

Las Trufas del Desierto o Turmas

Asunción Morte¹, Almudena Gutiérrez^{1,2}, Alfonso Navarro Ródenas¹

1 Departamento de Biología Vegetal (Botánica), Universidad de Murcia

2 Servicio de Experimentación Agroforestal, Universidad de Murcia

amorte@um.es, almudena@um.es, anr69743@um.es

INTRODUCCIÓN

Las trufas del desierto, turmas o criadillas de tierra, incluyen un grupo de hongos hipogeos, aunque a veces emergentes, que pertenecen a distintos géneros dentro del Orden *Pezizales* en la División *Ascomycota*. Los géneros más importantes son *Terfezia*, *Picoa* y *Tirmania*.

Estos hongos son frecuentes en suelos ácidos y alcalinos de la cuenca Mediterránea y su periodo de fructificación oscila de febrero a mayo, dependiendo de la cantidad y distribución de las precipitaciones acaecidas durante el año. Las trufas de desierto tienen un gran interés desde el punto de vista ecológico, por el grupo de plantas hospedantes con el que mantienen mutualismo simbiótico, y económico debido a su gran valor nutricional y gastronómico.

En la Región de Murcia, así como en otras comunidades, se tenían algunos datos sobre su conocimiento y aprovechamiento a nivel popular (Honrubia et al. 2007), pero fue el Dr. Mario Honrubia García, en adelante Mario, el que vio un gran interés en estos hongos, que se desarrollan de forma natural en el sureste peninsular, e inició en la Universidad de Murcia (UMU) un estudio más profundo, que nos ha llevado a ser, hoy en día, un grupo pionero en su cultivo a nivel internacional. A continuación exponemos los avances más importantes realizados por aquellas personas que, dirigidas o motivadas por Mario, han contribuido a conocer más la biología y diversidad de estos hongos.

GRUPO DE TRABAJO Y PRINCIPALES APORTACIONES SOBRE LAS TRUFAS DE DESIERTO

Las aportaciones del Grupo de Investigación Micología-Micorrizas, dirigido por Mario, a ese desconocido y subterráneo mundo de las trufas de desierto, comenzaron con la colaboración de Antonio Cano con una profunda revisión bibliográfica, caracterización de las especies fúngicas de nuestra zona (Honrubia et al. 1992), el estudio del cultivo de su micelio en condiciones de laboratorio y las primeras simbiosis entre *Helianthemum almeriense* y las especies *Terfezia claveryi* y *Picoa juniperi* (Cano et al. 1991). Paralelamente, la Dra. Asun Morte llevó a cabo el proceso de

domesticación de las especies vegetales a través de técnicas de cultivo *in vitro* (Morte y Honrubia 1992), lo que permitió llevar a cabo la simbiosis *in vitro* (Morte et al. 1994), para poder profundizar sobre la estructura y fisiología de las micorrizas (Morte 1994). Estos resultados llevaron a la elaboración de una patente de invención sobre el método y medio de cultivo para la síntesis micorrízica entre *H. almeriense* y *T. claveryi* (Morte y Honrubia 1994), lo que sirvió de base para, posteriormente, extenderla a otras especies con la colaboración de Alberto Andrino y realizar otra patente, actualmente en explotación (Andrino et al. 2012).

La Dra. Almudena Gutiérrez continuó el trabajo en esta línea y comenzaron los primeros análisis moleculares de las especies fúngicas y de las micorrizas (Gutiérrez 2001). Se consiguió caracterizar los morfotipos que forma la raíz micorrizada y que el tipo de micorriza que forman estos hongos varía dependiendo de las condiciones de cultivo, pasando de ser una ectomicorriza con manto en condiciones *in vitro* a una colonización principalmente intracelular en condiciones de campo (Fig. 1), algo bastante excepcional y que caracterizamos como *ectendomicorriza* (Gutiérrez et al. 2003).

