

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة غرداية

Université de Ghardaïa



Facultés des sciences

Département de biologie

Spécialité : Biochimie Appliqué

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master

Thème

Étude Microbiologique Des Terfesses Algériennes

Présenté par

Bellameche Asma

Raoudi Salma

Encadrante : Dr. Ahlem DAFRI

Membres du jury :

Pr. Nouredine BOURAS

Université de Ghardaïa

Président

Mme Nadjette DJEMOUAI

Université de Ghardaïa

Examinatrice

Année universitaire : 2019/2020

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents, "Ma mère, qui m'a donné la vie et le soutien constant, financièrement et moralement. Merci pour ton affection ma chère mère.

À celui qui n'est plus présents dans la vie, mais présent dans mon travail et mon succès ; mon cher père. Mon accès à ce travail s'est fait grâce à tes conseils. Les mots de remerciement ne suffisent. C'est toi qui t'es fatigué pour que j'atteigne ce niveau. Mon amour à toi ne diminuera jamais, et ma gratitude envers toi ne finira jamais, même si les mots cessent de le dire. Mon cher père aimant, que le paradis soit ton éternelle demeure.

Je dédie également ce travail à mes chers frères et sœurs, chacun en son nom, pour leur soutien et leur accompagnement et encouragement sans égal, tout au long de ce travail.

Merci beaucoup

Salma

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents qui m'ont soutenue tout au long de mes années d'études, m'ont aidée et m'ont protégée. Je saisis ses lignes pour les remercier pour tout ce qu'ils ont fait pour moi.

Je dédie ce travail également à mes chères sœurs Soumia et Safa. Je vous souhaite plein de succès et bonheur dans votre vie.

Ma dédicace va également à mes chères amies, Najat et Moukhtaría qui m'ont soutenue et encouragée.

Merci beaucoup

ASMA

Remerciements

Tout d'abord, nous commençons par les paroles de Dieu tout puissant :

" الحمد لله الذي هدانا لهذا وما كنا لنهتدي لولا أن هدانا الله " صدق الله العظيم.

Les mots de remerciement ne suffisent pas pour exprimer une sincère gratitude et une reconnaissance à tous ceux qui ont contribué à ce travail.

Nous commençons par l'honorable prof que nous avons eu l'honneur d'avoir comme encadrante, Dr. Dafri Ahlem, maître de conférences à l'université de Ghardaïa. Merci pour votre temps, votre patience et le bon traitement, votre soutien moral ininterrompu, ainsi que pour vos constants et précieux conseils.

Avec nos sincères remerciements et notre appréciation, nous remercions l'éminent Pr. Bouras Noureddine, professeur à l'université de Ghardaïa, pour la présidence du jury et d'avoir accepté de juger et évaluer ce travail.

Un grand merci également à Mme Djemouai Nadjette, pour avoir accepté de faire part du jury et d'examiner et enrichir le travail de par sa contribution.

Des paroles de gratitude et de grâce s'adressent à nos parents respectifs, sans eux nous n'aurions pas atteint ce niveau. Merci nos chers et que le tout puissant vous comble de sa miséricorde pour ne nous avoir privées de rien.

Un vif remerciement à nos chers frères et sœurs pour leur soutien constant tout au long de ce travail. Les mots de remerciement restent insuffisants à votre égard.

Nos remerciements vont également à tout contributeur à ce travail, de près ou de loin. Merci à tous.

Salma & Asma

Résumé

L'étude été sensée être mené sur la qualité microbiologique des terfesses de la wilaya de Ghardaïa. Malheureusement, cela n'a pas été possible en raison de la pandémie. Le travail a alors été orienté vers le reviewing de la culture mycélienne de *Terfezia fanfani*, réalisé par Dafri (2017) dans le cadre de sa recherche sur les terfesses des dunes littorales du Nord-Est Algérien, où l'espèce étudiée a été récoltée de la région d'El-Tarf caractérisée par ses étages bioclimatiques humides et subhumides chauds.

Ce travail discute la culture *in vitro* de *Terfezia fanfani* sur milieu MMN solide suivant une méthodologie simple consistant à ensemercer un morceau de la glèbe sur le milieu coulé dans des boîtes de Pétri. Les boîtesensemencées et annotées ont permis le développement du mycélium à des températures dépassant les 30 °C après une période comprise entre deux et trois mois. Le mycélium formé s'étendait sur un diamètre de 2 cm autour des pièces cultivées en apprêt, et leur couleur était assez similaire à la couleur de gléba de *Terfezia fanfani* mûri.

Mots clés : Terfesse, Microbiologie des terfesses, *Terfezia fanfani*, Culture *in vitro*.

ملخص

الدراسة في البداية كانت على نوعية الأحياء الدقيقة في الترفاس لولاية غرداية، لكن للأسف هذا لم يتم وذلك بسبب الظروف الصحية العالمية. لذلك تم توجيه العمل إلى دراسة سابقة لزراعة الغزل الفطري (الميسيليوم) لنوع *Terfezia fanfani* أجريت بواسطة ذافري في عام (2017) في جزء من بحثها عن ترافاس منطقة الكثبان الساحلية لشمال شرق الجزائر. حيث تم حصاد الأنواع المدروسة من منطقة الطارف التي تتميز بمراحل مناخية رطبة و شبه رطبة دافئة. هذا العمل يناقش زرع نوع *Terfezia fanfani* في المختبر (*in vitro*) على وسط MMN صلب بإتباع منهجية بسيطة تتمثل في زرع قطعة من الجليب (glèbe) على الوسط المبسوط مسبقا في علب بتري. سمحت العلب المزروعة والمرقمة بتطور الغزل الفطري (الميسيليوم) في درجات حرارة تتجاوز 30 درجة مئوية بعد فترة تتراوح بين شهرين وثلاثة أشهر. امتدت الفطريات المتكونة على قطر يبلغ 2 سم حول القطع المزروعة الأولية، وكان لونها مشابهاً للون جليب *terfezia fanfani* الناضجة.

الكلمات المفتاحية: الترفاس، علم الأحياء الدقيقة للترفاس، *Terfezia fanfani*، زرع في المختبر (*in vitro*).

Abstract

The first of the study was to verify the microbiological quality of *terfezia* species harvested from Ghardaia. However, because of the Covid-19 pandemic, the subject was changed and the new aim was to review *Terfezia fanfani* mycelial culture, realized by Dafri (2017) during the studying of northeastern Algerian desert truffles.

After the morphological and biomolecular identification of the species, the *in vitro* culture has been carried out on MMN medium. The culture has been realized using some little pieces from the gleba and the fungal mycelia has grown about two to three months after their incubation at more than 30 °C. The formed mycelia extended on a diameter of 2 cm around the primer cultivated pieces, and their color was quite similar to the colour of matured *Terfezia fanfani* gleba.

Key words: Desert truffles, Microbiology of desert truffles, *Terfezia fanfani*, *in vitro* culture.

Table des matières

Dédicace	3
Dédicace	4
Remerciements	5
Résumé	7
Abstract.....	8
Table des matières.....	9
Liste des figures.....	11
Introduction.....	13
Chapitre 1 : Revue bibliographique	14
1. Présentation des terfesses	15
2. Historique des terfesses	15
3. Propriétés morpho-anatomiques des terfesses	17
3.1 L'ascocarpe.....	18
3.2 Le Péridium	18
3.3 La Gléba.....	18
3.4 Les asques	18
3.5 Les ascospores	18
4. Taxonomie des terfesses.....	19
5. Cycle biologique	20
5.1 La germination	20
5.2 La voie sexuée	20
5.3 La voie végétative	20
5.4 L'évolution de l'ascocarpe.....	20
6. Écologie des terfesses	22
6.1 Conditions climatiques	22
6.2 Aire de répartition	23
7. Les terfesses en Algérie.....	25
8. Propriétés des terfesses.....	26
8.1 Valeur nutritionnelle.....	27
8.2 Intérêt thérapeutique et activité biologique.....	28
Chapitre 2 : Étude Expérimentale.....	29

1. Zone d'étude	30
2. Matériel biologique	32
2.1 Échantillonnage d'ascocarpe	32
2.2 Identification de l'espèce	32
2.2.1 Identification morpho-anatomique	32
2.2.2 Identification biomoléculaire.....	32
3. Culture mycélienne	32
Chapitre 3 : Résultats et discussion.....	34
1. Présentation de l'espèce étudiée.....	35
2. Culture mycélienne de <i>Terfezia fanfani</i>	36
Conclusion et perspectives.....	41
Références bibliographiques	42

Liste des figures

Fig. 1 Morpho-anatomie générale des terfesses.....	17
Fig. 2 Position taxonomique et classification des terfesses	19
Fig. 3 Représentation du cycle biologique des terfesses	21
Fig. 4 Plantes hôtes des terfesses.....	23
Fig. 5 Plantes hôtes des terfesses en Algérie	26
Fig. 6 Localisation des sites à terfesses dans la région du nord-est algérien	31
Fig. 7 <i>Terfezia fanfani</i>	35
Fig. 8 Arbre phylogénétique de <i>Terfezia fanfani</i> avec d'autres espèces de terfesses	37
Fig. 9 Culture mycélienne de <i>Terfezia fanfani</i>	38

Introduction

Introduction

Entre tubercule végétal et champignon mycorhizien, les terfesses ont depuis l'antiquité, impressionné consommateurs et chercheurs, récolteurs et rois, petits et grands à travers le monde.

Elles sont répandues presque partout, spécialement dans la région du bassin méditerranéen, des zones arides et semi-arides et au Moyen-Orient, d'où leurs différentes appellations : « Al- Kamma, Al- fag'a, Bint al Ard ou banat Al-Raad ».

Autrefois classées parmi les végétaux à l'instar de tous les champignons, les terfesses ont, depuis la parution de la nouvelle classification à cinq règnes, pris place parmi les Ascomycètes dans l'ordre Pézizales. Ce sont des champignons symbiotiques, mycorhiziens, comestibles et à intérêts économique et médicinal connus depuis l'aube des temps.

Les recherches et les études sur ce champignon prospèrent d'année en année, et la plupart des chercheurs s'intéressent à leur description, leur taxonomie, leur bio-écologie, leurs caractères biochimiques, leurs effets thérapeutiques et plus récemment encore à leur production biotechnologique ou à la mycorhization induite dans le but de créer des plans mycorhizés destinés à la vente.

L'objectif premier qui nous a menés à nous intéresser à ces champignons était l'étude de la qualité microbiologique des terfesses, dans le but de répondre à la problématique suivante : « Les terfesses algériennes, notamment celles de Ghardaïa, sont-elles microbiologiquement sans danger pour le consommateur ? ». En plus de cette question principale, il était prévu, selon la mesure du possible, de vérifier également les conditions de cuisson exigées afin d'éliminer toute source de danger venant de la consommation de ces champignons dans le cas où les ascocarpes s'avèrent contaminés par quelques autres espèces fongiques ou bactériennes.

Cependant, ce but ne put être parcouru à cause de la pandémie et le nouvel objectif a donc été le suivant : « Le reviewing de la culture mycélienne *in vitro* de *Terfezia fanfani* à partir d'un fragment de la glèbe ». La discussion d'une méthode expérimentale inédite était aussi dans le plan, mais le respect des droits d'auteur a imposé que cette partie reste cachée en raison du retard de sa publication pour les mêmes causes de la crise sanitaire qui ont au préalable mené au changement de la trajectoire du travail.

***Chapitre 1 : Revue
bibliographique***

1. Présentation des terfesses

Les terfesses désignées sous le terme général de truffes des sables ou truffes du désert sont des fructifications souterraines très appréciées. Elles représentent un groupe complexe de champignons hypogés appartenant aux ascomycètes et vivant en symbiose avec des plantes-hôtes de différentes familles végétales. Elles ont un aspect arrondi ou irrégulier selon la nature du terrain, et une structure semblable ; un ascocarpe ou ascome constitué d'une gléba (chair) contenant de petits sacs appelés asques qui renferment de nombreuses spores. La chair est protégée par une enveloppe rigide appelée périidium (Gutiérrez *et al.*, 2003 ; Kagan-Zur et Roth-Bejerano, 2008 ; Morte *et al.*, 2009 ; Navaro-Rodena *et al.*, 2011 ; Bradai *et al.*, 2014 ; Kovacs et Trappe, 2014 ; Dafri et Beddiar, 2017a ; Liu *et al.*, 2018).

Ces tubercules miraculeux se développent principalement dans les régions arides et semi-arides, sur des sols sablonneux, légèrement humidifiés par les pluies rares ou les rosées nocturnes de ces zones désertiques (Gutiérrez *et al.*, 2003 ; Kagan-Zur et Roth-Bejerano, 2008 ; Morte *et al.*, 2009 ; Navaro-Rodena *et al.*, 2011 ; Bradai *et al.*, 2014 ; Kovacs et Trappe, 2014 ; Dafri et Beddiar, 2017a ; Liu *et al.*, 2018). Cependant, le désert n'est pas leur seul habitat. En effet, ces joyaux ont également été reportés dans les dunes littorales du Nord-Est algérien, où ils poussent sur sol sablo-limoneux, appartenant à un étage bioclimatique humide ou sub-humide chaud (Dafri et Beddiar, 2017a ; Dafri et Beddiar, 2017b).

Il en existe plusieurs genres à savoir : *Terfezia*, *Tirmania*, *Picoa*, *Carbomyces*, *Elderia*, *Eremiomyces*, *kalaharituber*, *Mattirolomyces*, *Mycoclelandia*, *Stouffera* *Ulurua* (Kagan-Zur et Roth-Bejerano, 2008 ; Morte *et al.*, 2009 ; Navaro-Rodenas *et al.*, 2011 ; Bradai *et al.*, 2014 ; Kovacs et Trappe, 2014 ; Dafri et Beddiar, 2017a ; Dafri et Beddiar, 2017b ; Liu *et al.*, 2018), notant que les trois premiers peuvent être considérés comme les plus célèbres à travers le monde.

