

Introduction générale

Les terfez, désignés sous le terme général de « truffes du désert » ou « truffes des sables » sont des champignons hypogés comestibles (Ascomycètes). Ils constituent une composante majeure de la flore mycologique des écosystèmes arides et semi-arides d'Afrique du Nord, du Moyen-Orient et de la Méditerranée orientale (Loizides *et al.*, 2012). Ecologiquement, ils établissent une association symbiotique (mycorhizienne) avec les racines d'une plante hôte de la famille des Cistacées herbacées ou vivaces surtout du genre *Helianthemum*.

Les truffes du désert sont actuellement représentées par treize genres et trente-huit espèces réparties à travers les cinq continents du globe terrestre (Alsheikh, 1994 ; Bordallo *et al.*, 2013; 2015 ; Ammarellou *et al.*, 2014 ; Chevalier, 2014 ; Khabar, 2014 ; Claridge *et al.*, 2014 ; Trappe *et al.*, 2014; Kagan-Zur et Akyuz, 2014).

En Algérie, presque toutes les espèces de *Terfezia* spp., *Tirmania* spp. et *Picoa* spp. se développent dans des écosystèmes steppiques et sahariens où les conditions climatiques sont difficiles, les sols sont généralement pauvres en matières organique et minérale et la couverture végétale est peu dense. Le développement de ces champignons est étroitement lié aux conditions pédoclimatiques (caractéristiques physico-chimiques du sol, intensité et répartition annuelle des précipitations, fréquence des orages etc.) et surtout la présence de la plante hôte naturelle (Fortas, 1990 et 2009; Bradai *et al.*, 2014 et 2015a; Zitouni-Haouar *et al.*, 2014 et 2015).

Dans notre pays, cette richesse naturelle présente un intérêt à la fois écologique, alimentaire et économique. Les truffes du désert sont très recherchées et appréciées; elles sont vendues sur les marchés locaux et nationaux à des prix variables selon les années de production et le lieu de leur récolte. Elles font également l'objet d'un important commerce extérieur puisqu'elles sont exportées pendant les années de bonne production vers les pays du Moyen Orient en particulier en Arabie Saoudite et le Qatar.

Vu l'importance écologique et économique de ces champignons, certains pays s'intéressent à leur culture par des méthodes biotechnologiques en particulier, la production de plants mycorhizés par les truffes du désert, en conditions contrôlées et leurs transplantations sur le terrain en régions arides et semi-arides pour mettre en valeur ces régions, lutter contre la désertification, préserver leur plante hôte et envisager une terféculture sur le même mode que celui pratiqué en Europe pour la culture de la truffe (trufficulture) qui est bien maîtrisée grâce aux techniques de production des plants truffiers internationalement commercialisables.

Cependant, la maîtrise de la mycorhization contrôlée et son application nécessite les connaissances sur la diversité génétique des truffes du désert, leurs associations mycorhiziennes, leur ethnobiologie et les conditions environnementales affectant leur productivité naturelle. Or en Algérie, certaines connaissances sont encore limitées ou inexistantes en particulier la diversité génétique des truffes du désert. C'est dans ce cadre que nous avons orienté notre travail.

Notre travail a pour objectifs :

- l'exploration de la variabilité génétique intra- et interspécifique des truffes du désert d'Algérie ;
- l'étude de la variabilité morphologique des mycorhizes formées par ces champignons associés à différentes plantes ;
- et enfin la mise en évidence de certains aspects ethnomycologiques et écologiques de ces champignons.

Le manuscrit de la thèse comprend trois parties, avec une introduction et une conclusion générale et quelques perspectives.

- **La première partie** constitue une synthèse bibliographique des connaissances actuelles sur les truffes du désert et leurs associations mycorhiziennes.
- **La deuxième partie** annonce l'origine du matériel biologique et décrit avec précision toutes les techniques expérimentales mises en œuvre pour la réalisation de ce travail.
- **La troisième partie subdivisée en 3 chapitres**, présente les résultats et discussions :
 - **Le chapitre I** regroupe les caractéristiques écologiques et ethnomycologiques des truffes du désert dans une station à terpez et la présence de mycoparasites chez ces champignons.
 - **Le chapitre II** présente la phylogénie moléculaire et l'étude de la diversité génétique des truffes du désert d'Algérie par approche impliquant deux marqueurs phylogénétiques (Espaces intergéniques ITS de l'ADNr et le gène codant pour la β -tubuline) couramment utilisés à l'échelle intra- et interspécifique.
 - **Le chapitre III** décrit les synthèses mycorhiziennes réalisées en conditions gnotoxéniques entre plusieurs espèces de truffes du désert et diverses plantes hôtes herbacées, arbustives et arborescentes.
- Enfin, le manuscrit s'achève avec la présentation des références bibliographiques et de nombreuses annexes.

Première partie :

Synthèse Bibliographique

Partie 1

Connaissances actuelles sur les truffes du désert et leurs associations mycorhiziennes

1. Qu'est-ce que la truffe du désert ?

Les truffes du désert sont les fructifications souterraines (ascomes ou ascocarpes) de champignons hypogés mycorhiziens et comestibles appartenant aux Ascomycètes. Elles forment des mycorhizes avec leurs plantes hôtes naturelles, le plus souvent des Cistaceae annuelles et pérennes. Elles sont représentées par les genres: *Carbomyces*, *Elderia*, *Eremiomyces*, *Kalaharituber*, *Mattirolomyces*, *Mycoclelandia*, *Picoa*, *Stouffera*, *Terfezia*, *Tirmania* et *Ulurua* (en caractères gras, les genres dont toutes leurs espèces sont récoltées dans des régions désertiques) (Kovacs et Trappe, 2014).

Ces champignons ont diverses appellations vernaculaires selon les pays arabes Terfess, Torfaz, Torfes, Al-Kamae, Al-Faga'a (Chatin, 1891; Bokhary, 1987). Le nom scientifique du genre *Terfezia* dériverait de « terfes » ou « terfâs » qui est une appellation maghrébine de ces champignons, mais selon Offner (1950) il proviendrait plutôt du latin « *terrae fex* » signifiant « production de la terre » (in Alsheikh, 1994).

2. Bref rappel historique sur les truffes du désert :

Les truffes du désert sont consommées par l'homme depuis des millénaires. En effet, l'écriture cunéiforme sur des tablettes d'argile datant de quatre mille ans retrouvées dans les archives archéologiques de la région mésopotamienne attestent de leur existence sous le nom de "Kam'atu" (Awameh et Alsheikh, 1980 a; in Splivallo, 2007). Les Pharaons égyptiens (Cheops: Khufu) les considéraient comme un met royal exclusif (Alsheikh, 1994; in Shavit, 2008). Les espèces des genres *Terfezia* et *Tirmania* étaient très populaires chez les anciens romains (Pegler, 2003) qui les importaient régulièrement des colonies africaines : Libye, Lesbos et Carthage (Pradel, 1914; Loizides et al., 2012) pour les consommer non pas pour leur saveur mais pour capturer le goût et l'arôme de la nourriture et des épices dans lesquelles elles ont été cuites (in Splivallo, 2007).

La civilisation islamique témoigne également d'une haute estimation envers les truffes du désert qui faisaient partie des mets de choix des grands Califes Fatimides (Moussu et Lauriac, 2008).

