 0.3	128.3 ± 12.2	25.4 ± 2.4



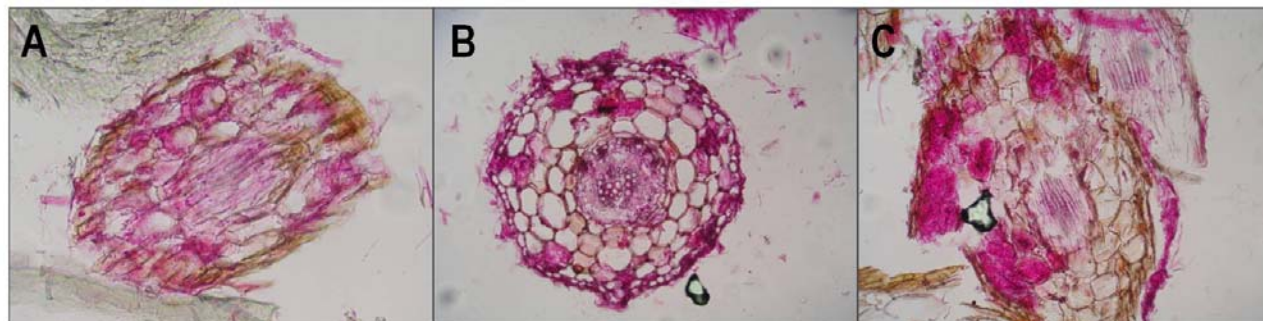
La eficiencia del uso del agua (WUE) aumentó en plantas micorrizadas en condiciones de sequía

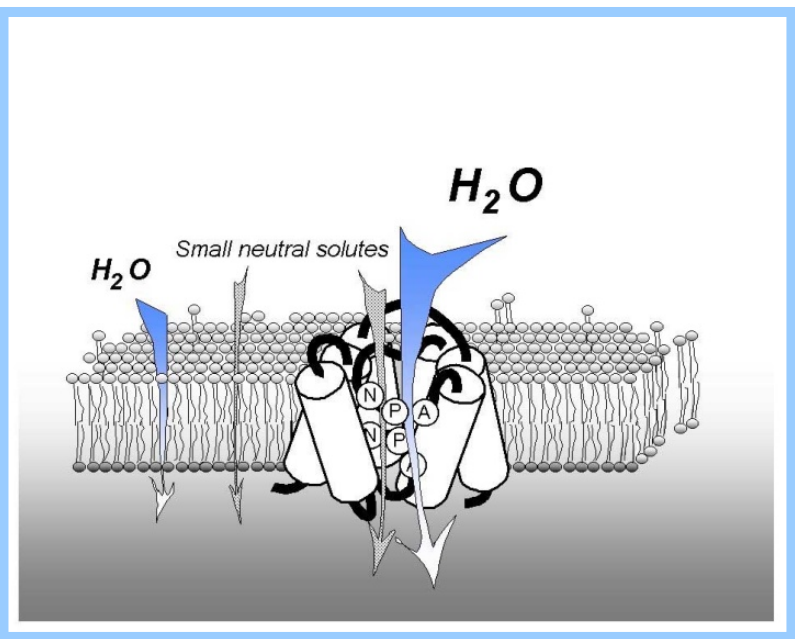


Table 2. Percentages of total colonization and different types of mycorrhizal colonization in *H. almeriense* plants grown under greenhouse conditions with two irrigation treatments.

Water-treatment	Colonisation (%)	ENDO (%)	ECTENDO (%)	ECTO (%)
Well-Watered	34.5±3.7 (a)	15.0±4.9 (a)	51.5±6.8 (a)	33.5±6.4 (a)
Drought stressed	54.3±5.5 (b)	53.5±7.5 (b)	34.7±7.2 (b)	11.8±4.8 (b)

Data were subjected to Chi-square analysis. Different letter means significant differences ($P < 0.001$) according to Bonferroni correction. Values are the percentage \pm confidence interval at 95%.





Aquaporinas

Proteínas de membrana que actúan como canales de H₂O, glicerol, urea, amonio, CO₂.

Regulan, en última instancia, las relaciones hídricas en la planta.

Aquaporinas de *Helianthemum almeriense*:

- HaPIP1.1** incrementa la conductividad hidráulica
- HaPIP1.2**
- HaPIP2.1** actúa como una cooporina al facilitar el paso de CO₂
- HaPIP2.2**
- HaTip1.1** incrementa la permeabilidad al agua y al NH₃.