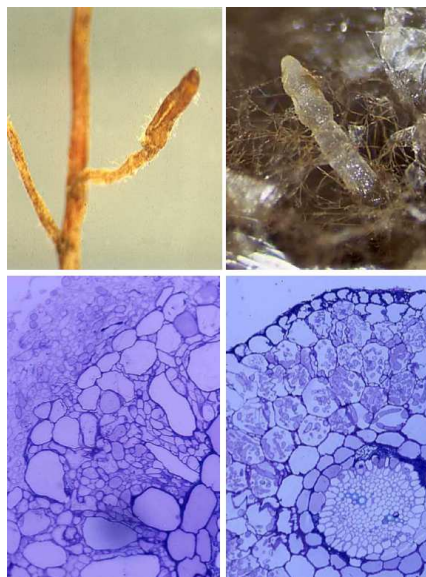


Figura 1. Morfotipos de la micorriza formada por *Helianthemum almeriense* con *Terfezia claveryi* (arriba) y colonización intercelular e intracelular en secciones de raíz (abajo) (Gutiérrez et al. 2003).

Si algo le gustaba a Mario era salir al campo y allí "perdía su tiempo" con los recolectores de los pueblos que le transmitían su sabiduría y experiencia, sin la cual los primeros estudios habrían sido más difíciles. Destacamos la inestimable colaboración de Francisco González, "el zorro", Alfonso y Julia de Zarzadilla de Totana (Lorca, Murcia). Ellos nos enseñaron a buscar turmas, ¡cuánto disfrutamos de esas excursiones!, y compartieron con nosotros su "sabiduría" sobre la importancia de las lluvias en determinados meses del año para tener una buena cosecha, ¡gracias amigos!

Mario, de carácter afable y trabajador incansable, consiguió la colaboración de recolectores y propietarios, lo que nos permitió llevar a cabo numerosos estudios de campo, y realizar la primera plantación de *Helianthemum almeriense* micorrizada con *Terfezia claveryi* en el año 1999, dentro de los estudios de tesis doctoral de la Dra. Gutiérrez (Gutiérrez, 2001). Se plantaron 60 plantas micorrizadas en Zarzadilla de Totana, propiedad de Francisco González, que dio sus primeras turmas poco antes de cumplir los 2 años (Honrubia et al. 2001). Esta plantación, la primera del mundo, sigue dando turmas (una media de 250-400 kg/Ha) y seguimos haciendo estudios y aprendiendo sobre la biología de estos hongos.



Figura 2. Primera plantación de *Helianthemum almeriense* con *Terfezia claveryi*. Detalle de la fructificación obtenida en dicha plantación.

Otra característica de Mario fue tratar siempre de hacer estudios interdisciplinares y así buscó la colaboración con otros Grupos de Investigación de la UMU, como la Dra. M^a Antonia Murcia y su equipo de trabajo, que permitió aportar información sobre la composición nutricional y las propiedades antioxidantes de estos hongos, lo que nos llevó a valorar, aún más, estas especies. Mostraron un alto contenido en proteínas y una actividad antioxidante mayor, incluso, que algunos antioxidantes comerciales como son E-320, E-321 y E-310 (Murcia et al. 2002, 2003). También la colaboración con el Dr. Francisco García Carmona y Dra. Manuela Pérez Gilabert, nos permitió caracterizar y localizar numerosas enzimas (tirosinasa, lipoxigenasa, esterasa y fosfatasa) en los ascocarpos de *T. claveryi*, que están siendo la base para

nuevos estudios de crecimiento micelial y fructificación de estos hongos (Pérez-Gilabert et al. 2001a,b, 2014).

