



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

## MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

Référence .....

---

Présenté et soutenu par :

**YAHIAOUI Wahiba**

Le : dimanche 27 juin 2021

### Thème

Effet de l'inoculation des truffes du désert sur la  
croissance des deux espèces forestières : le chêne vert  
(*Quercus ilex* L.) et le pin d'Alep (*Pinus halepensis* M.)  
en conditions contrôlées

---

#### Jury:

Mme. Bellebcir Leila	MAA	Université de Biskra	Président
Mr. LAIADI Ziane	Pr	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Khanchour Hafida	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2020-2021

## Remerciements

Au-dessus de tout, je remercie **ALLAH** le tout puissant qui m'a donné la santé, le courage, la volonté et surtout la patience pour réaliser ce travail.

J'ai la chance d'exprimer mes sincères gratitudee tout particulièrement à l'égard de M<sup>f</sup> le professeur **LAIADI Ziane**. Je le remercie infiniment tout d'abord pour son encadrement et d'avoir dirigé ce travail et surtout pour sa disponibilité malgré ses nombreuses occupations, son œil critique et ses conseils constructifs durant la correction de mon document. J'ai beaucoup appris de lui et j'espère que ce travail sera à la hauteur de ses espérances.

Sans oublier de le remercier énormément pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire de recherche et de me permettre la réalisation d'une partie de ce modeste travail.

Mes remerciements chaleureux aux **membres de jury**, c'est pour moi le grand honneur que vous me faites en acceptant de présider et d'examiner mon travail et de l'attribuer des remarques et des corrections très intéressantes.

J'aimerais bien exprimer mes profonds remerciements à M<sup>me</sup> le professeur **BOUKHAROUBA Khadidja**, chargée de cours au département de Biologie, Université Mohamed Khider - Biskra. C'est l'honneur pour moi d'être votre étudiante, votre rigueur et votre qualité intellectuelle que j'ai bénéficié à vos côtés ont été déterminantes pour mener ce travail. Merci beaucoup Madame.

Enfin je tiens à exprimer mes vifs remerciements à mes enseignants, mes collègues d'étude et toutes les personnes qui m'ont aidé ne serait-ce qu'avec un mot d'encouragement.

## Dédicace

En guise de reconnaissance, Je dédie ce travail à

Mon cher **papa**, le meilleur papa au monde, son soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite.

Ma chère **maman**, la reine de ma vie qui a su m'encourager et me pousser à aller toujours plus loin dans mes études.

Ce travail est le fruit des sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années. Veuillez trouver dans ce travail la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour, Aucun mot ne saurait exprimer ma gratitude, mon amour et mon profond respect à vous deux. Puisse Dieu, tout puissant, vous prêter longue vie, santé et bonheur.

Ma sœur **Ibtissem** et mon petit frère **Wassim**, je les remercie pour leur soutien moral, leur encouragement incessant ... qu'*Allah* vous garde pour moi.

Je dédie ce travail avec fierté à l'âme de **mon grand-père** qui est présent toujours dans ma mémoire. J'aurais tant aimé de vous être près de nous en ce moment, je prie Dieu tout-puissant de vous accueillir dans son paradis éternel.

A toute ma grande **famille maternelle et paternelle**

À mes chères et proches amies

**Maroua YAHIAOUI et Asma YAHIAOUI**

**Ikram GHERAÏSSA, Lydia BEKHOUCHE, Fatima GUOUANED, Fatima KEZZAR et  
Fatima SOLTANE**

**Safia DERBALI, Hana GUETTAF TEMMAM, Hadjer MOUSSAOUI, Hala GUETTAL  
et Khawla SACI**

*A tous Ceux et Celles que j'estime et que je n'ai pas cité ...*

*Wahiba*

## Table des matières

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

### Première partie : Synthèse bibliographique

#### Chapitre 01 : Généralités sur les truffes du désert (*Terfez*)

1. Données biologiques et écologiques des Terfez .....	3
1.1. Généralités .....	3
1.2. Position taxonomique .....	3
1.3. Répartition géographique des Terfez .....	4
1.3.1. Dans le monde .....	4
1.3.2. En Algérie.....	4
1.4. Bio-écologie des Terfez .....	4
1.4.1. Caractéristiques physico-chimiques du sol .....	4
1.4.2. Le climat.....	5
1.4.3. Partenaires végétaux des Terfez (plantes hôtes).....	5
1.5. Biologie des Terfez .....	6
1.5.1. Anatomie structurale et fonctionnelle des truffes du désert .....	6
1.5.1.1. Partie reproductive .....	6
1.5.1.2. Partie végétative ou mycélium.....	6
1.5.2. Cycle biologique des Terfez.....	6

#### Chapitre 02: Les associations mycorhiziennes

2.1. Historique et définition.....	8
2.2. Les mycorrhizes à Terfez .....	8

2.3. Associations mychoriziennes à Terfez en conditions contrôlées (axéniques et gnotoxéniques) .....	9
2.3.1. Production des plants .....	9
2.3.1.1. A partir de semis.....	9
2.3.1.2. Par micropropagation .....	9
2.3.2. Production d'inocula des Terfez .....	9
2.3.2.1 La suspension sporale.....	9
2.3.2.2. La suspension mycélienne sur milieux gélosés et liquides .....	10
2.3.2.3. Production de biomasse en fermenteur.....	10
2.3.3. La synthèse mycorhizienne.....	10

## **Deuxième partie : Partie expérimentale**

### **Chapitre 03 : Matériel et Méthodes**

3.1. Matériel .....	11
3.1.1. Matériel fongique utilisé.....	11
3.1.2. Matériel végétal .....	12
3.1.3. Le substrat de culture .....	12
3.2. Méthodes .....	13
3.2.1. Etude des caractéristiques pédologiques des sols à Terfez.....	13
3.2.2. Examen des échantillons d'ascocarpes des espèces étudiées .....	13
3.2.3. Synthèse des mycorhizes des terfez en conditions contrôlées .....	14
3.2.3.1. En conditions gnotoxéniques (en serre) .....	14
a. Désinfection du substrat naturel.....	14
b. Désinfection et traitement de présemis des graines des espèces étudiées	14
c. Préparation de l'inoculum .....	15
d. Inoculation des plants (Synthèse mycorhizienne).....	16
3.2.3.2. En conditions axéniques .....	17

a. Obtention des plantules aseptiques .....	17
b. Préparation de la culture mycélienne .....	17
c. Inoculation des plants (Synthèse mycorhizienne).....	17
3.2.4. Méthodes d'étude des associations mycorhiziennes.....	18
3.2.4.1. Examen macroscopique et microscopique des racines.....	18
a. Examen macroscopique sous la loupe sterioscopique .....	18
b. Examen microscopique sous microscope photonique .....	18
3.2.4.2. Méthodes d'évaluation de l'inoculation mycorhizienne .....	19
2.2.3. Méthode d'évaluation de l'indice de dépendance de mycorhization relative.....	19
2.2.4. Méthode de mesure de la croissance des plants.....	19
2.3. Analyse statistique.....	20
2.4. Essais d'application de la mycorhization contrôlée des Terfez au champ (la terféziculture) .....	20

## **Chapitre 04 : Résultats et discussion**

4.1. Caractéristiques pédologiques des terrains à Terfez .....	22
4.2. Description des échantillons d'ascocarpes des espèces étudiées .....	25
4.3. Effets de la mycorhization sur la croissance des plants inoculés par les différentes espèces de Terfez.....	27
4.3.1. Cultures gnotoxéniques (en conditions de serre) .....	27
4.3.1.1. Synthèses mycorhiziennes réalisées sur le chêne vert ( <i>Quercus ilex</i> ).....	27
4.3.1.2. Synthèses mycorhiziennes réalisées sur le pin d'Alep ( <i>Pinus halepensis</i> ) .....	30
4.3.1.3. Taux de mycorhization .....	31
4.3.1.4. Indice de dépendance mycorhizienne (IDMR).....	32
4.3.1.5. Caractéristiques morphologiques des mycorhizes.....	32
4.3.2. Culture axénique de <i>Pinus halepensis</i> / <i>Terfezia claveryi</i> .....	36

4.3.2.1. Caractéristiques de la culture mycélienne de <i>Terfezia claveryi</i> .....	36
4.3.2.2. Description de l'association entre <i>Terfezia claveryi</i> et <i>Pinus halepensis</i> en conditions axéniques .....	36
4.4. Résultats des essais d'application de la mycorhization contrôlée des Terfez au champ (la terféziculture) .....	39
<b>Conclusion</b> .....	41
<b>Bibliographie</b> .....	43
<b>Annexes</b>	
<b>Résumés</b>	

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Tableau récapitulatif de la procédure de traitement de présemis appliqué pour les deux espèces étudiées (Zitouni-Haouar <i>et al.</i> , 2014 et Dib et Fortas, 2019). .....	15
<b>Tableau 2 :</b> Caractéristiques physico-chimiques des sols à terfez des trois stations étudiées.	22
<b>Tableau 3 :</b> Principales caractéristiques de <i>Tirmania pinoyi</i> et <i>Terfezia leptoderma</i> (Alsheikh et Trappe, 1983 ; Janex-Favre <i>et al.</i> , 1988 ; Fortas, 1990 ; Diez <i>et al.</i> , 2002 ; Morte <i>et al.</i> , 2009).....	25
<b>Tableau 4 :</b> Croissance des plantules de <i>Quercus ilex</i> inoculées avec <i>Terfezia leptoderma</i> et <i>Tirmania pinoyi</i> après plus de 14 mois de culture en serre (ANOVA à sens unique, les valeurs sont des moyennes $\pm$ erreur standard) (Dib et Fortas, 2019).....	28
<b>Tableau 5 :</b> Croissance des plants de pin d'Alep inoculés avec <i>Terfezia leptoderma</i> et <i>Tirmania pinoyi</i> après plus de 14 mois de culture en serre (ANOVA à sens unique, les valeurs sont des moyennes $\pm$ l'erreur standard) (Dib et Fortas, 2019).....	31
<b>Tableau 6 :</b> Hauteur des parties aériennes des plantules de pin après 10 mois de culture en conditions axéniques (Dib et Fortas, 2020).....	37
<b>Tableau 7 :</b> Poids sec des parties aériennes des plantules de pin après 10 mois de culture en conditions axéniques (Dib et Fortas, 2020).....	38
<b>Tableau 8 :</b> Évaluation quantitative du développement du système racinaire des plantules de pin après 10 mois de culture en conditions axéniques (Dib et Fortas, 2020).....	38

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Cycle biologique hypothétique des truffes du désert (Kagan-Zur <i>et al.</i> 2008). .....	7
<b>Figure 2 :</b> Graines des espèces végétales utilisées. (a) <i>P. halepensis</i> , (b) <i>Q. ilex</i> (Bouazza, 2013) .....	12
<b>Figure 3 :</b> Echelle de salure (Herrman, 1980). .....	24
<b>Figure 4 :</b> Morphologie des ascomes de <i>Terfezia leptoderma</i> (a) (Castellano et Turkoglu, 2012) et <i>Tirmania pinoyi</i> (b) (Dib-Bellahouel et Fortas, 2011) .....	26
<b>Figure 5 :</b> Ascospores de terfez observées au microscope électronique à balayage (X5000) : 1) <i>Terfezia leptoderma</i> Tulasne et 2) <i>Tirmania pinoyi</i> Maire Malençon (Dib et Fortas, 2019). .....	26
<b>Figure 6 :</b> Croissance des plants de <i>Quercus ilex</i> inoculés avec : a) <i>Terfezia leptoderma</i> (TL) et b) <i>Tirmania pinoyi</i> (TP) après plus de 14 mois de culture en serre. Plantes témoins (C)....	27
<b>Figure 7 :</b> Croissance des plantes de <i>Pinus halepensis</i> inoculées avec a) <i>Terfezia leptoderma</i> (TL) et b) <i>Tirmania pinoyi</i> (TP), après plus de 14 mois de culture en serre. C : plantes contrôlées (Dib et Fortas, 2019) .....	30
<b>Figure 8 :</b> <i>Quercus ilex</i> mycorhizé par <i>Terfezia leptoderma</i> (Dib et Fortas, 2019). .....	33
<b>Figure 9 :</b> <i>Quercus ilex</i> mycorhizé par <i>Tirmania pinoyi</i> (Dib et Fortas, 2019).....	33
<b>Figure 10 :</b> <i>Pinus halepensis</i> mycorhizé par <i>Terfezia leptoderma</i> (Dib et Fortas, 2019). .....	35
<b>Figure 11 :</b> <i>Pinus halepensis</i> mycorhizé par <i>Tirmania pinoyi</i> (Dib et Fortas, 2019).....	35
<b>Figure 12 :</b> Aspects de la souche mycélienne de <i>Terfezia claveryi</i> : a) aspect macroscopique en boîtes de Pétri et b) aspect microscopique au microscope optique (Dib et Fortas, 2020) .....	36
<b>Figure 13 :</b> Culture axénique de <i>Pinus halepensis</i> mycorhizé par <i>Terfezia claveryi</i> (Dib et Fortas, 2020).....	37
<b>Figure 14 :</b> Aspect des plantules de pin inoculées par <i>T. claveryi</i> (INC) et des témoins (T) (Dib et Fortas, 2020) .....	37
<b>Figure 15 :</b> Racines de pin d'Alep mycorhizées par <i>Terfezia claveryi</i> : a) de la racine courte (Grx40) et b) racines corticales pénétrées par le filament mycélien de <i>T. claveryi</i> (flèche) à (Grx1000) (Dib et Fortas, 2020) .....	39

## Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

° : Degré

% : Pour cent

‰ : Pour mille

**ADNr** : Acide désoxyribonucléique ribosomique

**ANOVA** : Analysis of variance

**F** : Fréquence de mycorhization

**FAA** : Formol- alcool- Acide acétique

**Gr** : Grossissement

**ha** : Hectare

**HCl** : Chlorure d'hydrogène

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**IDMR** : Indice de dépendance mycorhizienne relative

**INC** : Inoculé

**INRA** : Institut national de la recherche agronomique algérien.

**ITS** : Internal Transcribed Spacer

**KOH** : Hydroxyde de potassium

**MNM** : Milieu de Melin et Norkans modifié par Marx

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**pH** : Potentiel hydrique

**P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>** : Pentoxyde de phosphore

**ppm** : Partie par million

**RAPD** : Random Amplification of Polymorphic DNA (Amplification Aléatoire d'ADN polymorphe)

**RFLP** : Restriction Fragment Length Polymorphism

**T** : Témoin

**TL**: *Terfezia leptoderma*

**TP**: *Tirmania pinoyi*

**v/v** : volume/ volume

# **Introduction**

## Introduction

Les truffes du désert ou les Terfez (genres *Terfezia* et *Tirmania*) objet de notre présente étude sont des champignons hypogés, mycorhiziens, comestibles, appartenant aux Ascomycètes. Ces champignons ont une distribution géographique spécifique limitée dans les régions arides et semi arides et principalement sur le pourtour du bassin méditerranéen et au Proche Moyen-Orient ainsi qu'au sud de l'Europe.

En Algérie, ils sont abondant dans les régions steppiques, nord sahariennes et même sur le littoral et sont représentés par trois genres : *Terfezia*, *Tirmania* et *Picoa* (Fortas, 1990).

Les Terfez possèdent un intérêt écologique non négligeable, notamment dans les zones arides et semi-arides et demeurent encore une empreinte mystérieuse, mais aussi le témoin d'une adaptation étonnante aux conditions du désert très hostiles, assurant une association biologique très particulière dite mycorhization.

La production des plants mycorhizés par ces champignons par des méthodes biotechnologiques en particulier la mycorhization contrôlée avec leur plantes hôtes naturelles ou non et leur transplantation sur le terrain dans les régions arides et semi arides (Chevalier, 1983 ; Morte et Honrubia, 1992), constitue un enjeu majeur pour mettre en valeur ces régions par l'exploitation des terrains infertiles et en voie de dégradation, lutter contre la désertification, préserver leurs plantes hôtes par l'amélioration de leur croissance et à la fois d'envisager une terféziculture durable qui pourrait développer le niveau social et économique des populations de ces régions.

De nombreuses espèces forestières peuvent être mycorrhizés par les truffes artificiellement au laboratoire (conditions axéniques) (Chevalier, 1973), ou même en serre (conditions gnotoxéniques) (Zitouni-Haouar *et al.*, 2014 ; Dib et Fortas, 2019).

En effet, il s'avère que, dans la nature, certaines essences sont plus aptes que d'autres à produire des Terfez, pour cela on a choisi le pin d'Alep (*Pinus halepensis* M.) et le chêne vert (*Quercus ilex* L.). C'est dans ce contexte que nous avons orienté notre travail de recherche vers l'étude de la mycorhization des Terfez et l'évaluation de l'effet de l'inoculation de ces champignons sur la croissance de ces essences forestières.

Cette étude nous permettra de déterminer le rôle de la mycorhization dans l'amélioration de la croissance du pin et du chêne et d'autre part de rechercher les possibilités d'utilisation du pouvoir mycorhizogène des truffes du désert dans la reforestation des zones désertiques ou en voie de dégradation.

La mise en forme proposée pour ce document retient les normes prescrites par le département qu'il s'agit d'une étude théorique résulte d'une synthèse des travaux en relation avec notre thématique recherchée. Ainsi, ce travail est présenté en deux parties :

- **La partie théorique** est consacrée à une étude bibliographique dans laquelle nous avons résumé quelques informations indispensables sur les truffes du désert et leurs associations mycorhiziennes.

- **La partie expérimentale** résulte d'une synthèse compilant des publications récentes des recherches réalisées en relation avec notre étude.

Le manuscrit s'achève par une conclusion avec quelques perspectives offertes par les différents résultats obtenus à partir de l'analyse des articles scientifiques utilisés pour la synthèse de cette étude.

**Première partie :**  
**Synthèse bibliographique**

**Chapitre 01 :**  
**Généralités sur les truffes**  
**du désert (*Terfez*)**

## 1. Données biologiques et écologiques des *Terfez*

### 1.1. Généralités

Les truffes du désert localement appelées "*Terfez*, *Terfès*" ou "*Kama*" en Kabylie (Chatin, 1891), sont des champignons hypogés (adaptés à la vie souterraine), à aspect arrondi mais peut être irrégulier selon la nature du terrain (Riousset *et al.*, 2001), sauvages, saisonniers, comestibles, nutritifs et d'une grande importance socio-économique (Chatin, 1892 ; Malençon, 1973 ; Ackerman *et al.*, 1975 ; Bokhary *et al.*, 1987 ; Kagan-Zur, 2001).

Les *Terfez* sont des champignons mycorrhiziens dont leur cycle biologique se déroule en printemps. Elles forment des mycorhizes avec leurs plantes hôtes naturelles, le plus souvent des *Cistaceae* annuelles ou pérennes et particulièrement les hélianthèmes (Malençon, 1973).

De par leur nom, les truffes du désert comprennent des espèces typiquement distribuées dans des régions au climat aride et semi-aride (Honrubia *et al.*, 1992).

Les paramètres pédo-climatiques et la présence de la plante-hôte jouent un rôle primordial pour le développement de ces champignons qui présentent un intérêt alimentaire et économique (Fortas, 2009).

On distingue deux catégories de truffes :

- Les truffes du genre *Tuber* (vraies truffes) (Laessoe et Hansen, 2007).
- Les truffes du désert qui regroupent les genres *Terfezia*, *Tirmania* et *Picoa* (Fortas, 1990).

### 1.2. Position taxonomique

La taxonomie des *Terfez* a subi et subit encore des remaniements et fait toujours l'objet de recherche. Classiquement, les *Terfez* ont été classées dans la famille des *Terfeziaceae* appartenant à l'ordre des tubérales (Trappe, 1971).

