

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la
Propiedad Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
6 de febrero de 2014 (06.02.2014)

WIPO | PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2014/020215 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
C12N 1/14 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2013/070557

(22) Fecha de presentación internacional:
30 de julio de 2013 (30.07.2013)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P201231240 31 de julio de 2012 (31.07.2012) ES

(71) Solicitante: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID [ES/ES]; Calle Ramiro de Maeztu, 7, OTRI - Vicerrectorado de Investigación, Universidad Politécnica de Madrid, E-28040 Madrid (ES).

(72) Inventor: JIMÉNEZ AGUILAR, María de la Consolación; Calle Ramiro de Maeztu, 7, OTRI - Vicerrectorado de Investigación, Universidad Politécnica de Madrid, E-28040 Madrid (ES).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE,

AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

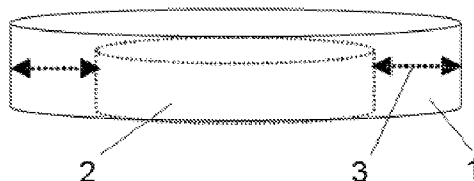
Publicada:

— con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))

(54) Title: METHOD FOR LARGE-SCALE PRODUCTION OF MYCELIAL INOCULUM OF ASCOMYCOTA

(54) Título : PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN A GRAN ESCALA DE INOCULO MICELIAR DE ASCOMICETOS.

Figura 1



(57) Abstract: The invention relates to a method for large-scale production of mycelial inoculum of ascomycota. Large-scale production of ascomycota is of great commercial interest, in particular that of important species belonging to the *Tuber*, *Terfezia* and *Morchella* genera, such as, *Tuber melanosporum* "black truffle" or "Périgord truffle", *Tuber magnatum* "Piedmont white truffle", *Terfezia arenaria* "desert truffle" or *Morchella esculenta* "common morel". The method comprises several steps which include initial isolation of the fungus, inoculation of the isolated mycelium in a modified oat solid culture medium (MOM), purification thereof in the same medium and subsequent growth in a modified Biotin-Aneurin-Folic Acid (BAF) culture medium, in order finally to obtain the purified fungal mycelium.

(57) Resumen: Procedimiento para la obtención a gran escala de inoculo miceliar de Ascomicetos. La producción a gran escala de Ascomicetos resulta de gran interés comercial, y en particular de importantes especies pertenecientes a los géneros *Tuber*, *Terfezia* o *Morchella*, como son, entre otras, *Tuber melanosporum* "trufa negra" o "trufa de Périgord", *Tuber magnatum* "trufa blanca del Piamonte", *Terfezia arenaria* "trufa del desierto" o *Morchella esculenta* "colmenilla". El procedimiento consta de varias etapas que incluyen un aislamiento inicial del hongo, la inoculación del micelio aislado en un medio de cultivo sólido de avena modificado (MOM), su purificación en ese mismo medio y su posterior desarrollo en un medio de cultivo Biotina-Aneurina-Acido Fólico (BAF) modificado, para finalmente obtener el micelio fúngico purificado.



WO 2014/020215 A1

Procedimiento para la obtención a gran escala de inóculo miceliar de Ascomicetos.

DESCRIPCIÓN

5 **Campo Técnico de la Invención**

La presente invención pertenece al campo técnico de la Agrobiotecnología, y en concreto a la producción a gran escala de micelio en cultivo puro de especies de hongos superiores de la división Ascomicetos.

10 **Antecedentes**

Hasta el momento no hay referencias acerca de la producción a gran escala de inóculo micelial de especies fúngicas pertenecientes a la división Ascomicetos; muchas de ellas sin embargo de gran importancia por ser las especies más demandadas y que alcanzan los precios más elevados en el mercado.

15

Existía gran interés en encontrar un procedimiento sencillo, rápido y económico de obtención de micelio en cultivo puro de las citadas especies, para su utilización en la micorrización de plantas, con certificación de origen, destinadas a la producción en vivero o plantación, así como a la recuperación de la producción micológica en zonas naturales.

20

Así pues, la presente solicitud de Patente de Adición pretende solventar la ausencia de la patente parental de esta otra gran división de los hongos superiores, ya que, Ascomicetos y Basidiomicetos son las dos divisiones de hongos superiores pertenecientes al subreino Neomycota del reino Fungi.

