



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Biotechnologie

Référence

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Science de la nature et de la vie
Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

Présenté et soutenu par :
GUETTAL Hala et MOUSSAOUI Hadjer

Le: lundi 28 juin 2021

Thème

Synthèse Mycorhizienne Contrôlée de Truffe du désert avec le genre « *Helianthemum* »

Dirigé par :

Mme. BELKHARCHOUCHE Hafida	MCB	UMK-Biskra	Président
M. LAIADI Ziane	Pr	UMK-Biskra	Rapporteur
M. SIMOZREG Ahmed	MCB	UMK-Biskra	Examineur

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

*Absolument nous remercions avant tout **ALLAH** le tout **Puissant**, qui nous avoir donné la force, le courage, la volonté, et le patient pour mener à bien notre étude.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à Monsieur le Professeur **LAIADI Ziane** de l'Université Mohamed Khider Biskra pour avoir bien voulu encadrer ce travail avec beaucoup d'attention, ainsi que pour son disponibilité et ses conseils fort précieux.*

Nous tiens à remercier le Jurée d'être accepté de juger ce travail. Et tous nos professeurs de département de Biologie et Biotechnologie.

Nous remercions également nos parents pour leur aide et leur soutien dans notre vie et dans notre cheminement éducatif jusqu' à l'universitaire.

Nos remerciements aussi à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Je dédie ce travail

À mes chers parents que j'aime,

MAMAN et PAPA, Que Dieu Tout-Puissant vous protège et vous comble de bonheur

À mes frères que j'aime et que Dieu les protège,

Youcef, Younes et surtout mon frère Souheil qui m'a aidé beaucoup.

À toute ma famille et mes voisins.

À ma binôme MOUSSAOUI Hadjer et sa famille

À mes chères amies,

MAKHLOUFI Nadjah – FODIL Khaoula – MABROKIA Chadia – MEHDA Aya – GUETTAF

TEMAM Hana – SOLTANI Aicha – ABDEAHMANI Selsabil – Mliki Aya – YAHIAOUI

Wahiba– MABROUK Malika et SOUFLI Rania.

HALA

Je dédie ce travail

À mes chers parents que j'aime,

À ma mère pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices

À mon père pour son soutien son affection et la confiance qui m'a accordé

*À mon cher frère HOUSSAM et mes sœurs DJIHAN, CHAHED, AICHA que j'aime et que Dieu
les protège,*

À mon cher Dr. GHEDJATI Abdelhamid

À toute ma famille et mes voisins.

À ma binôme GEUTTAL Hala et sa famille

À mes chères amies,

FOUDIL Khaoula

*MOUSSAOUI Zeineb -MAKHLouFI Nadjah -MABROKIA Chadia -MEHDA Aya-
ABDERAHMANI Selsabil - GUETTAF TEMAM Hana - YAHIAOUI Wahiba*

HADJER

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction.....	1

Partie bibliographique

Chapitre 1: Initiation générale sur la truffe du désert

1 Généralité sur la truffe du désert	2
1.1 Truffe du désert	2
1.2 Distribution géographique de truffe du désert.....	2
1.2.1 Distribution géographique mondiale	2
1.2.2 Distribution géographique en Algérie	3
1.3 Taxonomie	3
1.4 Cycle hypothétique de truffe du désert :.....	4
1.5 Conditions bioécologique de truffe du désert.....	6
1.5.1 Facteur édaphique.....	6
1.5.2 Facteur climatique	7

Chapitre 2: Symbiose mycorhizienne

1 Symbiose mycorhizienne	9
1.1 Structure des mycorhizes.....	9
1.2 Plante hôte	9
1.2.1 Systématique d' <i>Helianthemum</i>	10
1.2.2 Appellation d' <i>Helianthemum</i>	11

Partie expérimentale

Chapitre 3: Matériel et méthodes

1 Station de récolte et préparation du matériel végétal et fongique	12
1.1 Station de récolte du matériel végétal « <i>Helianthemum</i> » et fongique « Truffe du désert »	12
1.1.1 Préparation du matériel végétal.....	13
1.1.2 Préparation du matériel fongique	13

1.1.3	Inoculation.....	13
1.1.4	Substrat naturel.....	14
2	Provoque mycorhizienne contrôlée	14
2.1	Méthode de culture utilisée.....	19
2.1.1	Condition gnotoxénique	20
2.1.2	Condition axénique	20
2.2	Méthodes d'étude des mycorhizes.....	20
2.2.1	L'effet des conditions artificiels (<i>in vitro</i>) et naturels (<i>in situ</i>)	20
2.2.1.1	Evaluation de l'infection mycorhizienne.....	20
2.2.1.2	Taux de colonisation mycorhizienne.....	21
2.2.2	L'effet des facteurs de croissance	21
2.2.2.1	Analyse minéral.....	21
2.2.2.2	Taux de colonisation mycorhizienne.....	21
2.2.3	L'effet du mycorhization sur les plantes inoculés.....	22
2.2.3.1	Evaluation de la croissance des plantes.....	22
2.2.3.2	Mesure physiologique.....	22
2.2.4	L'influence des facteurs biotique	22
2.3	Analyses statistique	22
3	Culture des truffes du désert.....	23

Chapitre 4: Résultats et discussion

1	Examen d'association mycorhizienne	24
1.1	L'effet des conditions artificiels (<i>in vitro</i>) et naturels (<i>in situ</i>).....	24
1.1.1	Evaluation de l'infection mycorhizienne.....	24
1.1.2	Taux de colonisation mycorhizienne.....	26
1.2	L'effet des facteurs de croissance.....	26
1.2.1	Analyse minéral.....	26
1.2.2	Taux de colonisation mycorhizienne.....	28
1.3	L'effet du mycorhization sur les plantes inoculés	29
1.3.1	Evaluation de la croissance des plantes.....	29
1.3.2	Mesure physiologique	29
1.4	L'influence des facteurs biotique	30

2 Culture de truffe du désert.....	30
Conclusion.....	34
Référence bibliographique	36
Annexes	
Résumés	

Tableau 1: La précipitation nécessaire pour la production des terfez.....8

Tableau 2: Mode de vie de quelque espèce hélianthèmes (Zitouni, 2010 et Zitouni, 2016). 11

Tableau 3: station de récolte de truffe de désert et d'*Helianthemum*..... 12

Tableau 4: Méthodes d'étude utilisés par divers équipements 15

Tableau 5: Le taux de colonisation et les différentes types de colonisation mycorhiziale d'*H. almeriense* traités par phosphore in vitro (Navarro-Rodenas *et al.*, 2012).29

Figure 1: Cycle hypothétique de vie du terfez du genre <i>Terfezia</i> (Fortas, 1990).....	5
Figure 2: Association symbiotique de genre <i>Terfezia</i> avec sa plante hôte	10
Figure 3: L'inoculation des plantes micropropagées d' <i>H. almeriense</i> avec <i>T. claveryi</i> dans un milieu de culture in vitro.	18
Figure 4: L'inoculation d' <i>H. sessiliflorum</i> avec les ascospores de <i>T. boudieri</i> dans des conditions gnotoxénique (Slama <i>et al.</i> , 2010a).....	19
Figure 5: Différentes modèles mycorhiziennes dans les racines d' <i>H. almeriense</i> observé par stéréomicroscope (Gutierrez <i>et al.</i> , 2003).	25
Figure 6: Observation microscopique des racines mycorhizés d'hélianthèmes avec des terfez de genre <i>Terfezia</i> (Zitouni <i>et al.</i> , 2014).	25
Figure 7: Coupes semi- fine des racines d' <i>H. guttatum</i> mycorhizés avec <i>T. arenaria</i> (Fortas et Chevalier, 1992).	27
Figure 8: Plantation des plantes <i>H. almeriense</i> avec <i>T. claveryi</i> dans l'Espagne (Murcia).....	31

PCR: Polymérase Chaîne Réaction

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism

RAPD: Random amplified polymorphic DNA

ADNr: Acide Désoxyribonucléique ribosomique

ITS: Internal Transcribed Spacer

ECM: Ectomycorhize

AM: Endomycorhize à arbuscules

mm : millimètre

MMN : Modified Melin-Norkrans

MS : Murashige et Skoog

MH : Morte et Honrubia

PAR : Photosynthetic Active Radiations

Introduction

En réalité la vie est encore plus abondante sous le sol que dessus. Champignons arqués, nématodes, ver de terre, bactéries encore peu connue. Depuis le XVIIIe siècle, l'étude des truffes du désert ont été occupées la pensée de nombreux chercheurs parmi eux : Trappe, Alsheikh, Awameh, Chatin, Malençon, Morte, Chevalier, Fortas. Jusqu'à nos jours, Fortas s'intéressait beaucoup de la truffe du désert algérien.

Les Truffes du désert, sont des ascomycètes hypogés symbiotiques qui établissent des associations mycorhiziennes essentiellement avec des plantes herbacées ou arbustives, généralement de la famille Cistacées, appartenant surtout au genre *Helianthemum* (Zitouni, 2016). Comprennent un groupe de champignons comestibles appartenant à différents genres de l'ordre des Pezizales dans la division Ascomycota. Les genres les plus importants sont *Terfezia*, *Picoa* et *Tirmania* (Fortas, 2009).

La distribution géographique spécifique de ces bioressources impressionnantes est généralement au Afrique du nord, Moyen orient et Europe du sud, mais prolifèrent aussi chez d'autre superficie du monde (extrême orient, Amérique, Australie)

Au profond, la connaissance des conditions de culture de ces champignons avec ses plantes hôtes ça va être une clé pour comprendre leurs exigent dans des zones alors que d'autres et leur effets sur la synthèse et la formation des différentes associations mycorhiziennes.

Nous avons entrepris notre modeste travail à base des études expérimental publiées réalisées sur la synthèse mycorhizienne contrôlée des truffes du désert avec les plantes hôtes de genre *Helianthemum*, afin de déterminer comment les conditions de culture sont responsables de contrôle et de crée la différenciation structural des mycorhizes (endomycorhize, ectomycorhize et ectendomycorhize).

Partie

Bibliographique

Chapitre 1

Initiation générale sur la truffe du désert

1 Généralité sur la truffe du désert

1.1 Truffe du désert

Truffe du désert désigné sous le terme général de « terfez » ou « Truffe de sables », sont des fructifications souterraines comestibles « Ascomycètes ». Ils constituent une composante majeure de la flore mycologique des écosystèmes arides et semi-arides d’Afrique du nord, du Moyen-Orient et de la Méditerranée Orientale (Awameh et Alsheikh, 1979; Awameh, 1981; Alsheikh et Trappe, 1983a; Alsheikh et Trappe, 1983b; Chevalier *et al.*, 1984; Fortas et Chevalier, 1988; Fortas, 1990; Khabar, 2002; Khanaqa, 2006; Trappe *et al.*, 2008; Dib-Bellahoual, 2012 et Loizides *et al.*, 2012). Selon Zitouni (2016) ils établissent écologiquement une association symbiotique mycorhizienne avec les racines de la plante hôte de la famille Cistacées herbacées annuelle ou vivaces surtout du genre *Helianthemum*.

Selon Chatin (1981) ces champignons hypogés ont diverses appellations vernaculaires selon les pays arabes « Terfess, Torfaz, Torfes », selon Muhammad Ibn Ismail al-Bukhari (1627/4 : 4208) est dite « Al-Kamae » même le prophète Mohamed (que Prière et paix soient sur lui) l’a aussi évoqué (Bokhary, 1987), Al-Faga’a (Bokhary, 1987). Le nom scientifique du genre *Terfezia* selon Offner (1950) proviendrait plutôt du nom latin « *terrae fex* » signifiant « production de la terre » (Alsheikh, 1994). Le genre *Terfezia* (Morte *et al.*, 1994) a combinaison avec autres genre tels que *Picoa* et *Termania* (Gutierrez *et al.*, 2003) sont appelées « turmas ».

1.2 Distribution géographique de truffe du désert

1.2.1 Distribution géographique mondiale

Les truffes du désert sont répartis presque dans toutes les réservoirs du monde, on les trouve dans le bassin méditerranéen, Moyen-Orient, Orient-extrême, Amérique.

Le continent **africain** représenté par 12 espèces de terfez, 9 dans l’Afrique du nord et 3 dans l’Afrique du sud « Désert du Kalahari ». Appartenant du genre *Terfezia*, *Tirmania*, *Picoa*, *Delastria*, *Kalaharituber*, *Mattirolomyces* et *Eremiomyces* (Alsheikh, 1994; Trappe *et al.*, 2008; Fortas, 2009; Slama, 2010b et Zitouni, *et al.*, 2015). Et en **Europe** sont représenté par 20 espèces (Chevalier, 2014) appartenant principalement au genre *Terfezia* (Kovacs *et al.*, 2011a; Bordallo *et al.*, 2013 et Bordallo *et al.*, 2015). Le genre *Tirmania* est rare représenté par une seule espèce *T.*

nivea (Moreno *et al.*, 2000) et le genre *Picoa* par ses deux espèces (Moreno *et al.*, 2000; Chevalier, 2014). La distribution de genre *Terfezia* en Afrique et en Europe capable grâce au Péninsule Ibérique qui formé un ligature entre les deux continents, ce qui permet leur migration des régions semi-aride et désertique d’Afrique du nord ver l’Europe (Moreno *et al.*, 2000).

Le continent asiatique compte 4 genres de terfez : *Terfezia*, *Tirmania*, *Picoa*, *Mattiolomyces*, répartis en Turquie, Iran et Péninsule arabique (Alsheikh, 1994; Ammarellou *et al.*, 2014 et Kagan-Zur et Akyuz, 2014), et même à l’Extrême-Orient : Japon et Chine (Fortas, 1990) représenté l’espèce *Terfezia arenaria*. Et le continent nord-américain contient 5 espèces de terfez appartenant à trois genres dont deux sont endémique « *Carbomyces* et *Stouffera* » et le troisième « *Mattiolomyces* » répartis dans les forêts mésique et des habitats arides et semi-arides (Trappe et Weber, 2001; Kovacs *et al.*, 2011a; Moreno *et al.*, 2012 et Trappe *et al.*, 2014).

1.2.2 Distribution géographique en Algérie

En Algérie, la truffe du désert est partagée dans trois régions : régions semi-aride littorales « Mostaganem (Stidia), Annaba, Taref », région semi-aride et aride steppique « Batna, Msila, Biskra, Djelfa, Boussaâda, Tlemcen (El-Aricha), Tiaret (Ksar Chellala), Saida, Naama, El Bayadeh » et dans les régions sahariennes « Bachar, Ghardaia, Tindouf, Ouargla, Tamanrasset » (Fortas, 1990 et Zitouni, 2016). Fortas (1990) a été ajouté aussi que, en Algérie il y a trois genres primordiaux répartis dans des différentes régions : le genre *Terfezia* (terfez rouge) représenté par *Terfezia arenaria*, *T. claveryi* et *T. boudieri*, *Tirmania* (terfez blanche) par *Tirmania nivea* et *T. pinoyi* et le genre *Picoa* (terfez noir) qui renferme les trois espèces : *Picoa lefebvrei*, *P. juniperi* et *P. carthusiana*. (Fortas, 1990; Fortas, 2009; Zitouni, 2010 et Zitouni *et al.*, 2015). Zitouni *et al.* (2018) signalées la présence de deux espèce de terfez de genre *Terfezia* dans les plaines, les hautes plaines steppique et les zones disertique *Terfezia eliocrocae* (Bouchouat, Tiaret, Béchar) et *Terfezia crassiverrucosa* (Chrea, Tebessa et Bouchouat, Tiaret).

1.3 Taxonomie

Ces champignons classés dans la catégorie des Ascomycètes hypogé comme des fruits de mycélium, c.-à-d. les champignons qui renferme des spores contenues dans des asques et adaptés à la vie souterraine. Diverses classifications des terfez ont été proposées, la caractérisation et l’identification morphologique « Macroscopique » et « Microscopique » (**voir Annexe 1**),

l'analyse biochimique et l'étude ultra structurale sont la base traditionnelle de classer les truffes du désert (Tulasne et Tulasne, 1851; Trappe, 1971; Krof, 1973; Trappe, 1979; Diez *et al.*, 2002 et Laessoe et Hansen, 2007). Fortas (2009) et Zitouni (2010) ont été révélée que toutes les espèces de terfez appartiennent à l'une des deux familles : Terfeziaceae et Pézizaceae représentés par six genres différents : *Terfezia*, *Tirmania*, *Picoa*, *Balsamia*, *Melanogaster*, *Delastria*.