Pero los estudios no se limitaron sólo a la región de Murcia, se fue ampliando la zona de estudio, incluyendo especies vegetales anuales, en la provincia de Granada (Huéscar y Guadix) y Almería (Sierra de María), donde se realizaron diversas plantaciones gracias al trabajo de Cristina Dieste (Dieste 2008). Se han ido ensayando diferentes especies vegetales, tanto *in vivo* como *in vitro* para valorarlas como especies hospedantes. En este sentido, la micropropagación de *Helianthemum violaceum* y su posterior micorrización *in vitro* fue objeto de la tesina de licenciatura de Mar Zamora (Zamora 2008) y posteriormente estudiamos que *Helianthemum hirtum* también era una buena candidata como planta hospedante (Torrente et al. 2009). Conseguimos así obtener diversas vías de producir planta micorrizada de alta calidad, no solo utilizando semillas y esporas maduras sino también plantas micropropagadas y micelio producido en biorreactor (Fig. 3), lo que nos permitió hacer numerosas plantaciones con éxito (Morte et al. 2008, 2009, 2012). Para mantener productivo el cultivo de las turmas es necesario eliminar las malas hierbas durante los 2-3 primeros años de la plantación, empresa nada fácil cuando hay que evitar el uso de herbicidas. Para ello, fue importante la labor realizada por José Antonio Sánchez Saorín, técnico de la Sección de Experimentación Agroforestal de la UMU, que ideó todo tipo de estrategias para ello y al que Mario siempre consideró uno más del Grupo de Investigación.

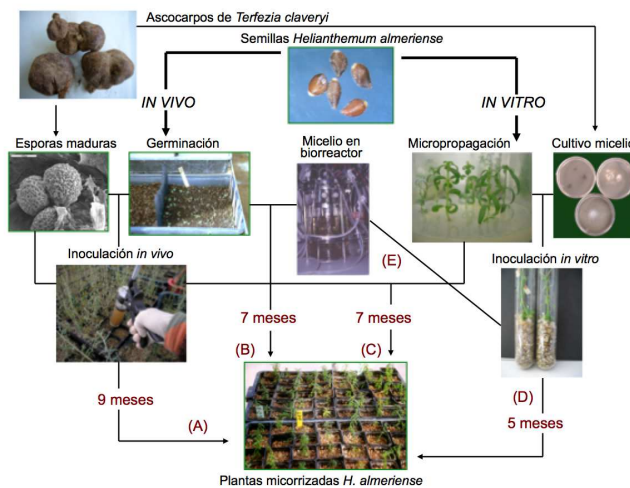


Figura 3. Esquema de producción de plantas micorrizadas de *Helianthemum almeriense* con *Terfezia claveryi* (Morte et al. 2009).

Mario siempre tuvo mucha visión de futuro y se adelantaba en proponer proyectos innovadores y arriesgados. Gracias a ello, fuimos de los primeros grupos de investigación de la UMU en comprar un biorreactor de 5 litros para cultivar micelio, que fue el origen de la actual Planta piloto diseñada

por Mario para producción de microorganismos, gracias a lo cual se ha conseguido el cultivo del micelio de *Terfezia olbiensis* (Morte et al. 2004), *T. claveryi* (Arenas Jiménez 2014) y *Picoa lefebvrei* (Santiago Marín 2015), de lento y difícil crecimiento en otras condiciones.

Tratándose de trufas de desierto, uno de los aspectos ineludibles de estudiar fueron los mecanismos que regulan la tolerancia al estrés hídrico de la simbiosis que forman estos hongos. Para ello, la Dra. Morte realizó una estancia posdoctoral en la Universidad de Turín, bajo la dirección del Dr. Andrea Schubert, lo que permitió observar que las plantas de *H. almeriense* micorrizadas con *T. claveryi* presentaban mayor supervivencia en condiciones de sequía, así como mayores tasas de transpiración, conductancia estomática y fotosíntesis que las plantas no micorrizadas en condiciones tanto de sequía como de riego. En las condiciones de estrés hídrico, las plantas micorrizadas acumularon mayor N, P y K que las no micorrizadas demostrando que el hongo es capaz de absorber más nutrientes del suelo en condiciones de sequía, ayudando a la planta a mantener mejores niveles hídricos y fisiológicos (Morte et al. 2000). Otro estudio similar, pero realizado en plantaciones de trufa de desierto en campo, demostró que la sequía hace que la colonización de la raíz por el hongo sea más intracelular que en condiciones de mayor riego, donde se hace más intercelular (Morte et al. 2010). Esto nos llevó a definir un *continuum* ectendomicorrícico en la simbiosis que forman las trufas de desierto con cistáceas del género *Helianthemum*, donde una misma raíz puede presentar solo colonización intracelular, solo colonización intercelular o ambas a la vez y que es la presencia de fósforo orgánico en el medio (Navarro-Ródenas et al. 2012) y la sequía (Navarro-Ródenas et al. 2013) lo que aumenta la colonización intracelular del hongo en la raíz, haciendo esta simbiosis planta-hongo más estrecha. Estos estudios formaron parte de la tesis doctoral del Dr. Alfonso Navarro Ródenas, que motivado por Mario en la asignatura de Micología y Biotecnología Forestal, de 4º curso de Biología, fue alumno interno en el Grupo de investigación donde posteriormente realizó su tesis doctoral. En ella, se consiguió caracterizar la enzima fosfatasa alcalina de *T. claveryi* como un marcador biológico de su actividad tanto a nivel del ascocarpo (Navarro-Ródenas et al. 2009) como en micelio (Navarro-Ródenas et al. 2011).