Trappe (1979) a considéré cet ordre comme étant «artificiel et anachronique» et a transféré et intégré ces champignons dans un ordre distinct c'est celui des pézizales. Donc, selon la classification de Trappe (1979), les *Terfez* des genres *Terfezia* et *Tirmania* appartiennent désormais à la famille des *Terfeziaceae* et *Pezizaceae* respectivement, tandis que le genre *Picoa* fait appartenir actuellement dans la famille des *Balsamiaceae* (le genre *Terfezia* inclut douze espèces, le genre *Tirmania* est représenté par deux espèces et *Picoa* regroupe trois espèces) (Annexe 1).

Actuellement, les chercheurs ont eu recours aux techniques de la biologie moléculaire à partir des études phylogénétiques moléculaires (PCR-RFLP, PCR-RAPD, séquençage des

régions ITS, 5, 8S, 18S et 28S de l'ADNr) qui ont mis en évidence la diversité génétique au sein des genres et espèces des *Terfez* et ont pu surmonter les difficultés d'identification dues aux convergences morphologiques entre certaines espèces (Diez *et al.*, 2002 ; Laessoe et Hansen, 2007 ; Zitouni-Haouar *et al.*, 2015 ; Zitouni-Haouar *et al.*, 2018).

### **1.3. Répartition géographique des *Terfez***

#### **1.3.1. Dans le monde**

Le terme "truffes de désert" est attribué aux champignons hypogés d'après leur distribution typique dans les zones semi-arides à arides ou même à climat subsaharien (Trappe, 1990 ; Morte *et al.*, 2000).

L'aire de prédilection des *Terfez* est répartie dans plusieurs parties du monde. On peut les rencontrer dans différents continents : africain, européen, asiatique, américain et australien (Trappe, 1979 et Trappe, 1990) ; mais ils ont une distribution géographique spécifique qui se limite en particulier aux régions semi-arides et arides d'Afrique du Nord (Malençon, 1973) et du Moyen-Orient (Alsheikh et Trappe, 1983) ainsi qu'au Sud de l'Europe (Chevalier *et al.*, 1984). On les rencontre également dans les régions non méditerranéennes telles que la Chine (Fortas, 1990), l'Afrique du sud et l'Amérique du nord et du sud (Trappe, 1979 ; Taylor *et al.*, 1995 ; Trappe *et al.*, 2008 et 2010 ; Kovács *et al.*, 2011)

#### **1.3.2. En Algérie**

En Algérie, ils sont abondants dans les régions steppiques, nord sahariennes et même sur le littoral (semi-aride). Ils sont représentés par trois genres: *Tirmania* «*Terfez blanc*», *Terfezia* «*Terfez rouge*» et *Picoa* «*Jaouber*» (Fortas et Chevalier, 1992 ; Fortas, 2004 ; Aïbéche, 2008 ; Zitouni, 2010 ; Dib-Bellahoul, 2012).

### **1.4. Bio-écologie des *Terfez***

De nombreux travaux de recherche menés sur l'étude de la bio-écologie des *Terfez* (Zitouni et Zelman, 2007 ; Aïbéche, 2008 ; Bradai *et al.*, 2013 ; Bradai *et al.*, 2014). En effet, trois paramètres bio-écologiques sont en interdépendance et tous sont importants pour la production de ces champignons : le sol, le climat et la plante hôte (Fortas, 1990).

#### **1.4.1. Caractéristiques physico-chimiques du sol**

En Algérie, les truffes du désert de par leur nom «*truffes du sable*», poussent dans des sols de texture sableuse et de structure monogranulaire (Bradai *et al.*, 2013), mais leur présence est aussi abondante dans les sols sablo-limoneux (Zitouni-Haouar, 2016) pour les genres *Terfezia* et *Tirmania* (Kermani, 2013) ou à dominance d'argile et du limon pour le

genre *Picoa* (Kermani, 2013). Ils exigent des sols légèrement humides, bien aérés ; du point de vue de fertilité, les sols à Terfez sont relativement pauvres en matière organique et en phosphore, bien pourvu en potassium, riche en magnésium et a pH alcalin (Fortas, 1990 ; Aïbeche, 2008 ; Zitouni, 2010 ; Bradai *et al.*, 2013 ; Zitouni-Haouer *et al.*, 2014).

#### **1.4.2. Le climat**

L'étude des paramètres climatiques menée par Boucharab (1994) et Tadjia (1996) a montré que des précipitations annuelles de l'ordre de 40 - 60 mm bien réparties d'Octobre à Novembre (surtout le mois de Novembre) ainsi que celles de Mars donnent de bons résultats pour la récolte des Terfez en Algérie qui a lieu en Mars-Avril. Cette phase est suivie d'une période de sécheresse en mois d'Avril pour assurer la continuité du cycle biologique des Terfez et de sa plante hôte. Par ailleurs, les précipitations ne doivent pas dépasser un certain seuil pour une bonne récolte (Slama et Neffati, 2004).

La température joue aussi un rôle important dans la production de ces champignons. Selon Boukhary (1987) et Hussain et Al-Ruqaie (1999), les températures convenables intervenant dans le développement des Terfez varient entre 24 et 30 °C. Par ailleurs, Khabar (2001) a mentionné que les températures idéales pour la maturité des Terfez et une bonne récolte annuelle se situent entre 14 - 18 °C de Mars à Mai. Par contre, les fortes chaleurs ou les froids prolongés leur sont néfastes (Abourouh, 2011).

#### **1.4.3. Partenaires végétaux des Terfez (plantes hôtes)**

Les Terfez sont des champignons mycorrhizogènes vivant en association mycorrhizienne symbiotique avec certaines plantes herbacées ou arbustives, annuelles ou pérennes, appartenant à la famille des *Cistaceae* (hélianthèmes, cistes, ...) (Chevalier *et al.*, 1984 ; Fortas, 1990 ; Honrubia *et al.*, 1992 ; Moreno *et al.*, 2000 ; Slama *et al.* 2006 ; Morte *et al.*, 2008) et plus spécialement des Hélianthèmes du genre *Helianthemum* (Malençon, 1973).

En Algérie, les Terfez se trouvent le plus souvent mycorrhizés avec des hélianthèmes annuelles ou pérennes comme *H. guttatum*, *H. salicifolium*, *H. ledifolium*, *H. lippii*, *H. hirtum* (Fortas et Chevalier, 1992 ; Bradai, 2006 ; Aïbeche, 2008 ; Bradai *et al.*, 2013 ; Kermani, 2013 ; Zitouni-Haouer *et al.*, 2014 ; Fortas *et al.*, 2021). Ces petits arbustes sont des indices de repérage des sols à Terfez, leurs ascocarpes à maturité soulèvent et craquèlent le sol sous-jacent (Annexe 2).

Certaines espèces de Terfez peuvent même entrent en mycorrhize avec d'autre plantes arborescentes ou arbustives appartenant à diverses familles telles que : *Pinaceae* (*Pinus*

*halepensis* Mill.) (Diez *et al.*, 2002), *Fagaceae* (*Quercus ilex* L.) (Chevalier, 1996), *Asteraceae* (*Artemisia herba-alba*) (Malençon, 1973). La présence des Terfez a été aussi signalée au voisinage des céréales (Belkheir, 1991 et Tadjia, 1996).

## **1.5. Biologie des Terfez**

### **1.5.1. Anatomie structurale et fonctionnelle des truffes du désert**

#### **1.5.1.1. Partie reproductive**

Les truffes du désert ou les Terfez sont des fructifications hypogées appelées ascocarpes ou ascomes qui présentent la partie comestible et la forme sexuée de ces champignons. Les ascocarpes sont de forme arrondie ou irrégulière selon les espèces et la dureté du sol, et de couleur qui varie du blanc jaune au brun foncé jusqu'à noir (Trappe *et al.*, 2010).

Ils contiennent une masse interne ou gléba (chaire), c'est la partie centrale de texture spongieuse à solide, de couleur blanchâtre à jaunâtre chez le genre *Tirmania* « Terfez blanc » et de couleur brun clair « Terfez rouge » à brun très foncé jusqu'à noir « Terfez noir » chez le genre *Terfezia* (Fortas, 1990). Elle présente des ilots fertiles arrondis en forme de nodules séparés par des veines stériles dessinant un réseau contenant dans les poches fertiles des petits sacs appelés asques qui renferment de quatre, six ou huit ascospores par asque (Janex-Favre *et al.*, 1988 ; Trappe *et al.*, 2010 ; Bradai *et al.*, 2014).

Le gléba est protégé à l'extérieur par une enveloppe rigide appelé périidium qui lui assure la protection contre la dessiccation et lui donne une excellente résistance à la sécheresse (Callot *et al.*, 1999 ; Ricard *et al.*, 2003).

#### **1.5.1.2. Partie végétative ou mycélium**

C'est la partie non comestible, très discrète et c'est elle qui forme des mycorhizes avec les racelles de la plante hôte (Ricard *et al.*, 2003). Elle est formée de l'ensemble des filaments, appelés hyphes, constituant un même organisme les filaments mycéliens s'organisent pour constituer des structures plus complexes élaborées par la truffe : Mycorhize, stroma et ascocarpe (Ricard *et al.*, 2003).

### **1.5.2. Cycle biologique des Terfez**

Le cycle de vie des Terfez est complexe et reste encore mal connu et les hypothèses sur certaines étapes proposées par divers auteurs sont obscures et ne sont pas entièrement élucidées et demeurent susciter de nombreuses interrogations (Kagan-Zur *et al.*, 2008). Il se déroule entièrement dans le sol et dépend de la plante-hôte avec laquelle ce champignon forme une association mycorhizienne (Fortas, 2009).

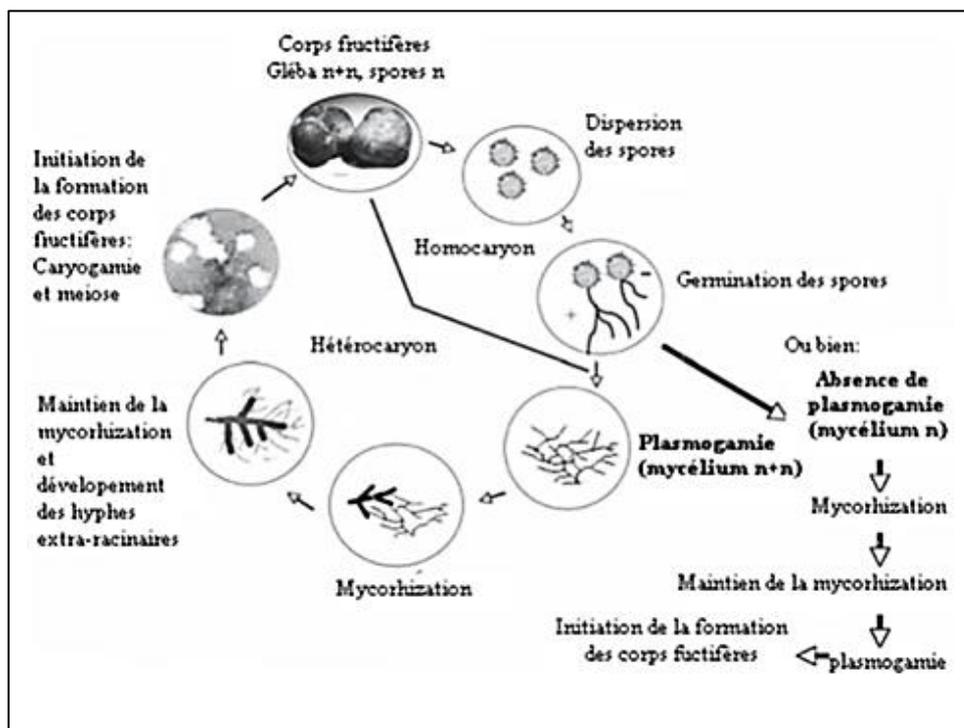
Par ailleurs, Il existe une synchronisation significative dans la croissance des deux symbiotes, où la maturité des truffes du désert, évaluée par la formation d'asques, correspond généralement en temps voulu au stade de la floraison de la plante hôte (Bradai *et al.*, 2014).

La truffe naît dans le sol en été, se développe en automne et murît au cours des premiers froids de l'hiver pour être récoltée en printemps (Boufeldja, 2017).

Selon Kagan-Zur et Roth-Bejerano, (2008b) et Kagan-Zur *et al.* (2008), le cycle de vie des truffes de désert (genres *Terfezia* et *Tirmania*) est caractérisé par deux étapes importantes qui restent encore hypothétiques (Figure 1).

**1. Première étape :** les ascospores germent et donneront naissance à un hyphe puis un mycélium homocaryotique primaire. Ce mycélium se développe dans le sol, où il peut soit inoculer les plantes hôtes en tant que mycélium homocaryotique primaire pour former des mycorhizes (voie végétatif), soit produire un mycélium hétérocaryotique secondaire après avoir subi une plasmogamie (c'est-à-dire avant l'inoculation) qui est sûrement l'origine du corps fructifère (voie sexuée).

**2. Deuxième étape :** le mycorhize formé atteint un stade de développement suffisant et la fructification du champignon se produit par la formation de petits pelotons au début de l'hiver. Chaque peloton évoluera en ascocarpe de *Terfez*. À la fin du printemps; l'ascocarpe se décompose et libère ses spores.



**Figure 1 :** Cycle biologique hypothétique des truffes du désert (Kagan-Zur *et al.*, 2008).

# **Chapitre 02 :**

## **Les associations mycorhiziennes**

## 2.1. Historique et définition

Le terme mycorhize provient du grec (*myko* = champignon, *rhiz* = racine) a été créé pour la première fois par le botaniste Allemand Frank en 1885 qui désigne une association symbiotique entre un champignon (mycobote) et les racines d'une plante hôte (phytobote), formant ainsi des organes appelés : mycorhizes (Frank, 1885).

C'est une des associations biologiques les plus communes et largement étudiées entre des plantes et des microorganismes qui se rencontrent quasiment chez 95% des végétaux supérieurs (Gianinazzi et Wipf, 2010). Elle est ainsi à l'origine d'un échange bidirectionnel entre deux partenaires qui bénéficient entre eux les ressources nutritionnelles afin d'assurer leur survie et leur développement (Zitouni-Haouar, 2016).

Lors de cette interaction symbiotique, les filaments mycéliens absorbent des éléments minéraux tels que : le phosphore, l'azote, le soufre et l'eau à partir de la rhizosphère du sol permettant aux plantes hôtes d'effectuer leur photosynthèse qui à leur tour vont approvisionner le carbone nécessaire, sous forme de sucres issus de la photosynthèse à leur partenaire fongique hétérotrophe (Tinker, 1984 ; Mousain, 1984 ; Smith et Read, 2008).

En Algérie, les associations mycorhiziennes des zones arides et semi-arides sont encore très mal connues (Mejstrick et Cudlin, 1983). Par ailleurs, Il existe différents types de mycorhizes classés sur la base des basées sur des critères morphologiques, physiologiques et écologiques (Harley et Smith, 1983).

## 2.2. Les mycorrhizes à Terfez

Les truffes du désert ou les Terfez forment une diversité morphologique des mycorhizes (Kagan-Zur *et al.*, 2008). Influencés par des facteurs biotiques ou abiotiques, ces champignons sont capables de présenter une grande élasticité d'associations mycorhiziennes (endomycorhize, ectendomycorhize et ectomycorhize) (Zitouni-Haouar *et al.*, 2014).

Plusieurs travaux de recherches menés sur l'étude de mycorhizes à Terfez. Les synthèses mycorhiziennes Terfez/ plante hôte ont été réalisées dans différentes conditions de culture : en conditions gnotoxéniques et en conditions axéniques (Awameh *et al.*, 1979 ; Awameh et Alsheikh, 1979a ; Chevalier *et al.*, 1984 ; Fortas, 1990 ; Roth-Bejerano *et al.*, 1990 ; Fortas et Chevalier, 1992 ; Khabar, 2002 ; Kagan-Zur et Roth-Bejerano, 2008b).

### **2.3. Associations mycorhiziennes à Terfez en conditions contrôlées (axéniques et gnotoxéniques)**

En règle générale, les champignons mycorhiziens appartenant au même genre produisent tous le même type de mycorhizes. Les truffes du désert sont exceptionnelles à cet égard, les différentes espèces de Terfez manifestent une diversité morphologique des mycorhizes (Kagan-Zur *et al.*, 2008).

Les synthèses mycorhiziennes en conditions **axéniques** nécessitent d'une part comme inoculum une culture mycélienne de Terfez alors que celles en conditions **gnotoxéniques**, nécessitent du mycélium en culture pure ou une suspension sporale de Terfez et d'autre part des plants issus de semis ou des vitroplants (Fortas et Chevalier, 1992 ; Chevalier, 1994 ; Morte *et al.*, 1994 ; Zitouni, 2010 ; Zitouni-Haouar *et al.*, 2014 ; Dib et Fortas, 2019 et 2020).

Deux principes fondamentaux de la production de plants mycorhizés par les Terfez :

#### **2.3.1. Production des plants**

##### **2.3.1.1. A partir de semis**

Pour la synthèse mycorhizienne, les plants utilisés sont issus de la germination des graines désinfectées ou non selon les conditions de culture (Morte *et al.*, 2008).

##### **2.3.1.2. Par micropropagation**

La culture *in vitro* représente un puissant moyen de multiplication végétative pour obtenir une production continue de plants mycorhizés de haute qualité, mais aussi pour éviter tout facteur limitant de cette production. Par conséquent, les techniques de micropropagation ont été utilisées pour la production de plantes puisque la germination des graines et la survie des plantes avec ces techniques sont toutes deux d'environ 90 % (Morte *et al.* 2008).

#### **2.3.2. Production d'inocula des Terfez**

Deux types d'inocula de *Terfezia* ont été utilisés avec succès pour produire des plantes mycorhizées : les spores et le mycélium (Morte *et al.*, 2008). Cependant, les spores matures sont plus fréquemment utilisées que le mycélium en raison de la lenteur de la croissance de ce dernier *in vitro* (Morte *et al.*, 2012).

##### **2.3.2.1 La suspension sporale**

Les suspensions de spores sont réalisées en tenant compte de la maturation des spores et proviennent d'ascocarpes séchés puis déshydratés (Morte *et al.*, 2012).

### **2.3.2.2. La suspension mycélienne sur milieux gélosés et liquides**

Le mycélium des Terfez peut être isolé à partir des ascospores, des ascocarpes (la glèbe) (Awameh et Alsheikh 1979 a et b ; Awameh et Alsheikh 1980 a et b ; Fortas, 1990 ; Morte *et al.*, 1994 ; Morte *et al.*, 2008) ou à partir des mycorhizes lorsqu'elles sont obtenues en culture totalement axénique (*in vitro*) (Chevalier, 1973).

### **2.3.2.3. Production de biomasse en fermenteur**

Le mycélium de truffe du désert peut être utilisé à partir de la fermentation liquide pour l'inoculation *in vitro* et *in vivo* (Morte *et al.*, 2008 et 2009). Cependant, seules les souches de *Terfezia* bien adaptées aux conditions *in vitro* devraient être utilisées pour produire du mycélium par fermentation liquide dans un bioréacteur (Morte *et al.*, 2012).

La production de biomasse mycélienne des Terfez en fermenteur constitue une étape indispensable avant toute tentative de création de la terféziculture à condition de maîtriser le processus biologique de mycorhisation.

Morte *et al.* (2008) ont réussi à cultiver le mycélium de la truffe du désert *Terfezia olbiensis* à partir de l'inoculum mycélien cultivé en milieu liquide MNM avec un fermenteur Braun BIOSTAT® B5-L. La biomasse mycélienne produite en fermenteur a été ensuite conservée à + 4 °C pendant 30 jours puis utilisée pour mycorhizer avec succès des plants d'*Helianthemum almeriense*.

### **2.3.3. La synthèse mycorhizienne**

En résumé, la synthèse mycorhizienne entre Terfez-plante hôte peut être réalisée de différentes manières selon le type d'inoculum fongique (spores ou mycélium), la source végétale (plantules issues de la germination des graines ou vitroplants micropropagés) et aussi des conditions de culture utilisées (*in vivo* ou *in vitro*) (Annexe 3).