Selon Krof (1973) classé les truffes du désert dans l'ordre des Tubérales, mais cette classification a été remaniée par Trappe (1979), dont l'ordre des Tubérales a été abandonné et les familles des Terfeziaceae, des Tubéraceae et six autres familles d'espèces hypogées (Pezizaceae, Helvellaceae, Balsamiaceae, Pyronemataceae, Geneaceae, Carbomycetaceae) sont regroupées dans l'ordre Pezizales (Hansen *et al.*, 2006; Laessoe et Hansen, 2007).

L'utilisation des nouvelles techniques de biologie moléculaire « PCR-RFLP, PCR-RAPD », séquençage de l'ADNr « région ITS, 18S, 28S et 5.8S » ont retracées et révélées la diversité génétique au sein des genres et espèces des terfez (O'Donnell, 1997; Diez *et al.*, 2002; Kovacs *et al.*, 2008; Sbissi *et al.*, 2010; Trappe *et al.*, 2010; Kovacs *et al.*, 2011a; Kovacs *et al.*, 2011b et Trappe *et al.*, 2014). Cette étude phylogénétique permet de transféré quelque genre d'une famille à l'autre, de Terfeziaceae à celle des Pézizaceae tels que le genre *Terfezia* (Fortas, 2009; Zitouni, 2010 et Dib-Bellahoual, 2012). Pour la première fois l'identification moléculaire et morphologique réalisé par Dafri et Beddiar (2017) enregistré la présence de l'espèce *Tuber gennadii* (Chatin) Patouillard 1903 en Algérie.

1.4 Cycle hypothétique de truffe du désert :

Les truffes du désert peuvent être disséminé afin d'assurer leur progéniture, en maturité les ascocarpes émettent des odeurs typiques comme des signaux chimiques attirant les animaux mycophages tels que les porcs, oiseaux, suricates, élan etc. (Dib-Bellahoual, 2012). Tous les animaux mycophages se nourrissent de corps fructifères et disséminent les spores lors de la défécation (Alsheikh et Trappe, 1983b; Diez *et al.*, 2002; Laessoe et Hansen, 2007 et Trappe *et al.*, 2008). A titre d'exemple les ascospores de *Picoa lefebvrei* seraient dispersées par de nombreuses espèces d'alouettes de coursiers et de Huppés (Laessoe et Hansen, 2007). D'autres auteurs assez également suggèrent un autre mode de dissémination des spores comme l'effet de l'abrasion des particules de sable libère les ascospores et le vent se charge de les emporter plus

loin pour infecter d'autres sites (Trappe et Castellano, 1992; Fortas et Chevalier, 1992; Alsheikh, 1994; Diez *et al.*, 2002 et Trappe *et al.*, 2008)

Des diverses propositions ont été décrit. Certains auteurs signaux que le cycle de vie des terfez est mal connu et certains étapes du cycle sont hypothétique (Fortas, 1990; Roth-Bejerano *et al.*, 2004; Kagan-Zur et Roth-Bejerano, 2008 et Kagan-Zur *et al.*, 2008) et suggèrent un modèle de deux phases, phase végétative et l'autre reproductrice. Fortas (2009) montré que le cycle de vie des terfez se déroule entièrement dans le sol et dépend d'une plante hôte avec laquelle ce champignon forme une association mycorhizienne (**Fig. 1**).

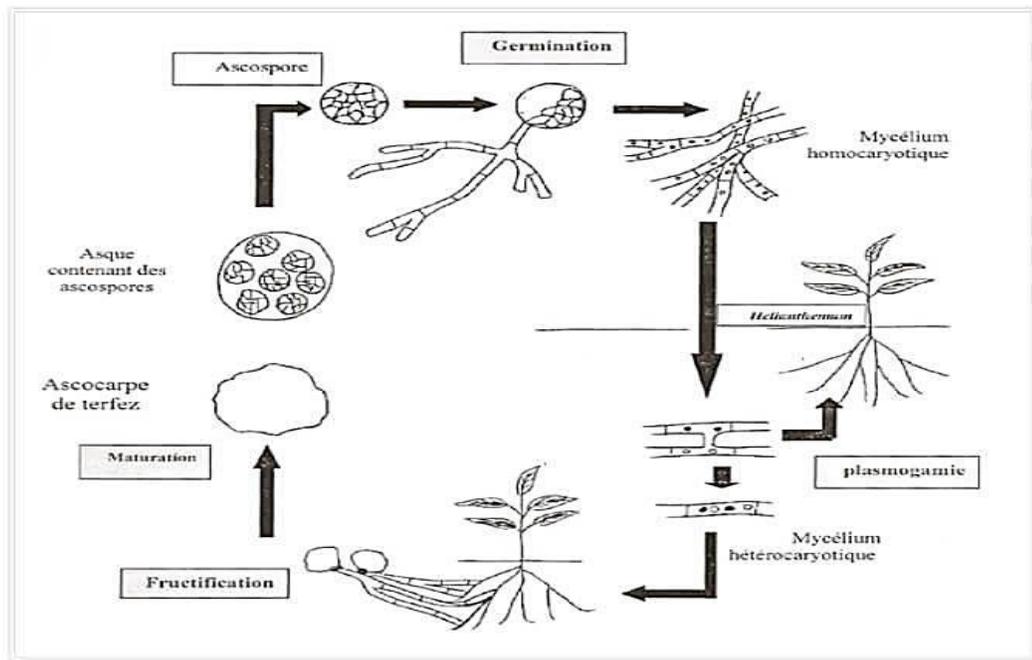


Figure 1: Cycle hypothétique de vie du terfez du genre *Terfezia* (Fortas, 1990).

Selon Kagan-Zur et Roth-Bejerano (2008) et Kagan-Zur *et al.* (2008) le cycle biologique hypothétique des truffes du désert *Terfezia* et *Tirmania* est comme suivant:

Le mycélium homocaryotique primaire naît à partir de la germination des ascospores après l'altération de leurs parois épaisse, qui destiné soit par la voie végétative et établit une association mycorhizienne au voisinage des racines de plantes appartenant à la famille des Cistacées, soit par plasmogamie où il produit un mycélium secondaire hétérocaryotique avant que l'infection de l'hôte se produise. Les mycorhizes ainsi formé, vont émettre à leur tour des mycéliums qui vont

après enchevêtrement, donner des primordiums qui après caryogamie et méiose donneront naissance à des terfez matures.

1.5 Conditions bioécologique de truffe du désert

La vie des truffes du désert peut être influencée par plusieurs facteurs parmi eux les trois éléments clés qui aboutissent à la formation des terfez se sont : le sol, le climat comme des facteurs abiotique et la plante hôte comme facteur biotique qui favorisent ou inhibent la production d'ascocarpes (Murat, 2004; Fortas, 2009; Dib-Bellahoual, 2012 et Zitouni, 2016). Car la caractérisation bioécologique, à travers quelques paramètres physico-chimique et climatique est jugée utiles pour connaitre les caractéristiques des sites où poussent ces champignons ascomycètes mycorrhiziennes (Bradai *et al.*, 2013).

1.5.1 Facteur édaphique

Les caractéristiques physico-chimiques exercent une action prépondérante sur la croissance de ces champignons. Est un facteur édaphique capital pour le développement des terfez (Fortas, 2009). Selon (Zitouni, 2010) cité que la majorité des chercheurs parmi eux (Kiryaly et Bratek, 1992; Taylor *et al.*, 1995; Kagan-Zur, 1998; Hussain et Al-Ruqaie, 1999; Khabar *et al.*, 2001; Diez *et al.*, 2002; Khabar et Najim, 2004 et Mandeel et Al-Laith, 2007) montrent que les terfez affectionnent des sols sablonneux, bien aérés et légers permettant une meilleure circulation des éléments minéraux, alcalins ou acides et relativement pauvre en matière organique. (Chevalier *et al.*, 1984; Fortas, 1990 et Fortas, 2009) montre ainsi, en Algérie le terfez (*Terfezia boudieri*, *T. claveryi*, *T. arenaria*, *Tirmania pinoyi* et *T. nivea*) préfère le sol Calcaire, avec un pH basique, pauvre en matière organique et en phosphore, bien pauvre en potassium et riche en magnésium. Et sa confirmé par (Bradai *et al.*, 2013) qui ont été montré que la truffe blanche *Tirmania nivea* distribué dans la région de Ouargla (Oued M'ya) colonise des terrains sableux à pH fiblement alcalin et peu fertile. Par contre l'analyse du sol qui a été réalisée par (Dafri et Beddiar, 2017) montrent que *Terfezia arenaria* pousse dans un sol limoneux sableux acide.

En Espagne, Maroc, Tunisie, Iran, Irak, Koweït et Arabe Saoudite, l'espèce *Terfezia boudieri* et *T. claveryi* sont abondant aussi dans des sols sablonneux, calcaire, à une large gamme de pH « basophile-calcicole » et faible en matière organique, des fois dans les sols gypseux ou

faiblement limoneux (Khabar *et al.*, 2001; Khabar, 2002; Diez *et al.*, 2002; Gutierrez *et al.*, 2003; Ammarellou et Saremi, 2007 et Morte *et al.*, 2009). Mais n'oublier pas qu'il y a des autres espèces acidophiles comme l'espèce *Terfezia leptoderma* et *Terfezia arenaria* en Espagne, Italie et Maroc (Chevalier *et al.*, 1984; Janex-Favre *et al.*, 1988; Khabar *et al.*, 2001; Diez *et al.*, 2002 et Morte *et al.*, 2009).

1.5.2 Facteur climatique

La croissance, développement et la fructification liée à l'intensité et à la distribution saisonnière de précipitations (Alsheikh et Trappe, 1983a; Kagan-Zur, 1998 et Fortas, 2004). Le climat considéré comme un facteur primordial agit pas seulement sur la croissance et la fructification des ascocarpes, mais agit aussi sur la distribution des plantes hôtes symbiotique (Chevalier, 2014). La pluviométrie selon Bradai *et al.* (2013) est le facteur climatique qui permet l'accomplissement du cycle de développement de ce champignon. Fortas (2004) et (2009), a été ajouté que Les terfez prospèrent sous des climats chauds et exigent des hivers et des printemps pluvieux, sa maturité n'est obtenue qu'à la suite des pluies orageuses de printemps, suivies d'une période de sécheresse. Des précipitations annuelles bien réparties d'Octobre à Mars donnent de bons résultats pour la récolte des terfez en Algérie qui a lieu en Décembre- Janvier dans des zones arides et en Mars- Avril dans les zones semi-arides. En générale la pluviométrie annuelle est de 50 à 380 mm dans les régions productrices des truffes de désert (Morte *et al.*, 2008). Le bonne répartition des pluviométries assure des bonne production, cette quantité de pluies varie toutefois selon les pays (**Tab. 1**).

D'après Khabar *et al.* (2001), Pegler (2002) et Feeney (2003) Les truffes du désert exigent une pluviométrie annuelle particulière, des précipitations excessives, mal réparties ou tardive peuvent pourrir les spores et ralentie la production, donc perturber le cycle biologique des terfez. La relation « terfez – précipitation » a été bien illustrée par l'artiste aborigène Betsy Napangardi Lewis, qui représente la formation des terfez Australienne lors d'intenses précipitation (Trappe *et al.*, 2008).

Tableau 1: La précipitation nécessaire pour la production des terfez

	Pays	Précipitation annuelle (mm)	Le Mois adapté	Source
L'Afrique	Algérie (nord du Sahara)	124.14 avec des pluies d'automnales de 49.2	Octobre - décembre	(Bradai <i>et al.</i> , 2014).
	Egypte	70 à 120	D'automne et des printemps humide et orageux	(El-Kholy et Ali, 1991).
	Maroc	240	Avant le mois de mars	(Khabar, 2002).
	Sud d'Afrique	156 à 362	Novembre à Avril	(Trappe <i>et al.</i> , 2008)
Europe	Europe du sud	100 à 350	Avant le début du mois d'Octobre	(Morte <i>et al.</i> , 2008)
Moyen-Orient	Koweït	160 à 180	Octobre - mars	(Awameh et Alsheikh, 1980 et Alsheikh et Trappe, 1983a)
	Qatar	47 à 84	Novembre – Décembre et Février	

Chapitre 2

Symbiose mycorhizienne

1 Symbiose mycorhizienne

Le terme mycorhize a été créé en 1885 par Frank (Mousain, 1983 et Smith et Bonito, 2012). Désigne l'association symbiotique d'un champignon filamenteux et une racine (Duhoux et Nichole, 2004). Les mycorhizes sont à l'origine d'un échange bidirectionnel des ressources nutritionnelles « éléments minéraux et de produits biologiques de synthèse » favorisant le développement et la survie des deux partenaires. Plusieurs espèces de *Terfezia* et *Tirmania* forment des mycorhizes avec des racines d'espèces de Cistacées vivaces et annuelles, en particulier le genre *Helianthemum* (Slama *et al.*, 2012).

1.1 Structure des mycorhizes

Peuvent classées en plusieurs catégories, selon divers critères : anatomique, morphologique, physiologique et écologique. D'après Smith et Read (1997) décrivent sept types de mycorhizes dont les endomycorhizes à arbuscules (AM), les ectomycorhizes (ECM), les ectendomycorhizes ainsi que des mycorhizes arbutoïdes, monotropoïdes, éricoïdes et orchidoïdes (**voir Annexe 2**). Dont l'ectomycorhize se développe dans les espaces intercellulaires des racines « apoplaste » et pour la symbiose arbusculaire, manifeste une colonisation purement intracellulaire (Smith et Read, 1997 et Smith et Read, 2008). Nultsch (1998) classée les mycorhizes en trois principaux groupes de symbiose : endomycorhize, ectomycorhize et ectendomycorhize. Le cylindre vasculaire d'une racine est entouré d'une couche de cellules qui est l'endoderme, entre l'épiderme et l'endoderme on trouve le parenchyme cortical, où s'installent les mycéliums des champignons mycorhiziennes (Fortin *et al.*, 2008).

1.2 Plante hôte

Selon Chevalier *et al.* (1984); les terfez vivent en association symbiotique mycorhizienne avec des plantes herbacées ou arbustives, de la famille Cistacées (**Fig. 2**). Alsheikh (1998), Moreno *et al.* (2008) et Fortas (2009) ont été montrées que les terfez en Algérie vivent en association mycorhizienne surtout avec des Cistacées annuelles ou pérennes, appartenant de genre « *Helianthemum*, *Cistus*, *Fumana* ». Mais ils peuvent ainsi s'associer avec d'autre plantes herbacées ou ligneuses, parmi eux : des Chênes, Pins, Acacias, Cistes. Selon certains auteurs, l'olivier (khanaqa, 2006) l'arganier (Diouf *et al.*, 2011) serait aussi des partenaires végétaux intéressants pour les terfez. Tadjia (1996) à signaler que des espèces céréalières (blé, orge, maïs)

ont formés des endomycorhizes avec deux espèces de terfez Algérienne (*Terfezia calveryi* et *Tirmania nivea*).

En Algérie, L'*Helianthemum lippii* vivent en symbiose avec *Terfezia boudieri* (Chatin), *T. claveryi* (Chatin), *T. eliocrocae*, *Tirmania pinoyi* (Maire), *T. nivea*, *Picoa juniperi* (Vittad) et *P. lefebvrei* (Pat). *H. salicifolium* vivent en symbiose avec *Terfezia boudieri* (Chatin), *T. claveryi* (Chatin), *T. eliocrocae*, *T. crassiverrucosa* et *P. lefebvrei* (Pat). *H. guttatum* installée une association mycorhizienne avec *Terfezia arenaria*. *H. hirtum* vivent en symbiose avec *Terfezia boudieri* (Chatin), *T. claveryi* (Chatin), *T. eliocrocae*, *T. crassiverrucosa*, *Tirmania pinoyi* (Maire), *P. lefebvrei* (Pat). *H. ledifolium* crée la symbiose avec *T. boudieri* (Chatin). *H. sp* avec *T. boudieri*, *T. claveryi* (Chatin) et *Tirmania pinoyi* (Maire) alors que le **Pins** avec *T. olbiensis* (Bordallo *et al.*, 2013; Zitouni *et al.*, 2018 et Fortas *et al.*, 2021). *Tuberaria gutatta* vivent en symbiose avec *Terfezia arenaria* (Dafri et Beddiar, 2017) (**Fig. 2-B**).