Aquaporina de *Terfezia claveryi*:

TCAQP1: facilita el paso de agua y CO₂



Expresión de aquaporinas de *H. almeriense*:

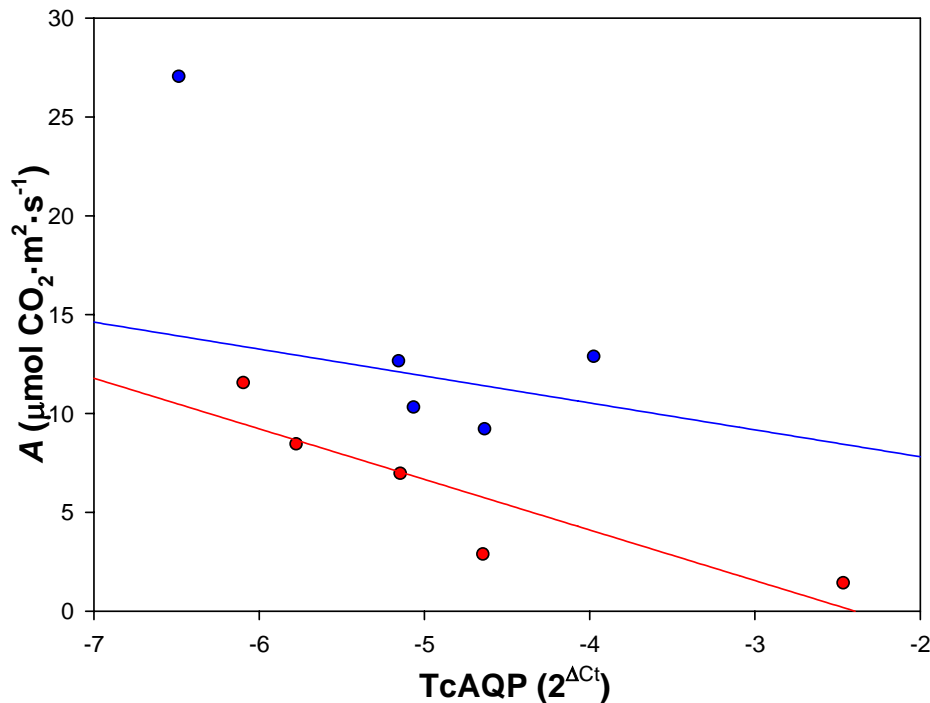
Periodo	Plantas	HaTIP	HaPIP1.1	HaPIP1.2	HaPIP2.1	HaPIP2.2
Inicio	Todas	0,040±0,026 a	0,0052±0,0023 a	0,069±0,013 a	0,0014±0,0006 a	0,0112±0,0016 a
Estrés	Regadas	0,025±0,024 a	0,0066±0,0050 a	0,130±0,029 a	0,00019±0,00007 a	0,00695±0,00092 a
	No regadas	0,022±0,022 a	0,0024±0,0017 a	0,385±0,072 b	0,00026±0,00011 a	0,0240±0,0015 a
Recupe- ración	Regadas	0,033±0,032 a	0,014±0,0075 a	0,154±0,048 a	0,0020±0,0016 a	0,021±0,004 a
	No regadas	0,020±0,033 a	0,011±0,0031 a	0,034±0,020 a	0,016±0,010 a	0,095±0,039 b





Expresión de acuaporinas de *T. claveryi* (*TcAQP1*):

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



Plantas micorrizadas con riego
(Coef. Pearson -0,8, P=0,56)

Plantas micorrizadas en sequía
(Coef. Pearson -0,9, P<0,05)

Efecto del déficit hídrico en *H.almeriense* x *T. claveryi*



Plantas en sequía
 Ψ : -120 KPa



mayo 2011

Plantas bien regadas
 Ψ : -35 KPa





Características del suelo:

**Textura
franco-arcillosa,
arenosa,
pH básico (8,5).**

Valores bajos de:

- Conductividad eléctrica
(123 $\mu\text{s}/\text{cm}$)
- C orgánico (0,9-3,9)