**Deuxième partie :**  
**Partie expérimentale**

# **Chapitre 03 :**

## **Matériel et méthodes**

Cette section fait l'objet d'une **étude analytique** présente sous forme d'une synthèse basée sur des recherches récentes de 33 articles scientifiques publiés (Annexe 4) servant de support à la rédaction de ce document. La recherche documentaire envisager pour cette rubrique consiste à faire collecter, sélectionner, traiter et analyser une série d'articles puis les synthétisés de façon standardisée et objective à partir des données scientifiques probantes et pertinentes afin d'atteindre nos objectifs soulignés dès le début.

### 3.1. Matériel

Notre étude porte sur trois catégories principales de matériel : fongique, végétal et le substrat de culture.

#### 3.1.1. Matériel fongique utilisé

L'étude a été effectuée sur trois espèces de Terfez utilisées pour la réalisation des synthèses mycorhiziennes dans des conditions de culture gnotoxéniques et axéniques.

Pour la recherche réalisée par Zitouni-Haouar *et al.* (2014), une seule espèce de Terfez a été utilisée pour la synthèse des mycorhizes avec le pin d'Alep en conditions de culture gnotoxénique (en serre), il s'agit des fructifications de *Terfezia leptoderma* récoltée en mars 2005 au sud de la France sous le chêne vert (*Quercus ilex*).

Concernant l'étude effectuée par Dib et Fortas (2019), les espèces *Terfezia leptoderma* et *Tirmania pinoyi* sont utilisées pour la réalisation des synthèses mycorhiziennes dans les mêmes conditions de culture. Les ascomes de la première espèce sont récoltés aux pieds de *Quercus* (chêne) dans le sud de la France et ceux de la seconde espèce à partir de leur habitat naturel dans le littoral Algérien (El Aricha à Tlemcen).

Les ascocarpes récoltés ont été soigneusement nettoyés afin d'éliminer les particules de terre, ils sont mis à sécher au soleil puis conservés à la température ambiante du laboratoire.

A propos de la synthèse des mycorhizes en conditions axénique, Dib et Fortas (2020) ont travaillé sur la culture mycélienne de *Terfezia claveryi* provenant de la collection des cultures fongiques du Laboratoire de Biologie des micro-organismes et Biotechnologie de l'Université d'Oran1. La culture a été préparée suivant la technique optimisée par Fortas (1990) et Fortas et Chevalier (1992) à partir de la germination des ascospores.

### 3.1.2. Matériel végétal

Le bon choix de l'essence végétal est important. A cet égard, le principe consiste donc à faire planter une espèce adaptée aux conditions pédoclimatiques locales et surtout celle qui est capable de s'unir en symbiose mycorrhizienne avec les Terfez (Chevalier, Morte *et al.*, 2008, 2009 et 2012).

*Pinus halepensis* Miller (pin d'Alep) est une espèce ligneuse de la famille des *Pinaceae*, répandue en Afrique du Nord (Quezel et Baunin, 1980). L'espèce *Quercus ilex* L. (chêne vert) est une espèce ligneuse de la famille des *Fagaceae*, qui est une espèce importante dans la région méditerranéenne (Terradas, 1999).

Les graines du pin d'Alep (*Pinus halepensis* M.) et les glands de chêne vert (*Quercus ilex* L.) utilisées provenaient de la région de Tlemcen (nord-ouest de l'Algérie) (Zitouni-Haouar *et al.*, 2014 ; Dib et Fortas, 2019). Elles sont ensuite conservées à la température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité afin de préserver leur vitalité et empêcher leur détérioration (Bouazza, 2013) (Figure 2).



**Figure 2 :** Graines des espèces végétales utilisées. (a) *P. halepensis*, (b) *Q. ilex* (Bouazza, 2013).

### 3.1.3. Le substrat de culture

Les synthèses mycorrhiziennes sont réalisées dans des conditions de culture naturelles (en serre) sur un sol provenant de différents sites d'une zone semi-aride du Nord-Ouest de l'Algérie qui représente l'habitat naturel des Terfez. Pour l'expérience réalisée par Zitouni-Haouar *et al.* (2014), le sol prélevé provient de deux sites différents : le premier est échantillonné à partir de la région de Ksar Chellala (Wilaya de Tiaret), le second est prélevé de la forêt de Stidia (Wilaya de Mostaganem). Concernant l'étude effectuée par Dib et Fortas (2019), le sol utilisé provient de la région d'El Aricha (Wilaya de Tlemcen).

Plusieurs échantillons de terre prélevés des emplacements choisis ont été mélangés, tamisés pour éliminer les cailloux et les débris végétaux afin de constituer un échantillon significatif pour leurs analyses.

## 3.2. Méthodes

### 3.2.1. Etude des caractéristiques pédologiques des sols à Terfez

De nombreuses études ont été effectuées sur les paramètres pédologiques favorisant le développement et la production des Terfez en Algérie (Tadja, 1996 ; Zitouni et Zelmat, 2007 ; Aïbeche, 2008 ; Arioui, 2013).

L'étude des caractéristiques pédologiques des sols à Terfez est effectuée à travers d'une série des analyses physico-chimiques afin de déterminer les propriétés permettant la croissance et le développement de ces champignons. Parmi les paramètres retenus dans ces analyses citons : la granulométrie, pH, conductivité électrique (salinité), la matière organique, le calcaire total et actif.

### 3.2.2. Examen des échantillons d'ascocarpes des espèces étudiées

Afin de confirmer l'identification des espèces des Terfez étudiées, il faut étudier les caractéristiques macroscopiques de leurs ascomes (aspect, couleur, poids, diamètre...) et microscopiques des asques et ascospores (forme, ornementation, taille...). Les observations sont réalisées à l'œil nu ou sous la loupe binoculaire et au microscope photonique.

La morphologie des asques et des ascospores a été observé au microscope optique d'une suspension sporale issue de glèbe mise entre lame et lamelle avec une goutte du réactif de MELZER qui permet de confirmer l'affiliation au genre de terfez (Awameh et Alsheikh, 1979 et 1980 ; Alsheikh et Trappe, 1983).

L'identification du genre et de l'espèce des Terfez prospectés de chaque zone d'étude se fait par comparaison des observations macroscopiques et microscopiques en se référant aux descriptions de classification décrites par (Trappe, 1979). Le principe de la méthode est basé sur la coloration des parois amyloïdes suite à la présence d'amidon dans les parois. Les asques du genre *Terfezia* se colorent en jaune ou orange alors que ceux du genre *Tirmania* prennent une teinte grise bleu qui signifie la présence de l'amidon.

### **3.2.3. Synthèse des mycorhizes des terfez en conditions contrôlées**

#### **3.2.3.1. En conditions gnotoxéniques (en serre)**

##### **a. Désinfection du substrat naturel**

La même procédure suivie par Zitouni-Haouar *et al.* (2014) et Dib et Fortas (2019) concernant la désinfection du substrat naturel (sol). Le sol est autoclavé dans des seaux métalliques pendant 1h à 120 °C afin d'éliminer ou réduire la densité des microorganismes qui pourraient entrer en compétition avec l'inoculum (Fortas, 1990). Dans cette logique, pour assurer la réussite de l'inoculation en pépinière, le sol doit subir un traitement chimique ou physique pour éliminer ou réduire significativement la densité des populations de champignons, de bactéries, d'insectes et de nématodes, qui pourraient rivaliser avec l'inoculum et réduire l'efficacité de son introduction (Marx *et al.*, 1991). Ensuite le sol est laissé au repos pendant une semaine pour éliminer les toxines volatiles (Marx *et al.*, 1991).

L'addition d'une quantité de gravier et de vermiculite est aussi conseillée (Chevalier, 1985), le gravier est autoclavé pendant 1h à 120 °C et la vermiculite (substrat inerte), est stérilisée au four Pasteur pendant 3 h à 180 °C après lavage à l'eau de robinet et séchage.

La vermiculite est utilisée en horticulture pour faciliter l'initiation de la croissance des jeunes plantes mycorhizées (Trappe, 1977). De plus, elle assure une bonne aération et une bonne fixation des ascospores (Slama *et al.*, 2010).

##### **b. Désinfection et traitement de présemis des graines des espèces étudiées**

Les plantules utilisées pour ces synthèses sont issues des graines de pin d'Alep et des glands de chêne vert qui ont été prétraitées pour éviter tout risque de contamination puis mises en germination dans des pots en conditions de culture naturelles (en serre). Le Tableau (1) résume la procédure de traitement de présemis appliqué pour les deux espèces étudiées en se référant aux expériences effectuées par (Zitouni-Haouar *et al.*, 2014 et Dib et Fortas, 2019).

**Tableau 1 :** Tableau récapitulatif de la procédure de traitement de présemis appliqué pour les deux espèces étudiées (Zitouni-Haouar *et al.*, 2014 et Dib et Fortas, 2019).

Essence forestier étudié	Traitement de présemis appliqué
Le pin d'Alep ( <i>Pinus halepensis</i> M.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pas de traitement préalable de scarification ou de stratification.</li> <li>- L'étude effectuée par Zitouni-Haouar <i>et al.</i> (2014) la désinfection a été faite par rinçage à l'eau du robinet et stérilisées en surface avec 35 % de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pendant 3 h et 30 min selon la méthode décrite par (Ravolanirina, 1986). Après ces traitements de présemis appliqués pour favoriser la germination, les graines ont été semées directement dans des pots en polyéthylène de 400 cm<sup>3</sup> (12 cm de hauteur et 10 cm de diamètre au sommet) remplis des deux sols stérilisés.</li> <li>- Quant à l'expérimentation menée par Dib et Fortas (2019), les graines de pin d'Alep sont désinfectées avec une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 10% pendant 3h et 30 min suivant la même méthode décrite précédemment et sont ensuite semées directement dans des pots contenant le substrat inoculé ou non (3 graines par pot).</li> </ul>
Le chêne vert ( <i>Quercus ilex</i> L.)	D'après l'expérience réalisée par Dib et Fortas (2019), les glands de chêne vert sont prétraités par une scarification qui consiste à les tremper dans l'hypochlorite de sodium 8° pendant 8 min et rincés 2 à 3 fois à l'eau distillée stérile selon la technique de l'INRA de Clermont Ferrand (Chevalier, 1996). Ils sont ensuite placés à raison d'un gland par pot, puis 1/3 de la terre désinfectée restante est ajouté par-dessus.

### c. Préparation de l'inoculum

D'après les recherches effectuées par Zitouni-Haouar *et al.* (2014) et Dib et Fortas (2019), la préparation de l'inoculum fongique a été réalisée suivant la technique utilisée à l'INRA de Clermont Ferrand (France) pour la production de plantes mycorhizées par la truffe noire du Périgord *Tuber melanosporum* (Chevalier *et al.*, 1973 ; Chevalier et Desmas, 1977 ; Chevalier et Grente, 1979) et par des espèces de truffes du désert des genres *Terfezia* et *Tirmania* d'Algérie (Fortas et Chevalier, 1992).

A propos de l'expérimentation menée par Zitouni-Haouar *et al.* (2014), l'inoculum est préparé à partir d'une suspension aqueuse de spores matures des trois espèces de *Terfezia* (*T. leptoderma*, *T. claveryi* et *T. boudieri*) en mélangeant les ascocarpes finement hachées jusqu'à ce que les spores soient libérées avec de l'eau distillée stérile. La suspension sporale est ensuite mélangée à 2/3 (v/v) de terre désinfectée et à 1/3 (v/v) de vermiculite préalablement stérilisé afin d'être prête à l'application au contact des racines.

Quant à l'étude réalisée par Dib et Fortas (2019), l'inoculum est préparé à partir de la suspension sporale des espèces (*Terfezi leptoderma* et *Tirmania pinoyi*) mélangée avec 2/3 (v/v) de terre désinfectée et 1/3 (v/v) de vermiculite stérilisée selon la même technique optimisée par l'INRA mentionnée auparavant.

#### **d. Inoculation des plants (Synthèse mycorhizienne)**

Le même protocole suivi par Zitouni-Haouar *et al.* (2014) et Dib et Fortas (2019) pour la réalisation des synthèses mycorhiziennes en conditions de serre. Cependant, l'inoculation est effectuée suivant la méthode utilisée par (Fortas, 1990 et Fortas et Chevalier, 1992). L'inoculation peut aussi s'effectuer par des méthodes anciennes qui consistent à placer au contact des radicelles de la plante hôte le mycélium truffier (méthode de Boulanger 1899) ou la suspension sporale (méthode de Bressy in Chevalier et Grente, 1979) qui est déjà utilisée par les deux premiers chercheurs pour chaque espèce de Terfez impliquée.

D'après l'expérience réalisée par Zitouni-Haouar *et al.* (2014), les synthèses sont mises dans des pots en plastique ouverts de 400 mL préalablement lavés et désinfectés à l'hypochlorite de sodium à 13° chlorométriques. Les pots sont d'abord tapissés d'une couche de gravier stérilisé pour l'écoulement de l'eau d'arrosage puis remplis de la terre désinfectée.

D'autre part, Dib et Fortas (2019) ont effectué leurs synthèses dans des pots en plastique ouverts de 700 mL. Les pots sont d'abord garnis d'une couche de gravier stérilisé pour l'écoulement de l'eau, puis remplis aux 2/3 de leur volume restant avec de la terre désinfectée.

Alors, les synthèses mycorhiziennes réalisées par Zitouni-Haouar *et al.* (2014) entre le pin d'Alep et Terfez sont mises entre : *Pinus halepensis* et *Terfezia leptoderma* seulement.

Quant aux associations mycorhiziennes effectuées par Dib et Fortas (2019) en conditions de serre sont faites entre :

*Pinus halepensis* avec *Terfezia leptoderma* ou *Tirmani pinoyi*

*Quercus ilex* avec *Terfezia leptoderma* ou *Tirmani pinoyi*

### 3.2.3.2. En conditions axéniques

Seulement l'article réalisé par Dib et Fortas (2020) abordant l'étude de la mycorhization des truffes de désert avec une espèce forestière en conditions axéniques en Algérie. D'après cette étude, seulement l'espèce *Pinus halepensis* a été inoculée avec *Terfezia claveryi* dans ces conditions. Les aspects biotechnologiques de cette technique la rendent parmi les techniques performantes qui puisse révéler indubitablement le caractère micorhizogène d'une espèce fongique donnée vis-à-vis d'une plante haute, ce qui est vraiment montré par les travaux de (Chevalier, 1973 ; Chevalier *et al.*, 1973 ; Fortas et chevalier, 1988 ; Fortas et chevalier 1992 et Morte *et al.*, 1994).

#### a. Obtention des plantules aseptiques

La technique d'obtention des plantules aseptiques appliquée par Dib et Fortas (2020) qui ont travaillé sur les graines du pin d'Alep (*Pinus halepensis* M.) traitées préalablement suivant la méthode optimisé par (Torres et Honrubia, 1994). En effet, les graines sont désinfectées trempage dans du peroxyde d'hydrogène 30 v pendant 20 min. Elles sont ensuite mises à germer dans des conditions de culture *in vitro* (aseptiques) dans des boîtes de Pétri sur le milieu malt agar solide (1%) préparé selon (Fortas, 1990) (Annexe 5). Enfin, les graines sont placées à 25 °C, à l'obscurité, pendant 15 à 20 jours pour vérifier l'absence de contamination et assurer leur stérilité afin d'obtenir des plantules aseptiques.

#### b. Préparation de la culture mycélienne

La culture mycélienne issue de la souche *T. claveryi* préparée par Dib et Fortas (2020) est réalisée sur le milieu Malt agar (1%) en se référant aux travaux faits par (Fortas, 1990 et Fortas et Chevalier, 1992). Le milieu doit être réparti dans des boîtes de Pétri au préalable.

Dans ce contexte, des implants de mycélium de *T. claveryi* de 15 mm<sup>2</sup> aseptiquement prélevés à partir d'une culture mycélienne fournie par le Laboratoire de Biologie des micro-organismes et Biotechnologie de l'Université d'Oran1 selon la technique prescrite par (Fortas, 1990 et Fortas et Chevalier, 1992). Les implants sont ensuiteensemencés sur le milieu gélosé. Bref, les boîtes de Pétri sont hermétiquement fermées avec un ruban adhésif puis elles sont incubées à 25 °C pendant 30 jours.

#### c. Inoculation des plants (Synthèse mycorhizienne)

Les synthèses mycorhiziennes sont appliquées suivant la méthode préconisée par (Chevalier et Pollacsek, 1973). Dans des flacons de 500 mL, contenant de la vermiculite (substrat inerte) stérilisée trois fois à 180 °C et imprégnée de milieu de Melin et Norkans

modifié avec du liquide de Marx (MNM) (Annexe 6) puis autoclavée deux fois pendant 30 min à 120 °C avec un repos de 24 heures.

L'inoculation est réalisée avec un fragment de mycélium de *T. claveryi*, issu d'une culture âgée de 30 jours, appliqué directement au contact des racelles. Les plants inoculés et les plants témoins (15 répétitions pour les plants inoculés et 5 pour les témoins) sont conservés au laboratoire pendant 15 jours, à la lumière naturelle, pour confirmer l'absence de contamination. Ensuite, elles sont placées pendant 10 mois en chambre de culture programmée à une intensité lumineuse de 2000 Lux, une photopériode de 16h et une température de  $23 \pm 2$  °C.

### **3.2.4. Méthodes d'étude des associations mycorhiziennes**

#### **3.2.4.1. Examen macroscopique et microscopique des racines**

##### **a. Examen macroscopique sous la loupe stéréoscopique**

D'après la publication de Zitouni-Haouar *et al.* (2014) et celle de Dib et Fortas (2019), les plants de *Quercus ilex* et ceux de *Pinus halepensis* inoculés avec *Terfezia leptoderma* et *Tirmania pinoyi* ainsi que les témoins prélevés *in situ* sont retirés délicatement de leurs pots sans endommager leur système racinaire. Les racines sont soigneusement rincées à l'eau de robinet afin d'éliminer les particules de terre, et conservées dans un fixateur composé de : Formol - Alcool (éthanol) - Acide acétique (FAA) préparé suivant la méthode décrite par (Phillips et Hayman, 1970) (Annexe 7). Ensuite, les racines prélevées en serre sont examinées sous la loupe stéréoscopique pour détecter la présence du mycélium frangeant et observer la morphologie et la couleur des racines mycorhizées.

##### **b. Examen microscopique sous microscope photonique**

Les observations microscopiques réalisées par Zitouni-Haouar *et al.* (2014) et Dib et Fortas (2019) sont effectuées suivant la technique décrite par Phillips et Hayman (1970) et Porras *et al.* (2002) modifiée. Des fragments de racines courtes de 1cm de longueur préparés selon la méthode modifiée optimisée par Wubet *et al.* (2003), et colorées avec le bleu de trypan. La méthode consiste à laver les racines puis les immerger dans une solution de KOH (10%) à 90 °C pendant 2 heures. Après élimination du KOH, les racines sont rincées à l'eau distillée puis mises dans du peroxyde d'hydrogène à 10% pendant 3 minutes.

Elles sont ensuite acidifiées pendant 3 minutes avec du HCl à 10%, colorées pendant 1 h avec une solution de bleu trypan à 90 °C puis rincées plusieurs fois avec l'eau distillée. Les

fragments de racines sont montés entre lame et lamelle dans une goutte de lactoglycérol (v/v) (Annexe 8) sont ensuite examinés au microscope photonique (Trouvelot *et al.*, 1986).

#### 3.2.4.2. Méthodes d'évaluation de l'inoculation mycorhizienne

Selon les travaux de Zitouni-Haouar *et al.* (2014) et Dib et Fortas (2019), le taux de l'inoculation fongique (mycorhization) des racines des plantes inoculées a été estimé en fonction de la fréquence d'infection mycorhizienne (F) exprimé en pourcentage (%). La méthode consiste à faire prélever au hasard sur chaque plante mycorhizée un total de 50 fragments de racines d'environ 1 cm. Après leur coloration avec le bleu trypan, les fragments sont ensuite montés sur une lame de verre, dans une goutte de lactoglycérol (v/v) à raison de 10 fragments par lame et observés au microscope optique.