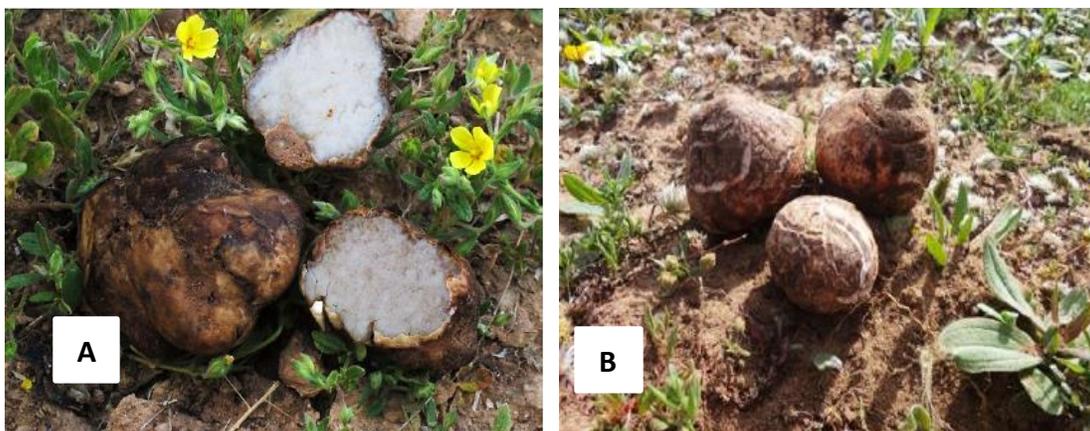


Figure 2: Association symbiotique de genre *Terfezia* avec sa plante hôte

(A) Présentant l'association symbiotique de *Terfezia eliocrocae* avec *Helianthemum almeriense* et *H. violaceum* en Espagne (Murcia) (Bordallo *et al.*, 2013); (B) présentant la symbiose entre *Terfezia arenaria* (Moris) Trappe (1971) avec des plantules jeunes de *Tuberaria gutatta* en Algérie (Dafri et Beddiar, 2017).

1.2.1 Systématique d'*Helianthemum*

Le genre *Helianthemum* comprend 110 espèces réparties principalement à l'ouest du bassin méditerranéen (Stevanovic *et al.*, 2009; Zitouni, 2010).

Embranchement : Spermaphytes.

Sous-embranchement : Angiospermes.

Classe : Eudicots ou Eudicotylédones.

Sous-classe: Rosidées

Ordre: Malvales

Famille: Cistacées

Genre: *Helianthemum*

Espèce: *H. lippii*, *H. guttatum*, *H. hirtum*, *H. salicifolium*, *H. sessiliflorum*, *H. ledifolium*, *H. almeriense*.

Le (**Tab. 2**) montre le mode de vie de quelques plantes hélianthèmes.

Tableau 2: Mode de vie de quelque espèce hélianthèmes (Zitouni, 2010 et Zitouni, 2016).

Plante hôte	Mode de vie	Plante hôte	Mode de vie	Plante hôte	Mode de vie
<i>H. lippii</i>	Vivace	<i>H. canariense</i>	Vivace	<i>H. salicifolium</i>	Annuelle
<i>H. almeriense</i>		<i>H. nummularium</i>		<i>H. apertum</i>	
<i>H. apenninum</i>		<i>H. squamatum</i>		<i>H. macrosepalum</i>	
<i>H. hirtum</i>		<i>H. ledifolium</i>	Annuelle	<i>H. guttatum</i>	

1.2.2 Appellation d'*Helianthemum*

Leur nom vient du grec « *helios* » qui veut dire soleil et « *anthos* » signifiant fleur (Lagrange et Edme-Jean, 1794; Laguesse, 1877) et Brizicky, 1964) selon (Quezel et Santa, 1963) les espèces d'hélianthèmes vivaces sont appelées aussi « *Ergiga*, *Fegga*, *Serd* ou *Zefzel* » et les espèces annuelles « *Qecis el terfas* ou *Oum el terfas* » (Kermani, 2013).

Partie

Expérimental

Chapitre 3

Matériel et méthodes

1 Station de récolte et préparation du matériel végétal et fongique

1.1 Station de récolte du matériel végétal « *Helianthemum* » et fongique « Truffe du désert »

A base des différents études scientifiques qui nous avons traité (voir Annexe 3), les différentes espèces de terfez et d'*Helianthemum* étudiés ont été proviennent de diverses zones (Tab. 3).

Tableau 3: Station de récolte de truffe de désert et d'*Helianthemum*

Auteur	Plante hôte d' <i>Helianthemum</i>		Truffe du désert (<i>Terfezia</i> , <i>Tirmania</i> , <i>Picoa</i>)	
	La plante	La station	Le terfez	La station
(Dexheimer et Chevalier, 1984)	<i>H. salicifolium</i>	Koweït	<i>Terfezia claveryi</i> et <i>T. leptoderma</i>	Koweït France
(Roth-Bejerano <i>et al.</i> , 1990)	<i>H. sessiliflorum</i>	la Palestine occupé	<i>Terfezia leonis</i>	la Palestine occupé
(Fortas et Chevalier, 1992)	<i>H. guttatum</i>	Algérie (Zeriguet)	<i>T. arenaria</i> , <i>T. claveryi</i> et <i>Tirmania pinoyi</i>	Algérie (Zeriguet et Ouest de Naama)
(Morte <i>et al.</i> , 1994)	<i>H. almeriense</i>	Espagne	<i>Terfezia claveryi</i>	Espagne
(Kovacs <i>et al.</i> , 2003)	<i>H. ovatum</i>	Hungary (Fulophaza)	<i>Terfezia terfezioides</i>	Hungary (Kunfehérto)
(Slama <i>et al.</i> , 2010a et Slama <i>et al.</i> , 2012)	<i>H. sessiliflorum</i>	Tunisie (Ben Guardane)	<i>T. boudieri</i>	Tunisie (Ben Guardane)
(Zitouni <i>et al.</i> , 2014)	<i>H. ledifolium</i> <i>H. lippii</i>	Mostaganem (Stidia) et Béchar	<i>T. leptoderma</i> <i>T. claveryi</i>	France Stidia et Ksar Chellala

Gutierrez (1996), Morte et Honrubia (1997), Morte *et al.* (2000), Gutierrez *et al.* (2003), Morte *et al.* (2010), Navarro-Rodenas *et al.* (2012) et Arenas *et al.* (2018) ont été travaillés par les mêmes échantillons végétal (*H. almeriense*) et fongique (*T. claveryi*) aussi, collectés de l'Espagne (Zarzadilla de Totana, Murcia et Lorca). En plus de *T. claveryi* Gutierrez (2003) a été travaillé par *P. lefebvrei* aussi. Turgeman *et al.* (2011) et (2016) ont été vérifié leurs études utilisant la plante hôte *H. sessiliflorum* et le terfez *T. boudieri* collectées de la Palestine occupé.

1.1.1 Préparation du matériel végétal

Soit pour la condition *in situ* (gnotoxénique) ou *in vitro* (axénique), les échantillons hélianthèmes et avant les utilisées (plantules, racines ou graines) ont été abrasées ou sacrifiées (pour les graines) et désinfectés afin de favoriser et augmenter le taux de leur germination, car leur germination généralement erratique (Morte *et al.*, 2008), multipliées ou micropropagées dans un milieu de culture approprié à l'obscurité. Le milieu utilisé est MMN, MS, MH ou dans un milieu gélosé ça dépend l'étude (Fortas et Chevalier, 1992; Morte *et al.*, 1994; Morte *et al.*, 2000 et Gutiérrez *et al.*, 2003).

1.1.2 Préparation du matériel fongique

La préparation d'inoculum a été réalisée à base des corps fructifié qui ont été desséchés et conservés à une température ambiante. L'inoculum est constitué soit de culture mycélienne, spores mature ou de suspension sporales. Isolées à partir d'ascospores, ces ascospores ont été mise à germée sur un milieu nutritif ça dépend l'étude aussi (Fortas et Chevalier, 1992; Morte *et al.*, 1994; Morte *et al.*, 2000 et Gutiérrez *et al.*, 2003).

1.1.3 Inoculation

L'inoculation (échantillon d'hélianthème-Inoculum) a été réalisé soit dans un milieu de culture spécifique préparé et stérile (condition axénique) ou en serre dans des pots (sol collectée de la même zone de production de terfez + vermiculite) bien autoclavées (condition gnotoxénique) (Fortas et Chevalier, 1992; Morte *et al.*, 1994; Morte *et al.*, 2000; Gutiérrez *et al.*, 2003; Slama *et al.*, 2010 et Zitouni *et al.*, 2014).

1.1.4 Substrat naturel

La stérilisation des substrats de culture (terre truffière naturel) réalisé par autoclave à 100-120°C environ 60min. Ces substrats variaient par leurs propriétés physique (texture) et chimiques (fertilité, richesse en phosphore) qui sont plus ou moins indispensable à l'établissement de la symbiose. Ont été utilisés telles quelles ou dilués avec du sable, pour les rendre plus légère et également diminuer leur fertilité (Fortas et Chevalier, 1992).

2 Provoque mycorhizienne contrôlée

Même si l'objectif se diffère d'une étude à l'autre, les auteurs ont été basé sur la synthèse mycorhizienne contrôlée ou mentionnée pour vérifiées leurs objectifs. Les expériences de synthèse mycorhizienne concentrée tout d'abord sur la micropropagation ou le semis des plantes héliaanthèmes et la croissance des spores ou des mycéliums dans des milieux nutritifs. Cette synthèse est difficile à obtenir et dépend du champignon impliqué, de la qualité du substrat et des conditions de culture bien définie (humidité, lumière et température). Voilà le (**Tab. 4**) ci-dessous montre les méthodes de culture réalisées par les différents auteurs et leurs conditions.

Tableau 4: Méthodes d'étude utilisés par divers équipements

Auteurs		(Fortas et Chevalier, 1992)	(Morte <i>et al.</i> , 1994 et Morte <i>et al.</i> , 2000)	(Gutiérrez <i>et al.</i> , 1996 et Gutiérrez <i>et al.</i> , 2003)	(Zitouni <i>et al.</i> 2014)
Méthodes d'étude	<i>In vitro</i>	Oui	Oui	Oui	Non
	<i>In situ</i>	Oui	Non	Oui	Oui
Objectif d'étude		Effectué une approche des facteurs des milieux à l'origine de la variabilité morphologique observée.	Mycorhization <i>in vitro</i> des plantes <i>H. almeriense</i> micropropagées avec <i>T. claveryi</i> et l'effet du stress hydrique sur l'association formé.	La mycorhization <i>in vitro</i> des <i>H. almeriense</i> avec <i>T. claveryi</i> et la caractérisation morphologique des mycorhizes formées.	La caractérisation morphologique des mycorhizes formés entre <i>Terfezia</i> et Plantes de Cistacées dans des conditions gnotoxénique.
Forme bio-végétal	<i>In vitro</i>	Graines	Plantes enracinés	Plantules / Racines	-
	<i>In situ</i>	Plantes	-	Racines	Graines
Stérilisation		Eau oxygénée 33V	-	-	35% H ₂ O ₂
Milieu de multiplication		Milieu gélosé (malte 1% ou eau gélosée)	MS	MS	-

Forme bio-fongique	<i>In vitro</i>	Mycélium	Tissus de corps fructifié / Mycélium	Mycélium	-
	<i>In situ</i>	suspension sporales	-	Spores ou mycélium	suspension sporales
Croissance		Milieu gélosé (malte 1%)	MMN	MMN	-
Inoculation	<i>In vitro</i>	Agar nutritif (malt à 1%) 100ml+ 150 ml perlite imprégnée	MMN / MH	MH et MMN	-
	<i>In situ</i>	Pots (sol de truffières + sable)	-	Pots (sol + vermiculite)	Pots (sol stérile)
Concentration de Phosphore	<i>In vitro</i>	P = 34.2 mg/L (P/2, P/5 et P/10)	-	42.5 ppm	-
	<i>In situ</i>	P/2	-	28.7 ppm	200ppm / 100 ppm
Température	<i>In vitro</i>	23 ± 1°C	25 ± 2°C	25 ± 2°C	-
	<i>In situ</i>	20 ± 1°C	-	-	-
Lumière	<i>In vitro</i>	9 h	16h	16h	-
	<i>In situ</i>	Naturelle	-	-	Naturelle

Humidité	<i>In vitro</i>	60%	-	-	-
	<i>In situ</i>	-	-	-	-
Arrosage	<i>In vitro</i>	-	-	-	-
	<i>In situ</i>	100ml d'eau ou solution nutritif	-	-	100ml
Période d'inoculation	<i>In vitro</i>	3 mois	2 mois	2mois	-
	<i>In situ</i>	5 mois	-	-	4-7 mois
Référence de méthode		(Chevalier <i>et al.</i> , 1973; Chevalier et Grente, 1979)	(Morte et Honrubia, 1992 et Morte et Honrubia, 1997).	(Morte et Honrubia, 1994; Morte et Honrubia, 1995 et Gutiérrez, 2001)	(Chevalier <i>et al.</i> , 1973 ; Chevalier et Grente, 1979 et Fortas et Chevalier, 1992)

Après 2 mois d'inoculation qui a été effectuée par Morte *et al.* (2000) dans des conditions axéniques (**Fig. 3**), les plantes ont été transférées et acclimatées dans des conditions de serre dans des pots contenant de substrat stérilisé par autoclave. Après 4 mois d'acclimatation en pépinière, les plantes mycorhizés et non mycorhizés, ont été utilisées pour l'expérience de stress hydrique. Au sein de chaque groupe de plantes, quatre ont été arrosées jusqu'à la capacité du récipient et quatre ont subi un stress hydrique (70 % d'eau en moins). Le transfert des plantules mycorhizés à des conditions en serre aussi réalisé par (Gutierrez *et al.*, 1996).

D'autres publications ont été basées sur la méthode *in vitro* (Roth-Bejerano *et al.* 1990) où ont été inoculés *H. sessiliflorum* avec *T. leonis* dans un milieu agar préparé contenant le charbon actif et de terre provenant d'une zone de truffes naturelles (40% d'humidité, 25°C et 16h de lumière), la même essaye été réalisée par (Kagan-Zur *et al.*, 1994) en présence de faible dose de fer et de phosphore. Kovacs *et al.* (2003) également effectuées l'interaction racinaire de *Terfezia terfezioides* avec les plantes *H. ovatum* sur un milieu synthétique gélosé à des différentes concentrations en phosphore. Ainsi que Navarro-Rodenas *et al.* (2012) ont été analysés la symbiose d'*H. almeriense* x les mycéliums de *T. claveryi* en conditions *in vitro* en présence de phosphore inorganique (PO₄H₂K), organique (Phytate) et l'absence de phosphore (PØ) dans un milieu de culture approprié, le traitement au (P) est réalisé dans le milieu de culture (MH).

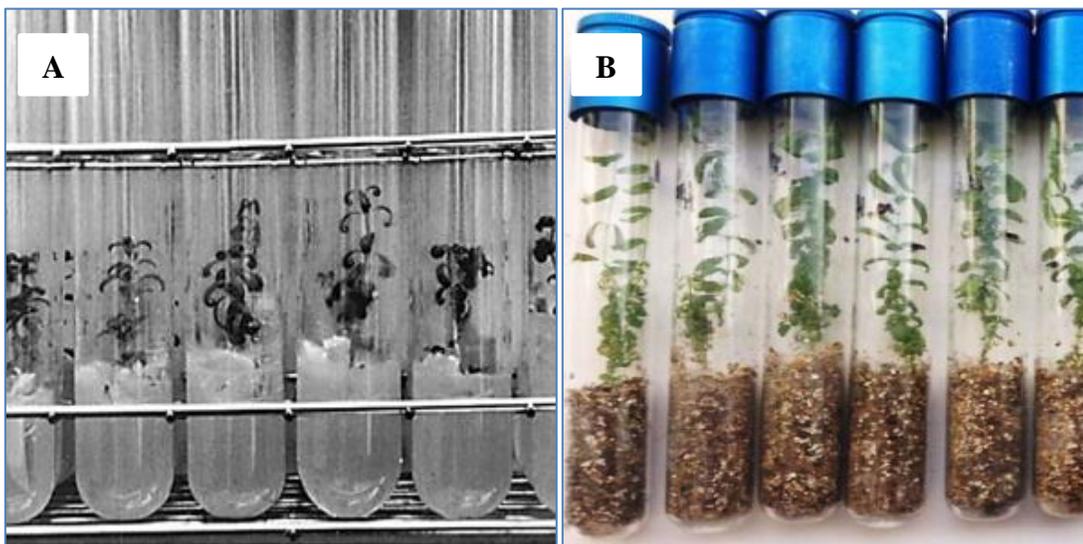


Figure 3: L'inoculation des plantes micropropagées d'*H. almeriense* avec *T. claveryi* dans un milieu de culture *in vitro*.