3. Organisation morphologique de la truffe du désert :

L'organisation complète d'une truffe comporte un mycélium et un ascome (ou ascocarpe) constitué d'une partie centrale ou gléba, dans laquelle se trouvent l'hyménium avec les paraphyses, les asques et les spores. La gléba est protégée par une enveloppe résistante ou cortex, appelée aussi périidium.

Le champignon comprend donc :

- une partie végétative, très discrète et non comestible, qui forme les mycorhizes ;
- une partie reproductrice, la « truffe », qui est en réalité le fruit du champignon (Riousset *et al.*, 2001).

Les ascomes sont le plus souvent subglobuleux, bossués, mais peuvent présenter des formes ovoïdes, ellipsoïdes ou piriformes. Le périidium peut manifester diverses couleurs, structures ou consistances qui sont très recherchés en systématique. Ces critères peuvent varier d'une espèce à une autre ou même au sein de l'espèce en fonction de son origine géographique (**Fig. 1 a,c,e,g,i,k,m,o,q,s**).

La glèbe ou gléba est spongieuse à solide, blanche ou colorée et présente des îlots fertiles arrondis en forme de nodules séparés par des veines stériles plus pâles dessinant un réseau (**Fig. 1 a,e,k,m**) (Janex-Favre *et al.*, 1988).

Les zones fertiles de la glèbe renferment des asques qui présentent des formes largement ovales ou subglobuleuses. Chez les *Tirmania* et les *Picoa*, les asques se terminent à la partie inférieure par un pédicelle de taille variable qui les rattache au sous hyménium. Chaque asque renferme quatre, six et le plus souvent huit ascospores (**Fig. 1d**). La taille des asques est comprise entre 2500 et 5600 μm^2 (Bokhary et Parvez, 1988).

Les ascospores sont sphériques ou légèrement ovoïdes, de 9 à 55 μm de diamètre, hyalines (à l'état immature) ou colorées. Elles sont lisses ou revêtues d'ornementations sous forme d'épines, de papilles, d'alvéoles, de réticules ou de verrues. La forme, la surface et le type d'ornementation de la spore sont des critères importants pour différencier les espèces (**Fig. 1 b,d,f,h,j,l,n,p,r,t,u-y**).

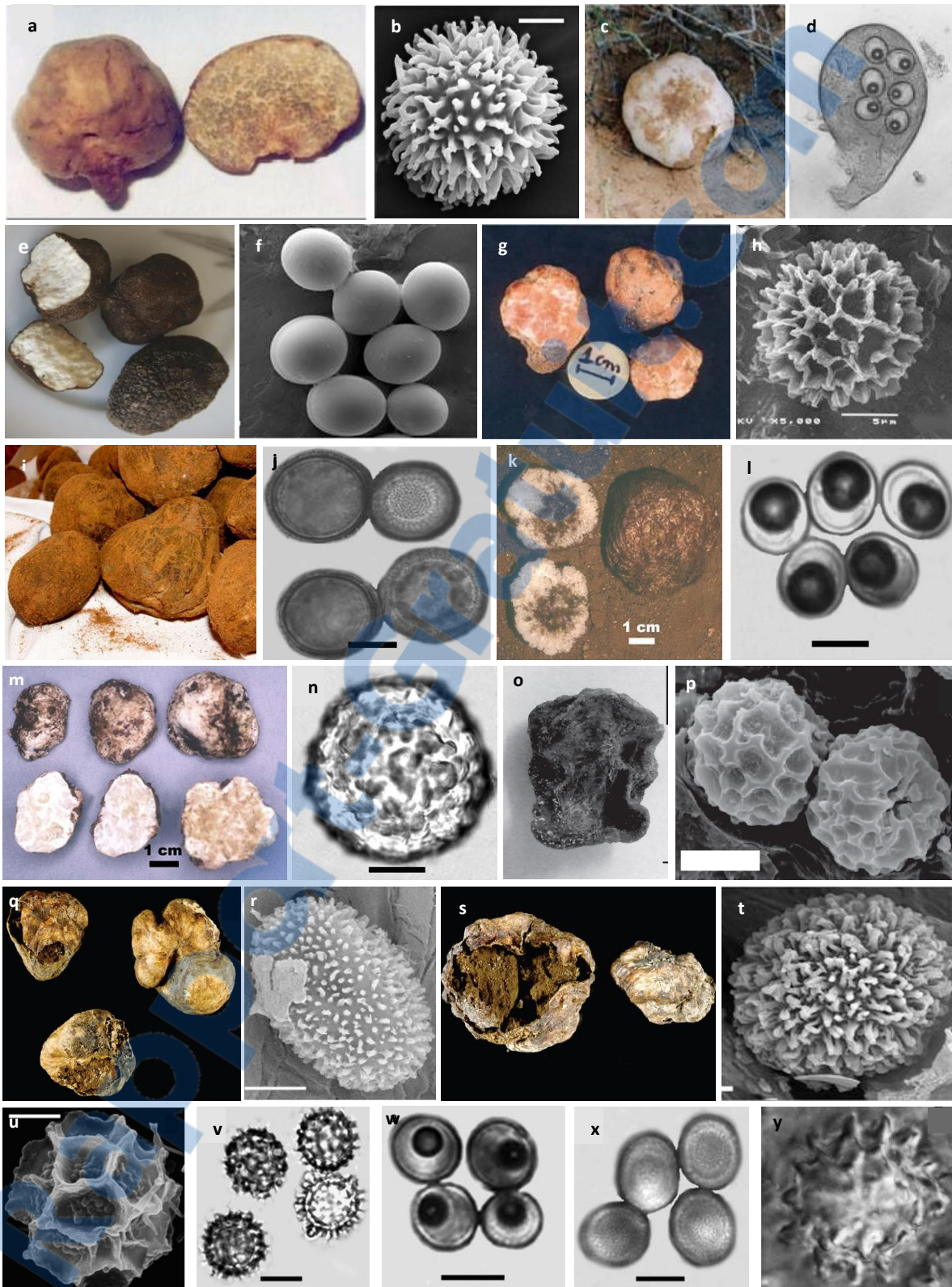


Fig. 1 : Caractéristiques morphologiques d'espèces représentant les 13 genres de truffes du désert ; **a :** Coupe transversale dans un carpophore de *Terfezia leptoderma* montrant la gléba (à droite) et le périidium (à gauche) (Khabar, 2014) ; **b :** ascospore de *T. leptoderma* (Kovacs *et al.*, 2011b) ; **c :** carpophore de *Tirmania nivea* (Khabar, 2014) ; **d :** asque de *T. nivea* à court pédicelle contenant 6 spores (Moreno *et al.*, 2000b) ; **e :** carpophores de *Picoa juniperi* montrant la gléba blanchâtre et le périidium verruqueux (Türkoğlu et Castellano, 2014) ; **f :** ascospores de *P. juniperi* (Moreno *et al.*, 2014) ; **g :** carpophores de *Delastria rosea* ; **h :** ascospore de *D. rosea* (Khabar, 2014) ; **i :** carpophores de *Kalaharituber pfeillii* (Trappe *et al.*, 2008b) ; **j :** ascospores de *K. pfeillii* (Trappe *et al.*, 2010a) ; **k :** carpophores de *Mycoclelandia arenacea* : vue de surface et coupe transversale (Trappe *et al.*, 2008a) ; **l :** ascospores de *M. arenacea* (Trappe *et al.*, 2010a) ; **m :** carpophores de *Reddellomyces westraliensis* : vue de surface et coupe transversale (Trappe *et al.*, 2008a) ; **n :** ascospore de *R. westraliensis* (Trappe *et al.*, 2010a) ; **o :** ascome de *Mattirolomyces terfezioides* ; **p :** spores de *M. terfezioides* (Kovacs *et al.*, 2009) ; **q :** ascomes de *Carbomyces longii* ; **r :** spore de *C. longii* ; **s :** ascome de *Carbomyces gilbertsonii* ; **t :** spore de *C. gilbertsonii* (Moreno *et al.*, 2012) ; **u :** spore de *Stoufferia longii* (Kovacs *et al.*, 2011a) ; **v :** spores d'*Eremiomyces echinulatus* ; **w :** spores d'*Elderia arenivaga* ; **x :** spores d'*Ulurua nonparaphysata* (Trappe *et al.*, 2010a) ; **y :** spore de *Mattirolomyces spinosus* (Kovacs *et al.*, 2011a).