La fréquence de mycorhization (F) est exprimée comme suit :

$$F\% = 100 (N - N_0) / N$$

Où N est le nombre de fragments observés,  $N_0$  est le nombre de fragments non infectés. En effet, le nombre F donne une idée de l'intensité de l'infection mycorhizienne.

#### 2.2.3. Méthode d'évaluation de l'indice de dépendance de mycorhization relative

L'indice de dépendance de mycorhization relative (IDMR) est calculé à partir des moyennes des biomasses aériennes selon la formule suivante (Planchette *et al.*, 1983).

$$IDMR = 100 (psM^+ - psM^-)$$

$psM^+$  : poids sec des parties aers des plants mycorhizés

$psM^-$  : poids sec des parties aériennes des plants non mycorhizés

#### 2.2.4. Méthode de mesure de la croissance des plants

La croissance des plants inoculés et non inoculés a été estimée par des mesures de leur hauteur, du poids frais, du poids sec des parties aériennes ainsi que par le nombre et de la longueur de leurs feuilles. Pour les mesures du poids sec des pousses, les plants ont été séchés au four à 60 °C pendant 72 h.

### 2.3. Analyse statistique

La même méthode d'analyses statistiques suivie par Zitouni-Haouar *et al.* (2014) et Dib et Fortas (2019) afin d'évaluer l'effet de l'inoculation des Terfez sur la croissance des deux espèces forestières étudiées. Dans cette logique, les paramètres de croissance des plants inoculés et non inoculés en conditions gnotoxéniques ont été analysés par une analyse de variance (ANOVA) et à des comparaisons de moyennes à l'aide du logiciel Statistica. Quant à l'estimation de la croissance des plants en conditions axéniques, Dib et Fortas (2020) ont effectué leurs analyses statistiques des paramètres de croissance à l'aide du même logiciel.

### 2.4. Essais d'application de la mycorhization contrôlée des Terfez au champ (la terféziculture)

Les truffes du désert ont connu une chute de production qui peut être due à des facteurs multiples (Morte *et al.*, 2012 ; Bradai *et al.*, 2014 ; Marques Galvez, 2019). Par conséquent, cette chute de production a fait pousser certains chercheurs de développer des techniques de Terféziculture par des essais de transplantation des plants mycorhizés par les Terfez en conditions contrôlées au champ. Les premiers essais de la culture des Terfez ont été réalisés par Awameh *et al.* (1979) et Awameh (1981) en travaillant sur *Helianthemum ledifolium* et *Helianthemum salicifolium* inoculées par différentes espèces de *Terfezia* et *Tirmania* en conditions de serre.

D'autres tentatives d'application de cette technique ont été ensuite entrepris par d'autres chercheurs européens (Grente et Delmas, 1974 ; Chevalier et Grente, 1980 ; Chevalier, 1983). En Espagne, Morte et Honrubia (1992) et Morte *et al.* (2008 et 2009) ont essayé d'appliquer une terféziculture par transplantation au champ des plants d'*Helianthemum almeriense* inoculés par des ascospores ou une suspension mycélienne de *Terfezia claveryi*.

Kagan-Zur et Roth-Bejerano (2006) ont effectué une co-culture de la pastèque *Citrullus lanatus* mycorhisée par *T. pfeilii* en utilisant deux espèces d'*Acacia* comme hôte primaire pour la multiplication du mycélium de *T. pfeilii*.

En Tunisie, Slama *et al.* (2010) sont intéressés d'appliquer cette technique par transplantation sur deux types de sol (sablonneux, gypseux) d'*H. sessiliflorum* inoculé à *Terfezia boudieri* et par inoculation directe des graines de la plante au champ.

En Algérie, les recherches entreprises sur la terféziculture est encore faible. Cependant, de nombreux chercheurs se sont intéressés également d'appliquer une terféziculture sur le terrain en régions arides et semi-arides où les conditions naturelles favorisant le développement de ces champignons en gardant le même mode que celui pratiqué en Europe pour la trufficulture (Aïbeche, 2008 ; Zitouni, 2010 ; Fortas *et al.*, 2011 ; Kermani, 2013).

# **Chapitre 04 :**

## **Résultats et discussion**

Cette section résulte d'une analyse des résultats compilant 35 articles scientifiques servant de support pour la rédaction de cette partie (Annexe 4).

#### 4.1. Caractéristiques pédologiques des terrains à Terfez

L'étude des caractéristiques pédologiques joue un rôle important dans la production et le développement des ascomes de Terfez.

D'après les études effectuées par Zitouni-Haouar *et al.* (2014) et Dib et Fortas (2019), les résultats des analyses physico-chimiques des sols prélevés des régions étudiées sont groupés dans le Tableau (2).

En ce qui concerne la station stidia, les analyses physico-chimiques du sol étaient déjà faites par Aïbeche (2008). Les résultats sont aussi mentionnés dans le Tableau (2).

**Tableau 2** : Caractéristiques physico-chimiques des sols à Terfez des trois stations étudiées.

Echantillons	El Aricha	Ksar Chellala	Stidia (Aïbeche, 2008)
Auteurs	Dib et Fortas (2019)	Zitouni-Haouar <i>et al.</i> (2014)	
Analyses			
Analyses physiques (Granulométrie)			
Argile	40,125 ‰	15,36 %	7,6 %
Limon fin	190,37 ‰	25,60 %	3,34 %
Limon grossier	120,75 ‰	03,34 %	
Sable fin	520,11 ‰	48,74 %	68,96 %
Sable grossier	260,26 ‰	06,96 %	20,1%
Analyses chimiques			
pH	8,86	8,69	8,37
Conductivité électrique (ms/cm)	0,42	0,172	0,76

Matière organique	3,37 %	0,34 %	3,38 %
Calcaire actif	5,7 %	2,25 %	3,87 %
Calcaire total	38,4 %	07,11 %	14, 85 %
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (ppm)	-	200	100

D'après le Tableau (2), l'interprétation des résultats de la caractérisation pédologiques des 3 stations à Terfez obtenus par Zitouni-Haouar *et al.* (2014) et Dib et Fortas (2019) est résumée comme suit :

- Les analyses de granulométrie montrent la dominance du sable par rapport aux autres éléments et ceci est marqué dans les 3 stations étudiées. Le sol de la station Stidia est sablonneux légèrement argileux. Par contre, les deux stations Ksar Chellala et El Aricha présentent des sols sablonneux légèrement limoneux. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Fortas, 2004 en Algérie, au Maroc (Khabar, 2002), en Tunisie (Salma et Neffati, 2004), en Arabie Saoudite (Hussain et Al-Ruqaie, 1999), au Koweït (Awameh et Alsheikh, 1979), en Espagne (Moreno *et al.*, 1986). En effet, les sols sablonneux favorisent le développement des Terfez (Diez *et al.*, 2002).

- Les sols des trois stations étudiées présentent un sol à pH alcalin et riche en calcaire dont les valeurs varient entre 8,37 et 8,86. Ces résultats rejoignent ceux trouvés par Fortas (1990), Tadjia (1996), Bessah (1998) et Bradai (2006) sur des sols à Terfez des régions arides et semi-arides d'Algérie. Cependant, la valeur de pH diffère d'une espèce de Terfez à une autre, et dans la même espèce elle peut varier au cours de l'année (Khabar, 2002).

- les résultats du dosage de calcaire total et actif des sols des trois stations montrent que le pourcentage du calcaire total du sol d'El Aricha est de 38,4% et celui du calcaire actif égal à 5,7%. Ces teneurs indiquent que cette station est riche en calcaire que le sol de Stidia est pourvu d'une quantité modérée en calcaire total (14,85%) mais le pourcentage du calcaire actif reste faible (3,87%). La station de Ksar Chellala présente des teneurs plus faibles.

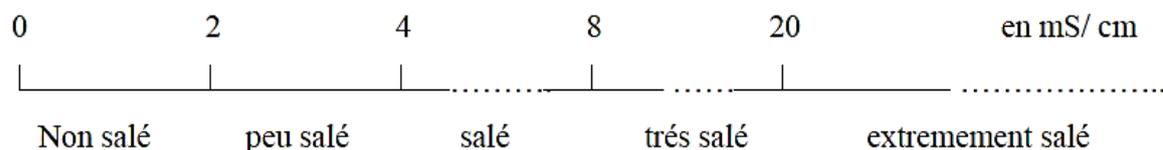
La richesse en calcaire des sols à Terfez a été signalée par de nombreux auteurs (Callot, 1999 ; Khabar, 2002; Abdullah *et al.*, 1989 in Roth-Bejerano *et al.*, 2004 ; Morte *et al.*, 2009).

- Quant à la teneur en matière organique, les analyses des sols montrent que le pourcentage de la matière organique est variable selon la station. Les stations de Stidia et El Aricha présentent des teneurs assez élevées par rapport à la station de Ksar Chellala (3,38 ; 3,37 et 0,34 % respectivement). Ces teneurs sont généralement dues au climat qui contribue à la minéralisation rapide de la matière organique dans les horizons supérieurs (Zitouni, 2010).

De nombreux auteurs ont montré que les sols à Terfez sont pauvres en matière organique : en Algérie (Fortas, 1990 ; Bradai, 2006), en Tunisie (Slama et Neffatti, 2004); au Maroc (Khabar, 2002). Par conséquent, Fortas et Chevalier (1992) ont indiqué que les sols pauvres en matière organique sont généralement de bons producteurs de Terfez.

- Concernant la teneur en phosphore assimilable ( $P_2O_5$ ), les résultats du dosage montrent des faibles teneurs en cet élément. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Fortas (2004) qui a déclaré que les Terfez algériens se développent généralement sur des sols dont la teneur en phosphore assimilable est faible (0,025 à 0,6 ‰).

- Les résultats d'analyse de la conductivité électrique des sols testés révèlent que les sols des trois stations sont non salés en se référant à l'échelle de salure décrite par Herrman, (1980) puisque les valeurs obtenus n'ont pas atteint les deux millièmes (Figure 3).



**Figure 3 :** Echelle de salure (Herrman, 1980).

Des résultats similaires ont été obtenus par Bessah (1998) et Bradai (2006) en Algérie, par Khabar (2002) au Maroc et Slama et Neffati (2004) en Tunisie. Cependant, certains auteurs ont mentionné la présence de Terfez dans des terrains salés en particulier au Koweït (Alsheikh et Trappe, 1983) et à Bahrain (Mandeel et Al-Laith, 2007).

## 4.2. Description des échantillons d'ascocarpes des espèces étudiées

Les ascocarpes de Terfez ont été repérés par les soulèvements et les craquèlements du sol qu'ils provoquent ainsi par la présence de leurs plantes hôtes et des plantes accompagnatrices (Loizides, 2011). Nous rappelons que l'identification et la description des ascocarpes des Terfez prospectés sont basées sur l'étude de leurs caractéristiques macroscopiques de leurs ascomes et microscopiques de leurs asques et ascospores (forme, présence ou non des ornements, dimension). Le Tableau (3) résume les principales caractéristiques macroscopiques et microscopiques des espèces de Terfez étudiées.

**Tableau 3 :** Principales caractéristiques de *Tirmania pinoyi* et *Terfezia leptoderma* (Alsheikh et Trappe, 1983; Janex-Favre *et al.*, 1988; Fortas, 1990; Diez *et al.*, 2002; Morte *et al.*, 2009)

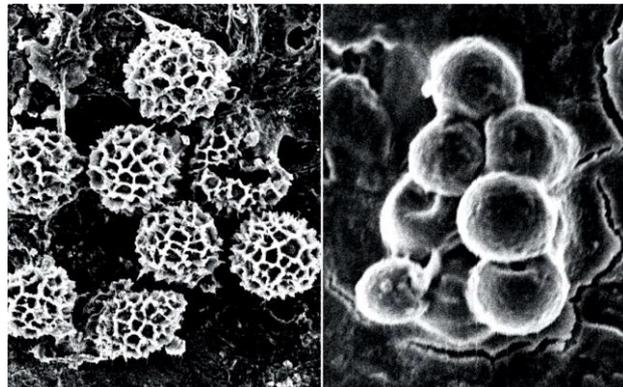
	<b>Espèce fongique</b>	<i>Tirmania pinoyi</i> (Maire) Malençon	<i>Terfezia leptoderma</i> Tulasne
	<b>Caractéristiques</b>		
<b>Ascome</b>	Forme	Subglobuleux lobé	Globuleux
	Couleur de la gléba	Blanche Jaunâtre à marron avec l'âge	Olivacée, verdâtre
	Epaisseur du périidium	1.5 mm	Très mince
	Couleur du périidium	Clair (blanc au jaune clair marron).	Pâle blanc rosé
	Diamètre	4-9 x 3-7 cm	2-9 cm
	Poids	≤ 1Kg	
<b>Asque</b>	Forme	Ellipsoïde à piriforme	Globuleux ou subglobuleux
	Taille moyenne	51-110 × 38-63 μm	48-70 μm
	Nombre d'ascospores	4 à 8	5 à 8
	Réaction au Melzer	Amyloïde (couleur bleue)	Non amyloïde
<b>Ascospore</b>	Forme	Sphérique, hyaline	Sphérique
	Diamètre	de 15 à 20 μm	de 20 à 27 μm,
	Type d'ornementation	Sub-lisse (minuscules verrues)	Longues épines
<b>Gléba</b>	Couleur	Blanche jaunâtre	Blanchâtre puis devient gris verdâtre

La réaction avec le réactif de Melzer différencie le genre *Terfezia* du genre *Tirmania*, la réaction positive chez ce dernier met en évidence la présence d'amidon dans les parois des asques qui se colorent en bleu (Trappe, 1979).

Les deux espèces étudiées *T. pinoyi* et *T. leptoderma* se différencient par la morphologie de leurs ascomes (Figure 4) et par l'ornementation de leurs ascospores (Figure 5).



**Figure 4 :** Morphologie des ascomes de *Terfezia leptoderma* (a) (Castellano et Turkoglu, 2012) et *Tirmania pinoyi* (b) (Dib-Bellahouel et Fortas, 2011)



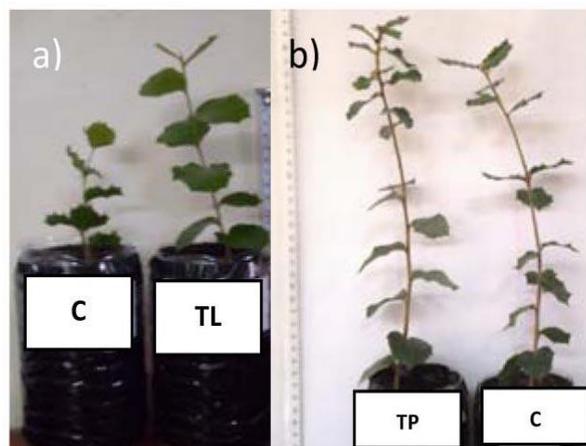
**Figure 5 :** Ascospores de terfez observées au microscope électronique à balayage (x5000) : 1) *Terfezia leptoderma* Tulasne et 2) *Tirmania pinoyi* Maire Malençon (Dib et Fortas, 2019).

### 4.3. Effets de la mycorhization sur la croissance des plants inoculés par les différentes espèces de terfez

#### 4.3.1. Cultures gnotoxéniques (en conditions de serre)

##### 4.3.1.1. Synthèses mycorhiziennes réalisées sur le chêne vert (*Quercus ilex*)

D'après l'expérience faite par Dib et Fortas (2019), les résultats de l'association mycorhizienne entre les plants de chêne vert inoculés par *Terfezia leptoderma* (TL) ou *Tirmania pinoyi* (TP) après plus de 14 mois de culture en serre montrent que la mycorhization améliore significativement la croissance des plants de chêne vert inoculés par rapport aux témoins : ils sont plus vigoureux que les plants témoins qui sont chétifs et poussent peu après la même période de culture (Figure 6).



**Figure 6 :** Croissance des plants de *Quercus ilex* inoculés avec : a) *Terfezia leptoderma* (TL) et b) *Tirmania pinoyi* (TP) après plus de 14 mois de culture en serre. Plantes témoins (C) (Dib et Fortas, 2019)

Les analyses statistiques des paramètres de croissance (Tableau 4) montrent que le développement des plants est très affecté par le **facteur inoculation**. Les paramètres de croissance utilisés pour évaluer le taux de croissance sont: la hauteur de la partie aérienne des plants, le nombre des feuilles, le poids frais de la plante entière, le poids sec de la partie aérienne ainsi que le nombre des racines.

**Tableau 4 :** Croissance des plantules de *Quercus ilex* inoculées avec *Terfezia leptoderma* et *Tirmania pinoyi* après plus de 14 mois de culture en serre (ANOVA à sens unique, les valeurs sont des moyennes  $\pm$  erreur standard) (Dib et Fortas, 2019).

Plants de <i>Quercus ilex</i>	Hauteur de la partie aérienne (cm)	Nombre de feuilles	Poids frais de la plante entière (g)	Poids sec de la partie aérienne (g)	Nombre de racines	F (%)	IDMR (%)
Inoculé par <i>T.leptoderma</i>	27.27 $\pm$ 5.12	16.36 $\pm$ 1.13	10.71 $\pm$ 1.12	2.57 $\pm$ 0.13	54.54 $\pm$ 8.24	16.4	5.2
Inoculé par <i>T. pinoyi</i>	31.81 $\pm$ 6.09	9.09 $\pm$ 1.03	14.28 $\pm$ 1.89	3.28 $\pm$ 0.32	61.81 $\pm$ 10.32	27.8	24
Témoins	11.36 $\pm$ 2.01	4.54 $\pm$ 0.82	8.57 $\pm$ 1.06	1.42 $\pm$ 0.09	40.27 $\pm$ 7.03	0	0

D'après les résultats présentés dans le Tableau (4), il apparaît clairement l'effet significatif de la mycorhization qui se traduit par augmentation de la hauteur de la partie aérienne des plants, nombre des feuilles, poids frais de la plante entière, poids sec de la partie aérienne ainsi que le nombre des racines.

L'analyse de tous ces paramètres de croissance en se référant toujours à la publication de Dib et Fortas (2019) à partir du Tableau (4) est résumée comme suit :

- **Hauteur de la partie aérienne des plants**

Quant à la comparaison de la hauteur de la partie aérienne, les analyses de la variance montrent des effets significatifs de la mycorhization sur la hauteur des plants inoculés par les deux espèces de Terfez par rapport à ceux non inoculés (témoins). La différence entre la hauteur des plants inoculés et les plants témoins explique l'importante croissance des plants inoculés par rapport aux témoins. Ces résultats se rapprochent de ceux de Chevalier (1985) qui a montré que le champignon truffier améliore la croissance des arbres. En effet cette augmentation de la hauteur de la partie aérienne des plants de chêne vert inoculés est provoquée par la présence du champignon mycorhizien associé à la plante hôte (Strullu, 1991).

- **Nombre des feuilles**

En ce qui concerne le nombre des feuilles, les analyses de la variance montrent des effets significatifs de la mycorhization sur le nombre de feuilles des plants inoculés par les deux espèces de Terfez par rapport à ceux non inoculés où le nombre de feuilles des plants

inoculés est plus important que celui des plants témoins. Ces résultats sont similaires avec ceux trouvés par Turgeman *et al.*, 2011 où le nombre des feuilles élevé chez les plants d'*Helianthemum sessiliflorum* mycorhizés par *Terfezia boudieri* augmente les processus physiologiques tels la photosynthèse (35%), la transpiration (18%) et la respiration (49%) par rapport aux témoins.

- **Poids frais de la plante entière et poids sec de la partie aérienne**

A propos de la biomasse fraîche de la plante entière, les analyses de la variance indiquent l'effet significatif de l'inoculation sur la biomasse entière des plants de chêne vert inoculés par les deux espèces de Terfez par rapport à celle des témoins. Cet effet varie sensiblement en fonction de l'espèce de Terfez inoculé. Ces résultats montrent que la croissance des plants inoculés est significativement plus importante que celle des témoins. Il en est de même pour la biomasse sèche de la partie aérienne des plants où les analyses de variances montrent que les plants inoculés sont significativement plus développés comparativement à celle des plants témoins.