(A) C'est l'inoculation d'*H. almeriense* et *T. claveryi* réalisé par (Morte *et al.*, 1994); (B) présent l'association effectuée par (Arenas *et al.*, 2018).

Et même la méthode *in situ* ou *in vivo* dont Slama *et al.* (2010) inoculé l'*H. sessiliflorum* avec *T. boudieri* dans deux types de sols, le premier est limoneux-sableux (matière organique = 1,17 %, K = 27,27 ppm, phosphore total = 575 ppm, EC = 353 μ s cm, pH = 7,1) et le second est gypseux (matière organique = 3,45 %, K = 12,8 ppm, phosphore total = 212 ppm, EC = 469 μ s cm, pH = 7,7). Stérilisés dans une étuve de séchage (180°C/30 min) et mélangé avec la vermiculite et l'eau déionisé suivant la méthode de Fortas et Chevalier (1992). Les graines sacrifiées inoculées avec les fragments de corps fructifié selon la méthode de Chevalier *et al.* (1973) et Chevalier et Grente (1979) dans un chambre programmée (T°= 23°C, 50% d'humidité au jour et 75% d'humidité à nuit, 16h lumière et avec 250 μ mol PAR) (**Fig. 4**).



Figure 4: L'inoculation d'*H. sessiliflorum* avec les ascospores de *T. boudieri* dans des conditions gnotoxénique (Slama *et al.*, 2010a).

2.1 Méthode de culture utilisée

Il peut s'agir de toute association (symbiotique ou non) hôte vivant-et autre espèce (Truffe du désert) obtenu par les conditions gnotoxénique ou axénique :

2.1.1 Condition gnotoxénique

L'expérimentation en condition gnotoxénique se fait sur des substrats naturels (sol de terfez) en inoculant avec des suspensions sporales ou mycélienne dont les graines abrasées ont été mises à germer directement dans le substrat de culture. Les suspensions sporales, réalisées par broyage d'ascocarpes comme pour l'obtention de cultures mycéliennes, ont été mises au contact des systèmes racinaires (Fortas et Chevalier, 1992; Slama *et al.*, 2010 et Zitouni *et al.*, 2014).

2.1.2 Condition axénique

Activité expérimentale réalisé sur des conditions définies et régulièrement contrôlées en dehors de leur contexte naturel dont les formes biologiques végétal et fongique passe par une série de stérilisation afin de vérifier qu'il est entièrement exempt de tout autre organisme contaminant. Inoculé dans des boites ou flacons appropriées de culture et les incubé pour un temps donné. La boite doit être un milieu de culture enrichi qui peut permettre le développement de ces échantillons ainsi que celui de l'éventuelle association mycorhizienne. Par conséquent, ces organismes réagissent généralement de manière plus uniforme et reproductible, ce qui simplifie l'interprétation des expériences. Mais il est difficile à manipuler et ça retour à le partie fongique utilisée (mycélium, spores), champignon appliqué et la nature de milieu de culture utilisé (Fortas et Chevalier, 1992; Morte *et al.*, 1994 et Gutiérrez *et al.*, 2003).

2.2 Méthodes d'étude des mycorhizes

2.2.1 L'effet des conditions artificiels (*in vitro*) et naturels (*in situ*)

2.2.1.1 Evaluation de l'infection mycorhizienne

Les associations ont été étudiées sur les plantes âgées appartenant de voie axénique et gnotoxénique. Les observations ont été effectuées sur des racines nettoyés et colorés (Bleu Trypan, acide Fuchsine) suivant la méthode de Phillips et Hayman (1970) (Morte *et al.*, 1994; Gutierrez *et al.*, 1996; Morte *et al.*, 2000; Gutierrez *et al.*, 2003; Slama *et al.*, 2010a et Zitouni *et al.*, 2014). Turgeman *et al.* (2011) assez également évalué la colonisation fongique sous microscope optique comme décrit précédemment (Kagan-Zur *et al.*, 1994).

Pour déterminer le modèle de système mycorhizienne Gutierrez *et al.* (2003) et Zitouni *et al.* (2014) ont été observé les racines par stéréomicroscope.

2.2.1.2 Taux de colonisation mycorizienne

Morte *et al.* (1994), Gutierrez *et al.* (1996), et Gutierrez *et al.* (2003) ont été estimés le taux d'infection des racines par une autre méthode. Selon la méthode de l'intersection du quadrillage (gridline intersect) décrit par (Giovannetti et Mosse, 1980) sous un stéréomicroscope.

2.2.2 L'effet des facteurs de croissance

2.2.2.1 Analyse minéral

Selon Morte *et al.* (2000) l'analyse des solutés inorganique « N, P, K et Na » ont été déterminés suivant la méthode (M.A.P.A, 1981). D'autre part, Slama *et al.* (2012) ont été déterminés l'analyse de « K » par spectrophotométrie d'absorption atomique, et « N et P » ont été dosés par colorimétrie, respectivement par les méthodes Kjeldahl et molybdovanadate, à l'aide d'un spectrophotomètre. Navarro-Rodenas *et al.* (2012) ont été déterminés aussi la teneur en phosphore par la méthode molybdovanadophosphate avec du $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ comme standard et exprimée en microgrammes de P par pousse entière, racine ou plante ou en pourcentage de poids sec.

2.2.2.2 Taux de colonisation mycorhizienne

Fortas et Chevalier (1992), Slama *et al.* (2012) et Zitouni *et al.* (2014) ont été déterminées la fréquence d'infection mycorhizienne suivant la méthode de (Trouvelot *et al.*, 1986), qui consiste à prélever au hasard des fragments d'environ 1cm des systèmes racinaires, après coloration (ex. Bleu Trypan) sont montés sur une lame de verre dans un mélange de glycérol-acide lactique (V/V) à raison de 10 fragments par lame, et observés au microscope photonique.

La fréquence de mycorhization F (%) est exprimée par : $100 (N - N_0) / N$ ou bien $(n / N) 100$ Où « N » est le nombre total des fragments observés et « N_0 » est le nombre de fragments non infectés. Alors que le « n » exprime le nombre de fragments mycorhizés dans le cas de deuxième relation.

2.2.3 L'effet du mycorhization sur les plantes inoculés

2.2.3.1 Evaluation de la croissance des plantes

D'après Fortas et Chevalier (1992) la croissance des plantes a été évaluée par la mesure de leur hauteur. Selma *et al.* (2012) ont été mesuré la hauteur et le nombre des feuilles des plantes inoculées et non inoculées en plus de ça Zitouni *et al.* 2014 ont été mesuré le poids sec aussi (séchée à 60°C environ 48h). Pareillement, Turgeman *et al.* (2011) ont été déterminés le poids sec des pousses et des racines après séchage pendant 48h à 75°C dans une étuve.

2.2.3.2 Mesure physiologique

D'après Turgeman *et al.* (2011) les mesures de photosynthèse et de transpiration ont été prises avec un PTM-48h (un nouvel appareil portable équipé d'un système automatisé à quatre canaux pour surveiller les échanges de CO₂ et la transpiration des feuilles). Navarro-Rodenas *et al.* (2012). Concernant le Potentiel hydrique, Morte *et al.* (2000) ont été utilisés une chambre sous pression, et effectuées au moment du stress maximal entre 12h00 et 15h00.

2.2.4 L'influence des facteurs biotique

Certains auteurs ont été étudiée l'influence de la plante hôte et l'espèce fongique sur l'association mycorhizienne (Zitouni *et al.*, 2014).

2.3 Analyses statistique

Les effets de traitement de principaux facteurs ont été évalués par une analyse de variance (ANOVA) à un seul facteur ou à deux facteurs, utilisant le logiciel SPSS (V. 11.5.), SPSS (V. 15.), le logiciel statistique STATISTICA (version 5.0, StatSoft) ou le logiciel JMP, et les moyennes des traitements ont été comparées par la différence la moins ségnificative ($P < 0.05$) à l'aide du test de Student (Morte *et al.*, 2000; Turgeman *et al.*, 2011; Slama *et al.*, 2012; Navarro-Rodenas *et al.*, 2012 et Zitouni *et al.*, 2014). En outre, Navarro-Rodenas *et al.* (2012) ont été également analysés les résultats du taux de colonisation et du type mycorhizienne par l'analyse de Chi-square. Fortas et Chevalier (1992) ont été analysés les données par le test Fisher ou de Newman-Keuls.

3 Culture des truffes du désert

Morte *et al.* (2008) ont été développée un protocole de plantation et de gestion simple, utilisant l'expérience acquise au cours des ans. Dans toutes les plantations établies, *H. almeriense* a été sélectionné comme plante hôte mycorhizienne avec *T. claveryi* à Lorca (Murcie, Espagne). En bref, il consiste à planter principalement au printemps, une seule irrigation pendant l'été sec (fin août), de l'ordre de 60-100 l/m², et un désherbage annuel après la troisième année de plantation (Morte *et al.*, 2008).

Chapitre 4

Résultats et discussion

Ce chapitre englobe les résultats obtenus et leur discussion après le traitement des paramètres qui décrit dans le chapitre précédemment et leur analyse d'après toutes les publications scientifique publiés qui adoptées ou mentionnées la synthèse mycorhizienne, réalisés dans les conditions axénique et gnotoxénique à travers divers équipements (Espagnol, Tunisienne, Algérien et d'autres), qui ont été recherchés, étudiés et interprétés les résultats afin de mise en évidence la raison de la formation des divers structures mycorhizial.

1 Examen d'association mycorhizienne

L'examen des plantes héliaanthèmes inoculés avec les divers formes de corps fructifiés fongique à révéler une pourcentage d'infection plus ou moins élevée, type des mycorhizes variables et une croissance bien définie des plantes.

1.1 L'effet des conditions artificiels (*in vitro*) et naturels (*in situ*)

1.1.1 Evaluation de l'infection mycorhizienne

Les premières descriptions des mycorhizes ont été faites par Awameh *et al.* (1979) après une synthèse mycorhizienne entre quatre espèces de terfez du Koweït (*T. boudieri*, *T. claveryi*, *T. pinoyi* et *T. nivea*) avec deux plantes héliaanthèmes annuelles (*H. salicifolium* et *H. ledifolium*) ont abouti à la formation des endomycorhizes sous des conditions gnotoxénique.

Les résultats obtenus par Gutiérrez *et al.* (2003) soutiennent l'idée que les conditions de culture peuvent induire des changements dans la morphologie des mycorhizes, montré bien qu'en conditions naturelles de terrain (non contrôlé) *T. claveryi* avec *H. almeriense* forme une endomycorhize, dans des conditions gnotoxénique elle se transforme en ectendomycorhize, et en ectomycorhize avec un réseau de Hartig dans des conditions *in vitro*. Ces auteurs montre des modèles mycorhizial diverses au niveau des racines de la plante inoculé, (A) c'est le modèle Club-shaped mycorrhiza, (B) le modèle Capitata mycorrhiza, (C) le modèle Moniliform mycorrhiza et (D) c'est le modèle de Branched mycorrhiza (**Figure 5**).

Slama *et al.* (2010) et (2012) ont obtenu des endomycorhizes après l'inoculation d'*H. sessiliflorum* avec *T. boudieri* sur 2 types du sols, Sablo-limoneux et Gypseux, en condition gnotoxénique. La même structure mycorhizial obtenu par Zitouni *et al.* (2014) dans des cultures gnotoxénique d'*H. ledifolium* avec *T. leptoderma* et *H. lippii* avec *T. claveryi* (**Figure 6**). A

propos de l'expérimentation menée par Turgeman *et al.* (2011) l'inoculation d'*H. sessiliflorum* avec *T. boudieri* en conditions *in vitro* a formé des associations ectomycorhizes contrairement au résultat obtenu par Slama *et al.* (2010) en condition gnotoxénique.

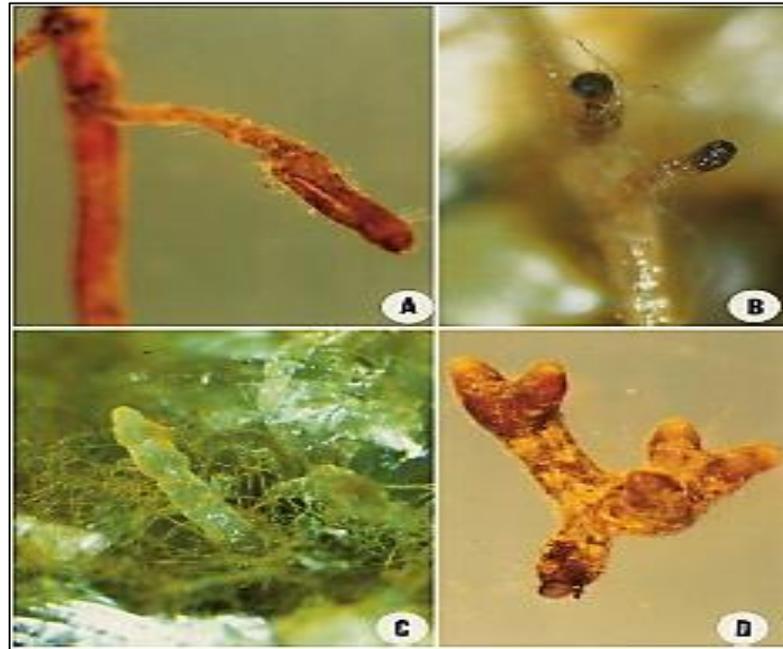


Figure 5: Différents modèles mycorhiziennes dans les racines d'*H. almeriense* observé par stéréomicroscope (Gutierrez *et al.*, 2003).

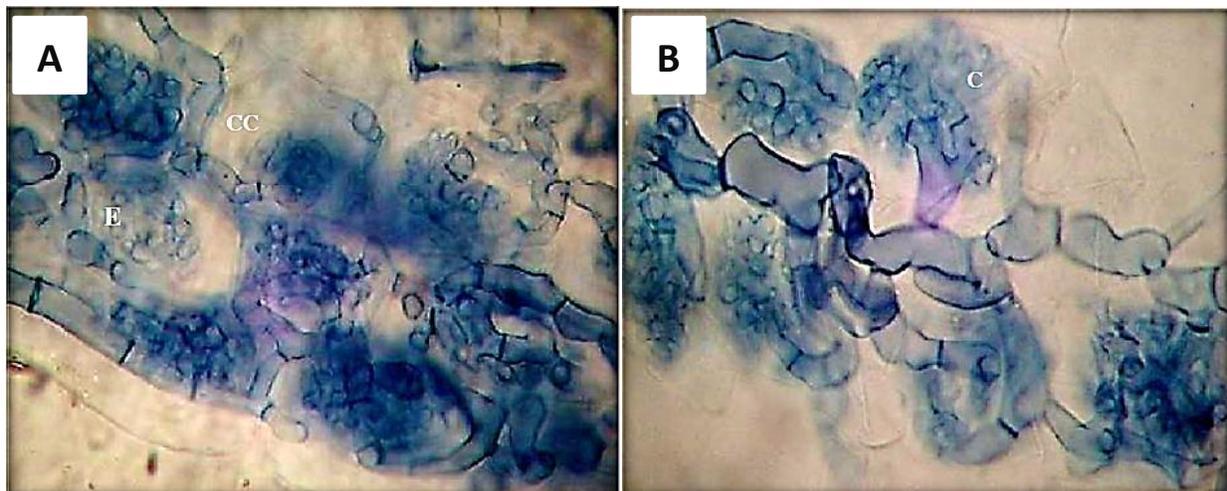


Figure 6: Observation microscopique des racines mycorhizés d'hélianthèmes avec des terfez de genre *Terfezia* (Zitouni *et al.*, 2014).