4. Position taxonomique des truffes du désert :

4.1. Systématique classique :

La classification des truffes était traditionnellement basée sur les caractéristiques morphologiques, ultra structurales ou biochimiques du périidium, de la glèbe, des asques et des ascospores (Tulasne et Tulasne, 1851 ; Heim, 1934 ; Malençon, 1938 ; Gilkey, 1947 ; Korf, 1973 ; Marasas et Trappe, 1973 ; Trappe, 1971,1979 ; Alsheikh et Trappe, 1983 a,b ; Alsheikh, 1994 ; Li, 1997). Les truffes du désert étaient classées dans l'ordre des Tubérales subdivisé en quatre familles dont les Terfeziaceae qui regroupaient plusieurs espèces des genres *Terfezia*, *Tirmania*, *Picoa*, *Carbomyces* et *Delastria* (Korf, 1973). Cette classification a été remaniée par Trappe (1979), l'ordre des Tubérales a été abandonné et les familles des Terfeziaceae, des Tuberaceae et six autres familles d'espèces hypogées (Pezizaceae, Helvellaceae, Balsamiaceae, Pyronemataceae, Geneaceae, Carbomycetaceae) sont regroupées dans l'ordre des Pezizales. Certains genres de truffes du désert sont placés dans d'autres familles : *Tirmania* dans la famille des Pezizaceae, *Picoa* dans celle des Balsamiaceae et *Carbomyces* dans les Carbomycetaceae.

4.2. Révisions de la classification des truffes du désert par phylogénie moléculaire :

La classification des truffes est encore complètement remaniée grâce aux techniques d'analyses 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.

La première reconstruction phylogénétique par outils moléculaire évoquant les truffes du désert a été élaborée par O'Donnell *et al.* (1997). Des séquences de la petite sous unité (18S, SSU) et de la grande sous unités (28S, LSU) des gènes de l'ADNr ont été analysées chez des espèces de truffes et de morilles. Cette étude a mis en évidence des erreurs dans l'affiliation de plusieurs taxa et a proposé qu'il existe une transition de la forme de vie épigée vers celle hypogée qui a du évoluer plusieurs fois au sein des Pezizales. Une étroite relation entre l'espèce type de *Picoa*, *P. juniperi*, et *Otidea* basée sur une analyse préliminaire des séquences de l'ADNr 28S (non publiée) a été également suggérée dans ce travail.

Percudani *et al.* (1999) ont séquencé la région SSU de l'ADNr de neuf champignons hypogés comprenant les deux espèces *Terfezia arenaria* et *Mattirolomyces terfezioides* (comme

Terfezia terfezioides). Cette étude représente la première analyse moléculaire supportant le réassignement de *Terfezia terfezioides* à son précédent genre *Mattiolomyces* érigé par Fischer (1938) vu sa distante position par rapport à *Terfezia arenaria*. La systématique de la famille des Pezizaceae a été également amendée par ajout des genres de *Terfezia*, *Mattiolomyces*, *Cazia* et *Pachyphloeus* anciennement classés parmi les Terfeziaceae. *Terfezia arenaria* s'est présentée comme une espèce sœur de *Cazia flexiascus*.

Norman et Egger (1999) ont analysé les séquences SSU de l'ADNr des mêmes espèces de truffes du désert (*T. arenaria* et *M. terfezioides*) étudiées par Percudani *et al.* (1999) durant la même année. Dans leur analyse *T. arenaria* s'est également positionnée près de *Cazia* et *M. terfezioides* était très distante de *T. arenaria* supportant une deuxième fois son affiliation au genre *Mattiolomyces*.

Hansen *et al.* (2001) ont étudié les relations phylogénétiques existant entre les membres d'un échantillonnage consistant de Pezizaceae épigés et hypogés comprenant les deux espèces de *Tirmania*, *T. pinoyi* et *T. nivea* comme uniques représentantes des truffes du désert. La réévaluation des caractères morphologiques utilisés dans la systématique des Pezizaceae traditionnellement caractérisée par des asques à réaction amyloïde a révélé que cette dernière est un caractère ancestral qui a été perdu dans certaines lignées, tels que celles qui incluent *Marcellina* et *Cazia*. Les analyses phylogénétiques moléculaires de la région LSU de l'ADNr ont positionné les deux espèces de *Tirmania* dans la même lignée de *Cazia flexiascus* et de certaines espèces de *Peziza*.

La première étude moléculaire mettant en évidence les relations phylogénétiques intra- et interspécifique des truffes du désert a été effectuée par Diez *et al.* (2002). Les séquences ITS de l'ADNr de plusieurs spécimens de *Terfezia*, *Tirmania* et *Mattiolomyces terfezioides* ont été analysées par RFLP. Ces auteurs ont souligné une étroite relation génétique entre les deux genres *Terfezia* et *Tirmania* et ont conclu qu'ils résultent d'une seule lignée de mycètes pézizaléens, qui ont développé un mode de vie hypogé comme moyen de protection contre la chaleur et la sécheresse dans des écosystèmes arides et semi-arides. Selon ces mêmes auteurs l'évolution des corps fructifères épigés vers le mode hypogé semble se produire dans plusieurs lignées de champignons ectomycorhiziens. Cette étude a également confirmée la séparation de *Mattiolomyces terfezioides* du genre *Terfezia*.

Hansen *et al.* (2005) ont tenté de construire une phylogénie robuste des Pezizaceae à travers une étude multi-locus basée sur des analyses combinées de trois gènes, LSU de l'ADNr, l'ARN polymérase II (RPB2) et la β -tubuline. Cette étude a confirmé l'origine monophylétique

des Pezizaceae et plus spécifiquement des *Terfezia* et *Tirmania* qui se sont positionnés dans la lignée des *Peziza depressa-Ruhlandiella*. Le genre *Terfezia* s'est montré très proche du *Peziza*.

L'analyse des séquences LSU et ITS de l'ADNr de spécimens de *Terfezia pfeilii* et *Choiromyces echinulatus* avec d'autres séquences provenant d'espèces de *Terfezia*, *Tirmania*, *Mattirolomyces*, *Tuber*, et *Choiromyces* ont révélé l'éloignement total de ces deux espèces de leurs anciens genres pour être positionnées dans de nouveaux taxons *Kalaharituber pfeilii* et *Eremiomyces echinulatus* (Ferdman *et al.*, 2005). Ces deux espèces se sont montrées plus affiliées à la famille des Pezizaceae que des Tubercaceae.