**Marco de
plantación:**

4 x 2 m

3 x 1,5 m

2 x 1 m

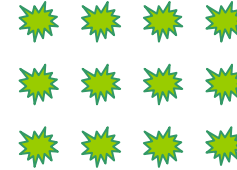
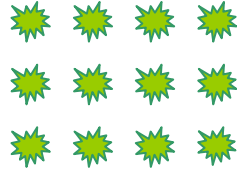
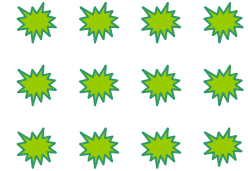
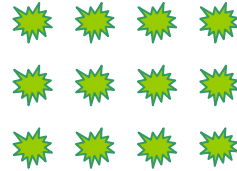
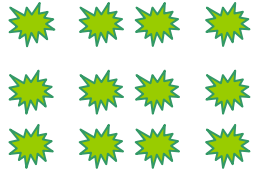
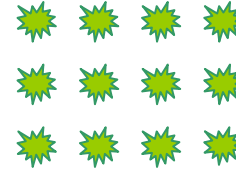
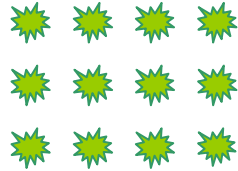
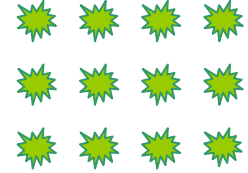
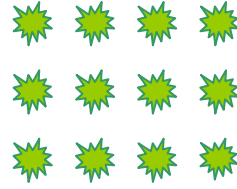
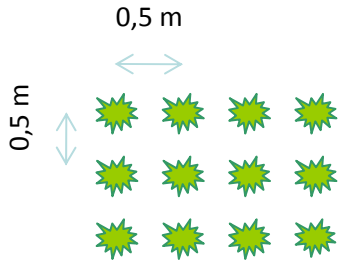
0,5 x 0,5 m



Marco de plantación en "rodales"



Marco de plantación en "rodales"