(A) Montre les racines mycorhizés de la plante *H. ledifolium* synthétisé avec *T. leptoderma* ; (B) montre les racines mycorhizés de la plante *H. lippii* synthétisé avec *T. claveryi*.

1.1.2 Taux de colonisation mycorhizienne

D'autre part, les renseignements concernant la mycorhization in vitro des *Helianthemum almeriense* avec *Terfezia claveryi* par Gutiérrez *et al.* (1996) ont montré que le pourcentage de mycorhization a été de 75%. Ont été décrit comme des ectendomycorhizes, caractérisées par un manteau avec une organisation lâche des hyphes. Des résultats similaires ont été obtenus par Morte *et al.* (1994) dont le pourcentage de mycorhization reçus jusqu'à 80% après 12 semaines d'*H. almeriense* / *T. claveryi* ; ainsi que, la morphologie des mycorhizes formés était similaire à celle des ectendomycorhizes décrites par Fortas et Chevalier (1992).

1.2 L'effet des facteurs de croissance

1.2.1 Analyse minéral

Une augmentation ou diminution des nutriments est censés améliorer ou diminuer la croissance de la colonisation mycorhizial. Awameh (1981) est assez bien documentée l'augmentation de l'infection mycorhizienne par de faibles niveaux de nutriments minéraux pour *Terfezia*. Des nombreux chercheurs ont discuté de l'influence des facteurs abiotiques sur les trois principaux types d'organisation des mycorhizes de la truffe du désert (endomycorhizes, ectendomycorhizes et ectomycorhizes) en se concentrant principalement sur des facteurs nutritionnels tels que la disponibilité ou la source de phosphore.

Les résultats obtenus par l'équipe de Navarro-Rodenas *et al.* (2012) détectés la présence de trois types mycorhiziennes « endo, ecto et ectendomycorhizes » trouvés dans les racines de la même plante *H. almeriense* inoculé avec *T. claveryi* pour les trois traitements au (P) *in vitro* (**Tab. 5**), où une large gamme de quantité d'hyphes intercellulaire a été observée dans les racines sans traitement (PØ). Plus tard, ces auteurs en (2013) ont constaté que la colonisation mycorhizienne entre *H. almeriense* et *T. claveryi* augmente à mesure que la disponibilité de phosphore et d'eau diminue dans le substrat. Cela a conduit à proposer le terme « continuum ectendomycorhize », pour définir la morphologie de cette symbiose intermédiaire (Navarro-Rodenas *et al.*, 2013). Fortas et Chevalier (1992) ont également indiqué une variabilité au niveau de morphologie des mycorhizes où ont été marqués des ectendomycorhizes sans manteau dans les

milieu carencé en phosphore (**Figure 7-A**) avec les trois espèces de terfez (*T. arenaria*, *T. claveryi* et *T. pinoyi*), à des concentrations de phosphate et de sucre plus faibles Morte *et al.* (1994) également ont obtenus des mycorhizes après 4 semaines. Des ectomycorhizes sans manteau avec un réseau de Hartig pareillement obtenu par Fortas et Chevalier (1992) dans les milieux pourvu en phosphore (**Figure 7-B**), cette morphologie est identique à celle obtenus par Chevalier *et al.* (1984) avec le *Terfezia leptoderma* et diverses Cistacée.

Dans le même contexte, Roth-Bejerano *et al.* (1990) et Kagan-Zur *et al.* (1994) ont montrés que les faibles concentrations de phosphore dans le milieu de culture peuvent inhiber la mycorhization entre *H. sessiliflorum* et *Terfezia leonis*, mais que la même mycorhization pourrait être stimulée par une faible concentration en fer (Kagan-Zur *et al.*, 1994). Gutierrez *et al.* (2003) étant donné que la teneur en phosphore du sol utilisé pour les mycorhizes synthétisés en pots était presque la moitié de celle utilisée pour la synthèse *in vitro*, cela peut avoir influencé le type de mycorhizes formé, bien que d'autres facteurs variant entre les conditions expérimentales aient pu contribuer à ce phénomène.

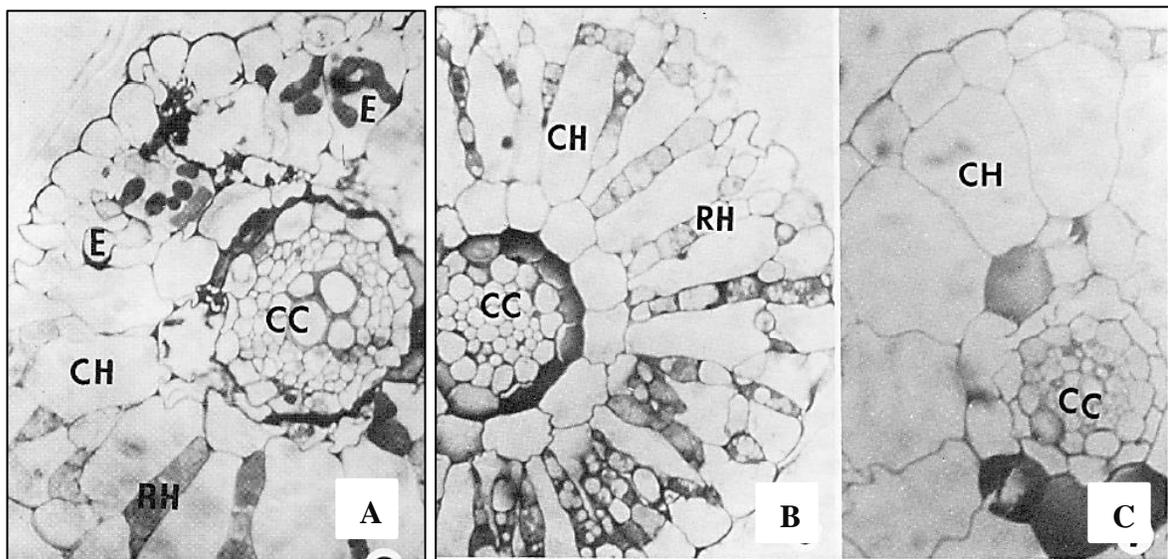


Figure 7: Coupes semi- fine des racines d'*H. guttatum* mycorhizés avec *T. arenaria* (Fortas et Chevalier, 1992).

(A) présent des ectendomycorhizes sans manteau avec un réseau de Hartig et des hyphes intracellulaire, (B) présent des ectomycorhizes sans manteau et (C) sont des racines témoins.

Récemment, Morte *et al.* (2020) découvert que le véritable facteur limitant de la croissance *in vitro* de *T. claveryi* n'est pas les nutriments, ni les conditions de croissance, mais la carence en certains facteurs de croissance, tels que les vitamines impliquées dans les voies cataboliques du glucose, que le champignon peut ne pas être en mesure de synthétiser.

1.2.2 Taux de colonisation mycorhizienne

Concernant le taux de colonisation Navarro-Rodenas *et al.* (2012) trouvés que les plantes ont reçu du phosphore inorganique (Pi) et du Phytate (Phy) ont montré un taux de colonisation faible, tandis que les plantes qui poussaient sans P (PØ) présentaient le pourcentage de colonisation le plus élevé (30,3 %) (**Tab.5**). Ces résultats supportent ceux obtenus par Fortas et Chevalier (1992) ont marqués une fréquence élevée reçus jusqu'à 96% avec *Tirmania pinoyi* en condition axénique et de 98.6% en condition gnotoxénique sur des milieux carencé en phosphore, mais cela n'empêche pas l'inoculation avec les autre espèces de terfez *T. arenaria* et *T. claveryi* de donner des pourcentages élevées. Alors que les résultats de l'association d'*H. ovatum* et *T. terfezioides* effectué *in vitro* par Kovacs *et al.* (2003) à indiqué une colonisation des cellules et le remplissage des cellules hôtes par les hyphes de *T. terfezioides* augmentent légèrement avec l'augmentation de la teneur en phosphate. De plus, il a déjà été montré que la formation de mycorhizes est affectée par le statut en phosphate du milieu (Smith et Read, 2008). En effet, l'équipe tunisienne Slama (2009) et Slama *et al.* (2012) ont montré que le taux d'infection mycorhizienne entre *H. sessiliflorum* et *T. boudieri* varie en fonction de type du sol utilisé, il est de 90% sur un sol sablo-limoneux, et de 52% sur un sol gypseux. Des observations analogues ont été mentionné par Zitouni (2010) avec des terfez Algérienne.

L'essai impliqué par Arenas *et al.* (2018) utilisant la conception Box-Behnken produit un biomasse mycélienne élevée, a augmenté de 0.3 à 3 g.L⁻¹ de poids sec et de 10.7 à 95.8 mg.L⁻¹ jour⁻¹ de productivité de poids sec. Le mycélium produit a pu coloniser efficacement les racines d'*Helianthemum*, fournissant plus de 50% de colonisation ectomycorhizienne.

Tableau 5: Le taux de colonisation et les différents types de colonisation mycorhiziale d'*H. almeriense* traités par phosphore in vitro (Navarro-Rodenas *et al.*, 2012).

Traitement (P)	Colonisation (%)	Endomycorhizes (%)	Ectendomycorhizes (%)	Ectomycorhizes (%)
KH ₂ PO ₄ (Pi)	19.3 ± 1.2	19.6 ± 2.9	23.8 ± 3.1	56.6 ± 3.6
Phytate (Phy)	26.7 ± 1.7	20.2 ± 3.0	33.6 ± 3.5	46.2 ± 3.7
Sans P (PØ)	30.3 ± 1.7	9.3 ± 1.9	23.2 ± 2.8	67.4 ± 3.1

1.3 L'effet du mycorhization sur les plantes inoculés

1.3.1 Evaluation de la croissance des plantes

Une croissance des plantes inoculées bien visible cela est dû également à la mycorhization. Des différences significatives dans la croissance des plantes ont été observées par Zitouni *et al.* (2014) entre les plantes mycorhizés et les plantes non mycorhizés dans deux types de sols en condition gnotoxénique, ces derniers étaient rabougris, chlorotiques et poussaient mal. La hauteur des plantes, le nombre de feuilles, la longueur des feuilles et les valeurs de matière sèche des pousses étaient plus élevées chez les plantes mycorhizés que chez les plantes non mycorhizés (voir Annexe 3). Ces résultats sont analogue à ceux rapportés dans des associations mycorhizienne entre divers espèces d'hélianthèmes et de terfez de genre *Terfezia* et *Tirmania* (Awameh, 1981; Chevalier *et al.*, 1984; Fortas et Chevalier, 1992; Zitouni, 2010; Slama *et al.*, 2012 et Kermani, 2013).

1.3.2 Mesure physiologique

Suivant Turgeman *et al.* (2011) la symbiose mycorhizienne par *T. boudieri* a une influence sur la physiologie des plantes *H. sessiliflorum*, ces auteurs montre un taux d'activité photosynthétique reçus jusqu'à (35%), de transpiration atteint (18%) et de taux de respiration égal à (49%), plus élevée par rapport aux plantes non mycorhizés, ces augmentation permet le développement des plantes inoculés. On outre, un étude similaire mentionnée que le stress hydrique également a un effet sur le taux de colonisation fongique (*H. almeriense* et *T. claveryi*)

qui est de 70% chez les plantes mycorhizées non irriguées et de 48% chez les ceux arrosées régulièrement (Morte *et al.*, 2010 et Morte *et al.*, 2020).

D'autres travaux ont également démontré que la mycorhization a une influence sur la capacité de survie des plantes inoculés. Dont l'étude de Morte *et al.* (2000) et Morte *et al.* (2010) ont montré que des plantes d'*H almeriense* mycorhizées par *T. claveryi*, soumis à un stress hydrique pendant 3 semaines, ont un taux de survie et un potentiel d'eau supérieur aux plantes non mycorhizées. Dans ces conditions de stress la transpiration est plus élevée (92%), la conductance stomatique (45%) ainsi que la photosynthèse (88%) par rapport non inoculés. Ces plantes mycorhizées confrontées à ce stress accumulent plus d'Azote (N), du Phosphore (P) et du Potassium (K). Ceci explique l'intérêt de la mycorhization dans les régions arides (Kermani, 2013). Ces résultats rejoignent ceux qui obtenus par Navarro-Rodenas *et al.* (2011) dont la capacité des mycéliums en culture *in vitro* de *T. claveryi* et *P. lefebvrei* à tolérer le stress hydrique.

1.4 L'influence des facteurs biotique

Les résultats trouvés par l'équipe Algérienne Zitouni *et al.* (2014) ont montré que les espèces de genre *Terfezia* sont capables de former différents types d'associations mycorhiziennes, ces auteurs mentionnent que l'espèce *T. leptoderma* comme *T. claveryi* a montré une grande plasticité pour former une endomycorhize ou une ectomycorhize engainante avec des plantes hôtes annuelles et pérennes dans des conditions de culture *in vivo*. Dont *T. leptoderma* a formé des ectomycorhizes avec l'espèce annuelle *H. ledifolium* alors que la structure ectomycorhize a formé entre *T. claveryi* et l'espèce pérenne *H. lippii*. Chevalier *et al.* (1984) ont attribué également le morphotype mycorhizés à des espèces de champignons.

De même aussi, Dexheimer *et al.* (1985) indique l'endomycorhize formé entre *H. salicifolium* et *T. claveryi* ainsi l'ectomycorhize formé avec *T. leptoderma*, sa montre également la plasticité de la plante hôte hélianthème.

2 Culture des truffes du désert

La culture des truffes du désert est une toute nouvelle activité commerciale avec seulement 16 ans d'histoire (**Fig. 8-C et D**), elle est assez compliquée par les espèces elles-mêmes (espèce

fongique ou l'espèce végétale), la climatologie des zones cultivées, l'effet des facteurs nutritionnels (Morte *et al.*, 2017).

La plantation réalisée par Morte *et al.* (2008) a permis de réduire le temps de fructification du champignon de 23 à 12 mois, dont les plantes mycorhiziennes réagissent rapidement à la gestion et sont capable d'augmenter la production de truffes la saison suivant. Ont été indiqué ainsi, un système d'irrigation goutte à goutte (**Fig. 8-B**) est recommandé pour économiser l'eau, bien que l'arrosage par aspersion (**Fig. 8-A**) soit également efficace. Pour obtenir des plantes adaptées à l'inoculation fongique à partir de graines germées en pépinière, il faut au moins 6 mois, et capable 50% des plantules germées meurent après 4 à 6 semaines au cours de la production; pour ces raisons, la micropropagation de ces espèces végétales est une option intéressante pour la production végétale puisque les plantes adultes sont produites directement (Morte *et al.*, 2008), la micropropagation offre Jusqu'à 90% survie des plantes (Morte *et al.*, 2020).



Figure 8: Plantation des plantes *H. almeriense* avec *T. claveryi* dans l'Espagne (Murcia)

(A) représente le système d'irrigation par aspersion (Morte *et al.*, 2017); (B) par goutte à goutte (Morte *et al.*, 2017); (C) Plantation de plantes mycorhizées *H. almeriense* avec *T. claveryi* à Caravaca (Murcie, Espagne) (Morte *et al.*, 2020); (D) *T. claveryi* ascocarpe fructifiant sous *H. almeriense* en avril.

En 1999, la première plantation de 60 plants de *H. almeriense* mycorhizés par *T. claveryi* a été établie à Zarzadilla de Totana (Murcie, Espagne), la plantation a produit les premières truffes peu de temps avant d'atteindre 2 ans après la plantation (Honrubia *et al.*, 2001) Cette plantation, la première au monde, a continué à produire des truffes jusqu'à présent, avec une moyenne de 250-400 kg/ha (Morte *et al.*, 2008; Morte et Honrubia, 2009). Au cours des 15 dernières années, plus de 30 plantations ont été établies en Espagne, avec environ 50 000 plantes mycorhizées de différentes espèces d'*Helianthemum* (*H. almeriense*, *H. violaceum* ou *H. hirtum*) associées à *T. claveryi* (Morte *et al.*, 2020). De plus, des résultats expérimentaux positifs sont disponibles pour la culture de *Terfezia boudieri* en Tunisie (Slama *et al.*, 2010a) et en Palestine occupée (Morte *et al.*, 2017).