2. Historique des terfesses

Les terfesses étaient déjà connues et consommées depuis la haute antiquité par les grecs et les romains. Selon certains historiens, leurs premières apparitions remontent à l'époque mésopotamienne. Leurs origines étaient un mystère qui tourmentait plusieurs auteurs. Le plus ancien auteur qui a parlé des truffes, serait le philosophe grec Théophraste (287-372) qui s'intéressait aux mécanismes de vie de celles-ci et en avait découvert l'essentiel. Il a affirmé que leur formation a besoin de semences, et a également invoqué une partie de leur écologie dans son

passage : « Les truffes sont des végétaux engendrés par les pluies d'automne accompagnées de coups de tonnerre » (Morte *et al.*, 2000).

Outre les recherches de Théophraste, les grecs qui s'intéressaient tant à la terfesse ont assez bien exploré son environnement. Cela leur a permis de mettre en évidence la présence d'une plante accompagnatrice des terfesses appartenant à la famille *Cistaceae*, à laquelle ils ont donné le nom « *Hydnophyllon* » (Hall *et al.*, 2008).

Par ailleurs, les terfesses étaient depuis longtemps connues dans plusieurs pays arabes. Elles étaient récoltées dans le désert syrien par les Amorites et les Sumériens, et étaient servies dans les banquets royaux des Pharaons de l'Égypte ancienne plus de 3000 ans avant Jésus-Christ (Shavit, 2008 ; Trappe *et al.*, 2008 ; Loizides *et al.*, 2011).

La civilisation islamique à son tour témoigne non seulement de la présence mais aussi de l'utilisation des truffes. Leur présence était déjà mentionnée dans le Quran sous le nom de «manne» (من) en arabe, qu'Allah a envoyé au peuple israélien :

قال الله تعالى: «يا بني اسرائيل قد انجيناكم من عدوكم وواعدناكم جانب الطور الايمن ونزلنا عليكم المن والسلوى» سورة طه، الآية (80).

Tandis que leur utilisation était mentionnée par le prophète Mohammed (ﷺ) qui a expliqué que l'extrait de la truffe est un remède pour les yeux. Ce rôle thérapeutique a été invoqué dans son Hadith :

«الكمأة من المن وماؤها شفاء للعين». رواه البخاري وشرحه احمد بن حجر العسقلاني في كتابه فتح الباري.

Bien plus récemment, Tulasne et Tulasne en 1851 ont créé le genre *Terfezia* et ont regroupés toutes les truffes du désert sous le nom de *Terfezia leonis* Tul (Tulasne et Tulasne, 1851). Quelques années plus tard, Chatin en 1891, a décrit plusieurs variétés de *Terfezia* et a baptisé le genre *Tirmania*. Quelques années après, en 1906 Maire a découvert et décrit dans la littérature plusieurs nouvelles espèces trouvées en Algérie dont *Tirmania pinoyi* et *Terfezia claveryi*. Avant lui, Patouillard (entre 1894 et 1899) avait aussi découvert plusieurs espèces. Depuis, les découvertes se sont poursuivies jusqu'à nos jours et les découvertes ne cessent toujours pas (Loizides *et al.*, 2011 ; Kovacs et Trappe, 2014).

3. Propriétés morpho-anatomiques des terfesses

Depuis l'extérieur vers l'intérieur, l'ascocarpe ou corps fructifère des terfesses est constitué de plusieurs parties à savoir : le péricidium, la glèbe, les asques et les ascospores (Fig. 1).

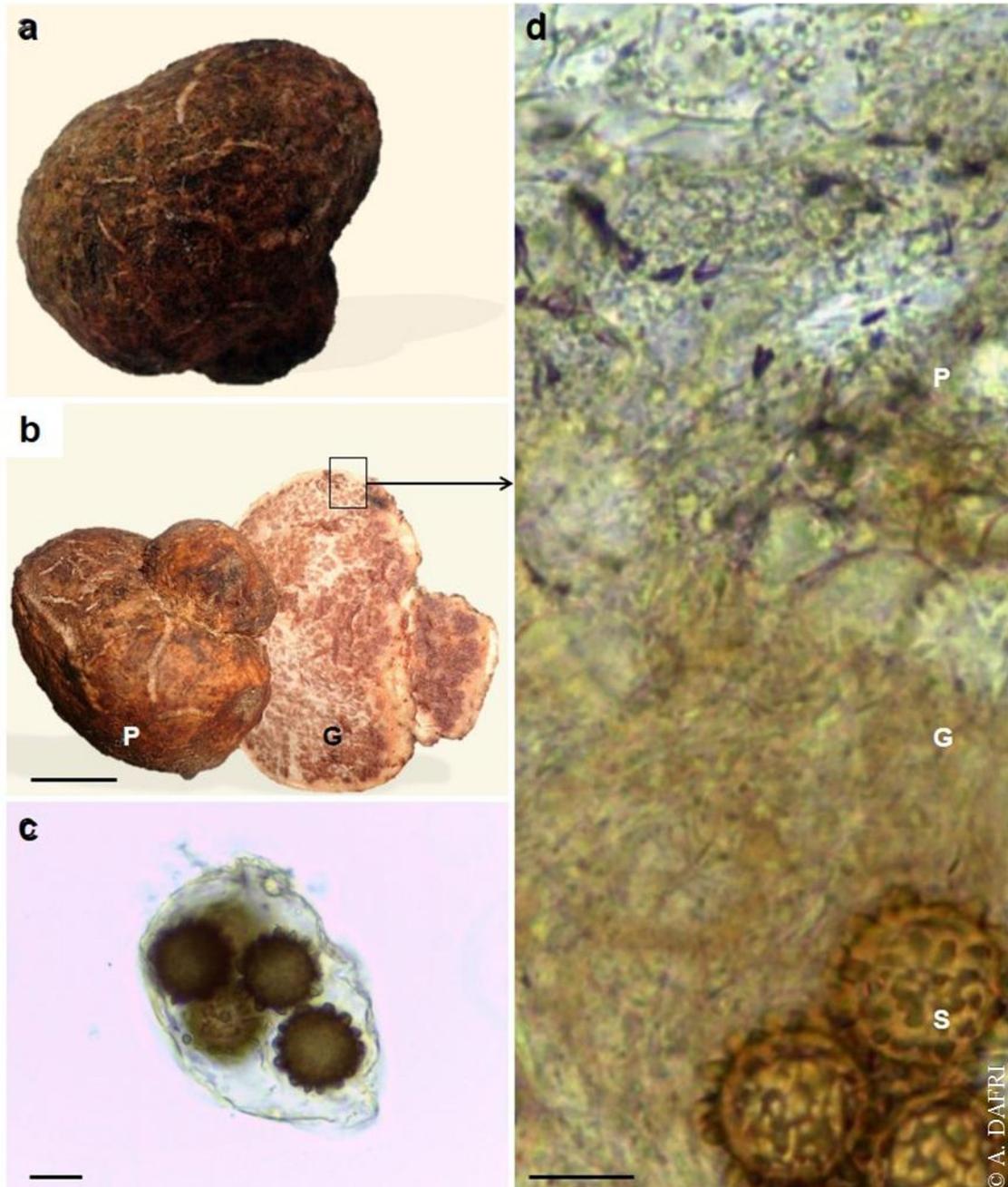


Fig. 1 Morpho-anatomie générale des terfesses

(Photos de *Terfezia arenaria* récoltée au printemps 2012 des dunes littorales du Nord-Est algérien)

a : ascocarpe, **b** : coupe transversale au niveau d'un ascocarpe montrant le péricidium (P) et la glèbe (G), **c** : asque renfermant des ascospores (S), **d** : coupe fine de l'ascome observée en MP, montrant de l'extérieur vers l'intérieur : le péricidium, la glèbe et les ascospores.

3.1 L'ascocarpe

L'ascocarpe est le nom scientifique que l'on attribue au corps de la truffe elle-même. Pour les terfesses, ces corps fructifères ou ascocarpes sont de formes variables : globuleux, ovoïdes, piriforme ou ellipsoïdes, mais toujours bossus et irréguliers. Leur poids est aussi variable, il va de 1g jusqu'à plusieurs centaines de grammes pour les plus gros (Sawaya *et al.*, 1985 ; Benicivenga et Urbani, 1996 ; Jamali et Banihashemi, 2012).

3.2 Le Péridium

Le péridium est une structure résistante qui assure la protection de la glèbe. Il est constitué d'hyphes à cytoplasme dégénéré et aussi à parois épaisses et mélanisées. Il peut manifester diverses structures, consistance et couleurs ; depuis le blanc, jaune, brun clair ou foncé, et jusqu'au brun noir (Alsheikh, 1994 ; Callot, 1999 ; Khabar *et al.*, 2001 ; Ricard, 2003).

3.3 La Gléba

Les hyphes internes de l'ascocarpe forment la chair ou « glèbe » qui est composée de poches fertiles, entourées de veines stériles plus ou moins visibles selon leur épaisseur. Elle a une texture spongieuse ou solide et une couleur variable du blanc au jaune, marron clair ou foncé, selon les espèces et le stade de développement (Moreno *et al.*, 2000 ; Khabar *et al.*, 2001 ; Agnello et Kaounas, 2011).

3.4 Les asques

Les asques sont les structures caractéristiques des ascomycètes. Ce sont des sortes de sac à spores, de taille microscopique. Ils sont souvent hyalins, parfois pédicellés, de forme variables : globuleuse, subglobuleuse ou ovoïde (Moreno *et al.*, 2000 ; Khabar *et al.*, 2001 ; Agnello et Kaounas, 2011).

3.5 Les ascospores

Les ascospores sont les cellules reproductrices des ascomycètes. Elles permettent la multiplication et la dissémination de ces champignons. Chez les terfesses, les ascospores sont regroupées par deux, quatre, six ou pour la majorité des espèces huit ascospores par asque. Leur forme est globuleuse, subglobuleuse ou elliptique, et leur couleur hyaline, jaunâtre ou brune. Leur surface est lisse ou ornementée de verrues tronquées ou arrondies ou d'épines (Chatin, 1896a ; Laessoe et Hansen, 2007).

4. Taxonomie des terfesses

La classification des terfesses comme celle de tous les autres êtres vivants était autrefois basée sur les caractéristiques morphologiques, macro et microscopiques. Cependant, avec le développement du génie génétique, la classification de ces champignons, tous comme le reste de la taxonomie du monde vivant a pris une autre route ; celle de la phylogénie basée sur l'étude du génome.

Selon la taxonomie actuelle, les terfesses appartiennent au règne « Fungi » ou règne des champignons. Elles sont placées dans la classe *Ascomycotina* et l'ordre *Pezizales*. Elles sont distribuées sur plusieurs familles, comportant chacune plusieurs genre et espèces (Fig. 2).

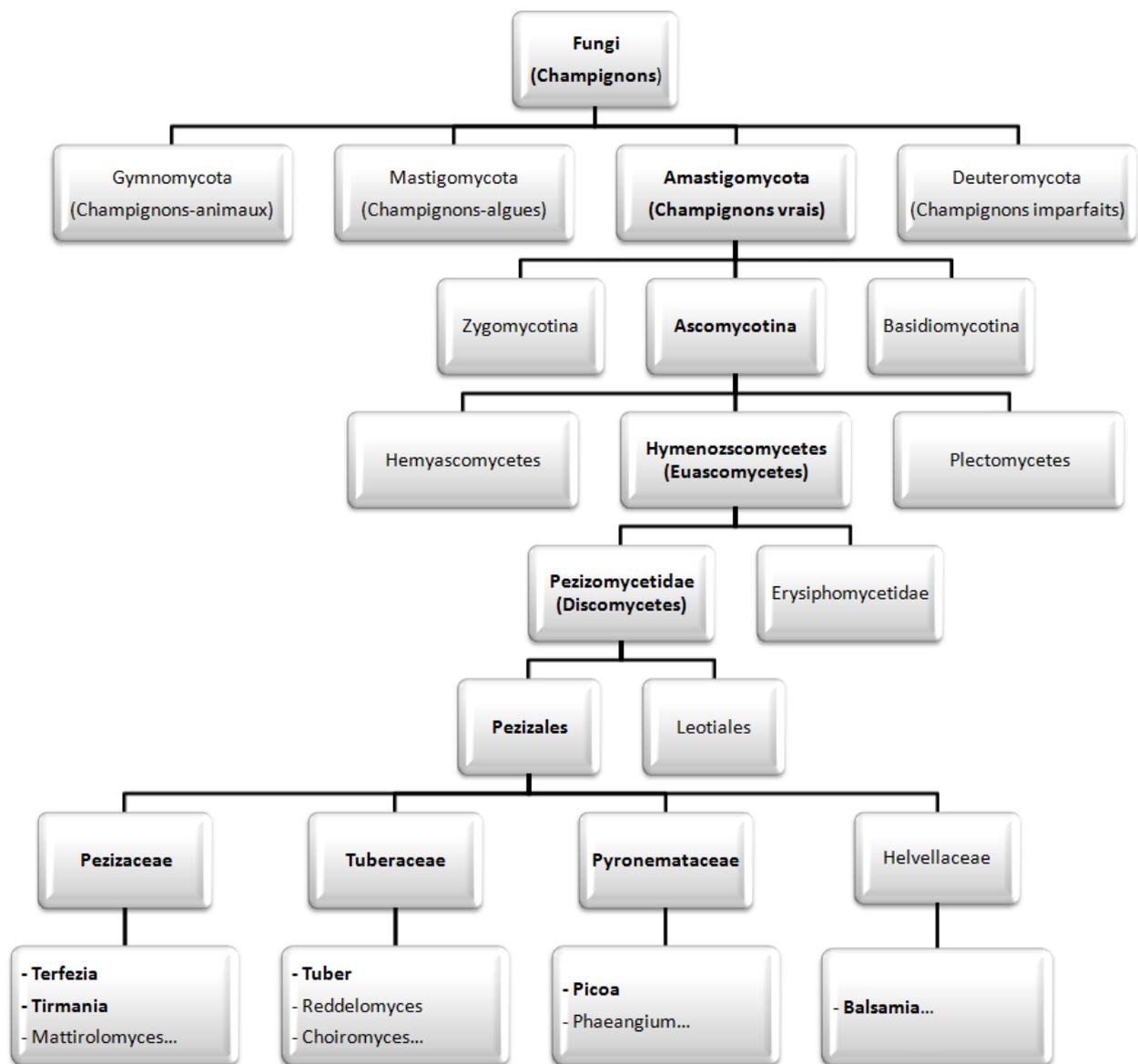


Fig. 2 Position taxonomique et classification de la terfesse

(Boucher, 1999 ; In Dafri, 2012)