Laessle et Hansen (2007) ont présenté une étude globale des genres anciennement assignés aux tubérales et qui font actuellement partie des pézizales. Des séquences LSU de l'ADNr appartenant à ≈ 200 espèces épigées et hypogées ont été analysées. Cette étude a confirmé avec certitude l'affiliation des deux genres *Kalaharituber* et *Eremiomyces* à la famille des Pezizaceae qui a été délimitée aux taxons suivants : *Amylascus*, *Cazia*, *Eremiomyces*, *Hydnobolites*, *Hydnotryopsis*, *Kalaharituber*, *Mattirolomyces*, *Mycoclelandia*, *Pachyphloeus*, *Peziza* (*P. whitei* et *P. ellipsospora*), *Ruhlandiella*, *Sphaerozone*, *Terfezia* et *Tirmania*.

Des études phylogénétiques moléculaires et morphologiques réalisées par Kovacs *et al.* (2008) sur des spécimens de *Terfezia gigantea* récoltés au Japon et au Nord de l'Amérique ont conduit à l'excision de cette espèce du genre *Terfezia* et de la famille des Pezizaceae. Le nouveau taxon *Imaia* et son unique espèce *I. gigantea* se sont positionnés dans la famille des Morchellacées.

Sbissi *et al.* (2010) ont étudié l'affiliation phylogénétique de *Picoa juniperi* et de *P. lefebvrei* à travers le séquençage des régions ITS et LSU de leurs ADNr. Cette étude a permis de montrer avec certitude l'affiliation du genre *Picoa* à la famille des Pyronemataceae et de confirmer qu'il est très apparenté à *Geopora* sp. Les analyses phylogénétiques ont également renforcé l'emplacement de *Leucangium carthusianum* (Syn. *Picoa carthusiana*) dans la famille des Morchellaceae conformément aux travaux de Li (1997) basés sur des études ultrastructurales des ascospores et des hyphes.

Trappe *et al.* (2010 a,b) ont réalisé une étude comparative entre les truffes du désert de l'Australie et celles du désert du Kalahari (Afrique du Sud). Trois locus correspondants aux gènes de SSU, LSU et aux séquences intergéniques ITS de l'ADNr ont été amplifiés et séquencés. Toutes les espèces de truffes du désert analysées se sont affiliées à la famille des Pezizaceae et un nouveau genre et espèce *Ulurua nonparaphysata* ont vu le jour. *Elderia arenivaga* s'est avérée proche des *Mattirolomyces*, au sein de la lignée des *Peziza*. Cette étude

a révélé pour la première fois que le genre *Mattirolomyces* n'était pas monotypique puisque ces deux espèces de truffes du désert se sont affiliées à ce genre dont une, *M. mulpu*, est décrite comme une nouvelle espèce d'Australie tandis que l'autre, *M. austroafricanus*, est une nouvelle combinaison pour *Terfezia austroafricana*.

Une révision par phylogénie moléculaire des spécimens de *Terfezia* et de *Mattirolomyces tiffanyae* récoltés du Nord de l'Amérique a été effectuée par Kovacs *et al.* (2011a). *Terfezia spinosa* et *T. mexicana* se sont montrées très proches du genre *Mattirolomyces* raison pour laquelle elles leur ont été attribuées. *Terfezia longii* ainsi que *Mattirolomyces tiffanyae* ont formé des clades très éloignés des taxons en cause et ils se retrouvent ainsi dans de nouveaux genres *Stouffera* et *Temperantia* respectivement (**Fig. 2**). Cette étude a finalement engendré la disparition du genre *Terfezia* de la flore mycologique américaine.

Selon Kovacs et Trappe (2014), les espèces provenant uniquement de la région méditerranéenne et du Moyen-Orient sont confirmées appartenant au genre *Terfezia* et l'assignement générique des espèces reportées comme des *Terfezia* à partir de l'Afrique du Sud ou d'Australie doit être révisé.

Une nouvelle espèce de truffes du désert *Terfezia alsheikhii* a été érigée par Kovacs *et al.* (2011b) basé sur des analyses morphologiques et phylogénétiques des séquences ITS et LSU de l'ADNr provenant de spécimens de terfez d'Espagne. Ces auteurs ont également suggéré que les lignées du complexe d'espèces de *T. olbiensis* représentent plusieurs espèces morphologiques décrites antérieurement mais considérées comme synonymes.

La première étude moléculaire sur la truffe du désert du Mexique, genre *Carbomyces*, a été effectuée récemment par Moreno *et al.* (2012). Etant donné l'état des spécimens des trois espèces de ce genre, ces auteurs n'ont pu séquencer que les régions ITS-LSU de l'ADNr provenant de *C. emergens*. Les résultats phylogénétiques ont positionné cette espèce dans le clade de *Kalaharituber-Iodowynnea* tandis que le BLAST a montré une éventuelle affiliation au genre *Terfezia*.

Plus récemment, sept nouvelles espèces de truffes du désert ont été découvertes au Sud de l'Europe après des analyses morphologiques et phylogénétiques des séquences ITS de l'ADNr provenant de plusieurs spécimens de *Terfezia* spp. Elles sont nommées: *Terfezia albida*, *T. eliocrocae*, *T. extremadurensis*, *T. pini*, *T. pseudoleptoderma*, *T. grisea* et *T. cistophila* (Bordallo *et al.*, 2013 ; 2015).

Le clade des Pezizomycètes du sous phylum des Pezizomycotina en compte plusieurs familles donnant naissance aux différentes espèces de truffes (Laessle et Hansen, 2007). Les

truffes du désert des genres *Terfezia* et *Tirmania* appartiennent désormais à la famille des Pezizaceae tandis que le genre *Picoa* siège actuellement dans la famille des Pyronemataceae (Fig. 3).