La première étape de la mise en place d'une parcelle de truffes du désert consiste à choisir des plantes hôtes et des espèces fongiques appropriées, bien adaptées aux conditions environnementales et aux caractéristiques du sol. Deux facteurs importants doivent être pris en compte pour stimuler la production d'ascocarpes (mycorhization) : une forte densité de plantes mycorhiziennes et une irrigation adéquate. Selon les travaux de Morte et leurs équipe, la fructifications au champ de *T. claveryi* se produisent de 1 à 3 ans après plantation, en fonction de la qualité des plantes mycorhizées, de l'adéquation du site, de la saison de plantation (printemps ou automne), du cadre de plantation et surtout de la gestion de l'irrigation et l'élimination des mauvaises herbes (Morte *et al.* 2020).

Honrubia *et al.* (2014) a analysée et discuté des résultats de 12 ans d'expérience sur la plantation de truffes désertiques et des facteurs susceptibles de favoriser la formation des truffes dans des zones de production naturelles par le biais de la sylviculture de la truffe de désert. Un exemple réussi de cette sylviculture de la truffe du désert dans les zones de production naturelles a été réalisé à Abu Dhabi (EAU) (Morte *et al.*, 2017).

Des essais préliminaires algériens de transplantation sur le terrain (en condition de serre) ont été réalisés par Kermani (2013) avec des plantes d'*H. lippii* (88 plantes) et deux espèces de *Tirmania* (38 plantes de *Tirmania pinoyi* et 50 plantes de *Tirmania nivea*) à Bechar et après un mois de culture des plantes d'*H. lippii*, la parcelle expérimentale a été exposée pendant 24 h à une vague de froid accompagnée d'importante chutes de neige, pluie et de vent violent passant par fois les 35 km/h, et des brusque changement climatique survenue dans la wilaya de Béchar ont détruit 100% des plantes transplantées. Alors que Zitouni (2010) inoculé in situ les suspensions sporales de *Terfezia boudieri* et *Pinus halepensis* à Mostaganem (forêt de Stidia) après 6 mois ont été bien développées; l'évolution de cette association mycorhizienne *Pinus halepensis* / *T. boudieri* est suivie au champ dans le but d'envisager les possibilités d'application de terfeziculture en Algérie.

Conclusion

Conclusion

Nous avons réalisé une étude théorique d'après l'analyse de 15 articles publiés mentionnée ou concentré l'essentiel du travail sur la synthèse mycorhizienne contrôlée entre les plantes de genre *Helianthemum* et les différents espèces de terfez principalement de genre *Terfezia* et *Tirmania*.

L'analyse des résultats obtenus par ces diverses publications scientifiques soutiennent l'idée qu'il y a nombreux facteurs responsables de la création des types mycorhizial définies. Dont les conditions expérimentales (axénique et gnotoxénique), les facteurs de croissance tels que la teneur en phosphore et les facteurs biotique (la plante hôte et la truffe du désert) peuvent induire des changements dans la morphologie des mycorhizes, formant des ectomycorhizes, endomycorhizes et ectendomycorhizes, avec ou sans réseaux de Hartig et des hyphes intercellulaire ou intracellulaire. Ces structures mycorhiziennes présentent une influence bénéfique pour les plantes (inoculés) où elles ont été développées plus que les plantes non mycorhizées. Egalement avec une capacité de survie à long durée aux conditions défavorables (stress hydrique) et ça bien confirmé par les recherches scientifique de Morte et leur équipe.

Les résultats de Fortas a révèle l'effet de la concentration du phosphore pour les deux cultures axénique (*in vitro*) et gnotoxénique (*in situ*), où les milieux pourvus en phosphore chez les deux conditions de culture formée des ectomycorhizes alors que des ectendomycorhizes formée chez les deux conditions de culture carencée en phosphore. Donc elle affirme vraiment l'influence de la teneur en phosphore de changer l'association mycorhizienne.

Une telle caractérisation (morphologique et moléculaire) est également importante pour évaluer la permanence des mycorhizes dans les conditions de terrain. D'autre part, l'application de telles pratiques de gestion des plantations est nécessaire si l'on veut maintenir la production de truffes du désert car, sans elles, les plantations ont perdu leur productivité après 2-3 ans. Certains auteurs trouvé qu'il est plus judicieux d'utiliser des espèces végétales pérennes qu'annuelles pour maintenir cette culture pendant un minimum de 10 ans.

Ces études montrent la polyvalence structurelle des mycorhizes de l'espèce *Terfezia* formées avec des hôtes naturels. Dans un futur proche et d'un point de vue, des études ultérieures

et profond sont nécessaire afin d'assurer une avancée biotechnologique précieuse pour la production continue et efficace de plantes mycorhiziennes de truffes du désert de haute qualité, et de fournir des quantités suffisantes d'inoculum mycélien de souches de *Terfezia* ou *Tirmania* pour des études sur l'efficacité mycorhizienne et la production de ascocarpes. D'autres études dans des conditions de serre ou de terrain avec un large éventail de combinaisons plante hôte-truffe du désert sont nécessaires.

Alors, dans un but de continuité, la synthèse mycorhizienne gnotoxénique réussie entre les truffes du désert et les différentes plantes hôtes sera d'une plus grande importance pour le choix de la plante hôte potentielle, la plus adaptée aux fortes conditions environnementales du désert, pour la culture planifiée des truffes du désert algérien.

Références

Bibliographique

Référence bibliographique

- Alsheikh, A. (1994). *Taxonomy and mycorrhizal ecology of the desert truffles in the genus terfezia*. thèse de Doctorat, Oregon State University.
- Alsheikh, M., & Trappe, J. (1983a). Taxonomy of *Phaeangium lefebvrei*, a desert truffle eaten by birds . *Can.J.Bot*, 61(7), 1919-1925.
- Alsheikh, M., & Trappe, J. (1983b). Desert truffles: The genus *Tirmania*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 81, 83-90.
- Ammarellou, A., & Saremi, H. (2007). Mycorrhiza between *Kobresia bellardii* (All.) Degel and *Terfezia boudieri* (Chatin). *Turk.J.Bot*, 31, 1-7.
- Ammarellou, A., Wang, Y., Nematzadeh, G., & Tajick, M. (2014). Non-Mediterranean Asian Desert countries. In Kagan-Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A, (eds), Desert truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication. *Soil biology*, 38, 173-192.
- Antonio , R. (2008). *DESERT TRUFFLES*. Récupéré sur Trufamania: <https://www.trufamania.com/desert-truffles.htm>
- Arenas, F., Navarro-Ródenas, A., Chávez, D., Gutiérrez, A., Pérez-Gilabert, M., & Morte, A. (2018). Mycelium of *Terfezia claveryi* as inoculum source to produce desert truffle mycorrhizal plants. *Mycorrhiza*, 28, 691-701.
- Awameh , M. (1981). The response of *Helianthemum salicifolium* and *H. ledifolium* to the infection by the desert truffle *Terfezia boudieri*. *Proceedings of the 11th International congress on the cultivation of Edible Fungi*, (pp. 843-583). Sydney, Australia.
- Awameh, M. S., & Alsheikh, A. (1980). Ascospores germination of Black Kame (*Terfezia boudieri*). *Mycologia*, 72(1), 50-54.
- Awameh, M., & Alsheikh , M. (1979). Laboratory and field study of four kinds of Truffles (Kamah), *Terfezia* and *Tirmania* species, for cultivation. *Mush.Sci*, 10, 507-517.
- Bokhary, H. (1987). Desert truffles" Al-Kamah" of the kingdom of Saudi Arabia. 1. Occurrence, identification and distribution. *Arab Gulf Journal of Scientific Research*, B5, 245-255.
- Bordallo, J., Rodriguez, A., Kaounas, V., Camello, F., Honrubia, M., & Morte, A. (2015). Two new *Terfezia* species from Southern Europe. *Phytotaxa*, 230(3), 239-249.
- Bordallo, J., Rodriguez, A., Munoz-Mohedano, J., Suz, L., Honrubia, M., & Morte , A. (2013). Five new *Terfezia* species from the Iberian Peninsula. *Mycotaxa*, 124, 189-208.

- Bradai, L., Bissati, S., & Chenchouni, H. (2013, Juin). ÉTUDE MYCOLOGIQUE ET BIO-ÉCOLOGIQUE DE LA TRUFFE BLANCHE DU DESERT (*Tirmania nivea* Desf. Trappe 1971) DANS LA REGION DE OUED M'YA (OUARGLA, SAHARA ALGERIEN). *Revue des BioRessources*, 3(1), 6-14.
- Bradai, L., Bissati, S., & Chenchouni, H. (2014). desert truffles of the North Algerian Sahara: Diversity and Bioecology. *Emir.J.Food Agric*, 25(5), 425-435.
- Brizicky, G. K. (1964). The genera of Cistaceae in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum*, 45, 346-357.
- Chatin, A. (1981). Contribution à l'histoire naturelle de la truffe. II Terfas ou Truffes d'Afrique et d'Arabie, genre *Terfizia* et *Tirmania*. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 38, 54-64.
- Chevalier, G. (2014). The European Desert truffles. In Kagan-Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A, (eds), Desert truffles Phylogeny, Physiology, Distributon and Domestication. *Soil biology*, 38, 121-141.
- Chevalier, G., & Grente, J. (1979). Application pratique de la symbiose ectomycorhizenne: Production à grande échelle de plants mycorhizés par la truffe (*Tuber melanosporum* Vitt.). *Proceedings of the 10th international congress on the science and cultivation of edible fungi. X. partie II*. Bordeaux: Mushroom Science.
- Chevalier, G., Grente, J., & Pollacsek, A. (1973). Obtention de mycorhizes de différents *Tuber* par synthèse à partir de spores en conditions gnotoxéniques et à partir de cultures pures de mycélium en conditions axénique et gnotoxénique. *Ann.Phytopathol*, 5, 107-108.
- Chevalier, G., Rioussset, L., Dexheimer, J., & Dupre, C. (1984). Synthèse mycorhizienne entre *Terfezia leptoderma* Tul. et diverses *Cistacées*. *Agronomie*, 210-211.
- Dafri, A., & Beddiar, A. (2017). DESERT TRUFFLES FROM NORTHEASTERN ALGERIAN COASTAL DUNES: ECOLOGY, IDENTIFICATION AND SYMBIOSIS. *J Fundam Appl Sci*, 9(1), 153-169.
- Dexheimer, J., & Chevalier, G. (1984). Etude ultrastructurale comparée des associations symbiotiques mycorhiziennes *Helianthemum salicifolium*- *Terfezia claveryi* et *Helianthemum salicifolium*- *Terfezia leptoderma*. *Can.J.Bot*, 63, 582-591.
- Dib-Bellahoual. (2012). *Etude de pouvoir antimicrobienne et mycorhizien de deux espèces de Terefez Tirmania pinoyi (Maire) Malençon et Terfezia leptoderma Tul.* Thèse de doctorat, Université d'Oran, Biotechnologie, Oran.

- Diez, J., Manjon, J. L., & Martin, F. (2002). Molecular phylogeny of the mycorrhizal desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*), host specificity and edaphic tolerance. *Mycologia*, 94(2), 247-255.
- Diouf, D., Ducousson, M., Gianinazzi, S., Lebrun, M., & Leyval, C. (2011). ecosystems and environment of mediteraneanarea (MYCOMED). *1st international congress on mycorrhizal symbiosis* . 21, pp. 451-452. Mycorrhiza.
- Duhoux, E., & Nichole, M. (2004). *Biologie végétale: association et interaction chez les plantes*. Paris: Ed.Dunod.
- El-Kholy, H. K., & Ali, A. (1991). Truffles in Egypt: Field Survey and Identification. *Micologia e Vegetazione mediterranea*, 7(1), 46.
- Feeney, J. (2003). Desert truffles galor. *Mycological Society of San Francisco*, 54(9), 1-8.
- Fortas , Z., & Chevalier. (1988). Effet des conditions de culture sur la mycorhization d'*Helianthemum guttatum* par trois espèce du genre *Terfezia* et *Tirmania* (truffes du désert). *2ème congresso Internazionale Sul tartufo Spoleto*, (pp. 197-203).
- Fortas, Z. (1990). *Etude de trois espèces de terfez : caractères culturaux et cytologiques du mycélium isolé et associé à Helianthemum guttatum*. Thèse de doctorat d'Etat des sciences, Université d'Oran Es-Senia, INRA Clermont-Ferrand (France).
- Fortas, Z. (2004, Avril 6-8). Ecologie et Production naturelle des *Terfez* d'Algérie. 1er Symp. sur les Champignons Hypogés du Bassin Méditerranéen. Rabat-Maroc.
- Fortas, Z. (2009). Diversité des espèces de terfez (truffes de sables) des zones arides algériennes. Oran: Researchgate.
- Fortas, Z., & Chevalier, G. (1992). Effet des conditions de culture sur la mycorhization de l'*Helianthemum guttatum* par trois espèces de terfez des genres *Terfezia* et *Tirmamia* d'Algérie. *Can.J.Bot*, 70, 2453-2460.
- Fortas, Z., Dib-Bellahouel, S., & Chevalier, G. (2021). Ecology and distribution of desert Truffles in Algeria. *Research Squar*, 1-29.
- Fortin, J. A., Plenchette, C., & Piché, Y. (2008). *Les mycorhizes. la nouvelle révolution verte* (éd. 1èr). (Quae, & MultiMondes, Éd.s.) Canada, Québec: Quae.
- Gutiérrez, A. (2001). *Caracterizacion, identificacion y cultivo en campo de las trufas de desierto*. Thèse de Doctorat, Université de Murcia, Espagne (Murcia).

- Gutierrez, A., Honrubia, M., & Morte, A. (1996). Edible fungi adapted to arid and semi-arid areas. Molecular characterization and in vitro mycorrhization of micropropagated plantlets. *CIHEAM - Options Méditerranéennes*, 20, 139-144.
- Gutierrez, A., Morte, A., & Honrubia, M. (2003). Morphological characterization of the mycorrhiza formed by *Helianthemum almeriense* Pau with *Terfezia clavaryi* (Chatin) and *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire. *Mycorrhiza*, 13(6), 299-307.
- Hansen, K., Lobuglio, K. F., & Pfister, D. H. (2006). Evolutionary relationships of the cup-fungus *Peziza* and *Pezizaceae* inferred from multiple nuclear genes: RPB2, Beta-tubulin, and LSU rDNA. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 36, 1-23.
- Honrubia, M., Andrino, A., & Morte, A. (2014). *Domestication: preparation and maintenance of plots* (Vol. 38). (V. Kagan-Zur, N. Roth-Bejerano, & et al, Éd.s.) Berlin/Heidelberg, Allemagne: Springer-Verlag.
- Honrubia, M., Gutiérrez, A., & Morte, A. (2001). Desert truffle plantation from south-east Spain. In: Edible mycorrhizal mushrooms and their cultivation. *Proceedings of the second international conference on edible mycorrhizal mushrooms-IWEMM2*. New Zealand (Christchurch).
- Hussain, G., & Al-Ruqaie, I. M. (1999). Occurrence, Chemical composition and nutritional value of truffles: An overview. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2(2), 510-514.
- Janex-Favre, M. C., Parguey-Leduc, A., & Rioussset, L. (1988). L'ascocarpe hypogé d'une terfez française (*Terfezia leptoderma* Tul., Tubérales, Discomycètes). *Bull.Soc.Mycol.Fr*, 104, 145-178.
- Kagan Zur, V., & Roth Bejerano, N. (2008). Desert truffles. *Fungi*, 1, 3 special.
- Kagan-Zur, V. (1998). Terfezias, a family of mycorrhizal edible mushrooms for arid zones. *2nd International conf on mycorrhiza (ICOM2)*. Uppsala (Sweden).
- Kagan-Zur, V., & Akyuz, M. (2014). Asian Mediterranean Desert Truffles. In Kagan-Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A, (eds), Desert truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication. *Soil biology*, 38, 159-172.
- Kagan-Zur, V., Raveh, E., Lischinsky, S., & Roth-Bejerano, N. (1994). Initial association between *Helianthemum* and *Terfezia* is enhanced by low iron in the growth medium. *New phytol*, 127, 567-570.
- Kagan-Zur, V., Zaretsky, M., Sitrit, Y., & Roth-Bejerano, N. (2008). Hypogeous *Pezizaceae*: Physiology and Molecular genetics. *Ed.A.Varma.Mycorrhiza*, 161-183.