El micelio de las trufas de desierto crece muy lento *in vitro* y, a menudo excreta fenoles al medio que inhiben su propio crecimiento. Para estimular el crecimiento de *T. claveryi* y poder usarlo como inóculo micorrícico, aplicamos ciclodextrinas (CD) al medio de cultivo y estudiamos su efecto. Este trabajo formó parte del Trabajo Fin de Máster de Cecilia Lozano Carrillo (2010). Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos que forman complejos de inclusión en agua con gran variedad de moléculas (como fenoles y

compuestos volátiles). Fue la β -CD la que mejor resultado dio, evitando el ennegrecimiento del medio de cultivo y estimulando el crecimiento miceliar (López-Nicolás et al. 2013).

Los micelios de las trufas de desierto *T. claveryi* y *P. lefebvrei*, son capaces de soportar un estrés hídrico moderado, alcanzando su máximo crecimiento a unos potenciales hídricos de -0,45 y -0,72 kPa, respectivamente, creciendo peor con mayor disponibilidad hídrica (-0,16 kPa) (Navarro-Ródenas et al. 2011). En la base de esa tolerancia al estrés se encuentra una mayor expresión de los genes de acuaporinas (proteínas de membrana que actúan como canales de agua y otras sustancias, facilitando su transporte a las células) tanto del hongo, como la TcAQP1, como algunas acuaporinas de la planta hospedante, siempre que estén micorrizadas, observándose una mayor expresión de la acuaporina del hongo conforme disminuye la fotosíntesis y la conductancia estomática de la planta en situaciones de estrés hídrico (Navarro-Ródenas et al. 2012, 2013). Por lo que podríamos concluir que la combinación de una colonización intracelular junto con una expresión de la acuaporina fúngica TcAQP1, producen una adaptación morfo-fisiológica de esta simbiosis micorrícica a las condiciones áridas and semiáridas.

Más recientemente, hemos aislado bacterias beneficiosas del suelo de plantaciones de *T. claveryi*, que son capaces de aumentar la supervivencia y la micorrización de las plantas y que probablemente jugarán un papel importante en el ciclo biológico de estos hongos (Navarro-Ródenas et al. 2016).

Aunque Mario no se implicó directamente en estos últimos estudios siempre nos estimuló, aconsejó y siguió muy de cerca y con gran interés todos los experimentos. Mario siempre fue una persona bastante práctica y sentía la necesidad, casi imperiosa, de aplicar y llevar a la sociedad todo lo que íbamos conociendo, poco a poco, sobre estos hongos. Todavía recordamos cuando le propusimos estudiar los genes de acuaporinas en *T. claveryi* y nos preguntó ¿eso lo podremos aplicar en el campo?, ¿nos permitirá controlar mejor el riego?. Todo el conocimiento adquirido nos impulsó a crear, en 2007, la empresa *spin-off* de la Universidad de Murcia, Thader Biotechnology SL, que actualmente vende plantas micorrizadas para su cultivo en varios países. Para ello fue decisiva la visión del empresario Juan Torres, que supo ver el potencial de los hongos en la sociedad y no dudó en invertir y entusiasmarse con la iniciativa. Mario dedicó, en los últimos años de su vida, un gran esfuerzo a que esta empresa saliese adelante, motivándonos a todos con su presencia y dedicación incansable.