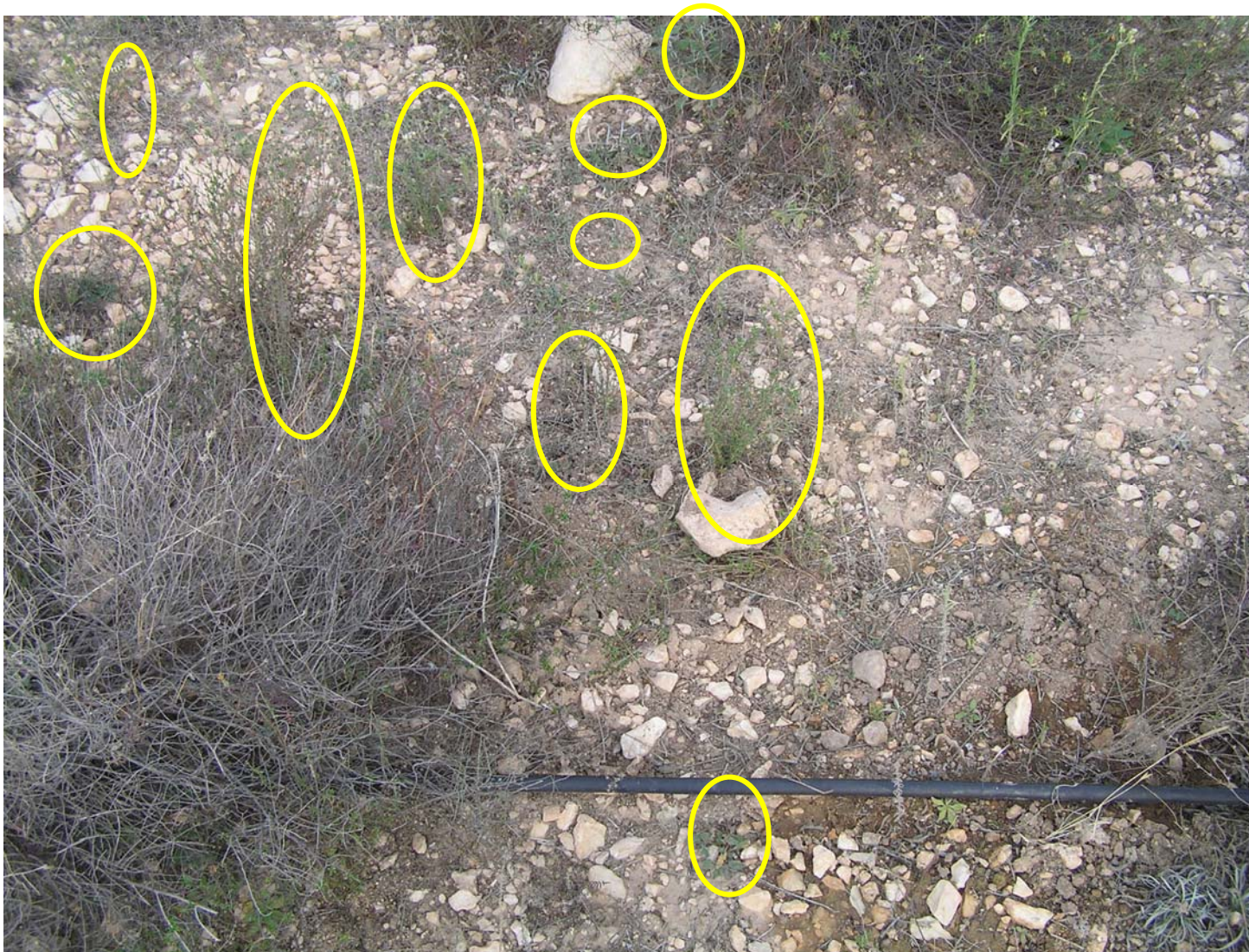


**La Garrobera
“caballón”**





Se desarrollan muchas nuevas plantas

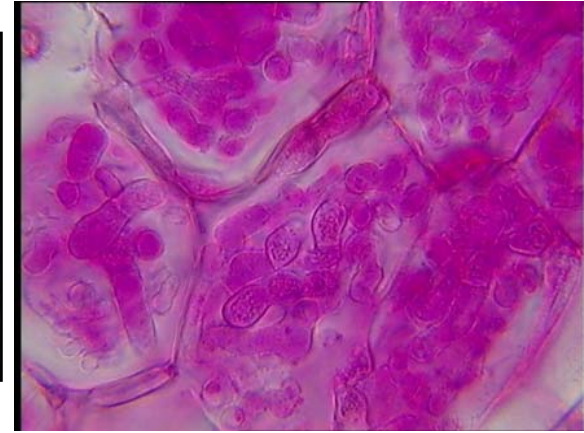


Las plantas
jóvenes están
verdes incluso
en verano

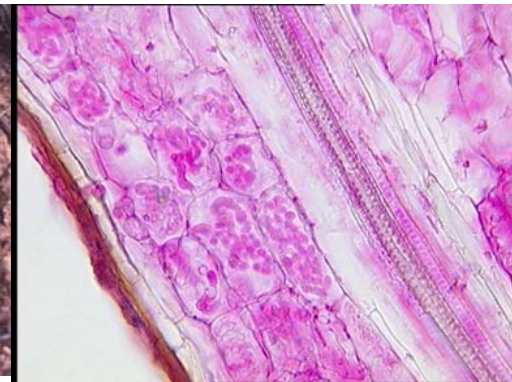
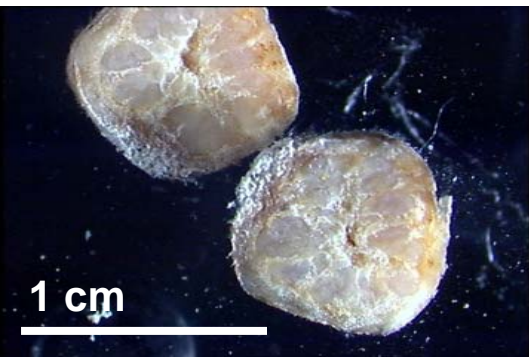
Plantación 4
4 años

Ciclo biológico de *Terfezia*

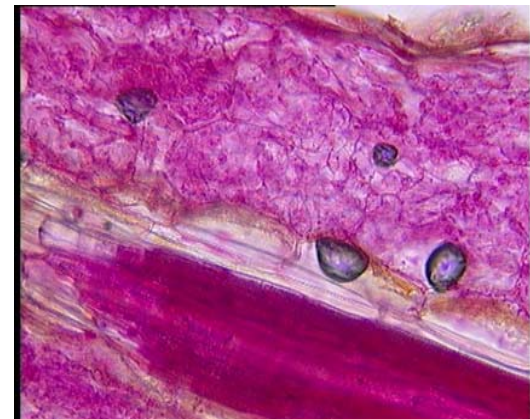
Cultivo de *Terfezia claveryi*



Oct-Dic



Ene-Mayo



Jun-Sep



Conclusiones:

Recomendaciones para producción elevada:



- Plantar en primavera:
se obtuvieron “turmas” a los **11 meses** desde la plantación
- Riego: mantener el Ψ suelo entre -75 a -120 KPa.
- Eliminar malas hierbas, no en época de fructificación.
- Marco de plantación pequeño.
- No fertilizar.
- Planta micorrizada de alta calidad.



Producción de T. claveryi en plantaciones en Murcia
 Datos obtenidos hasta Septiembre 2007.

Plantación	Número planta micorrizada	Fecha plantación	Manejo	Producción "turmas" (kg/ha) 1999-2004	Producción "turmas" (kg/ha) In 2005/06/07
1	60	Mayo 1999	SI	1147,6	0,6/1,6/700
2	188	Julio 2001	No	4,8	-/-/ 25,8
3	83	Marzo 2002	No	19,5	0,02/ -/ 17,1
4	196	Marzo 2002	SI	29,4	600/120/29*
5	80	Marzo 2002	No/ SI **	8,2	-/-/ 187,5
6	640	Enero 2003	No	-	-/-/ 3,6

•NO MALAS HIERBAS

**SI DESDE SEPTIEMBRE 2006

•2005 and 2006: años de sequía extrema



Sugerencias
producción
elevada

“cuidar la plantación”





UNIVERSIDAD DE
MURCIA



Muchas gracias

Contacto:

amorte@um.es