25

En principio, las divisiones de hongos a los que se podría aplicar un procedimiento para la obtención a gran escala de inóculo miceliar similar al recogido por la patente de invención P200930246 para los Basidiomicetos tendrían que presentar una organización miceliar similar, circunstancia que se cumple en la familia de los Ascomicetos, aunque sin los estudios experimentales este hecho no constituiría *a priori* una garantía de éxito.

30

Descripción

La presente invención proporciona un procedimiento para la obtención *in vitro* de micelio fúngico en cultivo puro, aislado, tanto de los cuerpos fructíferos de especies fúngicas de interés, como de secciones de raicillas de plantas micorrizadas con dichas especies fúngicas.

La invención es una adición a la Patente de Invención P200930246 por "Procedimiento para la Obtención a Gran Escala de Inóculo Miceliar de Basidiomicetos", que comprende las etapas: aislamiento del micelio fúngico de especies de hongos Ascomicetos, preferiblemente de los géneros *Tuber*, *Terfezia*, o *Morchella* y más preferiblemente a partir de cuerpos fructíferos de los hongos; inoculación del micelio aislado en la etapa anterior en un medio de cultivo sólido de avena modificado (MOM); purificación del micelio en medio de cultivo sólido de avena modificado (MOM); desarrollo del micelio purificado en la etapa anterior en un medio de cultivo Biotina-Aneurina-Ácido Fólico (BAF) modificado y obtención del micelio fúngico purificado.

En una realización preferible de la invención, dicho hongo del género *Tuber* es *Tuber melanosporum*, y en otra realización preferible dicho hongo del género *Terfezia* es *Terfezia arenaria*. En una realización preferible más de la invención dicho medio líquido BAF modificado presenta un pH de 6,5.

Los resultados de los ejemplos muestran un extraordinario desarrollo y una gran cantidad de micelio obtenido. A los 5 días de cultivo se obtuvo por término medio un crecimiento de 1:103 del micelio en cultivo puro, ya dispuesto para la inoculación de las plantas a micorrizar.

Descripción de las figuras

Las figuras muestran dos perspectivas diferentes del sistema utilizado para la purificación del micelio fúngico.

30

La figura 1 corresponde a una placa de Petri de un diámetro de 9 cm (1) en cuyo fondo se coloca de forma centrada una placa (2) de 5 cm de diámetro, que se muestra con trazo discontinuo. Como resultado de esta configuración entre ambas placas se

crea un espacio circular de 2 cm de ancho (3) en el que se deposita el medio de cultivo fundido.

La figura 2 muestra el espacio central (4) que queda cuando, una vez enfriado el medio, se retira la placa interpuesta. En dicho espacio vacío central es donde se sitúa el inóculo del micelio, que se desarrolla hasta alcanzar la sección periférica (3) donde se encuentra el medio para la purificación, liberándose así de la posible presencia de bacterias, las cuales quedan retenidas en la sección central de las placas, al no poder desarrollarse por ausencia de nutrientes.

Ejemplos

Con la intención de mostrar la presente invención de un modo ilustrativo aunque en ningún modo limitante, se aportan los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: Preparación del inóculo miceliar de *Tuber melanosporum*, *Terfezia arenaria* y *Morchella esculenta*.

Se aislaron en cámara de flujo laminar pequeñas secciones de la parte más interna del himenio del píleo de carpóforos maduros de cada especie por separado, a los que se les había eliminado previamente la pellis. Seguidamente, se inocularon dichas secciones en condiciones de máxima asepsia en cámara de flujo laminar en placas Petri de plástico de 5 cm de diámetro, previamente esterilizadas en autoclave. A estas placas Petri se les había adicionado con anterioridad medio de cultivo sólido de avena modificado (MOM) con composición/litro de medio de 0,5 g de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,2 g de PO_4KH_2 ; 0,1 g de $\text{SO}_4\text{Mg} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,1g de KCl; 5,0 g de sacarosa; 3,5 g de avena en polvo; 0,1 g de extracto de levadura y 8,0 g de agar. Las placas inoculadas se mantuvieron en cámara a 20°C hasta que el micelio se desarrolló llegando a ocupar toda la superficie de la placa. Posteriormente, el micelio obtenido en ambos casos se sometió a un proceso de purificación con objeto de eliminar la posibilidad de existencia de contaminación bacteriana, utilizando para ello placas Petri de 9 cm de diámetro en las que el medio de cultivo MOM tal cual anteriormente descrito se dispuso solamente en una sección circular periférica de 2 cm (placas de 5 cm de diámetro introducidas dentro de las placas Petri de 9 cm). En la parte central de estas placas se colocaron secciones de 1x1cm del medio sólido de crecimiento MOM conteniendo el micelio fúngico. Estas placas se mantuvieron en cámara a 20°C hasta que el micelio se desarrolló ocupando toda la superficie de la placa.