Por otro lado, la incorporación al Grupo de investigación de Juan Julián Bordallo y Antonio Rodríguez supuso la vuelta

de Mario a la taxonomía de hongos hipogeos en sus últimos años, con la descripción de ocho especies de *Terfezia* nuevas para la Ciencia: *T. canariensis*, *T. pini*, *T. pseudoleptoderma*, *T. albida*, *T. eliocrocae* (Fig. 4), *T. extremadurensis*, *T. cistofila* y *T. grisea* (Bordallo et al. 2012, 2013, 2015). Las relaciones filogenéticas basadas en la región ITS del ADNr, sus caracteres morfológicos, la asociación con determinadas plantas hospedantes y el pH del suelo son las claves que han permitido definir a estas nuevas especies.



Figura 4. *Terfezia eliocrocae* Bordallo, Morte & Honrubia (Bordallo et al. 2013).

Uno de los últimos trabajos de Mario fue un capítulo de libro donde definió lo que él denominó “silvicultura de las trufas de desierto o turmicultura” donde plasmó sus ideas sobre la conservación y mejora de los ecosistemas de trufas del desierto para hacerlos sostenibles y que puedan contribuir al desarrollo rural de las áreas de producción natural (Honrubia et al. 2014). Este fue un tema que apasionaba a Mario y al que dedicó mucho trabajo no solo con estos hongos sino también con otros hongos comestibles como la trufa negra (*Tuber melanosporum*) y la trufa de verano (*Tuber aestivum*) cuyas áreas potenciales delimitó en numerosas provincias del sureste peninsular. En este sentido, Mario fue muy pionero y divulgó sus ideas sobre micosilvicultura y micoturismo que ahora son la base para la gestión del recurso micológico forestal en muchas regiones de España (Martínez Peña et al. 2011).

Sirva este artículo para rendir homenaje y dar las gracias a Mario Honrubia García, MOTOR de todo lo conseguido, al que echamos muchísimo de menos, nunca olvidaremos y nos sigue inspirando allá donde este.



Figura 4. Mario Honrubia con una turba de *T. claveryi* de 488 g.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a todos los colaboradores de campo que, desde hace 20 años, desinteresadamente nos han ayudado, tanto a Mario como a todos los miembros del Grupo de Investigación.

REFERENCIAS

- Andrino A, Morte A y Honrubia M (2012) Method for producing plants of the *Cistaceae* family that establish mycorrhiza with different desert truffle species. Nº ES201100216, Spain, PCT. Thader Biotechnology S.L.
- Arenas Jiménez F (2004) Optimización del crecimiento micelial y producción de inóculo de la trufa del desierto *Terfezia claveryi* Chatin en biorreactor. Trabajo Fin de Máster, Universidad de Murcia.
- Bordallo JJ, Rodríguez A, Honrubia M y Morte A (2012) *Terfezia canariensis* sp. nov., una nueva especie de trufa encontrada en las Islas Canarias. *Cantarella* 56: 1-8.
- Bordallo JJ, Rodríguez A, Muñoz-Mohedano JM, Suz LM, Honrubia M y Morte A (2013) Five new *Terfezia* species from the Iberian Peninsula. *Mycotaxon* 124: 189-208.
- Bordallo JJ, Rodríguez A, Kounas V, Camello F, Honrubia M y Morte A (2015) Two new *Terfezia* species from Southern Europe. *Phytotaxa* 230 (3): 239-249
- Cano A, Honrubia M y Molina-Niñirola C (1991) Mycorrhizae in semiarid ecosystems: synthesis of mycorrhizae between *Terfezia claveryi*, *Picco juniperi* and *Helianthemum almeriense* (Cistaceae). *Third European Symposium on Mycorrhizas*. Sheffield, UK.
- Dieste C (2008) Estudio ecológico de las poblaciones de *Terfezia claveryi* Chatin en Andalucía oriental. Proyecto Fin de Carrera, Universidad de Murcia.
- Gutiérrez A (2001). Caracterización, micorrización y cultivo en campo de las trufas de desierto. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Gutiérrez A, Morte A y Honrubia M (2003) Morphological characterization of the mycorrhiza formed by *Helianthemum almeriense* Pau with *Terfezia claveryi* Chatin and *Picco lefebvrei* (Pat.) Maire. *Mycorrhiza* 13: 299-307.