- Kermani, I. (2013). *Mycorhization contrôlée d'une Cistacée pérenne par les terfez en conditions gnotoxéniques et essai de transplantation sur le terrain*. Mémoire de Magister, University of Oran Es-Senia, Département de Biotechnologie, Oran.
- Khabar, L. (2002). *Etude pluridisciplinaires des truffes du Maroc et perspectives pour l'amélioration de production des (terfess) de la forêt de la Mamora*. Thèse de doctorat d'Etat Es-sciences, Université Mohamed V-Agdal, Rabat (Maroc).
- Khabar, L., & Najim, L. (2004). Truffes du désert du Maroc: état des Recherches. *Premier symposium sur les champignons hypogés du bassin méditerranéen*, (p. 38). Rabat (Maroc).
- Khabar, L., Najim, L., Janex-Favre, M. C., & Parguey-Leduc, A. (2001). Contribution à l'étude de la flore mycologique du Maroc: les Truffes marocaines, (Discomyètes). *Bull.Soc.Mycol.Fr*, 117(3), 213-229.
- Khanaqa, A. (2006). Truffle production in the Kingdom of Saudi Arabia-potential and limitation. *Appl Bot Food Qual*, 80, 14-18.
- Kiraly, I., & Bratek, Z. (1992). *Terfezia terfezoides*, a common truffle in Hungary. *Mycol.Veg.Med*, 7(1), 43-45.
- Kovacs, G. M., Calonge, D., & Martin, M. P. (2011b). The diversity of *Terfezia* desert truffles: new species and highly variable species complex with intrasporocarpic nrDNA ITS heterogeneity. *Mycologia*, 103, 841-853.
- Kovacs, G. M., Trappe, J. M., Alsheikh, A. M., Boka, K., & Elliott, T. F. (2008). *Imaia*, a new Truffles genus to accommodate *Terfezia gigantea*. *Mycologia*, 100(6), 930-939.
- Kovacs, G. M., Vagvolgyi, C., & Oberwinkler, F. (2003). In Vitro Interaction of the Truffle *Terfezia terfezioides* with *Robinia pseudoacacia* and *Helianthemum ovatum*. *Folia Microbiol*, 48(3), 369-378.
- Kovacs, G., Trappe, J., Alsheikh, A., Hansen, K., Healy, R., & Vagil. (2011a). *Terfezia* disappears from the American Truffles, Mycota as two new genera and *Mattirolomyces* Species emerge. *Mycologia*, 103, 831-840.
- Krof, R. P. (1973). Discomycetes and Tuberales, in: Ainsworth GC., Sparrow FK., Sussman, A.S. (eds), the fungi. *An advanced treatise IV, A*, 249-319.
- Laessle, T., & Hansen, K. (2007). Truffles trouble: what happened to the Tuberales? *Mycological research*, 111, 1075-1099.
- Lagrange, B., & Edme-Jean, B. (1794). *Cours d'étude pharmaceutique, Tome 2 (Vol. 4)*. (H. J. Jansen, C., & Imprimeurs-Libraire, Éd.) Paris.

- Laguesse , A. (1877). *Promenades botanique, première série*. (Manière-Loquin, & Dijon, Éd.s.)
- Loizides, M., Hobart, C., Konstandinides, G., & Yiangou, Y. (2012). Desert truffles: the mysterious jewels of antiquity. *Field Mycology*, 13(1), 17-21.
- Mandeel, Q. A., & Al-Laith, A. A. (2007). Ethnomycological aspects of the desert truffle among native Bahraini and non Bahraini peoples of the Kingdom of Bahrain. *Journal of Ethnopharmacology*, 110, 118-129.
- Moreno, G., Diez, J., & Manjon, J. (2000). *Picoa lefebvrei* and *Tirmania nivea*, two are hypogeous fungi from Spain. *Mycol.Res*, 104(3), 378-381.
- Moreno, G., Lizarraga, M., Esqueda, M., Galan, R., & Alvarado, P. (2012). New records of little-known species of *Carbomyces* (Carbomycetaceae, Ascomycota). *Mycotaxon*, 120, 89-98.
- Morte , A., & Honrubia , M. (1992). In vitro propagation of *Helianthemum almeriense* Pau Cistaceae. *Agronomie*, 12, 807-809.
- Morte , A., Gutiérrez, A., & Navarro-Rodenas, A. (2020). *Advances in Desert Truffle Mycorrhization and Cultivation*. (J. Pérez-Moreno, A. Guerin-Laguette, F. R. Arzú, & F.-Q. Yu, Éd.s.) Murcia, Espagne: Springer.
- Morte , A., Zamora, M., Gutierrez, A., & Honrubia, M. (2009). *Desert truffle cultivation in semi aride mediterranean areas*. In *Mycorrhizas-Functional processes and ecology impact* (éd. Chapter 15). Berlin (Heidelberg): Springer- Verlag.
- Morte, A., & Honrubia, M. (1994). *Brevet n° P9402430*. Madrid.
- Morte, A., & Honrubia, M. (1995). *Improvement of mycorrhizal synthesis between micropropagated Helianthemum almeriense plantlets with Terfezia clavaryi (desert truffle)* (Vol. 2). Balkema, Rotterdam.
- Morte, A., & Honrubia, M. (1997). Micropropagation of *Helianthemum almeriense*. *Biotechnology in agriculture and Forestry*, 40, 163-177.
- Morte, A., & Honrubia, M. (2009). *Biotechnology for the industrial production of ectomycorrhizal inoculum and mycorrhizal plants*. New Delhi, India: International Publishing House Pvt.
- Morte, A., Cano, A., Honrubia, M., & Torres, P. (1994). In vitro mycorrhization of micropropagated *Helianthemum almeriense* plantlets with *Terfezia clavaryi* (desert truffle). *Agricultural Science in Finland*, 3, 309-314.
- Morte, A., Honrubia, M., & Gutiérrez, A. (2008). Biotechnology and cultivation of desert truffles. In: *Varma A (ed) Mycorrhiza*, 467-483.

- Morte, A., Lovisolo C., & Schubert, A. (2000). Effect of drought stress on growth and water relation of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense*- *Terfezia claveryi*. *Mycorrhiza*, 10, 115-119.
- Morte, A., Navarro-Rodenas, A., & Nicolas, E. (2010). Physiological parameters of desert truffles mycorrhizal *Helianthemum almeriense* plants cultivated in orchards under water deficit conditions. *Symbiosis*, 52, 133-139.
- Morte, A., Pérez-Gilabert, M., Gutierrez, A., Arenas, F., Marqués-Gálvez, J. E., Bordallo, J. J., et al. (2017). *Basic and applied research for desert truffle cultivation* (éd. 4 ed). (A. Varma, R. Prasad, & N. Tuteja, Éd.) Murcia, Spain: Springer.
- Mousain, D. (1983). Aspects écologique de la symbiose mycorrhizienne. *Ann.Soc.d'horticulture et d'histoire naturelle de l'Hérault*, 123, 41-48.
- Murat, C. (2004). *Etude de la diversité génétique de la truffe blanche du Piémont (Tuber magnatum Pico) et de la truffe noire du Périgord (Tuber mulanosporum Vittad)*. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré-Nancy, France.
- Navarro-Rodenas, A., Bárzana, G., Nicolás, E., Carra, A., Schubert, A., & Morte, A. (2013). Expression analysis of aquaporins from desert truffle mycorrhizal symbiosis reveals a fine-tuned regulation under drought. *Mol Plant-Microbe Interact*, 26(9), 1068–1078.
- Navarro-Rodenas, A., Lozano-Carrillo, M. C., Pérez-Gilabert, M., & Morte, A. (2011). Effect of water stress on *in vitro* mycelium cultur of two mycorrhizal desert truffles. *Mycorrhiza*, 21, 247-253.
- Navarro-Rodenas, A., Pérez-Gilabert, M., Torrente, P., & Morte, A. (2012). The role of phosphorus in the *ectendomycorrhiza continuum* of desert truffle mycorrhizal plants. *Mycorrhiza*, 22, 565–575.
- Nultsch, W. (1998). *Botanique générale*. (D. B. SUPERIEUR, Éd.) Paris.
- O'Donnell, K., Cigelnik, E., Weber, N. S., & Trappe, J. M. (1997). Phylogenetic relationships among Ascomycetous Truffles and the true and false morels inferred from 18s and 28s ribosomal DNA sequence analysis. *Mycologia*, 89, 48-65.
- Pegler, D. N. (2002). Useful fungi of the world: the "poor man's truffles of Arabia" and manna of the Israelites. *Mycologist*, 16(1), 8-9.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome 2*. (C.N.R.S, Éd.) Paris.
- Roth-Bejerano, N., Li, Y.-F., & Kagan-Zur, V. (2004). Homokaryotic and heterokaryotic hyphae in *Terfezia*. *Anton Leeuw Int J*, 85, 165-168.

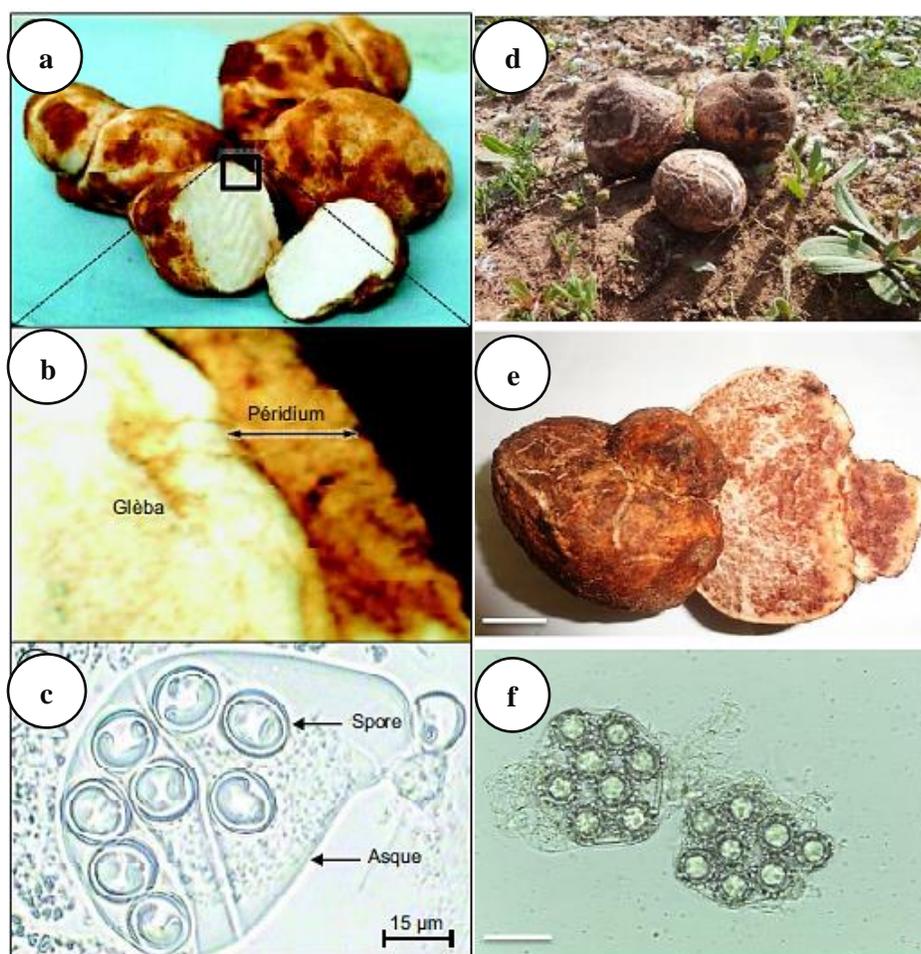
- Roth-Bejerano, N., Livne, D., & Kagan-Zur, V. (1990). *Helianthemum-Terfezia* relations in different growth media. *New Phytol.*, 144, 235-238.
- Sbissi, I., Neffati, M., Boudabous, A., Murat, C., & Gtari, M. (2010). Phylogenetic affiliation of the desert truffles *Picoa juniperi* and *Picoa lefebvrei*. *Anton.Van.Leeuw*, 98, 429-436.
- Slama. (2010b). *Etude des truffes de la Tunisie Méridionale et Optimisation des technique de leurs production*. Thèse de Doctorat, Univ.Tunis.El-Manar, Tunisie.
- Slama, A., Fortas, Z., Boudabous , A., & Neffati, M. (2010a). Cultivation of an edible desert truffle (*Terfezia boudieri* chatin). *African Journal of Microbiology Research*, 4(22), 2350-2356.
- Slama, A., Gorai, M., Fortas, Z., Boudabous, A., & Neffati, m. (2012). Growth, root colonization and nutrient status of *Helianthemum sessiliflorum* Desf. inoculated with a desert truffles, *Terfezia boudieri* Chatin. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19, 25-29.
- Smith, M. E., & Bonito, G. M. (2012). Systematics and ecology of edible ectomycorrhizal Mushrooms. In Zamboneli A., Bonito GM.,(eds) edible ectomycorrhizal Mushromms current knowledge and future prospects. *Soil Biology*, 34, 17-39.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (1997). *Mycorrhizal symbiosis*. London: Academic Press.
- Smith, S., & Read, D. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis* (éd. 3rd). New York: Academic Press.
- Stevanovic, V., Matevski, V., & Tanl, K. (2009). *Helianthemum marmoreum* (Cistaceae), a new species from the central Balkans. *Botanica Serbica*, 33(1), 13-19.
- Tadja, A. (1996). *Etude ecologique de deux espèces de terfez de sud Ouest-Algérien. essai de leurs mycorhization sur trois espèces céréalières* . Thèse de Magister, E.N.S.A, El-Harrach Alger.
- Taylor, F. W., Thamage, D. M., Baker, N., Roth-Bejerano, N., & Kagan-Zur, V. (1995). Notes of the Kalahari desert truffle *Terfezia pfeilii*. *Mycological Research*, 99(7), 874-878.
- Trappe , J., & Weber, N. (2001). North American desert truffles: the genus *Carbomyces* (Ascomycota, Carbomycetaceae). *Harverd Paper in Botany*, 6(1), 106-120.
- Trappe, J. M. (1971). A synopsis of the Carbomycetaceae and Terfeziaceae (Tuberales). *Trans.Br.Mycol.Soc*, 57, 85-92.
- Trappe, J. M. (1979). The orders, Families and Genera of hypogeous Asomycotina (Truffles and thier relatives). *Mycotaxon*, 9, 297-340.
- Trappe, J. M., & Castellano, M. A. (1992). Keys of the genera of truffles (Ascomycetes). *Mcilvainea*, 10, 47-65.

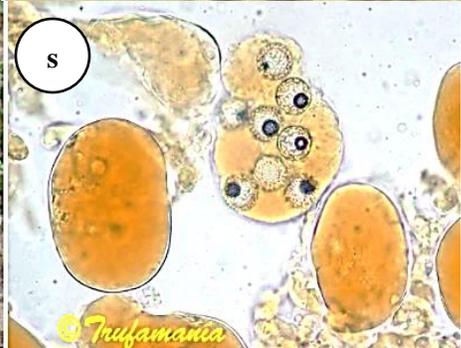
- Trappe, J. M., Gabor, M., Kovacs, A., & Claridge, W. (2010). Comparative taxonomy of the desert truffles of the Australian outback and the African Kalahari. *Mycol Progress*, 9, 131-143.
- Trappe, J. M., Kovacs, G. M., & Weber, N. S. (2014). Ecology and distribution of desert truffles in north America. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), Desert truffles phylogeny, physiology, distribution and domestication. *Soil biology*, 38, 106-120.
- Trappe, J., Claridge, A., Arora, D., & Smit, W. (2008). Desert truffles of the African Kalahari: Eologie, Ethnomycology, and Taxonomy. *Economic Botany*, 62(3), 521-529.
- Trappe, J., Kovacs, G., & Weber, N. (2014). Ecology and Distribution of Desert truffles in North America. In Kagan-Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A, (eds), Desert truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication. *Soil biology*, 38, 106-120.
- Tulasne, L. R., & Tulasne, C. (1851). *Fungi Hypogaei*. (a. F.Klincksieck, Éd.) Paris.
- Turgeman, T., Ben-Asher, J., Roth-Bejerano, N., Kagan-Zur, V., Kapulnik, Y., & Sitrit, Y. (2011). Mycorrhizal association between the desert truffle *Terfezia boudieri* and *Helianthemum sessiliflorum* alters plant physiology and fitness to arid conditions. *Mycorrhiza*, 21, 623–630.
- Zitouni. (2010). *Etude des associations mycorrhiziennes entre quatre espèces de terfez et diverses plantes cistacées et ligneuses en conditions contrôlées*. Thèse de magister , Université d'Oran Es-sénia.
- Zitouni. (2016). *Etude de la diversité des truffes du désert et de leurs associations mycorrhiziennes*. Thèse de doctorat, University of Oran 1 Ahmed Ben Bella, Biotechnologie, Oran.
- Zitouni, F. H., Fortas, Z., & Chevalier, G. (2014). Morphological characterization of mycorrhizae formed between three *Terfezia* species (desert truffles) and several Cistaceae and Aleppo pine. *Mycorrhiza*, 24, 397-403.
- Zitouni, H. F., JUAN, R. C., GABRIEL, M., JOSÉ, L. M., & Fortas, Z. (2018). Genetic diversity of the genus *Terfezia* (Pezizaceae, Pezizales): New species and new record from North Africa. *Phytotaxa*, 334(2), 183-194.
- Zitouni, H., Alvarado, P., Sbissi, I., Boudabous, A., Fortas, Z., Moreno, G., et al. (2015). Contrasted Genetic Diversity, Relevance of Climate and Hoste plants, and comments on the Taxonomic problems of the genus *Picoa* (Pyronemataceae, Pezizales). *Plos ONE*, 10(9), 1-16.