Ejemplo 2: Cultivo del inóculo miceliar

Una vez purificado el micelio de cada especie según el Ejemplo 1 se transfirió una pequeña porción para su desarrollo a gran escala a medio de cultivo líquido BAF modificado. En todos los experimentos se partió de un inóculo micelial de tamaño similar con un peso medio de unos 10 mg, que se incubó en matraces erlenmeyer conteniendo medio de cultivo líquido BAF modificado con una composición/litro de medio: 0,1 g de Cl_2Ca ; 0,5 g de PO_4KH_2 ; 0,5 g de $\text{SO}_4\text{Mg } 7\text{H}_2\text{O}$; 0,005 g de SO_4Mn ; 0,001 g de SO_4Zn ; 0,01 g de $\text{Cl}_3\text{Fe } 7\text{H}_2\text{O}$; 2,0 g de peptona; 0,0005 g de tiamina; 0,00001 g de biotina; 0,05 g de inositol; 0,0001 g de ácido fólico; 5,0-20,0 g de glucosa, y 0,2 g de extracto de levadura; el cultivo se mantuvo bajo condiciones controladas: 25 °C, oscuridad, pH 6,5 y agitación constante a 120 rpm durante todos los días del cultivo ininterrumpidamente.

Ejemplo 3: Obtención de micelio de *Tuber melanosporum* en cultivo puro

Los resultados del crecimiento miceliar en medio nutritivo líquido BAF de la especie *Tuber melanosporum* durante catorce días sin nuevos aportes de medio nutritivo, se muestran en la tabla I. El crecimiento se mantiene hasta el día 14 en que, a causa del agotamiento de los nutrientes del medio de cultivo, se observa un cierto descenso del mismo, que evidencia el inicio de procesos de lisis celular. Por ello, después de estos 14 días se requirió un nuevo aporte de medio nutritivo para la reanudación del crecimiento del micelio.

Tabla I

	Peso medio del micelio (gr)					
Especie	día 0	día 3	día 5	día 8	día 12	día 14
<i>T. melanosporum</i>	0,0081	5,1681	7,9722	10,9754	12,1732	11,7312

De estos datos se deduce que a los cinco días el crecimiento del micelio en cultivo puro fue de $1:10^3$, lo que se corresponde con una producción a gran escala.

Ejemplo 4: Obtención de micelio de *Terfezia arenaria* en cultivo puro

El crecimiento miceliar en medio nutritivo líquido BAF de la especie *Terfezia arenaria* durante catorce días sin nuevos aportes de medio nutritivo, se muestra en la tabla II.

En este ejemplo también se mantiene el crecimiento constante hasta el día 14 en que se observa un cierto descenso del mismo, que evidencia el inicio de los procesos de lisis celular. A partir de los 14 días se requirió un nuevo aporte de medio nutritivo para la reanudación del crecimiento del micelio.

5

Tabla II

	Peso medio del micelio (gr)					
Especie	día 0	día 3	día 5	día 8	día 12	día 14
<i>T.arenaria</i>	0,0111	4,9051	7,6351	9,2431	10,3065	10,0271

Al igual que en la especie anterior, de los datos expuestos en la tabla se deduce que a los cinco días el crecimiento fue de $1:7 \times 10^2$, lo que indica también un extraordinario desarrollo, si bien, un poco menor que en el ejemplo anterior.

10

Ejemplo 5: Obtención de micelio de *Morchella esculenta* en cultivo puro

El crecimiento miceliar en medio nutritivo líquido BAF de la especie *Morchella esculenta*. El crecimiento se mantiene, asimismo, hasta el día 14 en que se observa un cierto descenso del mismo, que evidencia el inicio de procesos de lisis celular. Después de estos 14 días se requirió, igualmente, un nuevo aporte de medio nutritivo para la reanudación del crecimiento del micelio.