5. Cycle biologique

Comme tous les êtres vivants, les terfesses se reproduisent afin d'assurer leur pérennité. Cette reproduction passe par des étapes qui constituent le cycle biologique de ces champignons. Selon Roth-Bejerano *et al.*, 2004 et Kagan-Zur *et al.*, 2008, Ce cycle peut se résumer dans les étapes suivantes :

5.1 La germination

Si nous partons d'une spore mature, la germination serait la première étape du cycle biologique des terfesses. Dans cette étape la spore mature émet un tube germinatif qui s'allonge en un mycélium primaire homocaryotique se développant dans le sol près des racines des plantes hôtes. Cette germination se fait dans des conditions de température et de pluie (automnales) bien adéquates. Après cette étape, le mycélium peut entreprendre deux voies différentes (Fig. 3) :

5.2 La voie sexuée

Cette voie commence par ce qu'on appelle la « plasmogamie ». C'est la fusion de deux mycéliums homocaryotiques (n) qui donne un mycélium hétérocaryotique ($n + n$). Une fois formé, Ce mycélium hétérocaryotique entre en symbiose avec les racines de l'hôte établissant ainsi la relation mycorhizienne qui constitue une phase incontournable de ce cycle biologique.

5.3 La voie végétative

En l'absence de la plasmogamie, le mycélium homocaryotique passe directement à la mycorhization. Il se développe et forme un réseau d'hyphe avant plasmogamie. Cette étape qui était première dans la voie sexuée, s'effectue après mycorhization dans la voie dite végétative.

5.4 L'évolution de l'ascocarpe

Dans cette étape, les hyphes hétérocaryotiques binucléées en provenance des racines mycorhizées s'enroulent et donnent un petit corps qu'on appelle « primordium ». Le développement de ce primordium aboutit dans les conditions adéquates au corps fructifère de la terfesse mature avec tous ses constituants (depuis le périidium qui l'entoure et la protège, à la glèbe qui contient les asques qui regroupent les ascospores). À la fin du cycle, les terfesses restées dans le sol dégènèrent et libèrent leur contenu en spore. Ces dernières se disséminent par plusieurs moyens, notamment le vent, l'eau, et les animaux. Une fois les conditions redevenues favorables, ses spores germent à leur tour et le cycle recommence.

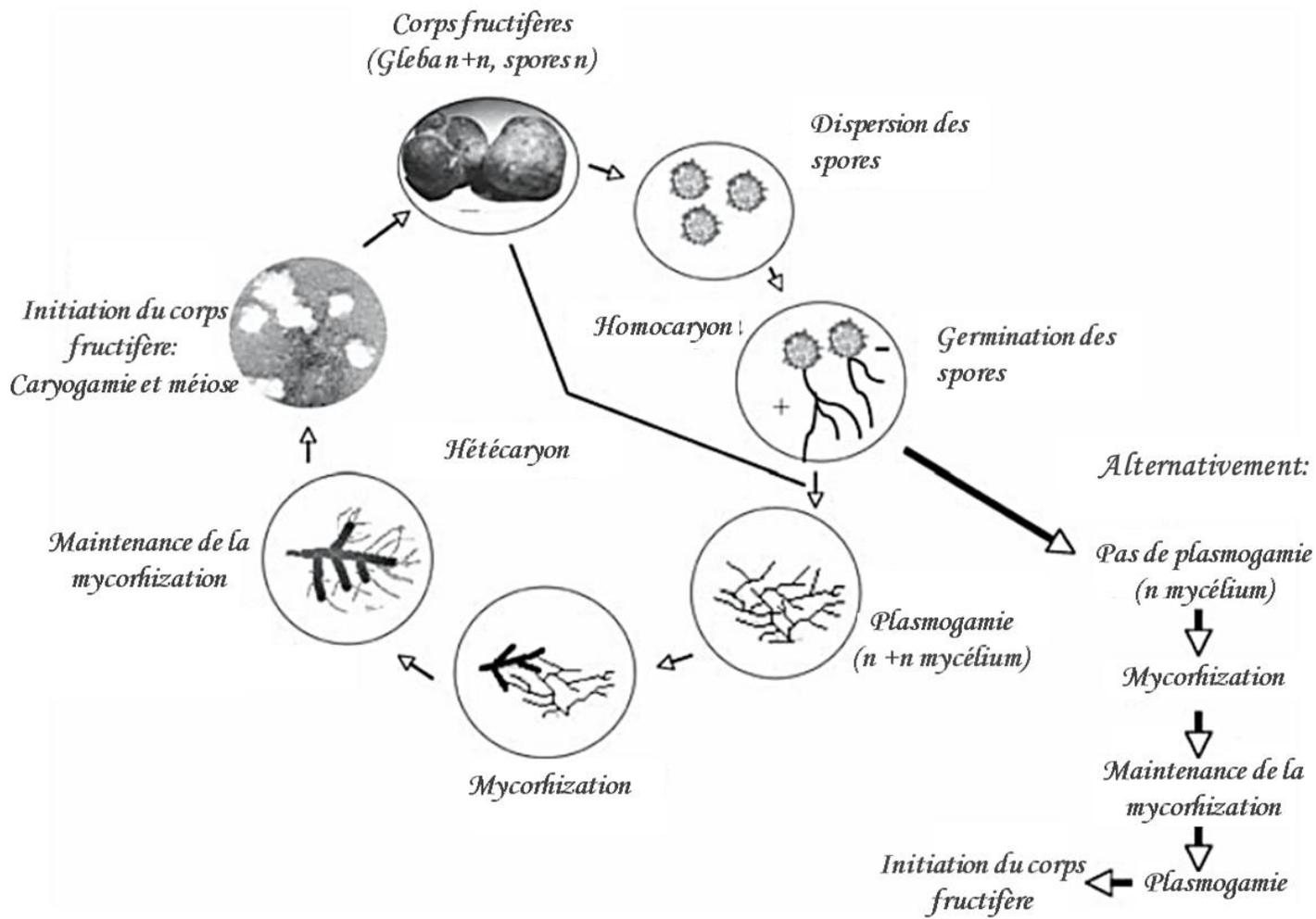


Fig. 3 Représentation du cycle biologique des terfesses

(Kagan et al., 2008)

Écologie des terfesses

6.1 Conditions climatiques

Les terfesses n'occupent pas une région définies, elles se trouvent sur tous les continents. Cette distribution dépend des facteurs écologiques indispensables : le sol, le climat, et les plantes hôtes différents d'une région à l'autre. En effet, les sols où elles poussent sont variés et peuvent être : sableux, gypseux, graveleux-gypseux ou sablo-limoneux. Généralement bien aérés, à pH acide, basique ou neutre, riches en calcaire et pauvres en phosphore (Kermani 2013).

Concernant le climat qui constitue le facteur principal et influence directement la production, les terfesses poussent dans les régions où la pluviométrie annuelle va de 50 à 380 mm (Morte *et al.*, 2008). Elles ne supportent pas les périodes de sécheresse et de froid prolongées (Callot, 1999). Par ailleurs, Callot (1999) a confirmé que pour une bonne année de production, la température du sol doit dépasser les 50°C vers la fin Avril et les 23°C de Juin à Septembre, et que les bonnes années de récolte dépendent d'une année chaude et humide avec une période de sécheresse précise et de bonnes pluies automnales.

Les terfesses s'associent avec des plantes symbiotiques de la famille Cistaceae, appartenant surtout au genre *Helianthemum* (Fig. 4), mais aussi à des cistes, des chênes, des pins, et bien d'autres espèces, telles : *Artemisia herba alba* (Armoise blanche), *Plantago albicans* (Plantain blanchissant), *Robinia pseudoacacia* (Robinier faux acacia), *Citrullus vulgaris* (Melon d'eau-Pastèque), *Kobresia bellardii* (Cobréssia queue-de-souris), *Acacia sp*, voir même avec *Stipagrostis sp* exclusivement en Afrique du Sud (Malençon, 1973 ; Janex-Favre *et al.*, 1988 ; Chatin, 1891 ; Moreno *et al.*, 2000, 2002 ; Díez *et al.*, 2002 ; Comandini *et al.*, 2006 ; Kagan-Zur et Roth-Bejerano, 2008 ; Kovacs *et al.*, 2011 ; Roth-Bejerano *et al.*, 2014). Selon Chatin (1869), elles peuvent s'associer même au cèdre du Liban (*Cedrus libani*).



Fig. 4 Plantes hôtes des terfesses

a, b : *Helianthemum ledifolium*, **c** : *Cistus albidus*, **d** : *Cistus salviifolius*, **e** : *Cistus ladanifer*, **f** : *Cistus monspeliensis*, **g** : *Artemisia alba*, **h** : *Plantago albicans*, **i** : *Kobresia bellardi*. (Site web 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9).

6.2 Aire de répartition

Selon Salterelli *et al.* (2008), la répartition géographique des terfesses diffère malgré la similitude des propriétés écologiques.

Bien que leur nom "truffe du désert " suggère qu'elles sont purement désertiques, elles occupent la région du bassin méditerranéen des zones arides et semi-arides. Elles sont présentes sur les deux rives de la méditerranée, en Europe du Sud (Portugal, Espagne, France, Italie et Hongrie), et en Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Lybie,...). Aussi bien qu'en Afrique du Sud, Botswana, Namibie, et les Iles Caraïbes... De l'Ouest à l'Est du globe, on les trouve dans plusieurs régions depuis les USA jusqu'en Chine (Janex-Favre *et al.*, 1988 ; El-Kholy, 1989 ; Gucin et Dulger, 1997 ; Łaxrynowicz *et al.*, 1997 ; Moreno *et al.*, 2000 ; Callot, 1999).

Les espèces les plus répandues en Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Lybie, Égypte) sont : *Terfezia boudieri*, *Tirmania nivea*, *Tirmania pinoyi*, *Picoa carthusiana* (en Tunisie), et le genre *Delastria* (au Maroc). Ces régions sont caractérisées par des températures moyennes qui oscillent entre 14 et 18°C de Mars à Mai, une pluviométrie automnale bien répartie d'Octobre à Mars et se situe entre 40 et 60 mm, descendant à 15 mm en mois de Mars (Malencon, 1973 ; Chevalier *et al.*, 1984 ; Khabar *et al.*, 1994 ; Pegler 2002 ; Chevalier *et al.*, 1984 , 2004 ; Khabar *et al.*, 2001 ; Khabar, 2005 ; Slama *et al.*, 2006 ; Bradai, 2014 ; Dafri et Beddiar, 2017).

Pour une saison de bon rendements à terfesses en Europe du Sud, une pluviométrie de 100 à 350 mm est requise, notant que les premières pluies doivent commencer avant le début du mois d'Octobre (Morte *et al.*, 2008). Les espèces les plus répandues dans ces régions sont : *Terfezia claveryi*, *Terfezia boudieri*, *Terfezia leptoderma*, *Terfezia olbiensis* et *Terfezia arenaria* (Donadini, 1979 ; Trappe, 1979 ; Dexheimer *et al.*, 1985 ; Janex-Favre *et al.*, 1988 ; Alsheikh , 1994 ; Montecchi et Sarasini 2000 ; Diez et Manjon, 2002).

Les terfesses poussent également dans Le Moyen-Orient où le climat est continental avec des étés secs et hivers humides, des précipitations annuelles oscillent entre 300 et 600 mm dans les régions semi-arides relativement humides, et entre 50 et 250 mm dans les régions arides. Les espèces les plus répandues en Turquie, Syrie et Liban sont : *Picoa juniperi*, *Picoa lefebvrei*, *Tirmania pinoyi*, *Tirmania nivea*, *Terfezia arenaria*, *Terfezia boudieri*, *Terfezia claveryi*, *Terfezia leptoderma*. L'Arabie Saoudite, Bahreïn, Kuwait, Qatar quant à eux, sont plus connus par *Tirmania nivea* nommé "AL-Zubaidi", *Terfezia claveryi* et *Terfezia boudieri* appelées "Ikhlassi", ainsi que *Picoa lefebvrei*, *Tirmania nivea* et *Tirmania pinoyi* (Awameh et Al-Sheikh, 1986 ; Mandel et Al-Laith, 2007 ; Kagan-Zur et AKyuz, 2014).