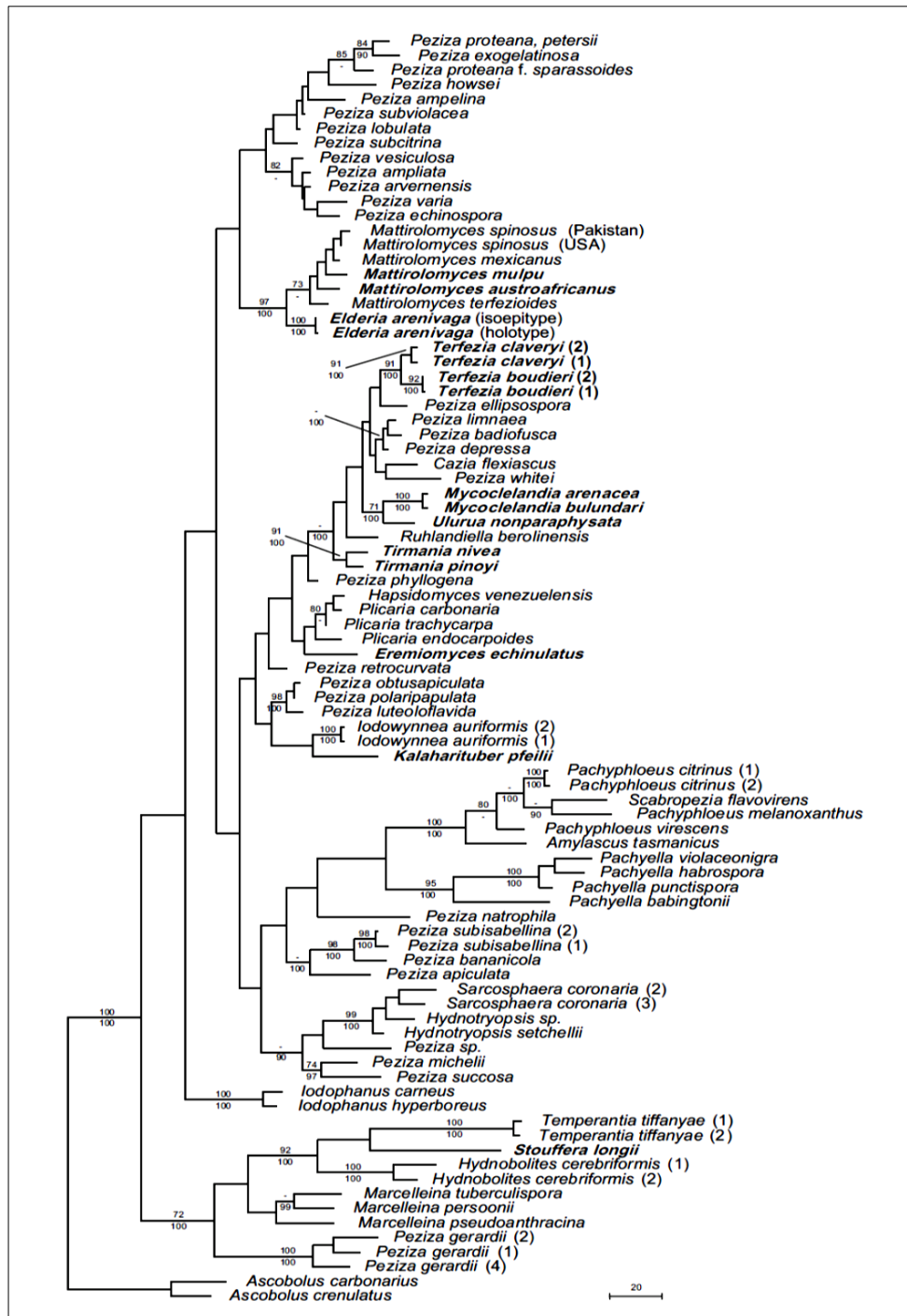


Fig. 2: Une des 375 arbres phylogénétiques les plus parcimonieux construits à partir des données de séquences partielles de LSU montrant la position des genres de truffes du désert au sein des Pezizaceae. *Ascobolus crenulatus* a servi comme un taxon hors groupe. Les truffes du désert sont indiquées en caractère gras. Les valeurs de bootstrap parcimonie (PB) sont indiquées au-dessus des branches, tandis que les valeurs de probabilités postérieures bayésiennes (PP) sont montrées en dessous. Les valeurs de bootstrap inférieures à 70% et celles de PP inférieures à 95% ne sont pas représentées (Kovacs et Trappe, 2014 modifié à partir de Kovacs *et al.*, 2011a).