15

Tabla III

	Peso medio del micelio (gr)					
Especie	día 0	día 3	día 5	día 8	día 12	día 14
<i>M.esculenta</i>	0,0078	4,6273	7,6895	10,7395	12,6912	12,0161

De los datos expuestos en la tabla se deduce que a los cinco días el crecimiento fue de $1:10^3$, lo que se corresponde igualmente con una producción a gran escala similar a la del Ejemplo 3.

20

REIVINDICACIONES

1. Adición a la Patente de Invención P200930246 por “Procedimiento para la Obtención a Gran Escala de Inóculo Miceliar de Basidiomicetos”, que comprende las etapas:
 - a) aislamiento del micelio fúngico de especies de hongos ascomicetos,
 - b) inoculación del micelio aislado en la etapa a) en un medio de cultivo sólido de avena modificado (MOM),
 - c) purificación del micelio en medio de cultivo sólido de avena modificado (MOM),
 - d) desarrollo del micelio purificado en la etapa c) en un medio de cultivo Biotina-Aneurina-Ácido Fólico (BAF) modificado, y
 - e) obtención del micelio fúngico purificado.
2. Adición a la Patente de Invención P200930246 según la reivindicación 1, caracterizada por que dicho aislamiento del micelio fúngico de la etapa a) se realiza a partir de cuerpos fructíferos de hongos.
3. Adición a la Patente de Invención P200930246 según la reivindicación 2, caracterizado por que el hongo de ascomicetos a partir del cual se obtiene el micelio es de los géneros *Tuber*, *Terfezia*, o *Morchella*.
4. Adición a la Patente de Invención P200930246 según la reivindicación 3, caracterizado por que dicho hongo del género *Tuber* es *Tuber melanosporum*.
5. Adición a la Patente de Invención P200930246 según la reivindicación 3, caracterizado por que dicho hongo del género *Terfezia* es *Terfezia arenaria*.
6. Adición a la Patente de Invención P200930246 según la reivindicación 1, caracterizado por que dicho medio líquido BAF modificado de la etapa d) presenta un pH de 6,5.

FIGURAS

Figura 1

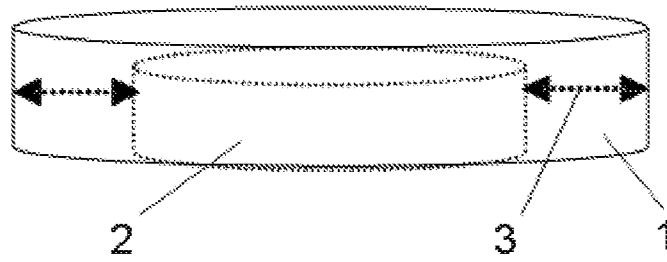
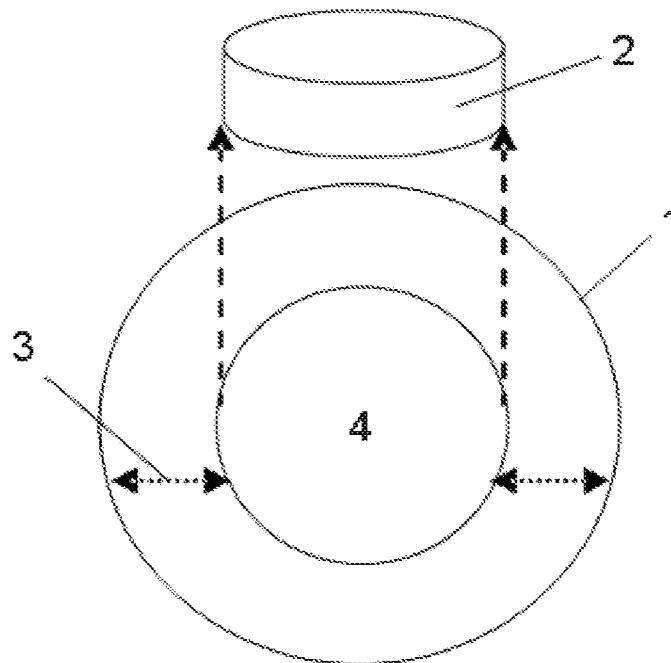