Annexes

Annexe 1. Identification macroscopique et microscopique de quelques espèces de terfez

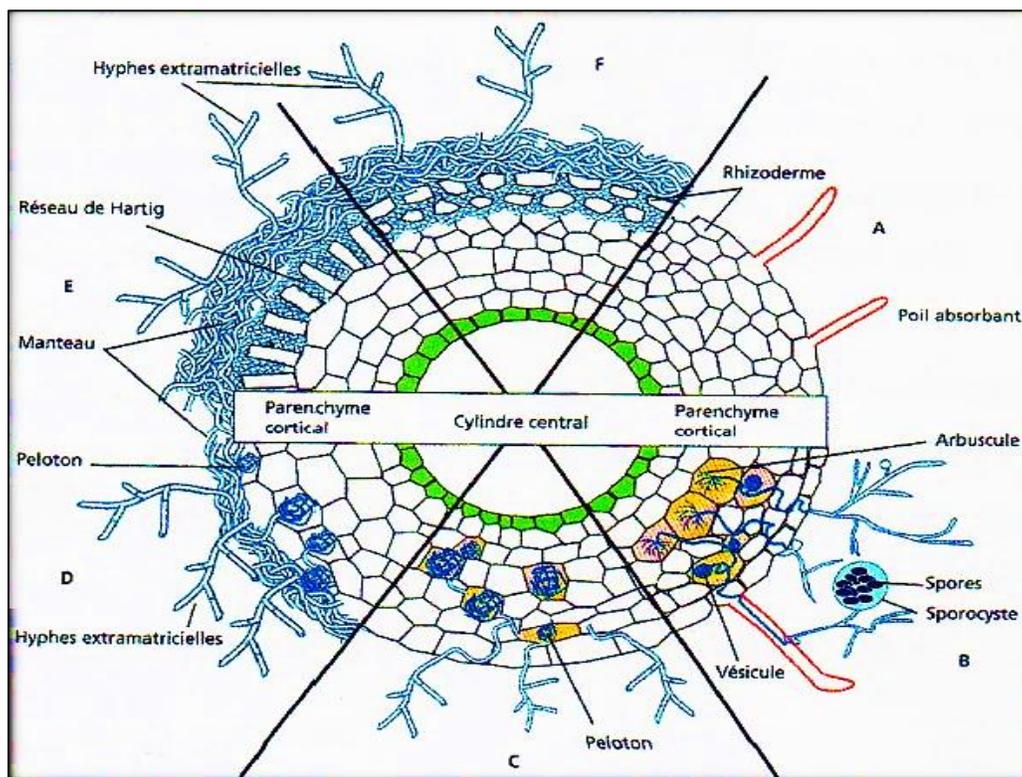
(a, b): Ascocarpe de *Tirmania nivea*; (c) : asque de *T. nivea* renfermant 8 spores, observé au microscope photonique (Grx1000) (Bradai *et al.*, 2013); (d, e) : Ascocarpe de *Terfezia arenaria*; (f) : asque de *Terfezia arenaria* sous microscope photonique contenant 8 spores (Dafri et Beddiar, 2017); (h) : Ascocarpe de *Terfezia boudieri*; (i) : asque de *T. boudieri* contenant 4-6 spores, observé sous microscope photonique; (k) : Ascocarpe de *Terfezia claveryi*; (m) : observation microscopique photonique d'asque de *T. claveryi* contenant 6-8 spores; (r) : Ascocarpe de *Terfezia eliocrocae*; s : asque de *T. eliocrocae* renferme 6-8 spores; (v) : Ascocarpe de *Terfezia olbiensis*; (w) : asques de *T. olbiensis* renferment de 4-8 spores; (x) : Ascocarpe de *Picoa juniperi*; (z) : asque de *P. juniperi* contenant 6-8 spores (Antonio , 2008).





Annexe 2. Les principales structures de symbiose mycorhiziennes (Duhoux et Nichole, 2004).

La coupe (A) présent la racine sans mycorhize, (B) endomycorhize à arbuscule et à vésicule, (C) endomycorhize à pelotons, (D) ectendomycorhize, (E) ectomycorhize chez les Angiospermes, (F) ectomycorhize chez les Gymnospermes.



Annexe 3. Tableau présentant les articles scientifiques servant de support à la réalisation de la partie expérimentale de la présente étude (par ordre chronologique).

N°	Titre	Auteurs (Année)
1	<i>Helianthemum-Terfezia</i> relations in different growth media.	Roth-Bejerano <i>et al.</i> (1990)
2	Effet des conditions de culture sur la mycorhization de l' <i>Helianthemum guttatum</i> par trois espèces de terfez des genres <i>Terfezia</i> et <i>Tirmania</i> d'Algérie.	Fortas et Chevalier (1992)

3	Initial association between <i>Helianthemum</i> and <i>Terfezia</i> is enhanced by low iron in the growth medium.	Kagan-Zur <i>et al.</i> (1994)
4	<i>In vitro</i> mycorrhization of micropropagated <i>Helianthemum</i> plantlets with <i>Terfezia claveryi</i> (desert truffle).	Morte <i>et al.</i> (1994)
5	Edible fungi adapted to aride and semi-aride areas. Molecular characterization and <i>in vitro</i> mycorrhization of micropropagated plantlets.	Gutiérrez <i>et al.</i> (1996)
6	Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal association <i>Helianthemum almeriense</i> - <i>Terfezia claveryi</i>	Morte <i>et al.</i> (2000)
7	Morphological characterization of the mycorrhiza formed by <i>Helianthemum almeriense</i> Pau with <i>Terfezia claveryi</i> Chatin and <i>Picoa lefebvrei</i> (Pat.) Maire.	Gutiérrez <i>et al.</i> (2003)
8	<i>In vitro</i> interaction of the truffle <i>Terfezia terfezioides</i> with <i>Robinia pseudoacacia</i> and <i>Helianthemum ovatum</i> .	Kovacs <i>et al.</i> (2003)
9	Physiological parameters of desert truffles mycorrhizal <i>Helianthemum almeriense</i> plants cultivated in orchards under water defecit conditions.	Morte <i>et al.</i> (2010)
10	Cultivation of an edible desert truffle (<i>Terfezia boudieri</i> Chatin).	Slama <i>et al.</i> (2010)
11	Mycorrhizal association between the desert truffle <i>Terfezia boudieri</i> and <i>Helianthemum sessiliflorum</i> alters plant physiology and fitness to arid conditions.	Turgeman <i>et al.</i> (2011)
12	The role of phosphorus in the <i>ectendomycorrhiza continuum</i> of desert truffle mycorrhizal plants.	Navarro-Rodenas <i>et al.</i> (2012)
13	Growth, root colonization and nutrient status of <i>Helianthemum sessiliflorum</i> Desf. Inoculated with a desert truffle <i>Terfezia boudieri</i> Chatin.	Slama <i>et al.</i> (2012)
14	Expression analysis of Aquaporins from desert truffle mycorrhizal symbiosis reveals a fin-tuned regulation under drought.	Navarro-Rodenas <i>et al.</i> (2013)

15	Morphological characterization of mycorrhizae formed between three <i>Terfezia</i> species (desert truffle) and several <i>Cistaceae</i> and <i>Aleppo pine</i> .	<i>Zitouni et al.</i> (2014)
-----------	---	---------------------------------

Annexe 4. L'effet de mycorhization sur la croissance des plantes (*Zitouni et al.*, 2014)

Combination	Treatment	Plant height	Leaf number	Leaf length	Shoot DW
TL/HLe	M	18.88±3.73*	11.20±2.66*	1.75±0.27*	0.028±0.009*
	NM	9.71±3.02*	8.45±1.60*	1.08±0.17*	0.011±0.004*
TL/FP	M	7.31±3.06*	15.46±10.30*	1.66±0.62*	0.027±0.020*
	NM	3.28±1.39*	9.13±2.79*	0.75±0.30*	0.008±0.005*
TL/CS	M	6.66±2.17*	13.28±1.85*	1.90±0.33*	0.032±0.014*
	NM	1.93±0.75*	8.21±2.45*	0.71±0.22*	0.007±0.003*
TL/PH	M	17.64±2.09*	339.40±72.14*	–	0.460±0.138*
	NM	12.82±2.18*	188.50±48.99*	–	0.242±0.067*
TB/CA	M	3.54±0.85*	13.73±2.14*	2.13±0.73 *	0.025±0.017*
	NM	2.17±0.64*	10.56±1.85*	1.08±0.35*	0.009±0.005*
TC/HLi	M	7.21±4.28*	11.70±4.00 ^{NS}	1.71±0.50*	0.019±0.016*
	NM	2.63±1.11*	10.40±2.11 ^{NS}	0.95±0.27*	0.004±0.002*
TC/CI	M	6.05±2.19*	12.17±3.47*	2.08±0.93*	0.035±0.040*
	NM	3.07±0.51*	10.00±1.60*	1.11±0.25*	0.009±0.004*

One-way ANOVA analysis. Values are means±standard error
^{NS} absence of significance, *DW* dry weight, *M* mycorrhizal plants, *NM* non-mycorrhizal plants
HLe (*H. ledifolium*), *FP* (*F. procumbens*), *CS* (*C. salvifolius*), *PH* (*P. halepensis*), *CA* (*C. albidus*), *HLi* (*H. lippii*), *CI* (*C. incanus*), *TL* (*T. leptoderma*), *TB* (*T. boudieri*), *TC* (*T. claveryi*)
**P*<0.05, level of significance

Annexe 5. Les différents types mycorhiziennes et le taux de colonisation de diverses plantes (*Cistacées* et *Aleppo pine*) inoculés avec des espèces de genre *Terfezia* dans des conditions gnotoxénique (*Zitouni et al.*, 2014).

Association/soil	Plants age (months)	Mycorrhizal types	Mycorrhizal colonization (%)
Soil of Stidia (sandy soil)			
HLe/TL	4	Endomycorrhiza	80
FP/TL	4	Endomycorrhiza	98
CS/TL	7	Ectomycorrhiza	80
PH/TL	14	Ectomycorrhiza	84
CA/TB	5.5	Ectomycorrhiza	86
Soil of Ksar Chellala (sandy–clayey–loamy soil)			
HLi/TC	5	Endomycorrhiza	20
CI/TC	4	Ectomycorrhiza	64

HLe (*H. ledifolium*), *FP* (*F. procumbens*), *CS* (*C. salvifolius*), *PH* (*P. halepensis*), *CA* (*C. albidus*), *HLi* (*H. lippii*), *CI* (*C. incanus*), *TL* (*T. leptoderma*), *TB* (*T. boudieri*), *TC* (*T. claveryi*)

تستند هذه الدراسة النظرية إلى 15 دراسة منشورة ذكرت أو ركزت بشكل أساسي على التوليف الميكوريزي المتحكم به بين النباتات المضيفة من جنس *هيليانثيموم* وأنواع الكما الصحراوي من جنس *Terfezia* و *Tirmania*. يركز التوليف الميكوريزي المعقم و في الحضن على تكاثر أو التكاثر الدقيق لنباتات *هيليانثيموم* و انتاج inoculum من الابواغ او الاوساط الفطرية. يتم إجراء اختبار الزرع المعقم تحت ظروف معقمة في وسط MS ,M,H MMN أو جيلوزي مناسب, من جهة اخرى يتم إجراء اختبار الحضن مباشرة في اصيص مع تربة الكماة والفيرميكوليت المعقم. أظهرت نتائج كل من الزرع المعقم والحضن ان الظروف التجريبية نفسها، التراكيز العالية او المنخفضة من الفوسفور و العوامل الحيوية أدت الى تشكيل *ectendomycorhizes*, *ectomycorhizes*, *endomycorhizes* مع او بدون شبكة Hartig داخل او خارج خلوي. تمارس هاته الهياكل الميكوريزية بعض التكيفات ومقاومات للاجهاد المائي. كشف هذا التوليف عن التنوع البنيوي للميكوريز للأنواع الفطرية المتشكلة مع مضيفات طبيعية.

الكلمات المفتاحية: الكما الصحراوي ، *هيليانثيموم*, التوليف الميكوريزي, الزرع المعقم, الزرع في الحضن

Résumé

Cette étude théorique se base sur 15 recherches publiées mentionnée ou concentré l'essentiel de travail sur la synthèse mycorhizienne contrôlée entre les plantes hôtes de genre *Helianthemum* et les espèces de truffes du désert de genre *Terfezia* et *Tirmania*. L'association mycorhizienne *in vitro* et *in situ* sont concentrés tout d'abord sur la multiplication ou la micropropagation des plantes hélianthèmes et la production d'inoculum fongique à partir des spores ou des cultures mycéliennes. Le test *d'inoculation* axénique effectuée sous des conditions stériles dans des milieux appropriés MMN, MH, MS ou milieu gélosé, en parallèle le test gnotoxénique réalisée directement dans des pots avec de sol truffière et vermiculite autoclavées. Les résultats des deux cultures axénique et gnotoxénique ont mis en évidence que les conditions expérimentales elle-même, les concentrations élevée et faible du phosphore et les facteurs biotique (plante-hôte/terfez) formées des *ectomycorhizes*, *endomycorhizes* et *ectendomycorhizes* avec ou sans réseaux de Hartig et des hyphes inter ou intracellulaire. Ces structures mycorhizial exercent certaines adaptations et résistance au stress hydrique (déficit hydrique). Cette synthèse révèle ce qu'on appelle la versatilité structurelle des mycorhizes de l'espèce fongique formée avec des hôtes naturels.

Mots clés: Truffe de désert, *Helianthemum*, association mycorhizienne, inoculation axénique, inoculation gnotoxénique

Abstract

This theoretical study is based on 15 published researches mentioned or concentrated the main work on mycorrhizal synthesis controlled between the host plants of genus *Helianthemum* and the species of desert truffles of the genus *Terfezia* and *Tirmania*. The mycorrhizal combination *in vitro* and *in situ* is primarily concentrated on the propagation or micropropagation of helianthemums plants and the production of fungal inoculum from spores or mycelial cultures. The axenic inoculation test carried out under sterile conditions in appropriate MMN, MH, MS or agar media, in parallel the gnotoxenic test carried out directly in pots with autoclaved truffle soil and vermiculite. The results of the two axenic and gnotoxenic cultures showed that the experimental conditions themselves, the high and low phosphorus concentrations and biotic factors (host plant/terfez) formed *ectomycorrhizae*, *endomycorrhizae* and *ectendomycorrhizae* with or without Hartig net and inter or intracellular hyphae. These mycorrhizal structures exert some adaptations and resistance to water stress (drought stress). This synthesis reveals the so-called structural versatility of the mycorrhizae of the fungal species formed with natural hosts.

Key words: Desert truffle, *Helianthemum*, mycorrhizal association, axenic inoculation, gnotoxenic inoculation