7. Les terfesses en Algérie

Les terfesses algériennes se développent sous des climats variés selon les régions, et forment leurs mycorhizes avec des plantes symbiotiques diverses souvent des cistacées du genre *Helianthemum*, à savoir : *Helianthemum guttatum*, *H. salicifolium*, et *H. Lippii* (Fig. 5) (Fortas, 1990 ; Ozenda, 1991 ; Fortas et Chevalier, 1992a ; Diez *et al.*, 2002 ; Bradai *et al.*, 2014a ; Dafri et Beddiar, 2017). Concernant l'affinité pédologique, les terfesses en Algérie poussent sur sols sablonneux, sablo-argileux limoneux ou sablo-limoneux, à pH alcalin, calcaire pauvre en matière organique et en phosphore, et riche en potassium et en magnésium (Fortas, 1990, 2004 ; Aibeche, 2008 ; Zitouni, 2010 ; Mokaddem, 2013 ; Aroui, 2013 ; Bendahou, 2013 ; Roukby, 2013 ; Dafri et Beddiar, 2017).

Les terres algériennes regorgent de ces champignons répartis dans plusieurs régions, à savoir :

- Les régions sahariennes : Caractérisé par leur climat sec, ses régions abritent plusieurs espèces dont : *T. boudieri* plus répandue à El-Guerrara et El-Goléa à Ghardaïa, *T. arenaria* à Touggourt et Bir Seba à Ouargla, *Tirmania nivea* à Oued el Righ et à Bechar, *T. claveryi* et *T. pinoyi* à Béni Abbès (Zitouni, 2016).
- Les régions semi-arides et steppiques : On y récolte surtout les espèces suivantes : *Terfezia boudieri*, *T. claveryi*, *Picoa lefebvrei*, *Tirmania nivea* et *T. pinoyi* ; distribuées dans plusieurs zones à savoir : Ain-Sefra et Ben-Zireg à Nàama, El-Kheiter et Sidi Khelifa à El-Bayadh, Laghouat, Djelfa, Bousaada, M'sila, Biskra, Barika et Hodna à Batna (Zitouni, 2016).
- La région nord-ouest où la pluviométrie annuelle moyenne est de l'ordre de 250 à 500 mm avec notamment : *T. claveryi* abondante à Tlemcen dans El-Aricha, Relizane à Oued Rhiou, Oran et Mostaganem, et *T. boudieri* à Ain-Temouchent (Zitouni, 2016).
- Les dunes littorales du nord-est algérien abritant plusieurs espèces dont trois ont pu être identifiées. Il s'agit de : *Terfezia arenaria*, *Tuber gennadii* citée pour la première fois en Algérie par Dafri (2012), et *Terfezia fanfani* également citée pour la première fois en Algérie par Dafri (2017) (Dafri, 2012 ; Dafri, 2017 ; Dafri et Beddiar, 2017 ; Liu *et al.*, 2018). Cette région est la zone d'étude d'où l'espèce présentement étudiée a été récoltée, de ce fait, sa description est détaillée dans le chapitre suivant.



Fig. 5 Plantes hôtes des terfesses en Algérie

a – e: *Tuberaria guttata* du nord-est algérien (Dafri et Beddiar, 2017), **f:** *Helianthemum lippii* (Site web 10), **g:** *Helianthemum salicifolium* (Site web 11).

8. Propriétés des terfesses

Les truffes sont les champignons les plus chers au monde parmi tous les autres champignons. C'est un aliment précieux à cause de sa valeur nutritionnelle et ses potentiels bénéfiques pour la santé, d'où son importance économique réputée (Ahmed *et al.*, 1981 ; Sawaya *et al.*, 1985 ; Bokhary et Parvez, 1993 ; Wang et Marcone, 2011 ; Hamza et al., 2013).

8.1 Valeur nutritionnelle

La matière sèche des terfesses est constituée de 20 à 27 % de protéines, 3 à 7.5 % de lipides (acides gras saturés et insaturés), 7 à 13 % de fibres et environ 60 % de glucide (Kagan-Zur *et al.*, 2008).

Salterelli *et al.* (2008) ont montré que leur gout et leur haute valeur commerciale sont dus à leurs propriétés organoleptiques caractéristiques qui leur offrent également une valeur nutritionnelle diététique significative (Murcia *et al.*, 2002).

Elles peuvent être dégustées seules et sont consommées depuis longtemps crues, bouillies ou grillées (Trappe *et al.*, 2008 ; Al-Laith, 2009).

Ahmed *et al.* (1981) ont désigné que 100g de l'ascocarpe de *Terfezia boudieri* renferment les acides aminés suivants: leucine 1.11 g, thréonine 1.10 g, proline 0.98 g, acide glutamique 2.25 g, acide aspartique 1.56 g, valine 0.84 g, isoleucine 0.75 g, alanine 1.11 g, méthionine 0.33 g, phénylalanine 0.67 g, lysine 0.56 g, glycine 0.77 g, sérine 0.94 g, tyrosine 0.50 g, arginine 0.44 g, histidine 0.34 g, cystine 0.28 g.

Murcia *et al.*, (2003) ont reporté que le genre *Picoa* présente une différence remarquable dans les valeurs des lipides et glucides par rapport aux genres *Terfezia* et *Tirmania* (36.66 % de glucides, 19.94 % de lipides, 22.54 % de protéines, 13.04 % de fibres). Les espèces du genre *Picoa* semblent être relativement plus riches en lipides et moins riches en glucides que les espèces des deux autres genres.

Ces résultats et beaucoup d'autres ont confirmé que les caractéristiques alimentaires des ascocarpes de terfesse changent d'une espèce à une autre selon le type du sol, les facteurs climatiques, la région de récolte, le stade de maturation et le temps (Dahham *et al.*, 2016 ; Hussain et Al-Ruqaie, 1999).

8.2 Intérêt thérapeutique et activité biologique

Bradai (2014), a invoqué que la célébrité des terfesses n'est pas seulement due à son gout délicieux et sa valeur nutritionnelle importante, mais aussi à ses propriétés thérapeutiques qui constituent un trésor naturel.

Ces tubercules miraculeux sont utilisés comme traitement oculaire depuis longtemps par les nomades du désert d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient (Mondaville, 2011 ; Volpato *et al*, 2013 ; Shavit et Shavit , 2014).

Leur rôle dans le traitement des yeux est évoqué par celui qui n'a pas prononcé de fantaisie notre prophète Mohammed (ﷺ) dans son hadith déjà cité plus haut :

«الكأمة من المن وماؤها شفاء للعين». رواه البخاري وشرحه أحمد بن حجر العسقلاني في كتابه فتح الباري (852-883).

Des travaux qui ont été effectués sur les extraits aqueux des genres *Terfezia* et *Tirmania* donnent des résultats positifs quant à l'empêchement de la croissance bactérienne (à l'exception des bactéries lactiques à effet probiotiques (Saddiq *et al*, 2015)). Ils ont aussi des effets sur les levures et dans quelque cas les champignons filamenteux, et sont efficaces contre la croissance de *Chlamydia trachomatis* responsable de la maladie du trachome (Al-Marzouky, 1981).

Plusieurs études ont été menées par plusieurs chercheurs qui pensent que les terfesses sont bénéfiques pour la santé humaine. Elles ont une activité enzymatique et une activité anti-oxydante importantes (Pirez-Gilabert, 2005 ; Al-Laith, 2010).

Elles présentent une source illimitée de composés anti-inflammatoires, antimutagènes et anti-cancérogènes. Volpato *et al*. (2013) ont démontré qu'elles sont utilisées pour traiter les rhumes, l'arthrite, les rhumatismes et les affections respiratoires (Hansan *et al.*, 1989 ; Gao *et al.*, 2001 ; Al-Laith, 2010 ; Makewey, 2015 ; Dahham *et al.*, 2016).

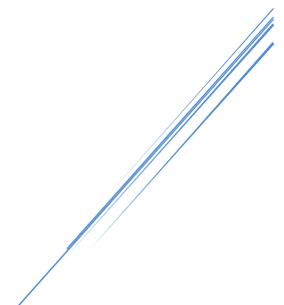
Elles sont aussi recommandées par le physicien Ibn-Sina (Avicenne) depuis le 11^{ème} siècle aux malades atteints de faiblesse, de vomissements, ainsi que pour la cicatrisation des blessures (Shavit, 2008).

Cependant, malgré leur richesse en molécules bioactives et leurs bienfaits cutanés, elles ne sont pas exploitées dans l'industrie pharmaceutiques (Al-Laith, 2010).

Chapitre 2 : ***Étude*** ***Expérimentale***

Explication~

Avant d'entamer ce chapitre, il est primordial d'expliquer que la partie expérimentale prévue dans le cadre de cette initiation à la recherche en vue de l'obtention du diplôme de master, n'a pu être réalisée à cause de la pandémie qui a imposé un confinement de plusieurs mois, suite auquel la saison d'échantillonnage (ayant lieu au printemps) a été ratée malgré l'organisation préalable avec la direction des forêts de la wilaya de Ghardaïa. La date limite du confinement n'était pas claire et aucun autre travail expérimental n'était envisageable surtout que le premier chapitre de la revue bibliographique sur les terfesses était déjà rédigé et en phase de correction. Ces conditions exceptionnelles ont donc mené à une orientation exceptionnelle du travail. En effet, l'étude expérimentale de la qualité microbiologique et alimentaire des terfesses de la wilaya de Ghardaïa n'a pu avoir lieu, et a été remplacée par un reviewing et une discussion d'une partie de travail réalisée antérieurement par Dafri (2017) sur les terfesses du nord-est algérien.



1. Zone d'étude

La superficie des cotes sableuses algériennes atteint les 99.000 hectares allongés sur une longueur de 197 Kilomètres. 75 % de ces côtes dunaires se trouvent dans leur partie orientale (Boussouak, 1999) qui abritent la zone d'étude du présent travail (Fig. 6), localisée dans la wilaya d'El-Tarf à l'extrême nord-est du pays et contenant plusieurs sites d'études choisis d'après plusieurs critères notamment l'abondance du partenaire symbiotique (Dafri, 2017). Cette région est connue par sa richesse faunistique et floristique, surtout au niveau du Parc National d'El-Kala (PNEK) créé en 1983 et reconnu comme réserve de la biosphère par L'UNESCO en 1990.

Ce cordon dunaire présente un climat méditerranéen avec quatre variétés d'étages bioclimatiques dont l'étage bioclimatique subhumide chaud et l'étage bioclimatique humide chaud qui caractérisent les sites d'étude à la base du présent travail.

Élevée durant toute l'année, l'humidité relative de ces sites va de 72.1 à 76.2 %. Les températures moyennes varient entre 8 et 29.7 °C, avec une moyenne annuelle de 17.9 °C et une amplitude de 6.75 °C (Bentouili, 2007). Les précipitations moyennes sont concentrées en automne, hiver et printemps, janvier étant le mois le plus pluvieux de l'année. La saison sèche dure entre quatre et six mois de la mi-mai à la mi-septembre (Benslama *et al.*, 2010).

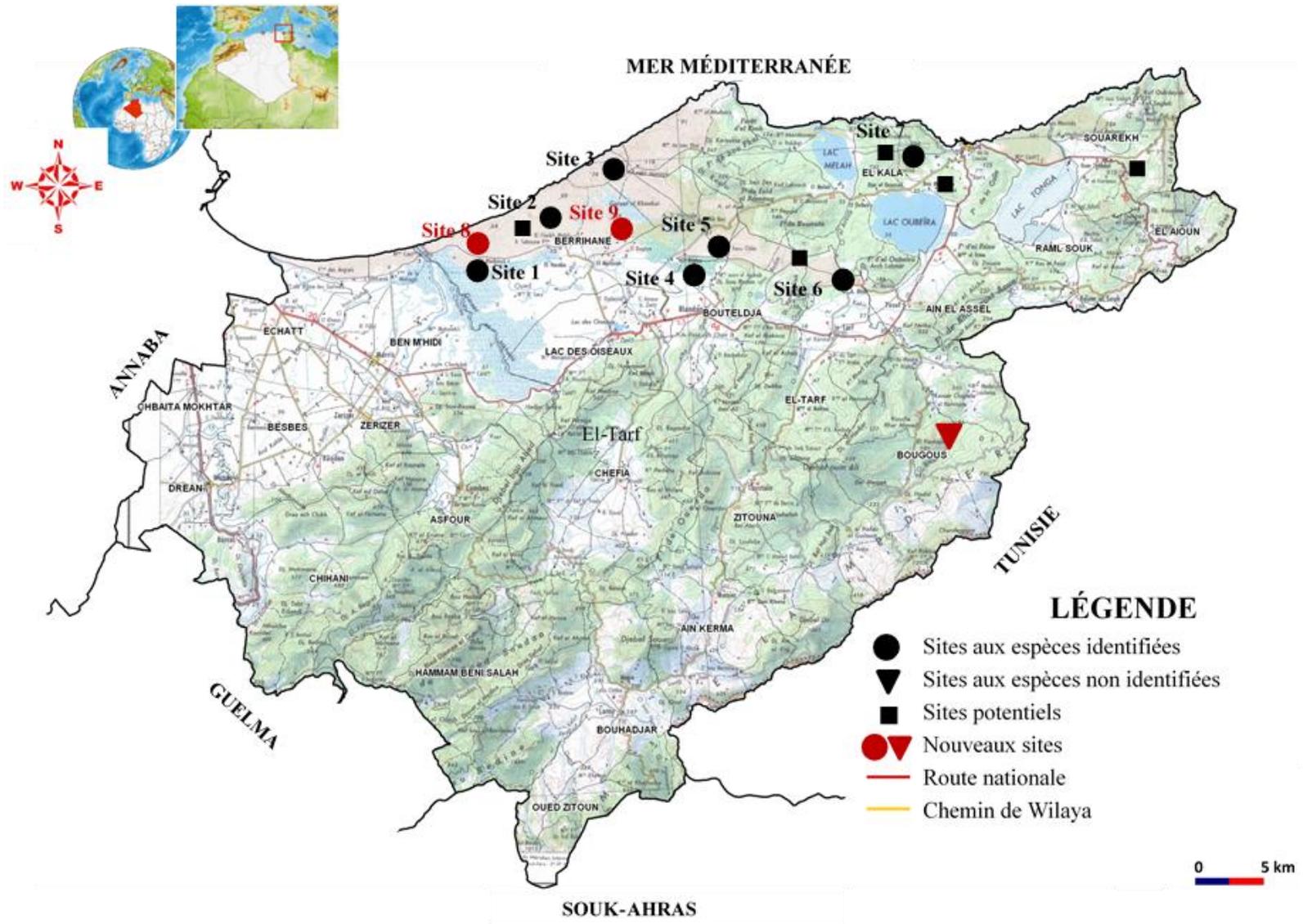


Fig. 6 Localisation des sites à terfesses dans la région du nord-est algérien

(Dafri, 2017)

2. Matériel biologique

2.1 Échantillonnage d'ascocarpe

D'après Dafri (2017), les récolteurs des terfesses dans la région d'étude se réfèrent à plusieurs indices pour le repérage de l'endroit de l'ascocarpe, à savoir : les craquelures ou le gonflement du sol, l'abondance de la plante hôte et/ou la terre très meuble à l'endroit de présence de l'ascocarpe. Dans le cas de *Terfezia arenaria*, le corps fructifère effleure parfois le sol et ne nécessite plus qu'une bonne vision pour le repérer.