- Honrubia M, Cano A y Molina-Niñirola C (1992) Hypogeous fungi from southern Spanish semi-arid lands. *Persoonia* 14 (4): 647-653.
- Honrubia M, Gutiérrez A y Morte A (2001) Desert truffle plantations from South-East Spain. 3-ICOM. Adelaide, Australia.
- Honrubia M, Morte A y Gutiérrez A (2007) Las Terfezias. Un cultivo para el desarrollo rural en regiones áridas y semi-áridas. Pp 365-397. In: Truficultura, Fundamentos y Técnicas. Santiago Reyna (coord.). Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Spain.
- Honrubia M, Andriano A, Morte A (2014) *Preparation and maintenance of both man-planted and wild plots*. In: Kagan-Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A (eds) Desert Truffles. Soil Biology, vol 38. Chapter 22, pp. 367-387. Springer-Verlag Berlin. Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-40096-4_22
- López-Nicolás JM, Pérez-Gilabert M, Lozano-Carrillo C, García-Carmona F y Morte A (2013) Mycelium growth stimulation of the desert truffle *Terfezia claveryi* Chatin by β -cyclodextrin. *Biotechnology Progress* 29 (6): 1558-1564.
- Lozano Carrillo MC (2010) Estimulación del crecimiento *in vitro* del micelio de *Terfezia claveryi* Chatin mediante ciclodextrinas. Trabajo Fin de Máster, Universidad de Murcia.
- Martínez Peña F, Oria de Rueda JA y Ágreda T (2011). Manual para la Gestión del recurso micológico forestal en Castilla y León. SOMACYL - Junta de Castilla y León, 445 p., ISBN 978-84-615-3138-7.
- Morte A y Honrubia M (1992) *In vitro* propagation of *Helianthemum almeriense* Pau (Cistaceae). *Agronomie* 12: 807-809.
- Morte A (1994) Micropropagación y micorrización de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters (Cupressaceae) y *Helianthemum almeriense* Pau (Cistaceae), Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Morte A, Cano A, Honrubia M y Torres P (1994) *In vitro* mycorrhization of micropropagated *Helianthemum almeriense* plantlets with *Terfezia claveryi* (desert truffle). *Agricultural Science in Finland* 3: 309-314.
- Morte A y Honrubia M (1994) Método para la micorrización *in vitro* de plántulas micropropagadas de *Helianthemum* con micelio de *Terfezia claveryi*. Patent nº 9402430. Universidad de Murcia.
- Morte A, Lovisolo C y Schubert A (2000) Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal associations *Helianthemum almeriense*-*Terfezia claveryi*. *Mycorrhiza* 10: 115-119.
- Morte A, Dieste C, Díaz G, Gutiérrez A, Navarro A y Honrubia M (2004) Production of *Terfezia olbiensis* mycelial inoculum in a bioreactor. Actes du Premier Symposium sur les Champignons hypogés du Basin Méditerranéen. Pp 146, Rabat, Morocco.
- Morte A, Gutiérrez A y Honrubia M (2008) Biotechnology and cultivation of desert truffles. In: Mycorrhiza: Biology, Genetics, Novel Endophytes and Biotechnology. Third edition, A. Varma (ed.), Springer-Verlag, Germany
- Morte A, Zamora M, Gutiérrez A y Honrubia M (2009) Desert truffle cultivation in semiarid Mediterranean areas. In: Mycorrhizas: functional processes and ecological impact. V. Gianinazzi-Pearson and C. Azcón (Eds). Chapter 15. Springer-Verlag, Heidelberg
- Morte A, Navarro-Ródenas A y Nicolás E (2010) Physiological parameters of desert truffle mycorrhizal *Helianthemum almeriense* plants cultivated in orchards under water deficit conditions. *Symbiosis* 52(2):133-139