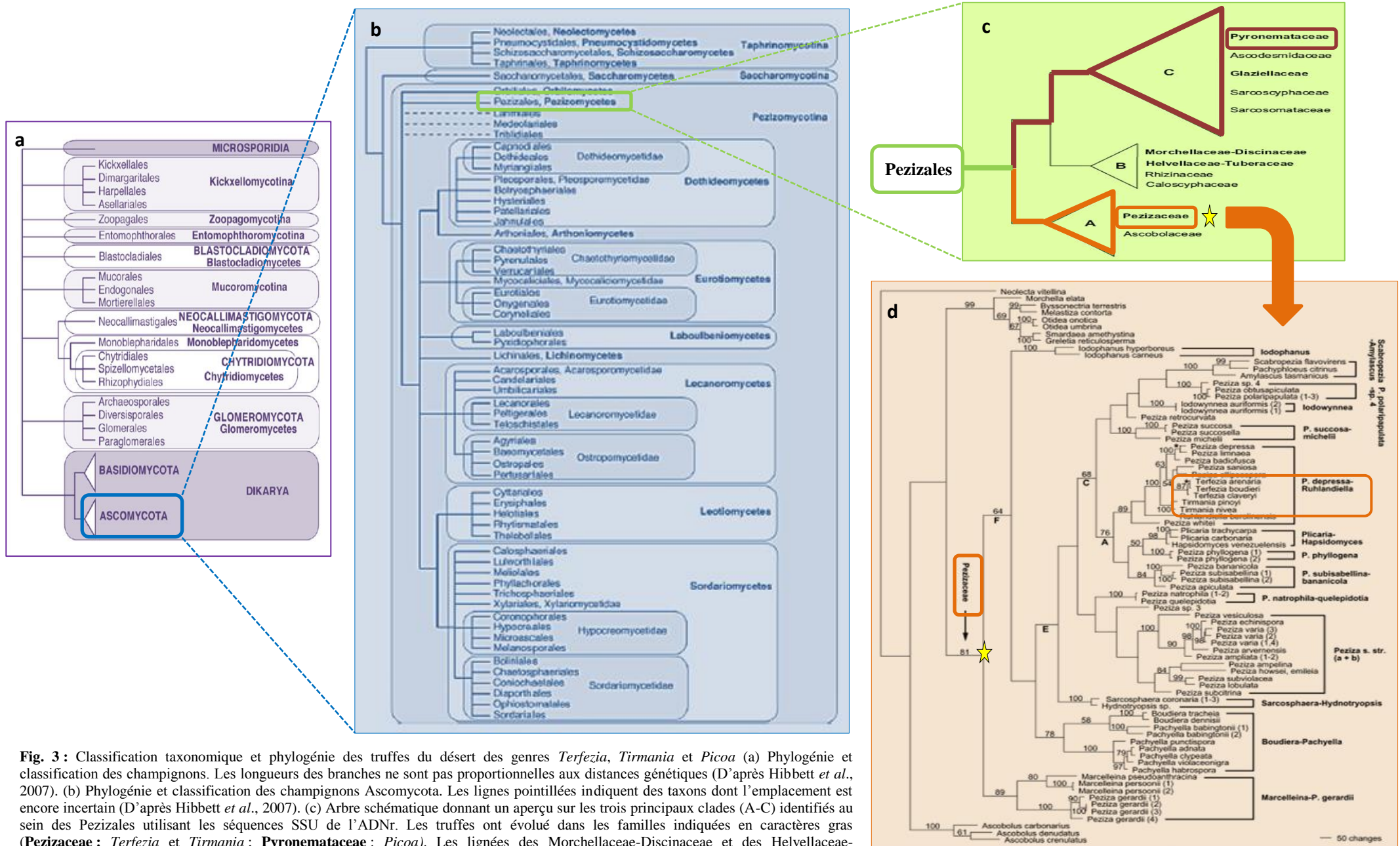


Fig. 3 : Classification taxonomique et phylogénie des truffes du désert des genres *Terfezia*, *Tirmania* et *Picoa* (a) Phylogénie et classification des champignons. Les longueurs des branches ne sont pas proportionnelles aux distances génétiques (D'après Hibbett *et al.*, 2007). (b) Phylogénie et classification des champignons Ascomycota. Les lignes pointillées indiquent des taxons dont l'emplacement est encore incertain (D'après Hibbett *et al.*, 2007). (c) Arbre schématique donnant un aperçu sur les trois principaux clades (A-C) identifiés au sein des Pezizales utilisant les séquences SSU de l'ADNr. Les truffes ont évolué dans les familles indiquées en caractères gras (**Pezizaceae** : *Terfezia* et *Tirmania* ; **Pyronemataceae** : *Picoa*). Les lignées des Morchellaceae-Discinaceae et des Helvellaceae-Tuberaceae sont selon O'Donnell *et al.* (1997) (*in* Laessle et Hansen, 2007). (d) Phylogénie des Pezizaceae construite à partir de l'analyse combinée des séquences LSU de l'ADNr, RPB2, et β -tubuline, montrant l'un des six arbres les plus parcimonieux. Les numéros sur les branches sont les fréquences bootstrap (> 50%) (Hansen *et al.*, 2005).

5. Ecologie des truffes du désert :

La vie des truffes peut être influencée par plusieurs facteurs biotiques (hôte végétal; champignons, bactéries et autres microorganismes; mésofaune "lombrics") et abiotiques (composition physicochimique des sols; climat "pluviométrie et température") qui favorisent ou inhibent la production d'ascocarpes (Murat, 2004) (**Fig. 4**).

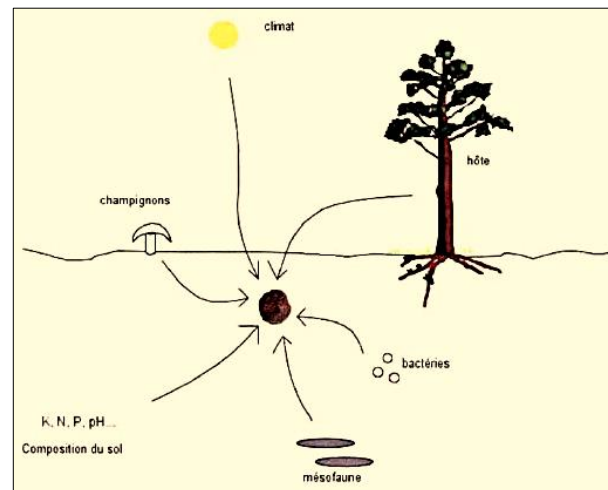


Fig. 4 : Facteurs abiotiques et biotiques pouvant influencer la vie des truffes (Murat, 2004)

5.1. Facteurs édaphiques des truffes du désert :

Les truffes du désert semblent s'adapter à une large gamme de pH, de texture du sol et de conditions édaphiques (Bonifacio et Morte, 2014). Elles manifestent des préférences vis-à-vis des sols sablonneux d'où leurs nom « truffes du sable » mais leur présence est aussi abondante dans les sols sablo-limoneux. Certaines espèces affectionnent des sols limoneux, argileux, sablo-argileux ou encore argileux-limoneux (Kiraly et Bratek, 1992; Alsheikh 1994 ; Taylor *et al.*, 1995; Kagan-Zur *et al.*, 1999 ; Moreno *et al.*, 2000b ; Kovacs *et al.*, 2001, 2003, 2007; Diez *et al.*, 2002 ; Bawadikji, 2004 ; Slama *et al.*, 2006 ; Trappe *et al.*, 2008a et b ; Slama, 2010 ; Kovacs *et al.*, 2011b ; Bawadekji *et al.*, 2012; Glejdura et Kunca, 2012 ; Jamali et Banihashemi, 2012 ; Bordallo *et al.*, 2013 ; Bradai *et al.*, 2013 ; Sbissi, 2013 ; Bordallo et Rodriguez, 2014 ; Chevalier, 2014; *in* Honrubia *et al.*, 2014 ; Bordallo *et al.*, 2015) (**Fig. 5**).

Morte *et al.* (2009) ont signalé que la distribution de plusieurs espèces de *Terfezia* en Espagne dépend du pH du sol. En effet, *T. claveryi* et *T. boudieri* sont abondantes dans les sols calcaires alors que *T. arenaria* et *T. leptoderma* préfèrent des environnements acides. Cette même constatation peut être extrapolée à la majorité des espèces de truffes du désert dont certaines sont qualifiées d'acidophiles (*Kalaharituber pfeillii* ; *Terfezia extremadurensis*,

T. alsheikhii, *T. arenaria*, *T. leptoderma*, *T. cistophila*, *Delastria rosea*) tandis que d'autres s'avèrent basophiles-calcoïques (*T. eliocrocae*, *T. albida*, *T. grisea*, *T. claveryi*, *T. boudieri*, *Tirmania nivea*, *T. pinoyi*, *Picoa lefebvrei*, *Mattiolomyces terfezioides*) (Janex-Favre *et al.*, 1988 ; Taylor *et al.*, 1995; Kagan-Zur *et al.*, 1999 ; Khabar *et al.*, 2001 ; Diez *et al.*, 2002 ; Moreno *et al.*, 2000b ; Moreno *et al.*, 2002 ; Bratek *et al.*, 2004 ; Bordallo *et al.*, 2013 ; Sbissi, 2013 ; Bordallo et Rodriguez, 2014 ; Bradai *et al.*, 2014 ; Chevalier, 2014; Khabar, 2014 ; Bordallo *et al.*, 2015).

Du point de vue fertilité, les sols à terfez sont le plus souvent pauvres en matière organique et en éléments minéraux (Fortas et Chevalier, 1992 a ; Bawadikji, 2004 ; Slama, 2010 ; Bawadekji *et al.*, 2012 ; Jamali et Banihashemi, 2012 ; Bradai *et al.*, 2013). Dans la Province de Fars (Iran), le genre *Tirmania* est plus répandu dans les sols à forte teneur en CaCO₃ que *T. claveryi*, *P. lefebvrei* et *P. juniperi* (Jamali et Banihashemi, 2012).