2.2 Identification de l'espèce

2.2.1 Identification morpho-anatomique

C'est une identification macromoléculaire basée sur les critères morphologique étant principalement : la couleur et la forme du péridium, la couleur et l'aspect de la glèbe, la couleur et la forme des asques et ascospores ; ainsi que le nombre des ascospores à l'intérieur des asques. Un autre critère important est aussi à prendre en considération. Il s'agit de la taille des spores et des asques estimée par la taille moyenne de cent spore ou asques.

Les résultats de cette analyse macro et microscopique sont comparés aux descriptions données pour chaque espèce, par plusieurs chercheurs afin de prédire l'espèce (ou pour le moins le genre) de l'échantillon en main. Cependant, la confirmation est obtenue par l'analyse biomoléculaire.

2.2.2 Identification biomoléculaire

L'identification biomoléculaire des espèces a été basée sur l'amplification du support de l'information génétique (ADN) de l'échantillon récolté en utilisant la réaction de polymérisation en chaîne (Polymerase chain reaction PCR). Après vérification de l'aboutissement de l'amplification par électrophorèse sur gel, les échantillons amplifiés sont envoyés au séquençage et l'identification des espèces se fait par comparaison des séquences des espèces en cours d'étude à celles présentes sur la banque de gène NCBI. La phase finale dans ce processus est l'élaboration de l'arbre généalogique qui permet de donner de plus amples renseignements sur la phylogénie de l'espèce.

3. Culture mycélienne

La culture mycélienne des terfesses est l'une des manipulations les plus redoutables dans les travaux de recherche sur ce champignon. Cette culture, comme toute autre d'ailleurs exige des

conditions de travail extrêmement stériles. Elle est réalisée sur milieu MMN (Modified Melin-Norkrans ; Marx 1969) à pH acide (de valeur variable selon les espèces). Elle passe par les étapes suivantes :

- Stériliser la surface des ascocarpes à l'alcool après un bon lavage à l'eau.
- Sous la hotte, ouvrir l'ascocarpe suivant la fente naturelle (si existante), sinon en provoquant une légère lésion à leur surface à l'aide d'une lame stérile. Afin d'éviter de transporter les contaminants de la surface à l'intérieur de l'ascocarpe, il faut absolument éviter d'enfoncer la lame dans la profondeur de la glèbe ou de toucher cette dernière avec les doigts aussi stériles soient-ils.
- Prélever un fragment de la glèbe, d'une taille d'environ 4 à 5 mm² et le placé (légèrement enfoncé) sur le milieu gélosé préalablement coulé dans les boîtes de Pétri.
- À la fin de chaque culture, la boîte doit être hermétiquement fermée (à l'aide du parafilm) et toutes les annotations nécessaires notamment la date et l'espèce, doivent y être prescrites avant étuvage entre 25 et 30 °C.
- ❖ Il est à noter que la continuité de cette culture ne peut être dévoilée sur cet écrit, du fait que la communication dévoilant la manip en question a été reportée à cause de la pandémie et l'article la décrivant n'a pas encore été publié.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1. Présentation de l'espèce étudiée

L'espèce dont la culture mycélienne est à discuter dans ce travail est le *Terfezia fanfani* (Mattiolo) 1900, citée pour la première fois en Algérie, spécialement dans les dunes littorales du nord-est du pays, par Dafri (2017) dans le cadre d'une recherche initiée en 2012 sur les terfesses de cette région (Dafri, 2017 ; Liu *et al.*, 2018).

Cette espèce est caractérisée par des ascocarpes souvent fermes, inodores et globuleux, d'environ 2 à 5 cm de diamètre.

Le périidium est épais, parfois légèrement rugueux, le plus souvent lisse, et inséparable de la glèbe. Sa couleur est brune rouge tachetée de noire, s'assombrissant d'avantage à maturité.

Dans les ascocarpes matures, la glèbe présente des ilots fertiles de couleur vert-olive (Fig. 7), séparés par des veines stériles blanches.

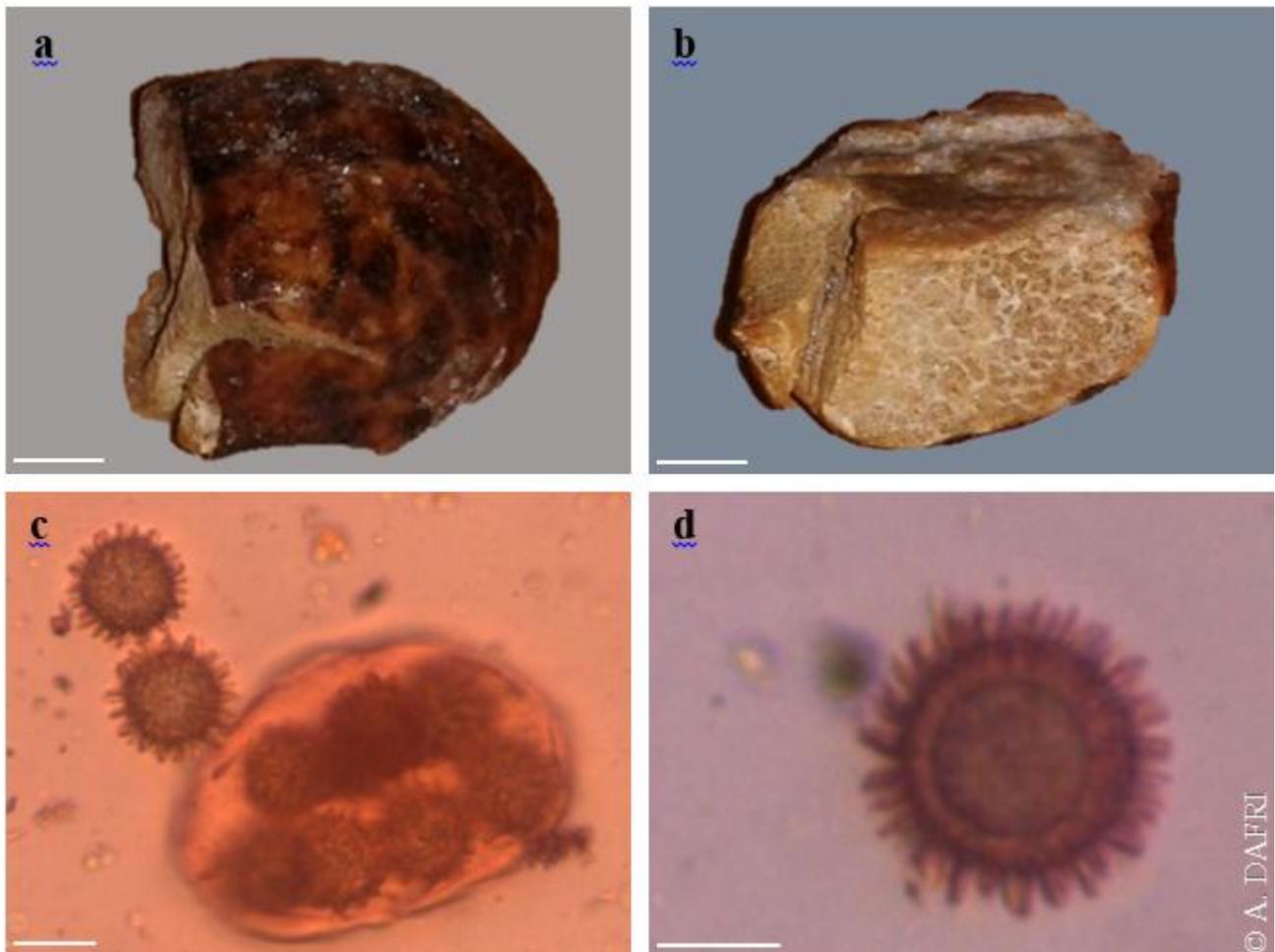


Fig. 7 *Terfezia fanfani* (Mattiolo) 1900.

a : périidium, **b** : glèbe avec des ilots fertiles vert olive séparés de veines stériles blanches, **c** : asque contenant 8 ascospores, **d** : ascospore mature ornementée d'épines et laissant voir une immense granule lipidique. Échelle barres [a, b] = 1 cm, [c] = 20 μ m, [d] = 10 μ m (Dafri, 2017).

Les asques sont plutôt ovoïdes, sessiles (non pédicellés). Leur taille varie de 70 à 80 x 50 à 77 µm de diamètre. Ils contiennent généralement 8 ascospores.

Les ascospores de l'espèce sont sphériques, ornementées d'épines de 1µm de large à la base. Leur diamètre est d'environ 19-23(25) µm.

Cette espèce a longtemps été confondue avec *Terfezia leptoderma* par plusieurs chercheurs (Chevalier, 2014 ; Khabar, 2014), et c'est probablement la cause pour laquelle sa citation dans certaines régions a été retardée. Suite à cela, la confirmation de l'identité de l'espèce ne pouvait se baser simplement sur les caractères morphologiques, et l'analyse moléculaire fut une nécessité. Cette analyse a bel et bien approuvé qu'il s'agisse de *Terfezia fanfani* et a confirmé que ses similitudes morpho anatomiques avec les spécimens récoltés d'Espagne et décrits par Bordallo *et al.* (2013) n'est pas le simple fait du hasard. Les séquences des deux espèces se sont révélées proches aussi bien par la méthode du maximum de parcimonie (MP) que par la méthode du « Neighbor Joining » (NJ) (Fig. 8) (Liu *et al.*, 2018).

2. Culture mycélienne de *Terfezia fanfani*

La culture mycélienne de *T. fanfani in vitro* à partir d'un petit fragment de la glèbe a abouti. Cette culture réalisée dans des conditions stériles n'a pas montré de contaminations. Au contraire, les boîtes étaient pures et le mycélium de l'espèce était bien visible.

Ce mycélium d'abord de couleur blanche, vire au vert-olive après quelque temps, rappelant ainsi la couleur de la glèbe des ascocarpes matures de l'espèce (Fig. 9). Dans un premier temps, ce mycélium s'étend sur une couche de 2 centimètres de diamètre autour du fragment de la glèbeensemencé. Par le temps, ce diamètre se prolonge légèrement, et une seconde couche de filaments se superpose à la première.

Lors de la première culture sur milieu gélosé, le développement du mycélium requiert deux à trois mois à des températures environnant les 35 °C. Cette température n'était pas prévue dans le protocole expérimental. Les boîtes étaient à la base placées dans une étuve réglée à 25 °C pour certaines et une étuve réglée à 30 °C pour d'autres. Ces deux températures sur une période de plus d'un mois n'avaient donné aucun résultat. Les boîtes étaient donc placées hors étuve, dans un rangement près d'une source de chaleur, où les températures environnent les 35 °C. C'est alors que le mycélium s'est développé et que les températures nécessaires à son développement furent notées.