- Morte A, Andriano A, Honrubia M y Navarro-Ródenas A (2012) *Terfezia* cultivation in arid and semiarid soils. En: Zambonelli A, Bonito GM (eds) Edible Ectomycorrhizal Mushrooms. Soil Biology, vol 34. pp 241-263. Springer-Verlag Berlin. Heidelberg. DOI:10.1007/978-3-642-33823-6_14
- Murcia MA, Matínez-Tomé M, Jiménez AM, Vera AM, Honrubia M y Parras P (2002) Antioxidant activity of edible fungi (truffles and mushrooms): losses during industrial processing. *Journal of Food Protection* 65 (10): 22-30
- Murcia MA, Martínez-Tomé M, Vera A, Morte A, Gutiérrez A, Honrubia M y Jiménez AM (2003) Effect of industrial processing on desert truffles *Terfezia claveryi* and *Picoa juniperi* Vitt: proximate composition and fatty acids. *J Sci Food Agric* 83: 535-541
- Navarro-Ródenas A, Morte A y Pérez-Gilabert M (2009) Partial purification, characterization and histochemical localisation of alkaline phosphatase from ascocarps of edible desert truffle *Terfezia claveryi* Chatin. *Plant Biol* 11(5):678-685. DOI: 10.1111/j.1438-8677.2008.00172.x
- Navarro-Ródenas A, Lozano-Carrillo M, Pérez-Gilabert M y Morte A (2011) Effect of water stress on *in vitro* mycelium cultures of two mycorrhizal desert truffles. *Mycorrhiza* 21 (4):247-253
- Navarro-Ródenas A, Ruiz-Lozano JM, Kaldenhoff R y Morte A (2012) The aquaporin *TcAQP1* of the desert truffle *Terfezia claveryi* is a membrane pore for water and CO₂ transport. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25(2): 259-266.
- Navarro-Ródenas A, Bárzana G, Nicolás E, Carra A, Schubert A y Morte A (2013) Expression analysis of aquaporins from desert truffle mycorrhizal symbiosis reveals a fine-tuned regulation under drought. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 26 (9): 1068-1078
- Navarro-Ródenas A, Berná LM, Lozano-Carrillo C, Andriano A y Morte A (2016) Beneficial native bacteria improve survival and mycorrhization of desert truffle mycorrhizal plants in nursery conditions. *Mycorrhiza* DOI 10.1007/s00572-016-0711-6.
- Pérez-Gilabert M, Morte A, Honrubia M y García-Carmona F (2001a) Monophenolase activity of latent *Terfezia claveryi* tyrosinase: characterization and histochemical localization. *Physiol. Plant.* 113:203-209
- Pérez-Gilabert M, Morte A, Honrubia M y García-Carmona F (2001b) Partial purification, characterization, and histochemical localization of fully latent desert truffle (*Terfezia claveryi* Chatin) polyphenol oxidase. *J Agric Food Chem* 49:1922-1927
- Pérez-Gilabert M, García-Carmona F y Morte A (2014) Enzymes in *Terfezia claveryi* Ascocarps. In: Kagan-Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A (eds) Desert Truffles. Soil Biology, vol 38. Chapter 16, pp. 243-260. Springer-Verlag Berlin. Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-40096-4_16
- Santiago Marín MM (2015) Producción de micelio de *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire en biorreactor. Trabajo Fin de Máster, Universidad de Murcia.
- Torrente P, Navarro-Ródenas A, Gutiérrez A y Morte A (2009) Micropropagación de *Helianthemum hirtum* y micorrización *in vitro* con micelio de *Terfezia claveryi*. VIII Reunión de la Sociedad Española de Cultivos *in Vitro* de Tejidos Vegetales, Murcia, Spain.
- Zamora M (2008) Micropropagación de *Helianthemum violaceum* (Cav.) Pers. y micorrización con *Terfezia claveryi* Chatin. Tesis de Licenciatura, Universidad de Murcia.