En effet, la différence entre le poids frais et le poids sec des plants inoculés et témoins nous renseignent sur leurs teneurs en eau (Zitouni, 2010). Les plants inoculés comportent beaucoup plus d'eau que les témoins (Chevalier et Desmas, 1977). C'est ainsi que le champignon mycorhizien joue un rôle important dans l'absorption d'eau comme l'ont montré par (Laminou Manzou *et al.*, 2009). D'autres auteurs rapportent que la mycorhization intervient dans la croissance de la plante ainsi que la biomasse fraîche de la plante car elle limite les pertes d'eau par transpiration et intervient dans la régulation stomatique (Le Tacon et Gabraye, 1986 ; Selosse, 2000 et Ba *et al.*, 2011).

- **Nombre des racines**

Concernant le nombre des racines, les résultats des analyses de variance montrent des différences significatives dans le nombre des racines des plants inoculés par comparaison à ceux des témoins après 14 mois de culture ; le nombre des racines des plants inoculés est significativement plus important que celui des témoins. Ces résultats correspondent également à ceux de plusieurs auteurs ayant mycorhizé des Terfez avec différents partenaires végétaux (Slama *et al.*, 2012 ; Zitouni-Haouar *et al.*, 2014 ; Dafri et Bediar, 2018).

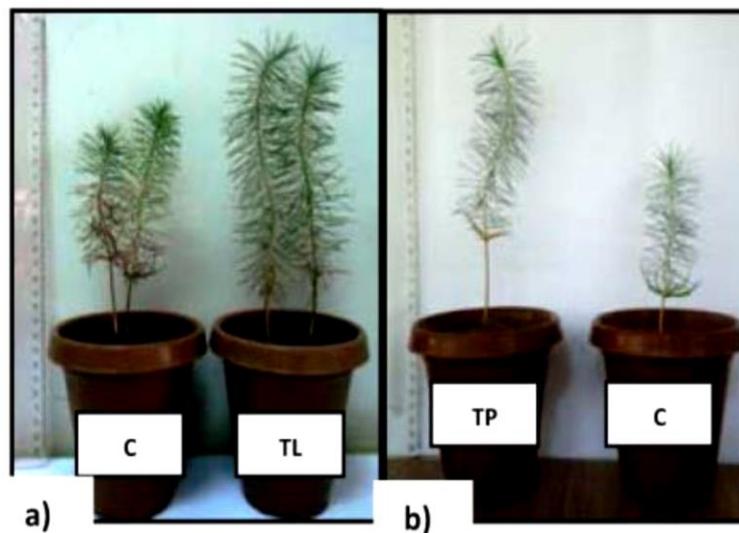
Il faut noter que Dib et Fortas (2019) sont les premiers qui ont obtenu la mycorhization du chêne vert par les Terfez en conditions de serre (gnotoxéniques) en Algérie. D'ailleurs, ces

effets bénéfiques sur le développement des plantes ressemblent à ceux obtenus lors de la mycorhization du chêne vert par les truffes européennes (*Tuber melanosporum*, *Tuber aestivum* et *Tuber magnatum*) (Chevalier, 1996 ; Callot, 1999 in Duhoux et Nichole, 2004) et la truffe du désert *Picoa juniperi* (Morte *et al.*, 2008).

Selon Strullu (1991), la manifestation la plus évidente de l'effet des mycorhizes sur les plantes est visible à l'œil nu et leur croissance rapide se traduit d'une manière générale par l'augmentation de leur biomasse.

#### 4.3.1.2. Synthèses mycorhiziennes réalisées sur le pin d'Alep (*Pinus halepensis*)

D'après la même étude réalisée par Dib et Fortas (2019) sur le pin d'Alep, les résultats de l'association mycorhizienne entre le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) avec les deux espèces de terfez (*Terfezia leptoderma* et *Tirmania pinoyi*) montrent que les plantes inoculées sont significativement plus développées que les plantes témoins (Figure 7) après plus de 14 mois de culture en serre.



**Figure 7** : Croissance des plantes de *Pinus halepensis* inoculées avec a) *Terfezia leptoderma* (TL) et b) *Tirmania pinoyi* (TP), après plus de 14 mois de culture en serre. C : plantes contrôlées (Dib et Fortas, 2019)

Les analyses de variance montrent les effets significatifs de la mycorhization qui se traduisent par une augmentation de la hauteur des plants inoculés, nombre des feuilles, le poids frais de la plante entière, le poids sec de la partie aérienne ainsi que le nombre des racines (Tableau 5). Ces effets varient sensiblement en fonction de l'espèce de Terfez inoculé (*Terfezia leptoderma* ou *Tirmania pinoyi*).

**Tableau 5 :** Croissance des plants de pin d'Alep inoculés avec *Terfezia leptoderma* et *Tirmania pinoyi* après plus de 14 mois de culture en serre (ANOVA à sens unique, les valeurs sont des moyennes  $\pm$  l'erreur standard) (Dib et Fortas, 2019).

Plants de <i>P. halepensis</i>	Hauteur de la partie aérienne (cm)	Nombre de feuilles	Poids frais de la plante entière (g)	Poids sec de la partie aérienne (g)	Nombre de racines	F (%)	IDMR (%)
Inoculé par <i>T. leptoderma</i>	18.71 $\pm$ 2.07	400.64 $\pm$ 71.13	2.25 $\pm$ 0.04	0.86 $\pm$ 0.150	23.33 $\pm$ 2.85	35.5	62
Inoculé par <i>T. pinoyi</i>	21.25 $\pm$ 2.11	333.33 $\pm$ 72.09	2.37 $\pm$ 0.02	0.69 $\pm$ 0.139	36.66 $\pm$ 3.70	61,3	47,42
Témoins	13.57 $\pm$ 2.17	216.66 $\pm$ 47.98	1,5 $\pm$ 0.01	0,33 $\pm$ 0.07	13.33 $\pm$ 1.02	0	0

Ces résultats corroborent avec ceux de Sebbata (1995) in Tadjia (1996), qui ont montré des effets positifs de l'inoculation de *T. clavaryi* sur la croissance de *P. halepensis* en conditions contrôlées. Certains auteurs ont aussi signalé que *T. leptoderma* forme avec *P. halepensis* des ectomycorhizes dans les conditions naturelles (Janex-Favre *et al.*, 1988 ; Diez *et al.*, 2002 ; Khabar, 2002). Des résultats satisfaisants sont également trouvés par d'autres auteurs entre différents partenaires végétaux et espèces de Terfez (Awameh, 1981 ; Fortas et Chevalier, 1992 ; Slama *et al.*, 2012 ; Zitouni-Haouar *et al.*, 2014).

#### 4.3.1.3. Taux de mycorhization

D'après les résultats trouvés par Dib et Fortas (2019), il apparaît d'après l'évaluation des fréquences d'infection mycorhizienne que le taux de mycorhization varie selon le partenaire végétal impliqué dans la symbiose (Tableau 4 et 5). En effet, il semble que le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) réagit fortement à la mycorhization quelle que soit l'espèce de Terfez inoculée par rapport au chêne vert (*Quercus ilex*) en vue des valeurs de la fréquence de mycorhization : pour le pin d'Alep, il est compris entre 35.5% et 61,3 % tandis que chez le

chêne vert il varie entre 16,4% et 27,8%. Des résultats analogues ont été trouvés par (Tadja, 1996 ; Chafi *et al.*, 2004 ; Zitouni, 2010 ; Bouazza, 2013)

#### **4.3.1.4. Indice de dépendance mycorhizienne (IDMR)**

Les résultats de l'estimation de l'indice de dépendance mycorhizienne obtenus par les mêmes chercheurs montrent que les deux partenaires testés répondent différemment à la mycorhization selon leur symbiote fongique. Il s'avère que l'IDMR est plus élevé chez le *P. halepensis* mycorhizé par les deux espèces de Terfez (*T. leptoderma* et *T. pinoyi*) que chez le *Q. ilex* (Tableau 4 et 5) ce qui montre que le pin d'Alep s'associe favorablement avec ces champignons en comparaison avec le chêne vert. En effet, cet indice varie selon le partenaire végétal impliqué dans la symbiose et l'espèce de Terfez inoculée (Chevalier *et al.*, 1984).

Pareillement, des résultats similaires obtenus par Zitouni-Haouar *et al.* (2014) chez des plants de pin d'Alep inoculés par *Terfezia leptoderma* après 14 mois de culture en serre, sur le sol de la station de Stidia (Wilaya de Mostaganem) avec une fréquence de mycorhization de 84% et un indice de dépendance mycorhizienne relative égal à 47,27%.

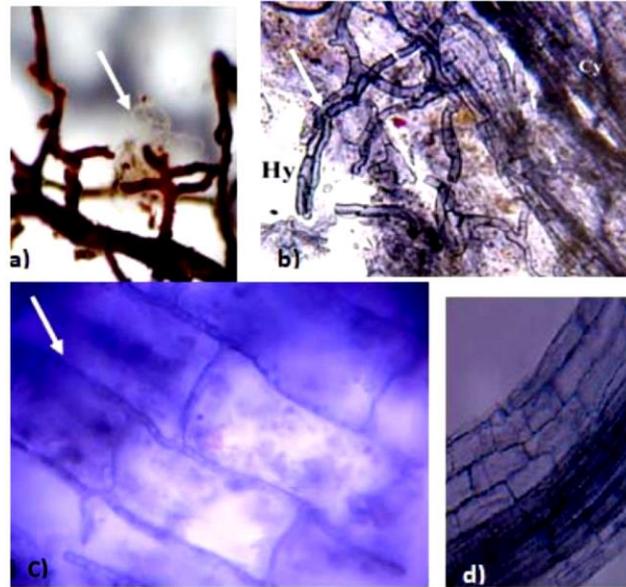
#### **4.3.1.5. Caractéristiques morphologiques des mycorhizes**

##### **Association *Quercus ilex* / *Terfezia leptoderma* ou *Tirmania pinoyi***

L'étude morphologique des mycorhizes réalisée par Dib et Fortas (2019) entre *Quercus ilex* et *Terfezia leptoderma* ou *Tirmania pinoyi* a montré l'effet bénéfique de la mycorhization sur le développement du système racinaire des plants inoculés, les racines mycorhizées s'avèrent bien développées après plus de 14 mois de culture en conditions gnotoxéniques quelle que soit l'espèce de Terfez inoculée. Par contre, il n'y a aucune infection au niveau des racines des plants témoins.

L'examen macroscopique effectuée par les mêmes chercheurs par l'utilisation de la loupe stéréoscopique des racines colorées ou non au bleu de trypan a révélé la présence des filaments mycéliens courts formés par les deux espèces de Terfez autour des racines de chêne (Figure 8 et 9).

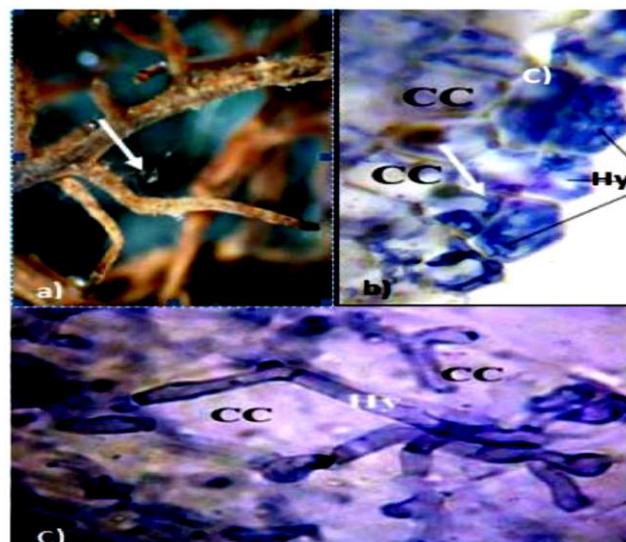
Les observations microscopiques des associations mycorhiziennes révèlent la présence des filaments mycéliens de *Terfezia leptoderma* enveloppant les racines permettant de former le manteau fongique. Dans le cortex, les hyphes sont intercellulaires; ils envahissent les espaces entre les cellules corticales et forment un réseau de Hartig sans atteindre le cylindre central (Figure 8).



**Figure 8 :** *Quercus ilex* mycorhizé par *Terfezia leptoderma* (Dib et Fortas, 2019).

a) Racine courte entourée d'hyphes de Terfez (flèche), observée au stéréomicroscope, b) Manteau lâche (flèche) constitué d'hyphes externes (Hy) n'atteignant pas le cylindre central (cy) observé au microscope optique (Grx400), c) Terfez formant un filet de Hartig (flèche) entre les cellules corticales de chêne vert (Grx400), d) Cellules corticales de plantes témoins non envahies par les hyphes (Grx100).

Les observations microscopiques réalisées par les mêmes chercheurs sur les racines de chêne vert inoculées par *Tirmania pinoyi* révèlent la présence d'hyphes septés sur la partie externe des racines pour former le manteau fongique, la progression de l'infection entre les espaces intercellulaires des cellules corticales permet de former le réseau de Hartig (Figure 9).



**Figure 9 :** *Quercus ilex* mycorhizé par *Tirmania pinoyi* (Dib et Fortas, 2019).

a) Racine courte entourée d'hyphes de terfez (flèche), b) Hyphes de Terfez (Hy) formant un réseau de Hartig (flèche) installé entre des cellules corticales (CC) de chêne vert (Grx400), c) Cellules corticales (CC) entourées d'hyphes de Terfez (Grx1000).

En effet, tous ces observations montrent qu'il y a eu une installation d'une ectomycorhize au niveau des racines de chêne vert inoculées. Par ailleurs, la morphologie des mycorhizes obtenue par ces auteurs est différente de celle des ectomycorhizes typiques du chêne vert formées par les truffes du genre *Tuber* (*Tuber melanosporum*, *Tuber aestivum* et *Tuber magnatum*); ces mycorhizes ont un manteau fongique et un réseau de Hartig (Chevalier et Grente, 1979 ; Chevalier, 1996 ; Duhoux et Nichole, 2004 ; Guerbolt, 2009).

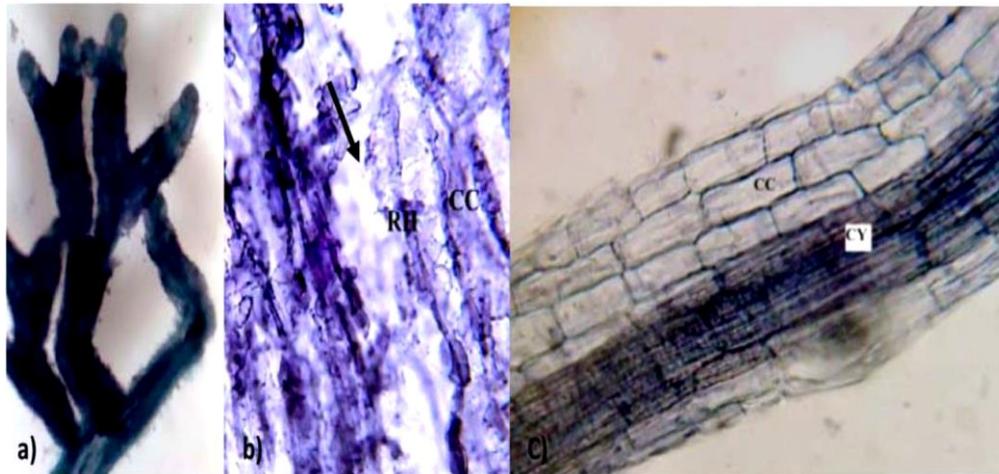
#### **Association *Pinus halepensis* / *Terfezia leptoderma* ou *Tirmania pinoyi***

Les résultats trouvés par Zitouni-Haouar *et al.* et Dib et Fortas 2019 illustrent clairement le bon développement du système racinaire des plants de *P. halepensis* inoculés par rapport aux témoins. Les racines semblent bien mycorhizées quelle que soit l'espèce de Terfez ou le type de substrat utilisés.

Des résultats analogues sont obtenus par ces chercheurs quant à l'examen macroscopique et microscopique des racines mycorhizées. En effet, l'observation macroscopique sous la loupe stéréoscopique des racines inoculées de *P. halepensis* révèle la présence des ectomycorhizes formés de courts filaments de *Terfezia leptoderma* ou *Tirmania pinoyi* obtenus après plus de 14 mois de culture en serre (Figure 10 et 11).

A propos des résultats des examens microscopiques, les chercheurs rapportent qu'il y a une formation d'ectomycorhizes sans manteau formée par les hyphes septé de *Terfezia leptoderma* qui infectent les racines corticales, mais n'atteignent jamais le cylindre central. Ces hyphes parcourant ensuite les espaces intercellulaires des cellules corticales permettant le développement du réseau d'Hartig (Figure 10).

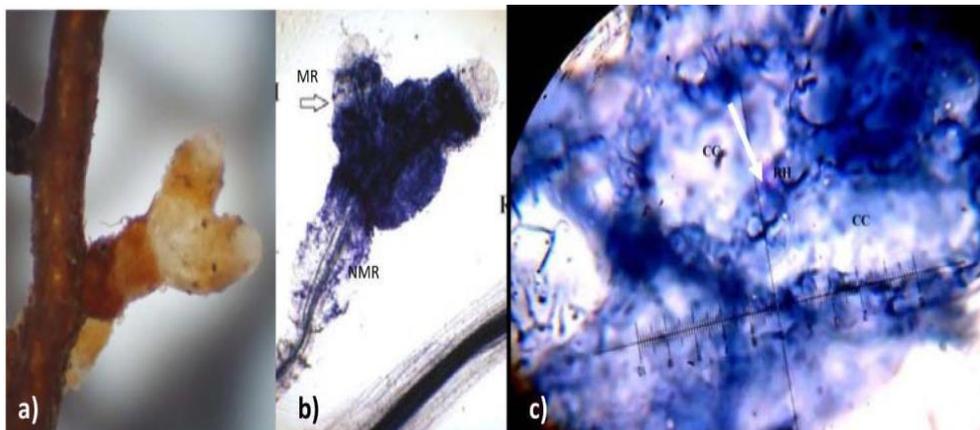
Certains auteurs ont aussi signalé que *T. leptoderma* forme avec *P. halepensis* des ectomycorhizes sans manteau fongique dans les conditions naturelles (Janex-Favre *et al.*, 1988 ; Diez *et al.*, 2002 ; Khabar, 2002).



**Figure 10 :** *Pinus halepensis* mycorhizé par *Terfezia leptoderma* (Dib et Fortas, 2019).

a) Racines courtes dichotomiques portant des hyphes de Terfez (en bleu), b) Terfez formant un filet de Hartig (flèche, RH) entre les cellules corticales (CC) à Grx400, c) Cellules corticales (CC) des plantes témoins et cylindre central (CY) non envahi par les hyphes (Grx40).

L'étude microscopique des mycorhizes réalisée par Dib et Fortas (2019) sur les racines du pin d'Alep inoculées par *Tirmania pinoyi* a permis de révéler la formation d'ectomycorhizes avec un filet de Hartig et un manteau lâche (Figure 11). Selon Agerer (2006), le manteau des ectomycorhizes de *Pinus halepensis* formé par *Tirmania pinoyi* correspond à la forme "Q".