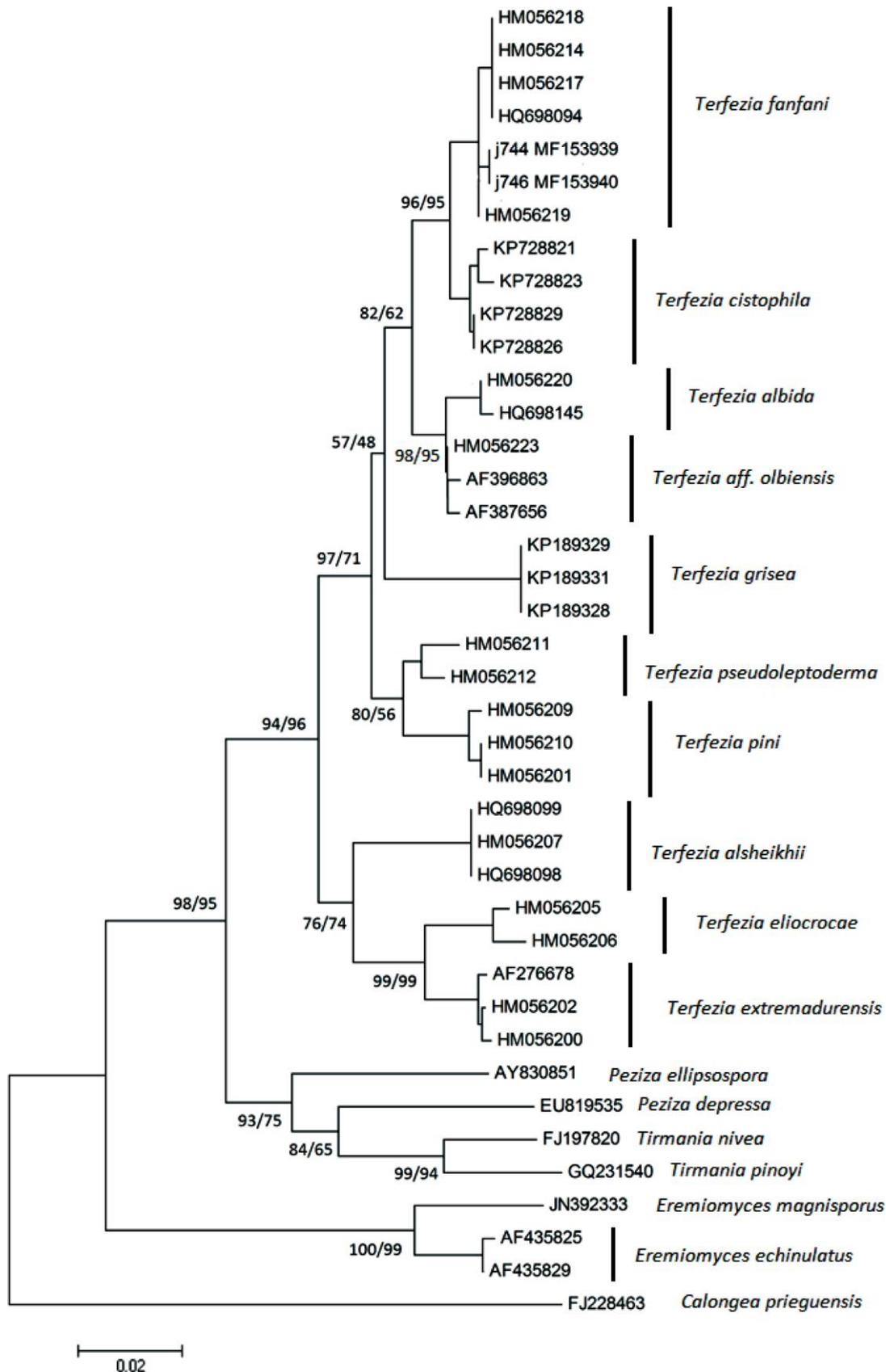


Fig. 8 Arbre phylogénétique de *Terfezia fanfani* avec d'autres espèces de terfesses

L'arbre est basé sur le maximum de parcimonie (MP) et le Neighbor joining des séquences ITS (Liu *et al.*, 2018).

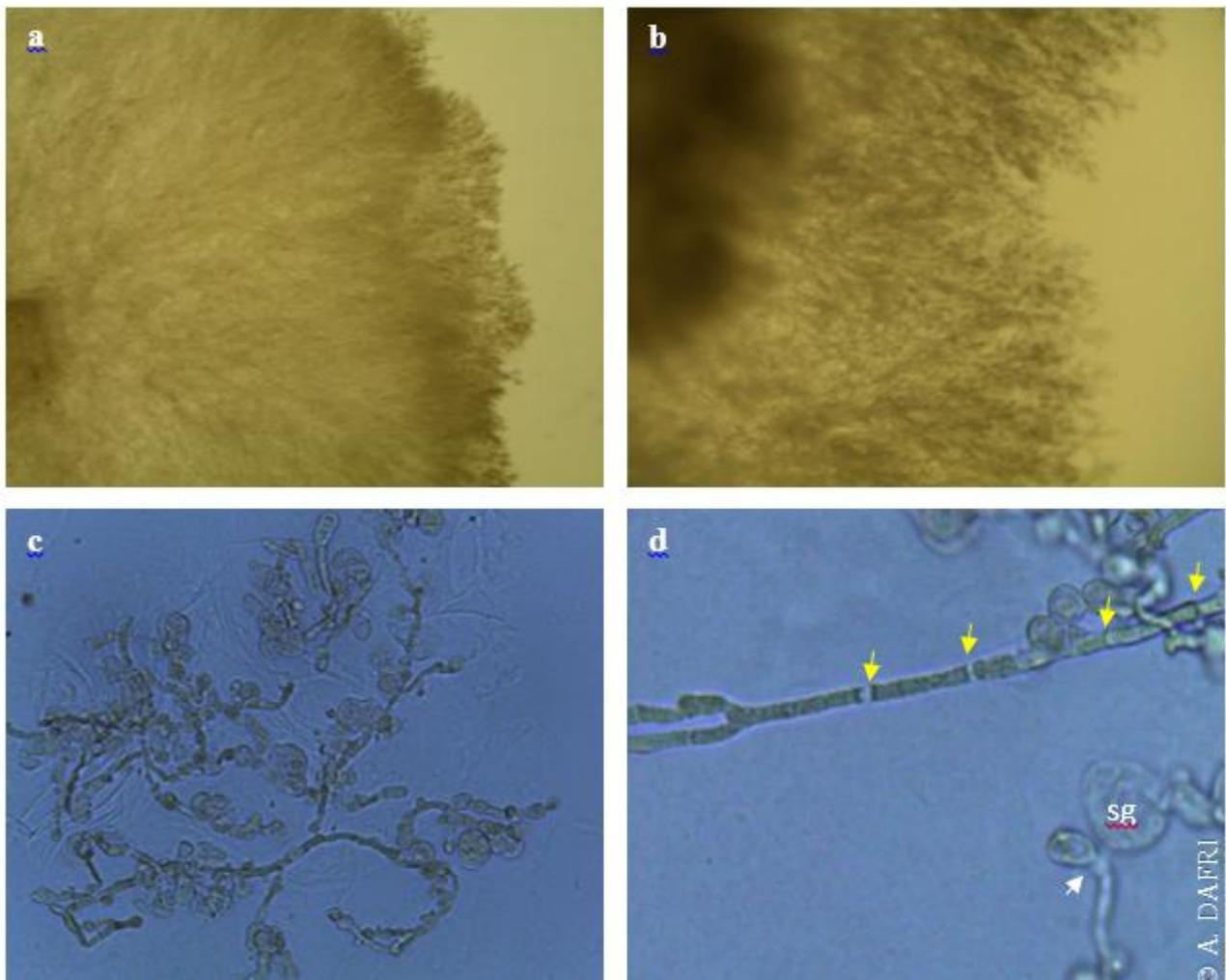


Fig. 9 Culture mycélienne de *Terfezia fanfani*

a, b : prolifération du champignon sur le milieu gélosé [a : x 10, b : x 37,5], **c** : aspect général du mycélium [x 400], **d** : photo montrant le mycélium cloisonné (les flèches jaunes indiquent les segmentations) et une spore germée (sg) ayant multiplié son volume et émis, son tube germinatif (indiqué par la flèche blanche) [x 800] (Dafri, 2017).

Lors du deuxième repiquage dans les mêmes conditions et de la même manière, le temps nécessaire au développement du mycélium était le même. Cependant, ce temps a pu être raccourci par une méthode expérimentale qui rappelle le principe de travail des fermentateurs dédiés à la production de grande quantité de mycélium fongique dans le but de la production des plans mycorhizés (Morte *et al.*, 2008).

La culture mycélienne des terfesses a été tentée par quelques chercheurs et a généralement porté sur le genre *Terfezia* (Awameh et Alsheikh, 1980 ; Fortas et Chevalier, 1992b ; Morte et Honrubia, 1994 ; Gutiérrez *et al.*, 1995 ; Bouziani *et al.*, 2006). D'après ces auteurs, les cultures réussies sont généralement des cultures directes de spores préalablement traitées. Celles des fragments de la glèbe ne sont pas suffisamment mentionnées, et leur aboutissement n'est pas réputé dans les

différents articles traitant ce sujet. Toutefois, aucune étude n'a discuté la culture de *Terfezia fanfani*, et le travail de Dafri (2017) se réserve ce scoop jusqu'à preuve du contraire. Ceci est l'une des raisons derrière le choix du reviewing de ce travail précisément dans le présent mémoire. Néanmoins, le présent travail visait au départ, non seulement de rappeler la méthode de culture, mais aussi et surtout de discuter la méthode expérimentale simple qui a permis de raccourcir le temps de développement du mycélium dans les repiquages ultérieurs. Cependant, la pandémie qui a retardée les événements scientifiques a voulu que les droits restent réservés à l'auteur jusqu'à publication du *short note* ou de la communication en question.

Par ailleurs, il est à noter que les publications sur les cultures mycéliennes des terfesses sont beaucoup moindres que celles réalisées sur les truffes du genre *Tuber*. Ces cultures qui paraissent pourtant simples et faciles à réaliser, sont en réalité assez redoutables, notamment à cause des contaminations qui envahissent les boîtes et empêchent la prolifération du mycélium de l'espèce cultivée, notamment dans le cas de *Terfezia arenaria*. C'est la raison pour laquelle les chercheurs optent pour la culture directe des spores prétraitées tel qu'expliquer là-haut (Awameh et Alsheikh, 1980 ; Fortas et Chevalier, 1992b ; Morte et Honrubia, 1994 ; Gutiérrez *et al.*, 1995 ; Bouziani *et al.*, 2006). Ces contaminations récurrentes lors de la culture des fragments de la glèbe sur milieu gélosé, mêmes en conditions d'aseptise totale, laissent penser à une provenance endogène des contaminants. Cette question posée par Dafri en 2017 et proposée dans les perspectives à la fin de sa thèse, allait être la problématique de ce mémoire de master et sa matière de recherche avant que la crise sanitaire n'intervienne. La question reste donc posée, et la réponse attend le moment propice pour dévoiler ses mystères.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

À l'essor de ce travail et avant que la pandémie du Covid-19 n'impose ses lois exceptionnelles au monde, l'objectif de ce travail de recherche était d'étudier la qualité microbiologique des terfesses de la wilaya de Ghardaïa et de mettre le point sur les causes des contaminations récurrentes dans les cultures mycéliennes à partir des fragments de la glèbe. Cela n'étant plus possible avec le confinement, la recherche a obligatoirement dû s'orienter vers le reviewing d'un travail déjà réalisé, car aucune manipulation n'était possible, surtout que l'échantillonnage lui-même dépendait de la direction des forêts et n'a pu avoir lieu dès lors que la distanciation sociale et le service minimum ont pris place.

Ainsi, l'objectif qui a été maintenu en fin de compte, est celui de discuter la culture mycélienne de *Terfezia fanfani* ; Une espèce citée pour la première fois en Algérie en 2017, par Dafri (Dafri, 2017 ; Liu *et al.*, 2018).

Après identification morpho-anatomique et moléculaire, la culture de l'espèce a été réalisée à partir d'un fragment de la glèbe sur milieu MMN gélosé, et a donné ses résultats après environ deux ou trois mois de son étuvage à une température dépassant les 30 °C.

Le mycélium de l'espèce croît sur un diamètre de deux centimètre autour du fragment de la glèbe et les boîtes restées étuvées donnent une seconde couche qui se juxtapose à la première. Le deuxième repiquage dans les mêmes conditions prend le même temps. Et cette période n'a pu être raccourcie qu'en utilisant une méthode analogue à celle des bio fermentateurs, cependant, les détails sur cette manip restent sous réserve des droits d'auteur jusqu'à leur dévoilement dans une communication ou publication sous forme de *short note* dans l'une des périodiques dédiées à cela.

Le premier objectif qui était fixé avant la pandémie reste à parcourir dans des travaux ultérieurs, et le présent travail pose donc les perspectives suivantes :

- Étudier la qualité microbiologique des terfesses de la wilaya de Ghardaïa aussi bien que celles des dunes littorales du nord-est algérien et à plus grande échelle celles du pays.
- Chercher la véritable source des contaminations des cultures de *Terfezia arenaria* à partir d'un morceau de la glèbe sur milieu gélosé.
- S'investir dans les recherches sur les substances bioactives des truffes du désert.
- L'étude du pouvoir thérapeutique des terfesses algériennes, dans le traitement des maladies oculaires particulièrement et comme drogue végétal d'innombrables vertus de manière plus générale.

Références bibliographiques

Agnello, C., & Kaounas, V. (2011). *Tuber asa* and *T. gennadii*. A close morphological study of two species often confused in the past with a brief historical bibliographic summary. *Ascomycète. Org*, 3(4): 65-74.

Ahmed, A.A., Mohamed, M. A., & Hamid, M. A. (1981). Libyan Truffles “*Terfezia boudieri* Chatin”: Chemical Composition and Toxicity. *Journal of Food Science*, 46(3): 927-929.

Aïbeche, C. (2008). Caractéristiques écologiques et mycologiques d’une espèce de terfez du littoral Ouest algérien. Essai de mycorhization contrôlée avec sa plante-hôte naturelle *Helianthemum guttatum*. Thèse de Magister. Univ Oran, Algérie, 85 p.

Al-Laith, A. A. A. (2010). Antioxidant components and antioxidant/antiradical activities of desert truffle (*Tirmania nivea*) from various Middle Eastern origins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(1): 15-22.

Al-Marzooky, M. A. (1981). Truffles in eye disease. *Proceedings of the International Conference on Islamic Medicine*. Kuwait, 32(1): 353-357.

Alsheikh, A. M. (1994). Taxonomy and mycorrhizal ecology of the desert truffles in the genus *Terfezia*.

Alsheikh, A. M., & Trappe, J. M. (1983). Desert truffles: The genus *Tirmania*. *Transactions of the British Mycological Society*, 81(1): 83-90.

Alsheikh, A. M., & Trappe, J. M. (1983a). Desert truffles: The genus *Tirmania*. *Transactions of the British Mycological Society*, 8(1): 83-90.

Alsheikh, A. M., & Trappe, J. M. (1983b). Taxonomy of *Phaeangium lefebvrei*, a desert truffle eaten by birds. *Canadian Journal of Botany*, 61(7): 1919-1925.

Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., & Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res*, 25: 3389-3402.

Ammarellou, A., & Saremi, H. (2008). Mycorrhiza between *Kobresia bellardii* (All) Degel and *Terfezia boudieri* Chatin. *Turkish Journal of Botany*, 32(1): 17-23.