Figura 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2013/070557

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N1/14 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, MEDLINE, AGRICOLA, SCISEARCH, NPL, XPTK, XPOAC, HCAPLUS, CROPU, CABA, FSTA, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ES 2332031 A1 (UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID) 22/01/2010, the whole document.	1-6
A	VÁZQUEZ-GARCÍA, A. et al. Influencia del pH en el crecimiento de quince cepas de hongos ectomicorrizógenos. Anales del Instituto de Biología, Universidad Autónoma de México. Serie Botánica. 2002. Volume 73. Number 1. Pages 1-15. ISSN 0185-254X.	1-6
A	KIBAR, B. et al. Nutritional and environmental requirements for vegetative growth of edible ectomycorrhizal mushroom <i>Tricholoma terreum</i> . Zemdirbystė=Agriculture. 2011. Volume 98.Nº 4. Pages 409-414. ISSN 1392-3196.	1-6
A	ZETTLER, L.W. et al. Conservation-driven propagation of an epiphytic orchid (<i>Epidendrum nocturnum</i>) with a mycorrhizal fungus. HortScience. February, 2007. Vol. 2, Nº 1, pages 135-139. ISSN 0018-5345.	1-6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
09/10/2013

Date of mailing of the international search report
(17.10.2013)

Name and mailing address of the ISA/

Authorized officer
E. Ulloa Calvo

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Facsimile No.: 91 349 53 04

Telephone No. 91 3493047

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2013/070557

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KAMAL, S. et al. Effect of nutrient sources and plant hormones on mycelial morphology of the black perigord truffle <i>Tuber melanosporum</i> . Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products.2011. Pages 509-515.	1-6
A	NAVARRO-RÓDENAS, A. et al. Effect of water stress on in vitro mycelium cultures of two mycorrhizal desert truffles. Mycorrhiza. May, 2011. Volume 21, N° 4. Pages 247-253. ISSN 1432-1890. doi:10.1007/s00572-010-0329-z.	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

Information on patent family members

PCT/ES2013/070557

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
ES2332031 A1	22.01.2010	WO2010139817 A1	09.12.2010
		MX2011012647 A	12.01.2012
		EP2438809 A1	11.04.2012
-----	-----	-----	-----

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2013/070557

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

C12N1/14 (2006.01)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)
C12N

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, MEDLINE, AGRICOLA, SCISEARCH, NPL, XPTK, XPOAC, HCAPLUS, CROPU, CABA, FSTA, EMBASE

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
X	ES 2332031 A1 (UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID) 22/01/2010, todo el documento.	1-6
A	VÁZQUEZ-GARCÍA, A. et al. Influencia del pH en el crecimiento de quince cepas de hongos ectomicorizógenos. Anales del Instituto de Biología, Universidad Autónoma de México. Serie Botánica. 2002. Volumen 73. Número 1. Páginas 1-15. ISSN 0185-254X.	1-6
A	KIBAR, B. et al. Nutritional and environmental requirements for vegetative growth of edible ectomycorrhizal mushroom <i>Tricholoma terreum</i> . Zemdirbystė=Agriculture. 2011. Volumen 98. Nº 4. Páginas 409-414. ISSN 1392-3196.	1-6
A	ZETTLER, L.W. et al. Conservation-driven propagation of an epiphytic orchid (<i>Epidendrum nocturnum</i>) with a mycorrhizal fungus. HortScience. Febrero, 2007. Vol. 2, Nº 1, páginas 135-139. ISSN 0018-5345.	1-6

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
09/10/2013

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
17 Octubre 2013 (17.10.2013)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado
E. Ulloa Calvo
Nº de teléfono 91 3493047

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2013/070557

C (Continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	KAMAL, S. et al. Effect of nutrient sources and plant hormones on mycelial morphology of the black perigord truffle <i>Tuber melanosporum</i> . Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. 2011. Páginas 509-515.	1-6
A	NAVARRO-RÓDENAS, A. et al. Effect of water stress on in vitro mycelium cultures of two mycorrhizal desert truffles. Mycorrhiza. Mayo, 2011. Volumen 21, Nº 4. Páginas 247-253.ISSN 1432-1890. doi:10.1007/s00572-010-0329-z.	1-6

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ES2013/070557

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
ES2332031 A1	22.01.2010	WO2010139817 A1	09.12.2010
		MX2011012647 A	12.01.2012
		EP2438809 A1	11.04.2012
-----	-----	-----	-----