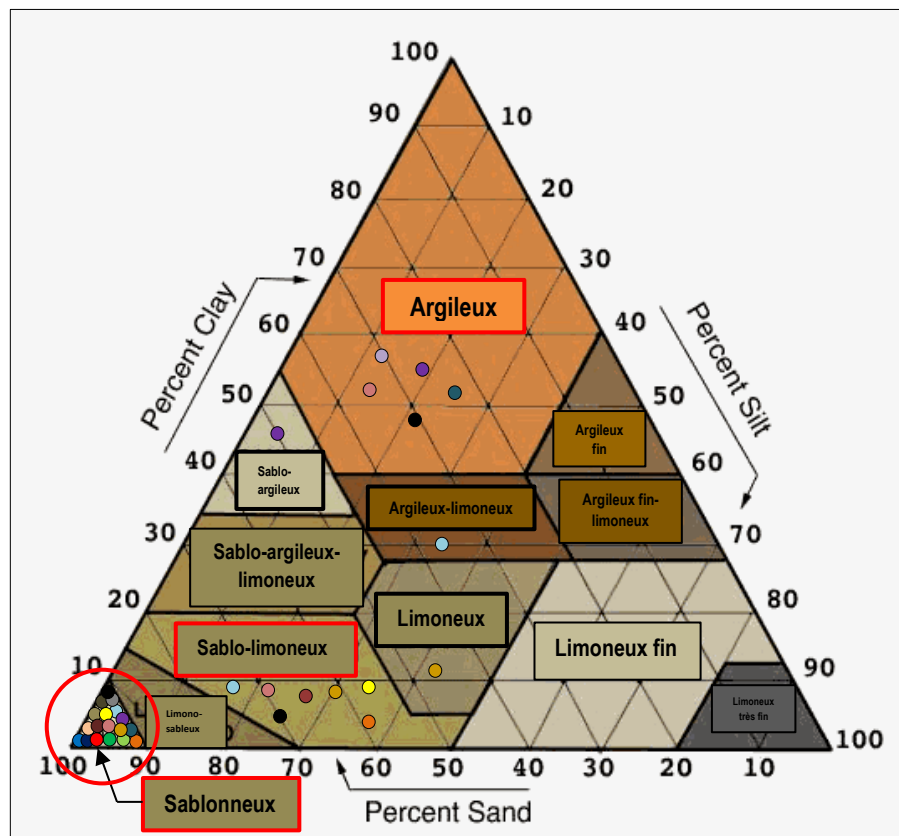


Fig. 5 : Texture du sol de 20 espèces de truffes du désert. La texture sablonneuse prédomine (cercle rouge) (d'après Kiraly et Bratek, 1992; Taylor *et al.*, 1995; Kagan-Zur *et al.*, 1999 ; Moreno *et al.*, 2000b ; Kovacs *et al.*, 2001, 2003, 2007; Diez *et al.*, 2002 ; Bawadikji, 2004 ; Trappe *et al.*, 2008a et b ; Slama, 2010 ; Kovacs *et al.*, 2011b ; Sbissi *et al.*, 2011 ; Bawadekji *et al.*, 2012; Bordallo *et al.*, 2013 ; Bradai *et al.*, 2013 ; Sbissi, 2013 ; Bordallo et Rodriguez, 2014 ; Chevalier, 2014; in Honrubia *et al.*, 2014 ; Bordallo *et al.*, 2015).

- | | | | |
|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| ● <i>Terfezia arenaria</i> | ● <i>Terfezia olbiensis</i> | ● <i>Picoa juniperi</i> | ● <i>Elderia arenivaga</i> |
| ● <i>Terfezia boudieri</i> | ● <i>Terfezia canariensis</i> | ● <i>Picoa lefebvrei</i> | ● <i>Mattiolomyces mulpu</i> |
| ● <i>Terfezia claveryi</i> | ● <i>Terfezia alsheikhii</i> | ● <i>Mattiolomyces terfezioides</i> | ● <i>Mycoclelandia bulundari</i> |
| ● <i>Terfezia grisea</i> | ● <i>Tirmania nivea</i> | ● <i>Kalaharituber pfeilii</i> | ● <i>Ulurua nonparaphysata</i> |
| ● <i>Terfezia leptoderma</i> | ● <i>Tirmania pinoyi</i> | ● <i>Eremiomyces echinulatus</i> | ● <i>Stouffera longii</i> |

5.2. Facteurs climatiques des truffes du désert:

Le climat est considéré comme un facteur primordial pour le développement des truffes du désert agissant non seulement sur la croissance et la fructification du champignon, mais aussi sur la distribution des plantes hôtes symbiotiques (Chevalier, 2014).

La naissance et la production des ascomes des terfez dépendent fortement de l'intensité et la distribution saisonnière des précipitations (Awameh et Alsheikh, 1980 a ; Alsheikh et Trappe, 1983 a ; Kagan-Zur, 1998 ; Fortas, 2004).

En règle générale, la pluviométrie annuelle est de 50 à 380 mm dans les régions productrices de truffes du désert (Morte *et al.*, 2008). En Afrique du Nord., les terfez exigent des automnes pluvieux et des printemps humides et orageux. Des précipitations annuelles de l'ordre de 70 à 120 mm sont suffisantes en Egypte pour la fructification des terfez (El-Kholi et Ali, 1991) tandis qu'au Maroc elles doivent être de 240 mm avant le mois de mars (Khabar, 2002). Au Nord du Sahara algérien la production des truffes du désert est très affectée par les pluies automnales d'Octobre - Décembre ; une pluviométrie annuelle de 124.14 mm accompagnée de pluies automnales de 49.2 mm donne une meilleure production (Bradai *et al.*, 2014). Au Sud de l'Afrique (Désert du Kalahari), les truffes exigent une pluviométrie annuelle moyenne de 156 à 362 mm; les plus fortes précipitations ont lieu de Novembre à Avril, avec une moyenne de 11 à 75 mm (*in* Trappe *et al.*, 2008 b).

Dans les pays d'Europe du Sud, la saison à terfez produit de bons rendements à une pluviométrie de 100 à 350 mm. La distribution, la quantité et la durée des précipitations semblent déterminantes. Les premières pluies doivent être avant le début du mois d'Octobre (Morte *et al.*, 2008).

La plupart des régions de la Méditerranée asiatique productrices de truffes du désert présentent des caractéristiques climatiques en commun. Elles sont marquées par un climat continental semi-aride à aride avec des étés secs (absence de pluies de juin à septembre) et des hivers humides. Les précipitations annuelles sont comprises entre 300 et 600 mm dans les régions semi-arides relativement humides et 50 à 250 mm dans les régions arides (Kagan-Zur et Akyuz, 2014).

La productivité des terfez peut être perturbé par une pluviométrie tardive qui ralentie la production (Pegler, 2002) ; des précipitations mal réparties ou excessives engendrent la pourriture des spores (Khabar *et al.*, 2001; Feeney, 2003).

5.3. Phytosymbiotes naturels des terpez :

Le cycle vital des truffes du désert ne peut être accompli sans la présence de plantes hôtes compatibles qui représentent le siège d'approvisionnement en carbone des terpez après l'établissement d'une symbiose mycorhizienne entre les deux partenaires.

Les hélianthèmes (Cistaceae) annuels ou pérennes représentent les plantes hôtes les plus communément citées dans les gîtes des truffes du désert en particulier *H. guttatum*, *H. salicifolium*, *H. ledifolium*, *H. lippii*, *H. hirtum* et *H. almeriense* (Maire, 1907 ; Fortas, 1990 ; Hussain et Al-Ruqaie, 1999 ; Khabar *et al.*, 2001 ; Diez *et al.*, 2002 ; Moreno *et al.*, 2002 ; Gutierrez *et al.*, 2003 ; Slama *et al.*, 2006 ; Sbissi *et al.*, 2010 ; 2011 ; Akyuz *et al.*, 2012 ; Jamali et Banihashemi, 2012 ; Bordallo *et al.*, 2013 ; Bradai *et al.*, 2014 ; Kagan-Zur et Akyuz, 2014)

D'autres espèces de Cistaceae herbacées ou arbustives particulièrement *Cistus* (*C. albidus*, *C. creticus*, *C. ladanifer*, *C. monspeliensis*, *C. salviifolius*), *Fumana* (*F. procumbens*), *Halimium* (*H. halimium*) et *Xolantha* peuvent constituer des plantes hôtes potentielles de plusieurs espèces de truffes du désert (Alsheikh, 1994 ; Diez *et al.*, 2002 ; in Moreno *et al.*, 2002 ; Bordallo *et al.*, 2013 ; 2015 ; Chevalier, 2014). Les pins (*Pinus halepensis*, *P. canariensis*, *P. radiata*, *P. pinaster var. atlantica*) et les chênes (*Quercus ilex*, *Q. robur*, *Q. coccifera*) constituent des phytosymbiotes très appréciées par certaines espèces de terpez (Janex-Favre *et al.*, 1988 ; Alsheikh, 1994 ; Khabar *et al.*, 2001 ; Diez *et al.*, 2002 ; Chevalier, 2014). Par ailleurs, la récolte des truffes du désert sous d'autres espèces végétales n'est pas à exclure (**Tableau 1**).