- Anderson, I. C., Campbell, C. D., & Prosser, J. I. (2003a). Diversity of fungi in organic soils under a moorland–Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) gradient. *Environmental Microbiology*, 5: 1121-1132.
- Anderson, I. C., Campbell, C. D., & Prosser, J. I. (2003b). Potential bias of fungal 18S rDNA and internal transcribed spacer polymerase chain reaction primers for estimating fungal biodiversity in soil. *Environ Microbiol*, 5: 36-47.
- Arioui, S. (2013). Etude des sols à terfez et leurs associés et accompagnatrices dans la région sud-ouest de la wilaya de Bechar. Thèse de Magister. Faculté des Sciences et Technologies, Béchar, 78 p.
- Awameh, M. S., & Alsheikh, A. M. (1980). Features and Analysis of Spore Germination in the Brown Kamé *Terfezia claveryi*. *Mycologia*, 72(3): 494-499.
- Awameh, M. S., & Alsheikh, A. (1980b). Features and analysis of spore germination in the brown kame *Terfezia claveryi*. *Mycologia*, 72(3): 494-499.
- Bencivenga, M., & Urbani, G. (1996). Yields white truffles in a truffle ground cultivated for three years. *Informatore-Agrario*, 52: 25-26.
- Bendahou, H. (2013). Ecologie des terfez de la région nord-est de la wilaya de Bechar. Thèse de Magister. Faculté des Sciences et Technologies, Béchar, 67 p.
- Benslama, M., Andrieu-Ponel, V., Guiter, F., Reille, M., De Beaulieu, J. L., Migliore, J., & Djamali, M. (2010). Nouvelles contributions à l'histoire tardiglaciaire et holocène de la végétation en Algérie: Analyses polliniques de deux profils sédimentaires du complexe humide d'El-Kala. *Comptes Rendus Biologies*, 333(10): 744-754.
- Bentouili, M. Y. (2007). Inventaire et qualité des eaux du parc national d'El Kala (nord-est algérien). Thèse de Magister. Univ d'Annaba, Algérie, 134 p.
- Benyakoub, S. (1993). Ecologie de l'avifaune forestière nicheuse de la région d'El-Kala (nord-est algérien). Thèse de Doctorat. Univ de Bourgogne, France, 280 p.
- Bokhary, H.A., & Parvez S. (1993). Chemical composition of desert truffle *Terfezia claveryi*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 6(3): 285-293.
- Bordallo, J. J., Rodriguez, A., Muñoz-Mohedano, J. M., Suz, L. M., Honrubia, M., & Morte, A. (2013). Five new species from the Iberian Peninsula. *Mycotaxon*, 124(1): 189-208.

- Bouchareb, F. (1994). Etude écologique des terfez cas de la région d'Ain Sefra (Wilaya de Naama). Thèse de Magister. Ing. d'état. Agron., LN.F.S.A. Mostaganem, 81 p.
- Boucher, R. C. (1999). Molecular insights into the physiology of the 'thin film' of airway surface liquid. *The Journal of Physiology*, 516(3): 631-638.
- Boussouak, R. (1999). Etude synchronique du dynamisme de la végétation des dunes et des falaises littorales (numidie orientale). Thèse de Magister. Univ d'Annaba, Algérie.
- Bouziani, N., Bouakka, M., Belabed, A., & Tahir, E. H. (2006). Caractérisation biochimique du terfez du Maroc oriental : Isolement et culture *in vitro*. In : Congrès International de Biochimie. Agadir, Maroc, pp: 519-522.
- Bradai, L. (2014). Inventaire et bio-écologie des Terfez dans quelques régions du Sahara septentrional (Oued M'ya, Oued Righ et Ghardaïa), Thèse de doctorat, Univ Kasdi Merbah Ouargla, Algérie, 16 p.
- Bradai, L., Bissati, S., & Chenchouni, H. (2014). Desert truffles of the north Algerian Sahara: Diversity and bioecology. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 26(5): 10.
- Bradai, L., Bissati, S., & Chenchouni, H. (2014a). Desert truffles of the north Algerian Sahara: Diversity and biotecology. *Emir J Food Agric*, 26(5): 425-435.
- Bratek, Z., Jakucs, E., Boka, K., & Szedlay, G. (1996). Mycorrhizae between black locust (*Robinia pseudoaccacia*) and *Terfezia terfezoïdes*. *Mycorrhizae*, 6(4): 271-274.
- Chatin, A. (1869). Etude des conditions générales de la production truffières. In primerie et librairie de Bouchard-Huzard, Paris, 200 p.
- Chatin, A. (1891). Contribution à l'histoire botanique de la truffe: kamé de Damas (*Terfezia claveryi*). *Bulletin de la Société Botanique de France*, 38: 332-335.
- Chatin, A. (1896a). Un terfas d'Espagne et trois nouveaux terfas du Maroc. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 43: 397-399.
- Callot, G. (1999). La Truffe, la Terre, la Vie. INRA, Paris, 210 p.
- Chevalier, G., Rioussat, L., Dexheimer, J., & Dupre, C. (1984). Synthèse mycorhizienne entre *Terfezia leptoderma* Tul et diverses Cistacées. *Agronomie*, 4(21): 0-211.

- Chevalier, G., Rioussel, L., Rioussel, G., & Dupre, C. (2004). Truffes et terfez communes à la France et au Maroc. Premier symposium sur les champignons hypogés du bassin méditerranéen, Rabat (Maroc), 23 p.
- Comandini, O., Contu, M., & Rinaldi, A.C. (2006). An overview of *Cistus* ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 16: 381-395.
- Dafri, A. (2012). Les terfez des dunes littorales du nord-est algérien : Localisation, Identification et Symbiose. Mémoire de Master. Univ d'Annaba, Algérie, 85 p.
- Dafri, A. (2017). Les Terfesses des dunes littorales du Nord-Est Algérien: Écologie, Symbioses et Biotechnologie. Thèse de doctorat, Univ d'Annaba, 152 p.
- Dafri, A., & Beddiar, A. (2017). Desert truffles from northeastern Algerian coastal dunes: Ecology, Identification and Symbiosis. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(1): 153-169, doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v9i1.11>.
- Dafri, A., & Beddiar, A. (2017a). Morphological characterization of the mycorrhizal symbiosis between *Tuberaria guttata* (L.) Fourn and *Terfezia arenaria* (Moris) Trappe. *Symbiosis*, 75(2): 149-154.
- Dafri, A., & Beddiar, A. (2017b). Desert truffles from northeastern algerian coastal dunes: Ecology, Identification and Symbiosis. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(1): 153-169.
- Dahham, S. S., Al-rawi, S.S., Ibrahim, A. H., Majid, A. S. A., & Majid, A. M. S. A. (2016). Antioxidant, anticancer, apoptosis properties and chemical composition of black truffle *Terfezia claveryi*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, Article original, vol. 01-31.
- Dexheimer, J., Gerard, J., Leduc, J. P., & Chevalier, G. (1985). Etude ultrastructurale comparée des associations symbiotiques mycorrhiziennes *Helianthemum salicifolium*-*Terfezia claveryi* et *Helianthemum salicifolium* - *Terfezia leptoderma*. *Canadian Journal of Botany*, 63: 582-591.
- Dickie, I. A., Xu, B., & Koide, R. T. (2002). Vertical distribution of ectomycorrhizal hyphae in soil as shown by T-RFLP analysis. *New Phytol*, 156: 527-535.
- Diez, J., Manjon, J.L., & Martin, F. (2002). Molecular phylogeny of the mycorrhizal desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*), host specificity and edaphic tolerance. *Mycologia*, 94(2): 247-259.
- Donadini, J.C. (1979). Les champignons hypogés des îles d'Hyères (Ascomycètes et Basidiomycètes), *Trav. Sci. Parc National. Port-Cros*, 5: 9-18.

El-Kholy, H. (1989). Genetical and Physiological Studies on Truffles. PhD. Thesis, Fac. of Agric., Cairo University (Egypt), 46-82.

Fortas, Z. (1990). Etude de trois espèces de terfez : Caractères culturaux et cytologie du mycélium isolé et associé à *Helianthemum guttatum*. Thèse de Doctorat, Univ Oran Es-sénia (Algérie), INRA de Clermont-Ferrand (France), 166 p.

Fortas, Z. (2004). Ecologie et production naturelle des terfez d'Algérie. Premier symposium sur les champignons hypogés du bassin méditerranéen, Rabat (Maroc), 24-25.

Fortas, Z., & Chevalier, G. (1992a). Effet des conditions de culture sur la mycorhization de *Helianthemum guttatum* par trois espèces de terfez des genres *Terfezia* et *tirmania* d'Algérie. Canadian Journal of Botany, 70: 2453-2460.

Fortas, Z., & Chevalier, G. (1992b). Caractéristiques de la germination des ascospores de *Terfezia arenaria* (Moris) Trappe, récoltés en Algérie. Cryptogamie, Mycol, 13: 21-29.

Farel, E. M., & Alexandre, G. (2012). Bovine serum albumin further enhances the effects of organic solvents on increased yield of polymerase chain reaction of GC-rich templates. Farrel and Alexandre BMC Research Notes, 5: 257.

Gardes, M., & Bruns, T. D. (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular ecology, 2: 113-118.

Gao, J., Hu, L., & Liu, J. (2001). A novel sterol from Chinese truffle *Tuber indicum*. Steroids, 66: 771-775.

Gao, J. M., Wang, C. Y., Zhang, A. L., & Liu, J. K. (2001). A new trihydroxy fatty acid from the ascomycete, Chinese truffle *Tuber indicum*. Lipids, 36(12): 1365-1370.

Gücin, F., & Dülger, B. (1997). Yenen ve antimikrobiyal aktiviteleri olan keme mantarı (*Terfezia boudieri* Chatin) üzerinde araştırmalar. Nisan-Mayis-Haziran, 23: 27-33.

Gutiérrez, A., Honroubia, M., Morte, A., & Diaz, G. (1995). Edible fungi adapted to arid and semi-arid areas. Molecular characterization and *in vitro* mycorrhization of micropropagated plantlets. Cahiers Options Mediterraneennes, 20: 139-144.

Gutierrez, A., Morte, A., & Honrubia, M. (2003). Morphological Characterization of the mycorrhiza formed by *Helianthemum almeriense* Pau With *Terfezia claveryi* Chatin and *Picoa lefebvei* (Pat.) Maire. Mycorrhiza, 13(6): 299-307.

Hall, I.R., Brown, G., & Zambonelli, A. (2008). Taming the truffle: The history, Lore and Science of the Ultimate Mushroom. Ed. Timber Press, Oregon U.S.A, 304 p.

Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic acids symposium series, 41: 95-98.

Haloubi, A. (1988). Les plantes des terrains sales et désertiques, vues par les anciens arabes ; confrontation des données historiques avec la classification des végétaux, leur état et leur répartition actuel en Proche-Orient. Thèse de doctorat, Univ. Scien. Tech. Languedoc, Montpellier, 311 p.

Hannan, M. A., Al-Dakan, A. A., Aboul-Enein, H. Y., & Al-Othaimeen, A. A. (1989). Mutagenic and antimutagenic factor (s) extracted from a desert mushroom using different solvents. Mutagenesis, 4(2): 111-114.

Hamza, A., Zouari, N., Zouari, S., Jdir, H., Zaidi, S., Gtari, M., & Neffati, M. (2013). Nutraceutical potential, antioxydant and antibacterial activities of *Terfezia boudieri* chatin, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone. Arabian Journal of Chemistry, doi: 10.1016/j.arabijc.2013.06.015.

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.

Innis, M. A., Myambo, K. B., Gelfand, D. H., & Brow, M. A. (1988). DNA sequencing with *Thermus aquaticus* DNA polymerase and direct sequencing of polymerase chain reaction-amplified DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences, 85(24): 9436-9440.

Izzo , A., Agbowo, J., & Bruns, T. D. (2005). Detection of plot-level changes in ectomycorrhizal communities across years in an old-growth mixed-conifer forest. New Phytologist, 166: 619-630.

Jamali, S., & Banihashemi, Z. (2012a). Fungi associated with ascocarps of desert truffles from different parts of Iran. J. Crop Prot, 1(1): 41-47.

Janex-Favre, M. C., Parguey-Leduc, A., & Rioussset, L. (1988). L'ascocarpe hypogé d'une terfez française (*Terfezia leptoderma* Tul., Tubérales, Discomycètes). Bulletin de la Société Mycologique de France, 104: 145-178.

Joleaud, L. (1936). Etude géologique de la région de Bône et de la Calle. Bulletin du service de la Carte géologique d'Algérie. Imp. Typo-Litho et Cie, Alger, Sér 2, 185 p.