**Figure 11 :** *Pinus halepensis* mycorhizé par *Tirmania pinoyi* (Dib et Fortas, 2019).

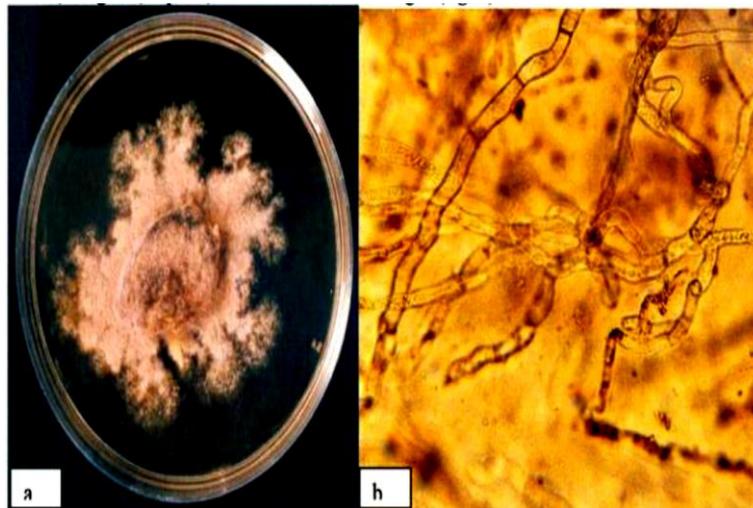
a) Racines blanches courtes dichotomiques avec hyphes de terfez, b) ectomycorhizes formées par les racines terfez (MR) et non-mycorhizées (NMR) au grossissement Grx100, c) réseau de Hartig (flèche, RH) installé entre les cellules corticales (CC) du pin d'Alep (Grx1000).

Des résultats analogues ont été obtenus par Chafi *et al.* (2004) qui ont montré que *P. halepensis* forme avec *T. pinoyi* d'Algérie, en conditions de culture gnotoxéniques, des ectomycorhizes sans manteau.

### 4.3.2. Culture axénique de *Pinus halepensis* / *Terfezia claveryi*

#### 4.3.2.1. Caractéristiques de la culture mycélienne de *Terfezia claveryi*

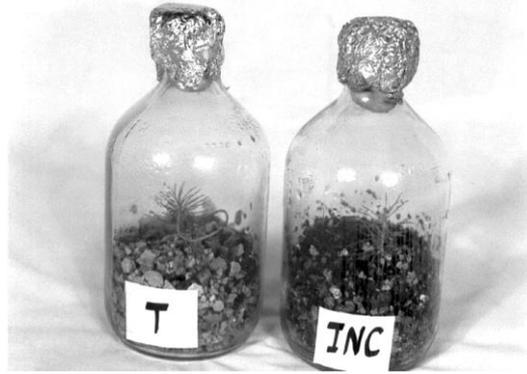
Les résultats trouvés par Dib et Fortas (2020) concernant la caractérisation de la culture mycélienne de *Terfezia claveryi* illustrent que la colonie de cette souche de truffe du désert sur milieu agar malté (1%), présente un mycélium intramatriciel blanc à brun clair avec un revers brun foncé. En microscopie optique, le mycélium s'avère ramifié, irrégulier, septé et avec de nombreux renflements (Figure 12).



**Figure 12** : Aspects de la souche mycélienne de *Terfezia claveryi* : a) aspect macroscopique en boîtes de Pétri et b) aspect microscopique au microscope optique (Grx1000) (Dib et Fortas, 2020)

#### 4.3.2.2. Description de l'association entre *Terfezia claveryi* et *Pinus halepensis* en conditions axéniques

Dans la même étude, les résultats de l'association mycorhizienne entre *Terfezia claveryi* et *Pinus halepensis* en conditions axénique ont mis en évidence l'apparition de nombreux filaments mycéliens sur la surface du substrat contenant les plantules inoculées qui ont poussé et se sont interpénétrés entre les folioles de vermiculite. Par contre, aucun développement fongique n'a été constaté pour les plants témoins (Figure 13).

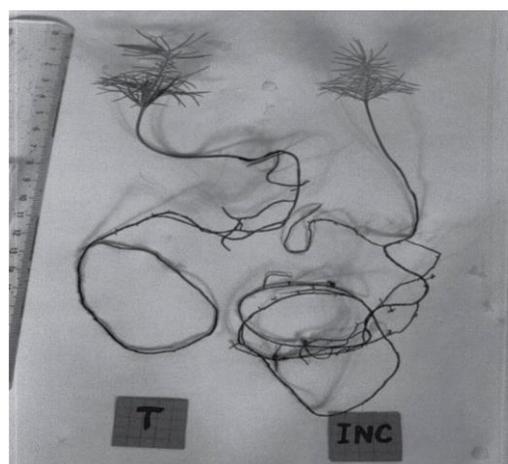


**Figure 13 :** Culture axénique de *Pinus halepensis* mycorhizé par *Terfezia claveryi* (Dib et Fortas, 2020).

Il apparaît d'après les résultats des synthèses mycorhiziennes réalisées en conditions axéniques, le bon développement de la partie aérienne des plantules inoculées par rapport aux témoins (Tableau 6 et Figure 14).

**Tableau 6 :** Hauteur des parties aériennes des plantules de pin après 10 mois de culture en conditions axéniques (Dib et Fortas, 2020).

Plantations de pin d'Alep	Témoins	Inoculés
Moyennes observées (cm)	8±2	16.38±3



**Figure 14 :** Aspect des plantules de pin inoculées par *T. claveryi* (INC) et des témoins (T) (Dib et Fortas, 2020).

L'analyse statistique réalisée sur la partie aérienne a montré que l'inoculation effectuée par *Terfezia claveryi* en conditions axénique améliore significativement la croissance des semis de *Pinus halepensis* (Tableaux 7 et 8). Une différence significative a été marquée dans le poids sec des parties aériennes des plantules de pin après 10 mois de culture, il s'avère que la biomasse sèche des plants inoculés est plus importante que celle des témoins (Tableau 7).

**Tableau 7 :** Poids sec des parties aériennes des plantules de pin après 10 mois de culture en conditions axéniques (Dib et Fortas, 2020).

Plantations de pin d'Alep	Témoins	Inoculés
Moyennes observées (mg)	62±1	146±2

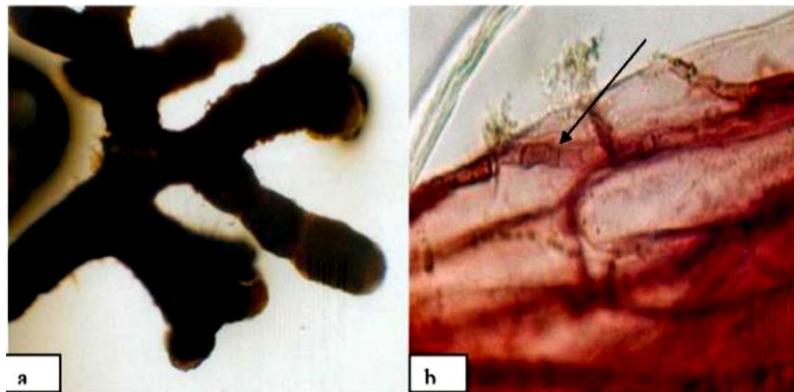
L'analyse statistique des résultats (Tableau 8) montrent des différences significatives quant au développement du système racinaire des plantules de pin après 10 mois de culture en conditions axéniques. Le système racinaire des plants inoculés est plus développé en longueur et en nombre par rapport à celui des témoins. Selon certains auteurs, ce développement racinaire marqué chez les plants mycorhizés est stimulé par des auxines spéciales qui s'accumulent autour de la racine produisant ainsi de nombreuses racines latérales (Felten *et al.*, 2009 ; Bonfante et Genre, 2010).

**Tableau 8 :** Évaluation quantitative du développement du système racinaire des plantules de pin après 10 mois de culture en conditions axéniques (Dib et Fortas, 2020)

Plantations de pin d'Alep	Témoins	Inoculés
Longueur totale du système racinaire (cm)	56.1±2.1	172.3±2
Nombre de racines courtes (ramification totale du système racinaire)	29±1	142±2

Des résultats similaires ont été obtenus pour plusieurs plantes mycorhizées avec la truffe du désert dans les mêmes conditions (Chevalier et Desmas, 1977 ; Awameh, 1981 ; Rovolanirina, 1986 ; Fortas et Chevalier, 1992).

L'étude microscopique réalisée par Dib et Fortas (2020) sur la partie racinaire a montré la présence d'une ramification importante dans les plantules inoculées. Une dichotomie accentuée est également observée sur les racines courtes. De plus, les observations microscopiques des racines des plantules inoculées ont montré la présence des filaments mycéliens de *Terfezia claveryi* formant un manteau fongique (ectomycorhize) qui pénètrent les cellules corticales des pins pour former le réseau d'Hartig (Figure 15). D'autre part, Fortas et Chevalier (1992) ont déclaré qu'il est possible de réaliser une symbiose mycorhizienne entre *Helianthemum guttatum* et *Terfezia claveryi* en conditions axéniques, ce sont des ectomycorhizes identiques à celles obtenus par Gutierrez *et al.* (2003) en associant *Helianthemum almeriense* avec la même espèce.



**Figure 15 :** Racines de pin d'Alep mycorhizées par *Terfezia claveryi* : a) de la racine courte (Grx40) et b) racines corticales pénétrées par le filament mycélien de *T. claveryi* (flèche) à (Grx1000) (Dib et Fortas, 2020)

#### **4.4. Résultats des essais d'application de la mycorhization contrôlée des Terfez au champ (la terféziculture)**

La maîtrise de la terféziculture doit passer par la mycorhization contrôlée. En effet, de nombreuses tentatives d'application de la terféziculture par transplantation au champ ont été entreprises avec succès par plusieurs chercheurs.

Les chercheurs Koweitiens Awameh et Alsheikh (1979) sont les premiers ayant essayé la Terfeziculture avec succès qui a été ensuite appliqué par d'autres chercheurs.

Chevalier (1983) a réussi d'obtenir les premières truffes après trois ans et demi de plantation sous des noisetiers mycorhizés par la truffe noire installés en Bourgogne.

Kagan-Zur et Roth-Bejerano (2006) ont réussi d'effectuer la culture de *T. pfeilii* par co-culture avec la pastèque *Citrullus lanatus* sur terrain, en utilisant deux espèces d'*Acacia* comme hôte primaire qui permet la multiplication du mycélium de *T. pfeilii* avant le semis de *Citrullus lanatus*.

Morte *et al.* (2008) ont obtenu 600 kg/ha des corps fructifères de *Terfezia claveryi* 23 mois après la plantation. Cette période a été réduite à 12 mois après une gestion agricole adéquate par Morte *et al.* (2009) grâce à l'aménagement des terfezières. A cet effet, la recherche de nouvelles techniques de gestion des terres pourraient probablement améliorer la production de ces champignons (Diouf *et al.*, 2011).

Slama *et al.* (2010) effectuant leur essai de Terféziculture en Tunisie ont obtenus les premiers ascocarpes de *Terfezia Boudieri* par inoculation directe des graines de la plante *Helianthemum sessiliflorum* a été récolté après un an de culture sur sol gypseux, comme ils ont obtenus deux autres ascocarpes sur les deux sols à côté des plants issus de l'inoculation directe durant la deuxième année.

En Algérie, les essais de Terféziculture n'ont pas encore bien maîtrisés, des essais préliminaires sont entrepris avec plus ou moins de succès (Aïbeche, 2008 ; Zitouni, 2010 ; Fortas *et al.*, 2011 ; Kermani, 2013). Alors, la réussite de cette expérimentation sur le terrain dépend de nombreux facteurs qui doivent être pris en considération en amont et en aval de la mise en culture des plants mycorhizés sur champ, ce qui fait appel à des études bio-écologiques complémentaires investiguant les interactions possibles entre les deux symbiotes.

# **Conclusion**

## Conclusion

L'objectif de cette présente étude consiste à la mise en évidence de l'effet de la mycorhization des Terfez sur l'amélioration de la croissance des espèces forestières : *Pinus halepensis* M. (pin d'Alep) et *Quercus ilex* L. (chêne vert) en conditions contrôlées.

L'évaluation du pouvoir mycorhizogène à partir des synthèses mycorhiziennes effectuées entre trois espèces de Terfez et les deux espèces forestières, en conditions gnotoxéniques ainsi qu'axéniques, révèlent qu'il est possible de maîtriser la mycorhization contrôlée des plants inoculés par ces champignons.

L'étude des paramètres de croissance des plants inoculés en conditions gnotoxéniques, montrent que l'inoculation de *Pinus halepensis* et *Quercus ilex* par *Terfezia leptoderma* ou *Tirmania pinoyi* améliore significativement leur croissance par rapport aux témoins après plus de 14 mois de culture en serre.

L'évaluation des fréquences d'infection mycorhizienne indique que les deux partenaires végétaux de la symbiose répondent différemment à la mycorhization par les deux espèces de Terfez. Il s'avère que *P. halepensis* peut s'associer plus favorablement au Terfez, donc c'est le meilleur partenaire végétal que *Q. ilex*. Il serait donc intéressant de l'utiliser en Algérie pour produire des plants mycorhizés en pépinière.

L'estimation de l'indice de dépendance mycorhizienne relative (IDMR) montre que le pin d'Alep mycorhizé par les deux espèces de Terfez présente un IDMR plus élevé par rapport à celui de chêne vert. Cet indice varie donc selon le partenaire végétal impliqué dans la symbiose et l'espèce de Terfez inoculée.

L'observation sous la loupe stéréoscopique des racines inoculées de *P. halepensis* et de *Q. ilex* a permis de révéler une diversité morphologique des ectomycorhizes obtenus après plus de 14 mois de culture en serre. D'ailleurs, l'examen microscopique des racines inoculées, après traitement et coloration, a révélé aussi qu'il y a une installation d'une ectomycorhize chez les deux espèces forestières. Chez *P. halepensis*, des filaments mycéliens formés par *Tirmania pinoyi* enveloppent les racines sans atteindre le cylindre central. Ces filaments s'associent pour former un manteau lâche (mince) avec un réseau de Hartig dont leur structure est pseudoparenchymateuse (en puzzle). Par contre, les hyphes de *Terfezia leptoderma* infectent les racines sans former le manteau fongique.

Les deux espèces de Terfez forment des ectomycorhizes avec *Q. ilex* sans manteau et avec un réseau de Hartig. Il n'y a aucune infection dans les racines des plants témoins.

Quant aux synthèses mycorhiziennes entre *P. halepensis* et *T. claveryi* réalisées en conditions axéniques sur un milieu artificiel imprégné de solution nutritive, les résultats montrent que la mycorhization par les Terfez améliore la croissance des plants de pin d'Alep. L'analyse statistique des paramètres de croissance indique la différence significative entre les plants inoculés et les témoins. Les plantules inoculées semblent plus vigoureuses et présentent un système racinaire bien développé par rapport aux témoins.

En conclusion de cette étude, on peut déduire que la mycorhization effectuée par l'inoculation des Terfez a un effet bénéfique sur l'amélioration de la croissance des espèces forestières et en particulier le pin d'Alep. Ces résultats intéressants nous permettent d'ouvrir les **perspectives** de poursuivre cette étude par :

- Mettre en valeur les régions semi arides, lutter éventuellement contre la désertification par la production à grande échelle de ces espèces forestières mycorhizées et à la fois d'envisager une terfeziculture algérienne durable qui pourrait développer le niveau social et économique des populations de ces régions.

- Procéder à une caractérisation morphologique et moléculaire de la mycorhization des Terfez afin d'évaluer la permanence des mycorhizes dans les conditions de terrain.

- Etudier la plasticité des Terfez pour former des mycorhizes par la réalisation des associations mycorhiziennes avec d'autres partenaires végétaux en vue de sélectionner les combinaisons Terfez-plante hôte et en particulier les plus compatibles avec les conditions environnementales.

- Etudier et caractériser les interactions qui existent entre les Terfez leurs différentes plantes hôtes et enfin envisager la production à grande échelle de plants mycorhizés par des truffes du désert en conditions contrôlées afin de les transplanter sur le terrain.

# **Bibliographie**

## Bibliographie

1. Abourouh M. 2011. Truffes du désert du Maroc : diversité et modes d'exploitation. 6<sup>ème</sup> Rencontre de Micosylva, Mértola (ADPM), Portugal, pp. 15-18.
2. Ackerman L. G. J., Van Wyk P. J., Du Plessis L. M. 1975. Some aspects of the composition of the Kalahari truffle or N'abba. *S. Afr. Food Rev.*, 2 : 145-146.
3. Aïbeche C. 2008. Caractéristiques écologiques et mycologiques d'une espèce de Terfez de littoral ouest algérie, essai de mycorhization contrôlée avec sa plante-hôte naturelle *Helianthemum guttatum*. Mémoire de Magister, Université d'Oran1, Algérie, 85 p.
4. Alsheikh A. M., Trappe J. M. 1983. Desert truffles: The genus *Tirmania*. *Transactions of the British Mycological Society*, 8 (1) : 83-90.
5. Arioui S. 2013. Etude des sols à Terfez et leurs plantes associées et accompagnatrices dans la région Sud-Ouest de la wilaya de Béchar. Mémoire de Magister. Faculté des sciences et technologies, Béchar, Algérie. 78 p.
6. Awameh M. S., Alsheikh M., Al-Gawas S. 1979. Mycorrhizal synthesis between *Helianthemum ledifolium*, *H. salicifolium* and four species of the genera *Terfezia* and *Tirmania* using ascospores and mycelia cultures obtained from ascospore germination. *Conf. Mycorrhizae*, Colorado State University, Fort Collins (USA).
7. Awameh M. S., Alsheikh A. 1979a. Laboratory and field study of four kinds of truffle (kamah), *Terfezia* and *Tirmania* species, for cultivation. *Mushroom Science*, 10: 507-517.
8. Awameh M. S., Alsheikh A. 1979b. Characteristics and ascospore germination of white kame (*Tirmania nivea* and *T. pinoyi*). *Ann. Phytopathol.*, 11: 223-229.
9. Awameh M.S., Alsheikh A. 1980a. Ascospore germination of black kame (*Terfezia boudieri*). *Mycologia*, 72 (1) : 50-54.
10. Awameh M.S., Alsheikh A. 1980b. Features and analysis of spore germination in the brown kame *Terfezia claveryi*. *Mycologia*, 72 (3) : 494-499.
11. Ba A., Duponnois R., Diabate M., Greyfus B. 2011. Champignon mycorhizien des arbres forestiers en Afrique de l'ouest. Ed. IRD, Maroc, 263 p.
12. Bessah G. 1998. Contribution à l'étude de la symbiose mycorhizienne entre deux espèces de Terfez : *Terfezia claveryi* et *Terfezia boudieri* avec le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) dans la région de Djelfa. Thèse de Magister, I.N.A, El-Harrach, Alger, 153 p.

13. Belkheir B. 1991. Essai de mycorhization de Terfez (*Tirmania nivea*) sur trois espèces céréalières (blé dur, orge et maïs). Mém. Ingén. Agro., Mostaganem, 70 p.
14. Bokhary H. A., Suleiman A. A. A., Basalah M. O., Parvez S. 1987. Chemical composition of desert truffles from Saudi Arabia. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 20 : 336-341.
15. Bokhary H. A. 1987. Desert truffles "Al-Kamah" of the Kingdom of Saudi Arabia. Occurrence, identification and distribution. Arab. Gulf. J. Scient. Res., 5: 245-255.
16. Bouazza F. 2013. Intérêt de la mycorhization contrôlée de Chêne vert (*Quercus ilex* L.) et de Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Miller) par deux espèces de Terfez, en conditions génotypiques et axéniques. Mémoire de Magister, Université d'Oran1, Algérie. 116 p.
17. Bouchareb F. 1994. Etude écologique des Terfez, cas de la région d'Ain Sefra (Wilaya de Naâma). Mém. Ing. d'état. Agron., I.N.F.S.A. Mostaganem, 81 p.
18. Boufeldja W. 2017. Evaluation du potentiel nutritionnel et antioxydant de quelques variétés de Truffes du Sud-ouest algérien. Effets antimicrobien et anti-inflammatoire. Thèse de doctorat de troisième cycle. Université Djillali Liabes. Sidi Bel Abbès, Algérie. 145 p.
19. Boulanger E. 1899. In : Dessolas H., Pargney J-CL., Chevalier G. 2008. Nouveau manuel de trufficulture. Réédition du manuel de Docteur Pradel (1914). Ed. Dessolas, Paris, 308 p.
20. Bradai L. 2006. Contribution à l'étude bioécologique de la truffe blanche de désert (*Terfezia* sp) cas de la région de Oued Mya (Ouargla). Mémoire de Magister. Univ. Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie.
21. Bradai L., Bissati S., Chenchouni H. 2013. Étude mycologique et bio-écologique de la truffe blanche du désert (*Tirmania nivea* Desf. Trappe 1971) dans la région de Oued M'ya (Ouargla, Sahara Algérien). Revue des Bio-ressources, 3 (1) : 6-14.
22. Bradai L., Bissati S., Chenchouni H. 2014. Desert truffles of the North Algerian Sahara: Diversity and bioecology. Emir. J. Food Agric., 26 (5) : 425-435.
23. Callot G. 1999. La truffe, la terre, la vie. Ed. INRA., Paris, 209 p.
24. Chatin A. 1892. La truffe. Ed. J. B. Baillière et Fils, Paris, 372 p.
25. Chevalier G. 1973. Synthèse axénique des mycorhizes de *Tuber brumale* Vitt à partir de cultures pures du champignon. Ann Phytopathol., 5 (2) : 163-182.
26. Chevalier G. 1983. Production des truffes à partir de plants mycorhizés selon le procédé INRA : premiers résultats. Bull. FNPT., 6 : 33-50.