- Kagan-Zur, V., & Akyuz, M. (2014). « Asian Mediterranean Desert Truffles. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication» Soil Biology Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 38: 159-172.
- Kagan-Zur, V., Kuang, J., Tabak, S., Taylor, F.W., & Roth-Bejerano, N. (1999). Potential verification of a host plant for the desert truffle *Terfezia pfeillii* by molecular methods. Mycological Research, 103(10): 1270-1274.
- Kagan-Zur, V., & Roth-Bejerno, N. (2008). Desert Truffles. Fungi, 1(3): 32-37.
- Kagan-zur, V., Zaretsky, M., Sitrit, Y., & Roth-Bejerano, N. (2008). *Hypogeous Pezizaceae: Physiology and Molecular Genetics*. Mycorrhiza, 23: 05-06.
- Kermani, I. (2013). Mycorhization contrôlée d'une Cistacée pérenne par les terfez en conditions gnotoxéniques et essai de transplantation sur le terrain. Thèse de Magister, Univ d'Oran, 115 p.
- Khabar, L. (2005). Mediterranean Basin: North Africa. Desert Truffles, 143 p.
- Khabar, L., Najim, L., Favre, M., & Parguey-leduc, A. (1994). L'ascospores de *Terfezia leonis* Tul. (Tubérales, Discomycètes). Cryptogamies Mycologie, 15(3): 187-206.
- Khabar, L., Najim, L., Janex-Favre, M. C., & Parguey-Leduc, A. (2001). Contribution à l'étude de la flore mycologique du Maroc. Les truffes marocaines (Discomyètes). Bulletin trimestriel de la Société mycologique de France, 117(3): 213-229.
- Kiraly, I., & Bratek, Z. (1992). *Terfezia terfezioides* a common truffle in Hungary. Micologia Vegetazione Mediterranea, 11: 42-45.
- Klamer, M., Roberts, M. S., Levine, L. H., Drake, B. G., & Garland, J. L. (2002). Influence of elevated CO₂ on the fungal community in a coastal scrub oak forest soil investigated with terminal-restriction fragment length polymorphism analysis. Applied and Environmental Microbiology, 68: 4370-4376.
- Kovács, G. M., & Trappe, J. M. (2014). Nomenclatural History and Genealogies of Desert Truffles. In Desert Truffles Springer Berlin Heidelberg, 21-37.
- 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.

- Kovács, G. M., Vagvolgyi, C., & Oberwinkler, F. (2003). In Vitro interaction of the truffle *Terfezia terfezioides* with *Robinia pseudoacacia* and *Helianthemum ovatum*. *Folia Microbiol.*, 48(3): 369-378.
- Læssøe, T., & Hansen, K. (2007). Truffle trouble: what happened to the Tuberales. *Mycological research*, 3: 1075-1099.
- Ławrynowicz, M., Markowić, M., Milenković, M., & Ivančević, B. (1997). *Terfezia Terfezioides* a new hypogeous fungus for Balkan Peninsula. *Acta Mycologica*, (32): 233-238.
- Liu, L.-N., Razaq, A., Atri, N.S., Bau, T., Belbahri, L., Chenari Bouket, A., Chen, L.-P., Deng, C., Ilyas, S., Khalid, A.N., Kitaura, M.J., Kobayashi, T., Li Y., Lorenz, A.P., Ma Y.-H., Malysheva, E., Malysheva, V., Nuytinck, J., Qiao, M., Saini, M.K., Scur, M.C., Sharma, S., Shu, L.-L., Spirin, V., Tanaka, Y., Tojo, M., Uzuhashi, S., Valério-Júnior, C., Verbeken, A., Verma, B., Wu R.-H., Xu J.-P., Yu, Z.-F., Zeng, H., Zhang, B., Banerjee, A., Beddiar, A., Bordallo, J.J., Dafri, A., Dima, B., Krisai-Greilhuber, I., Lorenzini, M., Mandal, R., Morte, A., Nath, P.S., Papp, V., Pavlík, J., Rodríguez, A., Ševčíková, H., Urban, A., Voglmayr, H. & Zapparoli, G. (2018). *Fungal Systematics and Evolution: FUSE 4. – Sydowia 70: 211-286.*
- Loizides, M., Hobart, C., Konstandinides, G., & Yiangou, Y. (2011). Desert Truffles: The mysterious jewels of antiquity. *Field Mycology*, 13(1): 17-21.
- Maire, R. (1907). Contribution à l'étude de la flore mycologique de l'Afrique du Nord. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 53: 180-215.
- Malençon, G. (1973). Champignons hypogés du Nord de l'Afrique. *Persoonia*, 7: 261-288.
- Mandaville, J. P. (2011). *Bedouin ethnobotany: plant concepts and uses in a desert pastoral world.* University of Arizona, Press, 325 p.
- Mandeel, Q. A., & Al-Laith, A. (2007). Ethnomycological aspects of the desert truffle among native Bahraini and non-Bahraini peoples of the Kingdom of Bahrain. *Journal of Ethnopharmacology*, 118-129.
- Manter, D. K., & Vivanco, J. M. (2007). Use of the primers, ITS1F and ITS4, to characterize fungal abundance and diversity in mixed-template samples by qPCR and length heterogeneity analysis. *Journal of mycological methods*, Elsevier, 71(1): 7-14.

- Mattiolo, O. (1900). Elenco dei " Fungi hypogaei" raccoltine nelle foreste di Vallombrosa negli anni 1899-1900.
- Mekawey, A. A. I. (2015). *Terfezia boudieri* as sources of antitumor and antiviral agent. World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences, 4(5): 294-315.
- Mokkadem, K., (2013). Caractéristiques pédoclimatiques et phytosociologiques des terfez de la région de sud-est de la wilaya de Becher. Mémoire de Mgister, univ d'Oran, Es-sénia, 83 p.
- Montecchi, A., & Sarasini, M. 2000. Funghi ipogei d'Europa. Ed. Associazione Micologia Bresadola, Trento. Italie, 714 p.
- Moreno, G., Diez, J., & Manjon, J. L. (2002). *Terfezia boudieri*, first records from Europe of a rare vernal hypogeous mycorrhizal fungus. Persoonia, 17(4): 637-641.
- Moreno, G., Diez, J., & Manjon, J. L. (2000). *Picoa lefebvrei* and *Tirmania nivea*, two are hypogeous fungi from Spain. Mycological Research, 104 (3): 378-381.
- Morte, A., & Honrubia, M. (1994). Método para la micorrización *in vitro* de plantas micropropagadas de *Helianthemum* con *Terfezia clavaryi*. Spain pat. appl, 9: 402- 430.
- 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.
- Morte, A., Lovisolo, C., & Schubert, A. (2000). Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense*-*Terfezia clavaryi*. Mycorrhiza, 10: 115-119.
- Morte, A., Zamora, M., Gutiérrez, A., & Honrubia, M. (2009). Désert truffle cultivation in semi-aride mediterranean areas. In : Eds. Azcon-Aguilar C. et al., Mycorrhizas : Functional processes and ecological impact, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg , Germany. 221-233.
- Murcia, M.A., Martínez-Tomé, M., Jiménez, A.M., Vera, A.M., Honrubia, M., & Parras, P. (2002). Antioxidant activity of edible fungi (truffles and mushrooms): losses during industrial processing. Journal of food protection, 65(10): 1614-1624.
- Murcia, M. A., Martínez-Tomé, M., Vera, A., Morte, A., Gutiérrez, A., Honrubia, M., & Jiménez, A. M. (2003). Effect of industrial processing on desert Truffles *Terfezia clavaryi* Chatin and *Picoa*

juniperi Vittadini: Proximate composition and fatty acids Journal of the Science of Food and Agriculture, 83: 535–541.

Navarro-Ródenas, A., Lozano-Carrillo, M. C., Pérez-Gilabert, M., & Morte, A., (2011). Effect of water stress on *in vitro* mycelium cultures of two mycorrhizal desert truffles. Mycorrhiza, 21(4): 247-253.

Ozenda, P. (1991). Flore et végétation du Sahara. SNRS, Paris, 3ème édition, 660 p.

Pegler, D. N. (2002). Useful Fungi of the World: the 'Poor man's truffles of Arabia and 'Manna of the Israelites'. Mycologist, 16(1): 8-9.

Pérez-Gilabert, M., Avila-Gonzalez, R., Garcia-Carmona, F., Morte A. (2005b). Characterization and histochemical localization of nonspecific esterase from ascocarps of desert truffle (*Terfezia clavaryi* Chatin). Journal of agricultural and food chemistry, 53(14): 5754-5759.

Pérez-Gilabert, M., Morte, A., Honrubia, M., & Garcia-Carmona, F. (2005d). Purification and Characterization of Two Enzymes Involved in the Quality of Desert Truffles: Tyrosinase and Lipoyxygenase. M.C.F.A. Annals, 4: 1-6.

Pérez-Gilabert, M., Sanchez-Felipe, I., & Garcia-Carmona, F. (2005a). Purification and partial characterization of lipoyxygenase from desert truffle (*Terfezia clavaryi* Chatin) ascocarps. Journal of agricultural and food chemistry, 53(9): 3666-3671.

Pérez-Gilabert, M., Sanchez-Felipe, I., Morte, A., & Garcia-Carmona, F. (2005c). Kinetic properties of lipoyxygenase from desert truffle (*Terfezia clavaryi* Chatin) ascocarps: Effect of inhibitors and activators. Journal of agricultural and food chemistry, 53(15): 6140-6145.

Ricard, J. M. (2003). La Truffe—Guide technique de trufficulture.[The truffle—technical guide of truffle cultivation] Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes CTIFL. Paris (in French), 33, 48, 49, 50.

Roth-Bejerano, N., Li, Y. F., & Kagan-Zur, V. (2004). Homokaryotic and heterokaryotic hyphae in *Terfezia*. Antonie van Leeuwenhoek, 85(2): 165-168.

Roth-Bejerano, N., Navarro-Ródenas, A., & Gutierrez, A. (2014). In: Types of Mycorrhizal Association. In V. Kagan-Zur et al. (eds.), Desert Truffles, Soil Biology 38, Springer Berlin Heidelberg, 69-80.

Roukbi, R. (2013). Etude écologique des terfez de la région nord-ouest de Béchar. Mémoire de Magister, Faculté des sciences et technologies, Béchar, 108 p.

Saddiq, A. A., Yousef, J. M., Mohamed, A. M., & Danial, E. N. (2015). *In vitro* and *in vivo* safety evaluation of *Terfezia claveryi* ruiting bodies extract. Romanian Biotechnological Letters, 20(5): 10885-10892.

Salterelli, R., Ceccaroli, P., Cesari, P., Barbieri, E., & Stocchi, V. (2008). Effect of storage on biochemical and microbiological parameters of edible truffle species. Food Chemistry, 109: 816.

Sawaya, W. N., Al-Shalhat, A., Al-Sogair, A., & Al-Mohammad, M. (1985). Chemical composition and nutritive value of truffles of Saudi Arabia. Journal of Food Science, 50(2): 450-453.

Shavit, E. (2008). Truffles roasting in the evening fires: pages from the history of desert truffles. Special Issue, 1(3): 18-22.

Shavit, E., & Shavit, E. (2014). The Medicinal Value of Desert Truffles. Springer Berlin Heidelberg, 323-340.

Slama, A., Fortas, Z., Boudabous, A., & Neffati, M. (2010). Cultivation of an edible desert truffle (*Terfezia boudieri* Chatin). African Journal of Microbiology Research, 2350–2356.

Slama, A., Neffati, M., Fortas, Z., Khabar, L., & Boudabous, A. (2006). Etude taxinomique de quelques ascomycota hypogés (terfeziaceae) de la Tunisie Méridionale. Bulletin de la Société Mycologique de France, 122(2-3): 187-195.

Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Molecular Biology and Evolution, 10: 512-526.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30: 2725-2729.

Trappe, J.M. (1979). The orders, families and genera of hypogeous ascomycotina (truffles and their relatives). Mycotaxon, 9: 297-340.

Trappe, J., Claridge, A.W., Arora, D., & Smit, W. A. (2008). Desert Truffles of the African Kalahari: Ecology, Ethnomycology, and Taxonomy. Economic Botany, 62(3): 521-529.

Tulasne, L.R., & Tulasne C. (1851). Fungi hypogaei, Ed. MPCCHA, Paris, 222 p.

Volpato, G., Rossi, D., & Dentoni, D. (2013). A reward for patience and suffering: ethnomycology and commodification of desert truffles among Sahrawi refugees and nomads of Western Sahara. *Economic botany*, 67(2): 147-160.

Wang, S., & Marcone, M. F. (2011). The biochemical and biological properties of the world's most expensive underground edible mushroom: Truffles. *Food Research International*, 44: 2567-2581.

White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. B., & Taylor, J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In : M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (eds) *PCR protocols - A guide to methods and applications*. Academic press, San Diego, CA, 315-322.

Zitouni, F. E. (2010). Etude des conditions mycorhiziennes entre quatre espèces de terfez et diverses plantes Cistacées et ligneuses en conditions contrôlées. Thèse de Magister, Univ d'Oran, Algérie, 264 p.

Zitouni, F. E. (2016). Etude de la diversité des truffes du désert et de leurs associations mycorhiziennes. Thèse de Doctorat, Univ d'Oran-Ahmed Ben Bella, 95 p.

أحمد بن حجر العسقلاني: الفتح الباري شرح صحيح البخاري. دار المعرفة, بيروت, لبنان 228-258.

Webographie

Site web 1: https://www.moso3a-shamela.com/2019/06/blog-post_689.html

Site web 2: <https://www.teline.fr/en/photos/cistaceae/helianthemum-ledifolium-subsp.-ledifolium#photo-2>

Site web 3: <https://www.gardeningexpress.co.uk/cistus-salviifolius-white-rock-rose>

Site web 4: https://en.wikipedia.org/wiki/Cistus_ladanifer#/media/File:Cistus_April_2017-2.jpg

Site web 5: <https://antropocene.it/es/2019/09/02/cistus-monspeliensis/>

Site web 6: <https://phytotheque.files.wordpress.com/2015/12/ciste.jpg>

Site web 7: <https://es.wikiloc.com/rutas-senderismo/cerro-de-los-frailes-mar-de-ontigola-24600486/photo-15665317>

Site web 8: <https://www.teline.fr/fr/photos/plantaginaceae/plantago-albicans#photo-3>

Site web 9: [https://sophy.tela-botanica.org/Photoep/Cis/Cobresia bellardii_11_07_2002_2.JPG](https://sophy.tela-botanica.org/Photoep/Cis/Cobresia_bellardii_11_07_2002_2.JPG)

Site web 10: <https://saharaplante.wordpress.com/helianthemum-lippii-1/>

Site web11: <http://etienne.aspard.free.fr/helianthemumsal.html>