27. Chevalier G. 1994. Evolution Des Recherches Sur Les Plants Mycorhizes Par la Truffe et Perspectives de Developpement, *Giornale botanico italiano: Official Journal of the Societa Botanica Italiana*, 128 (1) : 7-18.
28. Chevalier G. 1996. Le chêne blanc et le chêne vert, essences truffiers par excellence. *Forêt méditerranéenne*, 13 (7) : 235-242.
29. Chevalier G., Rioussel L., Dexheimer J., Dupre C. 1984. Synthèse mycorhizienne entre *Terfezia leptoderma* Tul. et diverses Cistacées. *Agronomie*, 4 : 210-211.
30. Dib-Bellahouel S. 2012. Etude du pouvoir antimicrobien et mycorhizien de deux espèces de Terfez : *Tirmania pinoyi* (Maire) Malençon et *Terfezia leptoderma* Tul. Thèse de doctorat. Université d'Oran1, Algérie, 205 p.
31. Dib S., Fortas Z. 2019. Inoculation with desert truffle increases growth of the forest seedlings *Quercus ilex* L. and *Pinus halepensis* M. *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.*, 21 (4) : 907-914.
32. Dib S., Fortas Z. 2020. The desert truffle *Terfezia claveryi* chatin improves the growth of Aleppo pine in axenic conditions. *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.*, 22 (2) : 239-242.
33. Diez J., Luis Manjón J., Martin F. 2002. Molecular phylogeny of the mycorrhizal desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*), host specificity and edaphic tolerance. *Mycologia*, 94 (2) : 247-259.
34. Duhoux E., Nicole M. 2004. *Biologie végétale. Associations et interactions chez les plantes*. Ed. Dunod, Paris, 166 p.
35. Fortas Z. 1990. Etude de trois espèces de Terfez : Caractères cultureux et cytologie du mycélium isolé et associé à l'*Helianthemum guttatum*. Thèse Doctorat d'Etat. Université d'Oran1, Algérie, 166 p.
36. Fortas Z., Chevalier G. 1988. Effet des conditions de culture sur la mycorhization d'*Helianthemum guttatum* par trois espèces du genre *Terfezia* et *Tirmania* (truffes du désert). 2ème congresso internazionale sul.tartufo spoletto, 197-203.
37. 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. *Canadian Journal of Botany*, 70 : 2453-2460.

38. Fortas Z. 2004. Ecologie et production naturelle des Terfez d'Algérie. Acte du 1<sup>er</sup> symposium sur les champignons hypogés du Bassin Méditerranéen, Rabat, Maroc.
39. Fortas Z. 2009. Diversité des espèces de Terfez (truffes des sables) des zones arides algériennes. Magnésium, vol. 5, 6 p.
40. Fortas Z., Zitouni F. E. -H., Kermani I., Aibèche C., Dib-Bellahouel S., Neggaz S. 2011. Production de plants mycorhizés par les truffes du désert : essai d'application de la terféziculture dans les zones arides et semi-arides. Conference: Actes des 7<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques de l'ATRSS (Agence Scientifique de la Recherche en Sciences) At: Béchar, Algérie. Volume: Tome 1.
41. Fortas Z., Dib-Bellahouel S., Chevalier G. 2021. Ecology and distribution of desert Truffles in Algeria. Doi: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-248631/v1>.
42. Frank A. B., 1885. Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. Ber. Dtsch. Bot. Ges., 3 : 128-145.
43. Gianinazzi S., Wipf D., 2010. Des champignons au service des plantes. PHM-Revue Horticole, 521 : 9-11.
44. Grente J., Delmas J. 1974. Perspectives pour une trufficulture moderne. Clermont-Ferrand, INRA. France, 65 p.
45. Harley J. L., Smith S. E. 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London UK., pp. 299-316.
46. Herrman P. 1980. Travaux pratiques D.A.A. Science du sol-Amenagement. D.E.A. Agronomie, Ecole nationale supérieure agronomique, Montpellier, Chaire de géologie-science du sol, 63 p.
47. Honrubia M., Cano A., Molina-Niñirola C. 1992. Champignons hypogés des terres semi-arides du sud de l'Espagne. Persoonia 14: 647-653.
48. 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.
49. Kagan-zur V. 2001. Terfezias a family of mycorrhizal edible mushrooms for arid zones. In: Combating Desertification with Plants. Springer, Boston, MA, 45-53 p.
50. Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., 2006. Co-cultivation of a Kalahari desert truffle and watermelon for commercial purposes. Project of Univ. Negev, 1-10.

51. Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N. 2008a. Unresolved Problems in the Life Cycle of Truffles. *The Open Mycology Journal*, 2, 86-88.
52. Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N. 2008b. Desert truffle. *Fungi*, 1 (3) : 32-37.
53. Kagan-Zur V., Zaretsky M., Sitrit Y., Roth-Bejerano N. 2008. Hypogeous *Pezizaceae* : physiology and molecular genetics. Ed. A. Varma, *Mycorrhiza*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 161-183.
54. Kermani I. 2013. Mycorrhization contrôlée d'une Cistacée pérenne par les Terfez en conditions gnotoxéniques et essai de transplantation sur le terrain. Mémoire de Magister. Université Oran Es-Senia. Algérie. 115 p.
55. Khabar L. 2001. Contribution à l'étude de la flore mycologique du Maroc, les truffes marocaines (discomycètes). *Bull. Soc. Mycol. Fr.*, 117 (3) : 213-221.
56. Khabar L. 2002. Etudes pluridisciplinaires des truffes du Maroc et perspectives pour l'amélioration de production de «Terfess » de la forêt de la Mamora. Thèse de Doctorat d'Etat Es-sciences, Univ. Mohamed V- Agdal, Rabat (Maroc), 167 p.
57. Kovács G. M., Trappe J. M., Alsheikh A. M., Hansen K., Healy R. A., Vági P. 2011. *Terfezia* disappears from the American truffle mycota as two new genera and *Mattirolomyces* species emerge. *Mycologia*, 103 (4): 831-840.
58. Laessle T., Hansen K. 2007. Truffle trouble: what happened to the Tuberales? *Mycological research*, 111: 1075-1099.
59. Langeron M. 1952. Précis de mycologie. Ed. Masson, Paris, p 367-397.
60. Loizides M., Hobart C., Konstandinides G., Yiangos Y. 2011. Desert truffles : the mysterious jewels of antiquity. *Field Mycology*, 13 (1) : 17-21.
61. Malençon G. 1973. Champignons hypogés du Nord de l'Afrique. *Persoonia*, 7 : 261-288.
62. Marqués Gálvez J. E. 2019. Desert truffle cultivation: new insights into mycorrhizal symbiosis, water-stress adaptation strategies and plantation management. Thèse de doctorat, Université de Murcia, Espagne, 311 p.
63. Mejstrick V. K., Cudlin P., 1983. Mycorrhiza in some plant desert species in Algeria. *Plant and Soil*, 71 : 363-366.
64. Moreno, G., Diez J., Manjon J. L. 2000. *Picoa lefebvrei* and *Tirmania nivea*, two rare hypogeous fungi from Spain. *Mycol Res* 104 (3) : 378–381.

65. Mousain D. 1984. Aspects écologiques de la symbiose mycorrhizienne. II-rôle des mycorhizes dans la nutrition minérale des plantes. Ann. Soc. D'horticulture et d'histoire naturelle de l'Hérault, 124 (1-2) : 20-31.
66. Morte M. A., Honrubia M. 1992. *In vitro* propagation of *Helianthemum almeriense* Pau. (*Cistaceae*). Agronomie, 12 : 807-809.
67. Morte M. A., Cano A., Honrubia M., Torres P. 1994. *In vitro* mycorrhization of micropropagated *Helianthemum almeriense* plants with *Terfezia claveryi* (desert truffle). Agricultural Science in Finland, 3 : 309-314.
68. Morte A., Lavisolo C., Shubert A. 2000. Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense*- *Terfezia claveryi*. Mycorrhiza, 10 : 115-119.
69. Morte A., Gutierrez A., Honrubia M. 2008. Biotechnology and cultivation of desert truffles. In Mycorrhiza: Biology, genetics, novel endophytes and biotechnology. Ed Varma, Springer, Germany, 467-483.
70. Morte A., Zamora M., Gutierrez A., Honrubia M. 2009. Desert truffle cultivation in semi-arid mediterranean areas. In Mycorrhizas-Functional processes and ecological impact, chapter 15. Ed. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg, pp. 221-234.
71. Morte A., Andrino, A., Honrubia M., Navarro-Ródenas A. 2012. *Terfezia* cultivation in arid and semiarid soils. In Edible ectomycorrhizal mushrooms, chapter 14. Ed. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. pp. 241-263.
72. Ravolanirina F. 1986. Etude de l'influence de quelques facteurs sur la croissance mycélienne des *Terfez in vitro* et synthèse des mycorhizes. D.E.A de biologie et de physiologie végétale. Univ. de Clermont-Ferrand, 70 p.
73. Rioussset L. G., Chevalier G., Bardet M. C. 2001. Truffes d'Europe et de Chine. Ed. I.N.R.A., Paris, 181 p.
74. Roth-Bejerano N., Libne D., Kagan-Zur V. 1990. *Helianthemum-Terfezia* relations in different growth media. New phytol., 114 (2) : 235-238.
75. Selosse M-A. 2000. La symbiose, structures et fonctions, rôle écologique et révolatif. Ed. Veibert, Paris, 160 p.

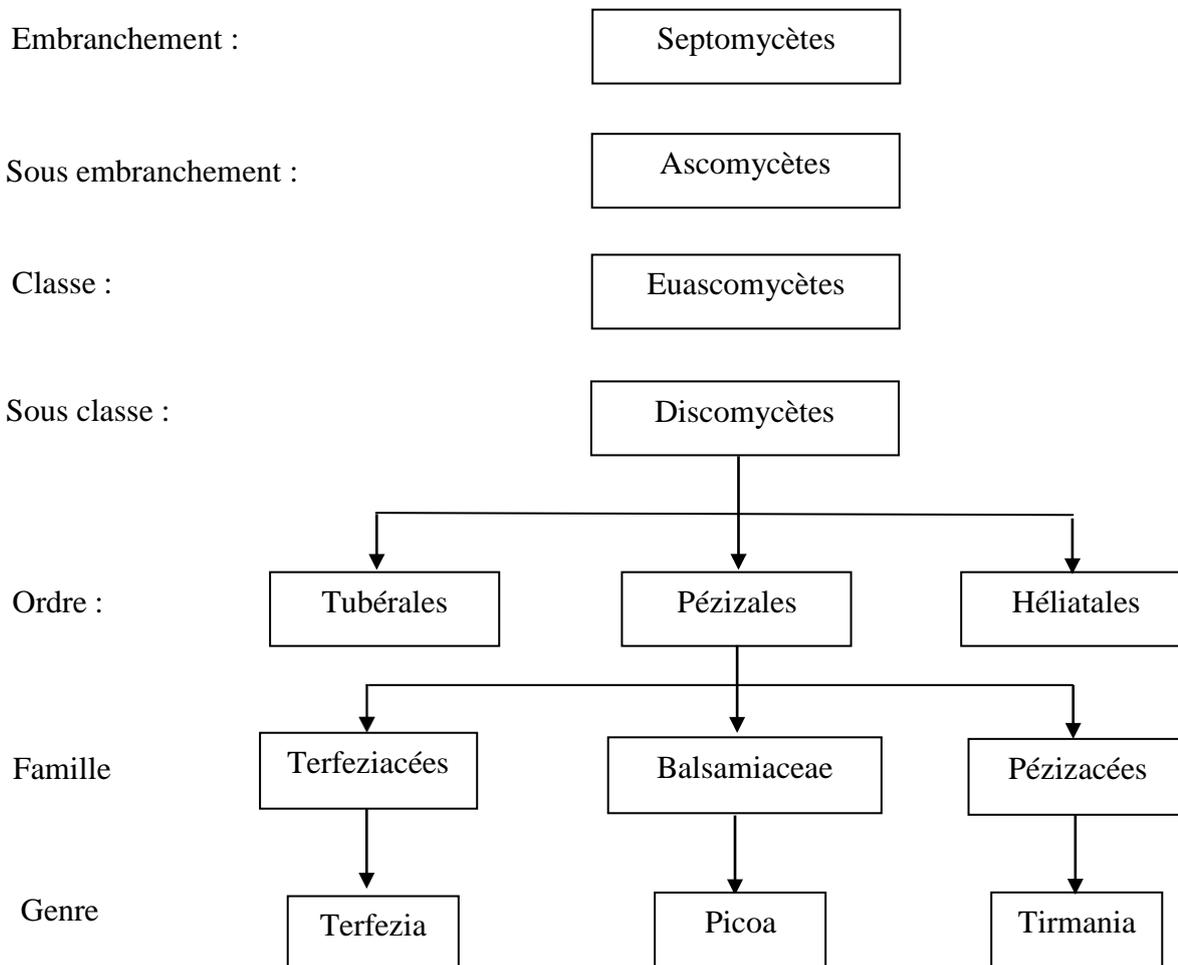
76. Slama A., Neffati M. 2004. Les truffes de la Tunisie méridionale: Etude écologique et mycologique. *Revue des régions arides*, 15 : 3-52.
77. Slama A., Neffati M., Fortas Z., Khabar L., Boudabous A. 2006. Etude taxinomique de quelques Ascomycota hypogés (*Terfeziaceae*) de la Tunisie Méridionale. *Bull. Soc. Mycol. Fr.*, 122 (2-3) : 187-195.
78. Smith S. E., Read D. J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis Third Ed.*, Academic Press, London, 800 p.
79. Strullu D. G. 1991. *Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivées*. Ed. Lavoisier, Paris, 250 p.
80. Tadjia A. 1996. Etude écologique de deux espèces de Terfez du Sud-ouest Algérien. Essai de leur mycorhization sur trois espèces céréalières. Mémoire de Magister. I.N.A, El-Harrach, Alger, 110 p.
81. Taylor F. W., Thamage D. M., Baker N., Roth-Bejerano N., Kagan-Zur V. 1995. Notes on the Kalahari desert truffle, *Terfezia pfeilii*. *Mycological Research*, 99 (7) : 874-878.
82. Terradas J. 1999. Le chêne vert et les forêts de chêne vert : une introduction. Dans *Ecology of Mediterranean Evergreen Oak Forests*. Édité par : Rodà F., Retana J., Gracia C., Bellot J. Springer, Berlin. pp. 3-14.
83. Tinker P. B. 1984. The role of microorganisms in mediating and facilitating the uptake of plant nutrients from soil. In: J. Tinsley and J. F. Darbyshire (eds) *Biological Processes and Soil Fertility*, Kluwer Academic publishers, The Hague, pp 77-91.
84. Trappe J. M. 1971. A synopsis of the *Carbomycetaceae* and *Terfeziaceae* (Tuberales). *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 57 : 85-92.
85. Trappe J. M. 1979. The orders, families and genera of hypogeous ascomycotina (Truffles and their relatives). *Mycotaxon*, 9 : 297-340.
86. Trappe J. M. 1990. Use of truffles and false truffles around the world. In: Bencivenga M, Granetti B (eds.) *Atti del secondo congresso internazionale sul tartufo*. Spoleto, Italy 1988. Com. Mont. Dei Martini, Italy Pub., pp 19-30.
87. Trappe J. M., Claridge A. W., Arora D., Smit W. A. 2008. Desert truffles on the African Kalahari: Ecology, Ethnomycology, and Taxonomy. *Economic botany*, 62 (3): 521-529.
88. Trappe J. M., Gábor M. Kovács A. Claridge W. 2010. Comparative taxonomy of desert

- truffles of the Australian outback and the African Kalahari. *Mycological progress*, 9: 131-143.
89. Trouvelot A., Kough J. L., Gianinazzi-Pearson V. 1986. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In : les Mycorhizes : physiologie et génétique. 1er Séminaire Dijon, Eds. V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi, INRA, Paris, 217-221.
90. Zitouni F. -H., Zemat F. Z. 2007. Caractérisation écologique et pédologique de 3 sites à Terfez de la steppe centrale d'Algérie. Essai de mycorhization de *Tirmania pinoyi* avec *Pinus halepensis* en condition gnotoxénique. Mémoire Ing. Biotech. Univ. Oran Es-Senia.
91. Zitouni F. E. -H. 2010. Etude des associations mycorhiziennes entre quatre espèces de Terfez et diverses plantes Cistacées et ligneuses en conditions contrôlées. Mémoire de Magister, Université d'Oran1, Algérie, 264 p.
92. Zitouni-Haouar F. E. -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.
93. Zitouni-Haouar F. E. -H., Alvarado P., Sbissi I, Boudabous A., Fortas Z., Moreno G., Manjon J. L., Gtari M. 2015. Contrasted Genetic Diversity, Relevance of Climate and Host Plants, and Comments on the Taxonomic Problems of the Genus *Picoa* (Pyrenomataceae, Pezizales). *PLoS ONE*, 10 (9) : 1-16.
94. Zitouni-Haouar, F. E.-H. 2016. Etude de la diversité des truffes de désert et de leur associations mycorhiziennes. Thèse de doctorat. Université d'Oran1, Algérie. 95 p.
95. Zitouni-Haouar F. E. -H., Carlavilla J. R., Moreno G., Manjon J. L., Fortas Z. 2018. Genetic diversity of the genus *Terfezia* (Pezizaceae, Pezizales): New species and new record from North Africa. *Phytotaxa*, 334 (2) : 183–194.

# **Annexes**

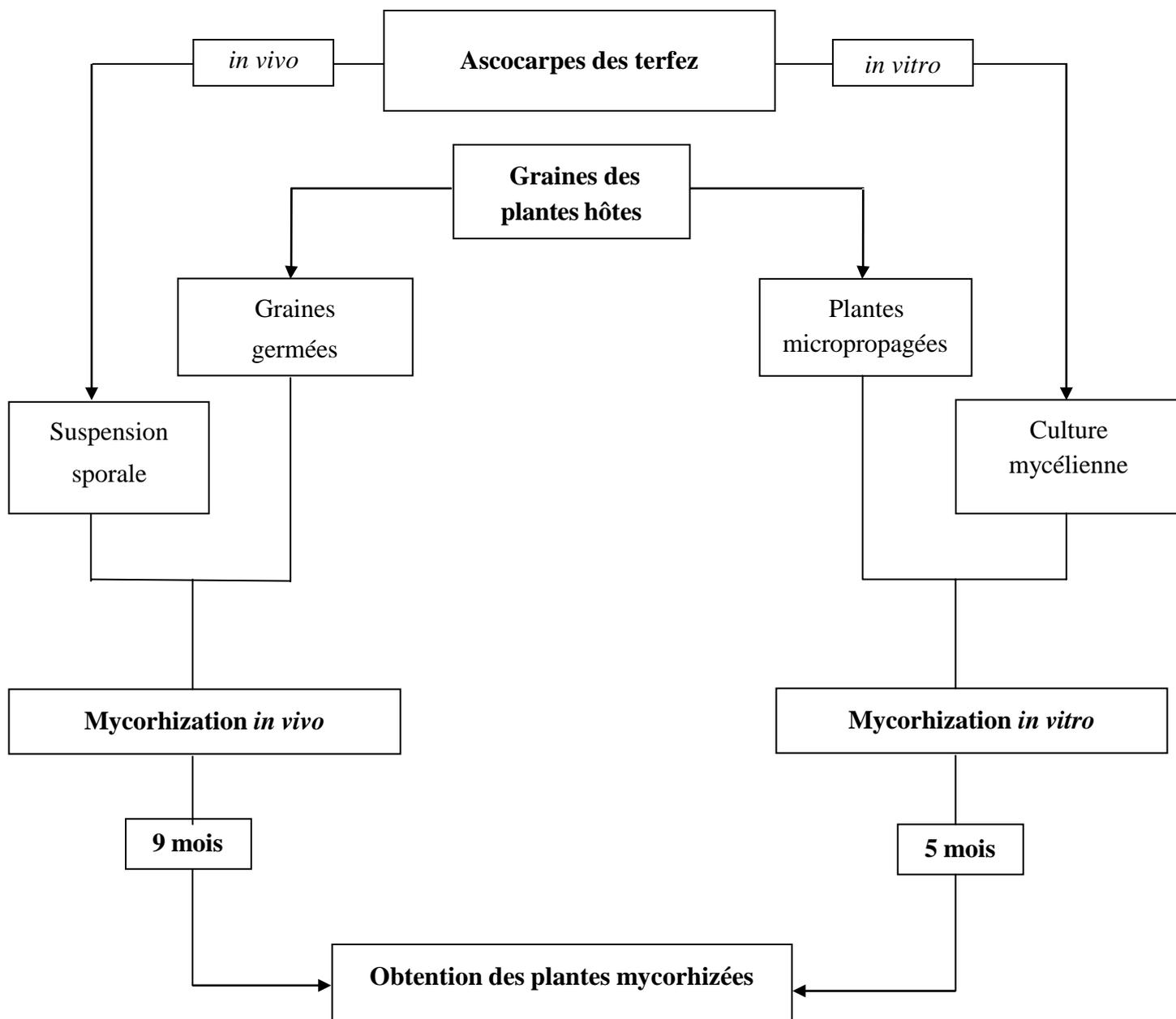
## Annexes

**Annexe 1** : Position des Terfez dans la classification des Ascomycètes (Trappe, 1979)



**Annexe 2** : Craquèlement du sol sableux indiquant la présence des ascocarps de Terfez (Loizides *et al.*, 2011)

**Annexe 3.** Schéma résume la procédure de production des plants mycorhizés par les Terfez *in vivo* et *in vitro* (Morte *et al.*, 2008).



**Annexe.4** : Liste des Articles scientifiques utilisés pour la synthèse de la partie expérimentale (par ordre chronologique).

1. Norkrans B. 1949. Some mycorrhiza forming *Tricholoma* species. Svensk Botanisk Tidskrift, 43: 485-490.
2. Phillips J. M., Hayman D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid accessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc., 55 : 158-161.
3. Chevalier G., Pollacsek K. A. 1973. Synthèse axénique des mycorhizes de *Tuber brumale* VIH à partir de cultures pures du champignon. Ann. Phytopathol., 5: 163-182.
4. Chevalier G., Desmas C. 1977. Mycorhization par *Tuber melanosporum* de plants de *Quercus pubescens* en milieu fortement fertilisé. Ann. Phytopathol., 5: 163-182.
5. Trappe J. M. 1977. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. Ann. Rev. Phytopathol., 15: 203-222.
6. Awameh M. S., Alsheikh A. 1979. Characteristics and ascospore germination of white kame (*Tirmania nivea* and *Tirmania pinoyi*). Ann. Phytopathol., 11: 223-229.
7. Chevalier G., Grente J. 1979. Application pratique de la symbiose ectomycorhizienne : production à grande échelle des plants mycorhizés par la truffe *Tuber melanosporum* Vitt. Mushroom science, 10 : 483-505.
8. Trappe J. M. 1979. The orders, families and genera of hypogeous ascomycotina (Truffles and their relatives) Mycotaxon, 9: 297-340.
9. Awameh M. S., Alsheikh A. 1980. Features and analysis of spore germination in the brown kame *Terfezia claveryi*. Mycologia, 72 (3): 494-499.
10. Chevalier G., Grente J. 1980. La trufficulture un or noir pour la région méditerranéenne. Forêt méditerranéenne, 1 (2) : 151-162.
11. Quezel P., Bonin G. 1980. Les forets feuillus du pourtour méditerranéen : constitution écologie, situation actuelle, perspectives. Rev. For. Fr. XXXII. 3 (1980): 253-268.
12. Awameh M. S. 1981. The response of *Helianthemum salicifolium* and *H. ledifolium* to infection by the desert truffle *Terfezia boudieri*. Mush. Sci., 11: 843-853.
13. Alsheikh A. M., Trappe J. M. 1983. Desert truffles: The genus *Tirmania*. Transactions of the British Mycological Society, 8 (1): 83-90.

14. Chevalier G. 1983. Production des truffes à partir de plants mycorhizés selon le procédé INRA : premiers résultats. Bull. FNPT., 6 : 33-50.
15. Plenchette C., Fortin J. A., Furlan V. 1983. Réponses de la croissance de plusieurs espèces végétales aux mycorhizes dans un sol de fertilité P modérée. Plant Soil. 70 : 199-209.
16. Chevalier G., Dupré C., Rioussset L., Dexheimer J. 1984. Synthèse mycorhizienne entre *Terfezia leptoderma* Tul. et diverses Cistacées. Agronomie 4:210–211.
17. Chevalier G. 1985. La mycorhization contrôlée en pépinière forestières possibilité d'application aux conteneurs. R. F. F. XXXII (2) : 93-106.
18. Moreno G., Galen R., Ortega A. 1986. Hypogeous fungi from continental Spain. Cryptogam. Mycol., 7 (3): 201-229.
19. Le Tacon F., Gabraye J. 1986. La maîtrise des associations mycorhiziennes en pépinières forestières. R. F. F., XXXVIII (3) : 249-259.
20. Janex-Favre M. C., Parguey-Leduc A., Rioussset L. 1988. L'ascocarpe hypogé d'une Terfez Française: *Terfezia leptoderma* Tul., Tubérales, Dixomycètes. Bull. Soc. Mycol. Fr., (104) : 145-178.
21. Marx D.H., Ruehle J. L., et Cordell C. E. 1991. 17 Méthodes pour étudier la réponse des arbres en pépinière et sur le terrain à des ectomycorhizes spécifiques. Méthodes en microbiologie. 23 : 383-411.
22. 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.
23. Morte M. A., Honrubia M. 1992. *In vitro* propagation of *Helianthemum almeriense* Pau. (*Cistaceae*). Agronomie, 12: 807-809.
24. Chevalier G. 1994. Evolution Des Recherches Sur Les Plants Mycorhizes Par la Truffe et Perspectives de Developpement. Giornale botanico italiano: Official Journal of the Societa Botanica Italiana, 128 (1): 7-18.
25. Morte, M. A., Cano A. Honrubia, M. 1994. Mycorhization *in vitro* of micropropagated *Helianthemum almeriense* plants with *Terfezia claveryi* (desert truffle). Science agricole et alimentaire. 3 (3) : 309-314.

- 
26. Torres, P. Honrubia, M. 1994. Inoculation de plantules de *Pinus halepensis* (Miller) en conteneur avec des basidiospores de *Pisolithus arhizus* (Pers) Rauschert, *Rhizopogon roseulus* (Corda) Th MFr et *Suillus collinitus* (Fr) O Kuntze. Ann. Sci., 51 : 521- 524.
  27. Chevalier G. 1996. Le chêne blanc et le chêne vert, essences truffiers par excellence. Forêt méditerranéenne, 13 (7) : 235-242.
  28. 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.
  29. Diez, J., Manjón, J. L., Martin, F. 2002. Phylogénie moléculaire des truffes mycorhizées du désert (*Terfezia* et *Tirmania*), spécificité des hôtes et tolérance édaphique. Mycologia, 94 : 247-259.
  20. Porras Soriano A., Domenech Menor B., Castillo Rubio J., Soriano Martin M. L. Porras Piedra A. 2002. Influence des mycorhizes vésico-arbusculaires sur la croissance des boutures d'olivier multipliées sous nebulization. Olivea, 92 : 33-37.
  31. Gutiérrez A., Morte A. Honrubia M. 2003. Caractérisation morphologique de la mycorhize formée par *Helianthemum almeriense* Pau. avec *Terfezia claveryi* Chatin et *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire. Mycorrhiza. 13 : 299–307.
  32. Wubet T., Kottke I. et Teketay D. 2003. Mycorrhizal status of indigenous in dry Afromontane forests of Ethiopia. For. Ecol. Manage, 179 : 387-399.
  33. Chafi M. E. H., Bensoltane A., Fortas Z. 2004. Bioclimatic survey of the Terfez zones of the South West of Algeria and an essay of the inoculation of *Pinus halepensis* Mill. with *Tirmania pinoyi*. Egypt. J. Appl. Sci., 19 (3): 88-100.
  34. Roth-Bejerano N., Mendlinger S., Kagan-Zur V. 2004. Effect of calcium on growth of submerged *Terfezia boudieri* mycelium. Mycoscience, 45: 30-34.
  35. Slama A., Neffati M. 2004. Les truffes de la Tunisie méridionale: Etude écologique et mycologique. Revue des régions arides, 15 : 3-52.
  36. Agerer R. 2006. Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae. Mycol. Progress, 5: 67- 107.
  37. Mandeel Q. A., Al-Laith A. 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.

- 
38. Guerbolt S. 2009. Les mycorhizes, outils d'une horticulture et d'une agriculture durable. Jardins de France, 597 : 19-25.
39. Lamino Manzo O., Ibrahim D., Campanella B., Paul R. 2009. Effets de l'inoculation mycorhizienne du substrat sur la croissance et la résistance au stress hydrique de cinq espèces fixatrices de dunes : *Acacia raddiana* Savi ; *Acacia nilotica* (L.) Willd. Ex. Del. var. *adansonii* ; *Acacia senegal* (L.) Willd. *Prosopis chilensis* Stunz. et *Bauhinia rufescens* Lam. Geo. Eco. Trop., 33 : 115-124.
40. Felten J., Kohler A., Morin E., Bhalerao R. P., Palme K., Martin F., Ditengon F. A., Legue V. 2009. The ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* stimulates lateral root formation in poplar and Arabidopsis through auxin transport and signaling. Plant Physiology, 151 (4) : 1991-2005.
41. Bonfante P., Genre A. 2010. Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. Nature communication, 48 (3) : 161-167.
42. Slama A., Fortas Z., Boudabous A., Neffati M. 2010. Culture d'une truffe comestible du désert (*Terfezia boudieri* Chatin). Afr. J. Microbiol. Res., 4 : 2350-2356.
43. Dib-Bellahouel S., Fortas Z. 2011. Antibacterial activity of various fractions of ethyl acetate extract from the desert truffle *Tirmania pinoyi*, preliminarily analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Afr. Jr. Biot., 47 (10): 9694-9699.
44. Diouf D., Ducousson M., Gianinazzi S., Lebrum M., Leyval C. 2011. 1<sup>st</sup> international congress on mycorrhizal symbiosis: ecosystems and environment of Mediterranean area (MYCOMED). Mycorrhiza, 21 : 451-452.
45. Loizides M., Hobart C., Konstandinides G., Yiangos Y. 2011. Desert truffles: the mysterious jewels of antiquity. Field Mycology, 13 (1) : 17-21.
46. Turgeman T., Asher J., B., 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.
47. Castellano M. A., Turkoglu A. 2012. New records of truffle taxa in *Tuber* and *Terfezia* from Turkey. Turk. J. Bot. 36 : 295-298.
48. Slama A., Gorai M., Fortas Z. 2012. Croissance, colonisation des racines et statut nutritif de *Helianthemum sessiliflorum* Desf. inoculé avec une truffe du désert *Terfezia boudieri* Chatin. Journal saoudien des sciences biologiques. 19 : 25-29.

49. Bradai L., Bissati S., Chenchouni H., Amrani K. 2014. Effects of climate on the productivity of desert truffles beneath hyper-arid conditions. *International Journal of Biometeorology*, 59 (7) : 907-915.
50. Zitouni- Haour F. E. -H., Fortas Z., Chevalier G. 2014. Caractérisation morphologique des mycorhizes formés entre trois espèces de *Terfezia* (truffes du désert) et plusieurs *Cistaceae* et pin d'Alep. *Mycorrhiza*. 24: 397-403.
51. Dafri A., Bediar A. 2018. Caractérisation morphologique de la symbiose mycorhizienne entre *Tuberaria guttata* (L.) Fourn. et *Terfezia arenaria* (Moris) Trappe. *Symbiose*. 75 (2) : 149-154.
52. Dib S., Fortas Z. 2019. Inoculation with desert truffle increases growth of the forest seedlings *Quercus ilex* L. and *Pinus halepensis* M. *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.*, 21 (4) : 907-914.
53. Dib S., Fortas Z. 2020. The desert truffle *Terfezia clavaryi* Chatin improves the growth of Aleppo pine in axenic conditions. *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.*, 22 (2) : 239-242.

**Annexe 5 : Milieu gélosé à l'extrait de malt** (in Fortas, 1990)

- Extrait de malt..... 10 g
  - Eau distillée..... 1000 mL
  - Agar-agar .....15 g
- pH 6.

**Annexe 6 : Solution nutritive de Melin modifiée par Norkrans (1949) (MNM)**

- Glucose .....2.5 g
- CaCl<sub>2</sub> .....0.05 g
- NaCl .....0.025 g
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>..... 0.5 g
- (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> .....0.25 g
- MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O.....0.15 g
- Citrate de fer.....0.012 g
- Thiamine HCl..... 25 µg
- Eau distillée..... 1000 mL

**Annexe 7: FAA : Formol-Acide acétique-Alcool (éthanol)** (Phillips et Hayman, 1970)

- Formol à 37 % ..... 5 mL
- Acide acétique glacial ..... 5 mL
- Alcool éthylique 70° ..... 90 mL

**Annexe 8: Lactophénol** (Langeron, 1952)

- Acide phénique cristallisé chimiquement pur ..... 1 g
- Acide lactique .....1 g
- Glycérine..... 2 g
- Eau distillée..... 1 g

Les liquides doivent être pesés et non mesurés. Lorsqu'ils sont complètement mélangés, on ajoute l'acide phénique.

# Résumés

## Résumés

## المخلص

تعتمد هذه الدراسة على تحليل 33 منشورا علميا الهدف الرئيسي منها هو تقييم تأثير زرع ثلاثة انواع من الكماة ( *Terfezia* *Pinus* و *Quercus ilex* ) و (*leptoderma* و *Tirmania pinoyi* و *Terfezia claveryi*) على نمو نوعين من اشجار الغابات (*Quercus ilex*) و (*Pinus halepensis*). تظهر نتائج التعايش الميكوريزي تحت ظروف الحضان عن طريق الزرع الذي تم إجراؤه بين *Q. ilex* و نوعي الكماة *leptoderma* أو *T. pinoyi* وبين *P. halepensis* ونفس نوعي الكماة أن هذه الأنواع من الكماة تحسن نمو النباتات المزروعة بشكل ملحوظ مقارنة بالنباتات الشاهدة. يبدو أن نبات *P. halepensis* يرتبط بشكل أفضل مع الكماة من نبات *Quercus ilex*. يعتبر مؤشر التبعية الميكوريزية IDMR أعلى عند نبات *P. halepensis* مع كلا النوعين من الكماة منه عند *Q. ilex*. تظهر نباتات *Q. ilex* و *P. halepensis* المتعايشة تحت ظروف الحضان، تنوعاً مورفولوجياً من التعايش السطحي ectomycorrhizae. مع نبات *Q. ilex*، حيث يشكل نوعي الكماة شبكة Hartig مع أو بدون معطف فطري سائب وذلك اعتماداً على أنواع الكماة، اما عند نبات *P. halepensis*، فيتشكل نوعي الكماة *T. pinoyi* و *T. leptoderma* تعايشاً سطحياً كذلك غير انها تكون مزودة بغطاء رقيق وشبكة Hartig. في ظل الظروف المعقمة، ان زرع *Terfezia claveryi* على نبات *P. halepensis* يحسن نموها بشكل ملحوظ، فقد لوحظ وجود خيوط الكماة، بدون تنظيم نموذجي في الخلايا الفشرية لشتلات الصنوبر.

الكلمات المفتاحية : الكماة، *Quercus ilex*، *Pinus halepensis*، زرع، الحضان، المعقمة، التعايش الميكوريزي السطحي.

## Résumé

Cette étude consiste à une synthèse basée sur l'analyse de 33 publications scientifiques dont l'objectif principal est l'évaluation de l'effet de l'inoculation des Terfez (*Terfezia leptoderma*, *Tirmania pinoyi* et *Terfezia claveryi*) sur la croissance des deux espèces forestières (*Quercus ilex*) et (*Pinus halepensis*). Les synthèses mycorrhiziennes en conditions gnotoxéniques par inoculation effectuée entre ces deux espèces forestières et *Terfezia leptoderma* et *Tirmania pinoyi* ont montré que ces espèces de Terfez améliorent significativement la croissance des plants mycorhizés par rapport aux témoins. *P. halepensis* semble s'associer plus favorablement aux Terfez que *Q. ilex*. L'IDMR est plus élevé chez le *P. halepensis* mycorhizé par les deux espèces de Terfez que chez le *Q. ilex*. Les plantes de *Q. ilex* et *P. halepensis* mycorhizées en serre montrent une diversité morphologique des ectomycorhizes. Chez *Q. ilex*, les deux espèces de terfez forment un réseau de Hartig avec ou sans manteau lâche, selon l'espèce de terfez. Chez *P. halepensis*, *T. leptoderma* et *T. pinoyi* forment des ectomycorhizes avec un manteau mince et un réseau de Hartig. En conditions axéniques, l'inoculation de *P. halepensis* par *Terfezia claveryi* améliore significativement leur croissance, la présence d'hyphes de Terfez a été observée, sans organisation typique dans les cellules corticales des plantules de pin.

**Mots clés :** Terfez ; *Quercus ilex* ; *Pinus halepensis* ; inoculation ; gnotoxéniques ; axéniques ; ectomycorhize

## Abstract

This study consists of a synthesis based on the analysis of 33 scientific publications whose main objective is the evaluation of the effect of the inoculation of Terfez (*Terfezia leptoderma*, *Tirmania pinoyi* and *Terfezia claveryi*) on the growth of two forest species (*Quercus ilex*) and (*Pinus halepensis*). Mycorrhizal synthesis under gnotoxic conditions by inoculation between these two forest species and *Terfezia leptoderma* and *Tirmania pinoyi* showed that these Terfez species significantly improved seedling growth compared to controls. *P. halepensis* appears to associate more favorably with Terfez than *Q. ilex*. The IDMR is higher in *P. halepensis* mycorrhized with both Terfez species than in *Q. ilex*. *Q. ilex* and *P. halepensis* plants mycorrhized in the greenhouse by Terfez show morphological diversity of ectomycorrhizae. In *Q. ilex*, both Terfez species form a Hartig network with or without a loose mantle, depending on the Terfez species. In *P. halepensis*, *T. leptoderma* and *T. pinoyi* form ectomycorrhizae with a thin mantle and a Hartig network. Under axenic conditions, inoculation of *P. halepensis* with *Terfezia claveryi* significantly improves their growth, the presence of Terfez hyphae was observed, without typical organization in the cortical cells of pine seedlings.

**Key words :** Terfez ; *Quercus ilex* ; *Pinus halepensis* ; inoculation ; gnotoxic ; axenic ; ectomycorrhizae