5.4. Interactions biotiques avec la mycorrhizosphère :

La mycorrhizosphère représente des sites privilégiés de multiplication des microorganismes étant donné sa richesse en nutriments exsudés par les racines et le mycélium (sucres, acides aminés, acides gras, facteurs de croissance...) (Bonfante et Anca, 2009 ; Fortin *et al.*, 2016). La mycorrhizosphère des truffes du désert constitue une niche écologique assez riche en microflore tellurique qui semble jouer un rôle crucial dans la dynamique des processus de mycorrhization, de nutrition et de protection des ascomes au cours de leur développement.

Plusieurs travaux ont signalé que l'ascome de la truffe du désert sélectionne une microflore favorable à son développement. Rougieux (1963) a montré que la microflore tellurique totale est plus abondante dans la rhizosphère des terpez que dans celle éloignée de ce champignon.

De nombreux microorganismes sont fortement stimulés dans la zone au contact des terfez tels que des fixateurs d'azote libres (*Azotobacter*), des dénitrificateurs, des ammonifiants, des amylolytiques, des cellulotiques aérobies et anaérobies, des actinobactéries (*Streptomyces* sp) ainsi que plusieurs autres bactéries (*Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, *Micrococcus* sp, *Streptococcus* sp, *Proteus* sp, *Serratia* sp). Les genres fongiques les plus prédominants sont *Penicillium* (*P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. griseofulvum*, *P. brevicompactum*, *P. crustosum*, *P. oxalicum*), *Aspergillus* (*A. carbonarius*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. terreus*) et *Fusarium* (*F. oxysporum*) (Rougieux, 1963 ; Bokhary et Parvez, 1992 ; Jamali et Banihashemi, 2012 ; Dib-Bellahouel et Fortas, 2014 ; Goudjal *et al.*, 2015).

L'analyse de la flore bactérienne associée aux ascomes de *Kalaharituber pfeilii*, dans le but de déterminer leur potentiel comme « mycorrhizal helper bacteria MHB », a permis à Adeleke et Dames (2014) d'identifier par phylogénie moléculaire des isolats appartenant aux protéobactéries, firmicutes et actinobactéries dont la majorité sont des MHB. Ces mêmes auteurs ont montré que *Paenibacillus* sp., *Bacillus* sp. et *Rhizobium* sp. stimulent *in vitro* la croissance mycélienne de *K. pfeilii* et plusieurs isolats de bactéries sont capables de produire l'acide indolacétique et de solubiliser *in vitro* le phosphate.

5.5. Insectes, ennemis des truffes du désert :

La faune des sols truffiers est un véritable mutualiste de la truffe, on y observe toutes sortes d'insectes (coléoptères, mouches truffigène) et des annélides (ver de terre qui est le « seigneur des anneaux » de la truffière). Tout ce petit monde participe à des degrés divers à l'aération du sol, à l'infiltration des eaux au maintien d'une humidité minimale à la survie de la truffe en période de sécheresse (Pradel, 1914).

Le coléoptère de la truffe du genre *Tuber*, *Liodes cinnamomea* et la mouche de la truffe *Suillia gigantea* comptent aujourd'hui parmi les principaux problèmes de la trufficulture (Martin-Santafe *et al.*, 2014). Ces insectes ont un sens olfactif très développé ; elles sont très fréquentes dans les sols truffiers soit au stade de larve ou au stade adulte (**Fig. 6**). Une truffe de 50 g peut être complètement consommée en une journée par un liodés. Ce dernier a les mêmes effets (Trappe *et al.*, 2008 a) sur les truffes du désert notamment *Picoa juniperi* (Vittadini, 1831 in Laboulbène, 1864).

Une étude réalisée sur un ascocarpe en décomposition de *Terfezia boudieri* de Tunisie a révélé un développement massif d'une mouche *Suillia gigantea* connue sous le nom de « mouche de la truffe ». Cet insecte se développe en phase larvaire à l'intérieur du corps

fructifère où il achève sa croissance puis confectionne une logette dans laquelle il va se nymphoser. Il peut aussi attaquer les terfez sains et entiers (Slama, 2010).

Ces ennemis redoutables des truffes peuvent constituer en effet de potentiels vecteurs de propagation des spores (Pradel, 1914 ; Pacioni *et al.*, 1991).



Fig. 6: Insectes déprédateurs des truffes. **a :** Fructification de *T. melanosporum* perforée par des adultes de *Liodes cinnamomea*; **b :** jeune larve de *L. cinnamomea* (in Di Santo, 2012). **c :** larves de *Suillia gigantea* dans une truffe de Bourgogne (Coutin, 1989).

6. Répartition géographique des truffes du désert :

6.1. Distribution géographique mondiale:

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).

Le pourtour du Bassin méditerranéen et le Proche et Moyen-Orient s'avèrent l'habitat préférentiel des truffes du désert. Le continent nord-américain contient cinq espèces de truffes du désert appartenant à trois genres dont deux sont endémiques (*Carbomyces*, *Stouffera*) et le troisième (*Mattirolomyces*) se rencontre dans des forêts mésiques et des habitats semi-arides et arides (Trappe et Weber, 2001; Kovacs *et al.*, 2011a; Moreno *et al.*, 2012; Trappe *et al.*, 2014). *Stouffera longii* et *Mattirolomyces spinosus* ont été érigées par Kovacs *et al.* (2011a) pour remplacer deux espèces du genre *Terfezia* (**Tableau 1**).

En Europe, les truffes du désert sont représentées par 20 espèces (Alsheikh, 1994; in Chevalier, 2014; Bordallo *et al.*, 2015) appartenant principalement au genre *Terfezia* dont huit espèces découvertes récemment par phylogénie moléculaire (*T. alsheikhii*, *T. albida*, *T. cistophila*, *T. eliocrocae*, *T. extremadurensis*, *T. grisea*, *T. pini*, *T. pseudoleptoderma*) (Kovacs *et al.*, 2011b; Bordallo *et al.*, 2013; Bordallo et Rodriguez, 2014; Bordallo *et al.*, 2015). Le genre *Tirmania* très rare en Europe est représenté par une seule espèce *T. nivea* (Moreno *et al.*, 2000b) et le genre *Picoa* par ses deux espèces (Moreno *et al.*, 2000b; in

Chevalier, 2014). *Mattirolomyces terfezioides* (ex. *Terfezia terfezioides*) n'est pas considérée comme une véritable truffe du désert européenne vu qu'elle pousse en zones à climat tempéré (Chevalier, 2014) (**Tableau 1**). Il est important de souligner que la Péninsule Ibérique constitue un lien entre les continents Africain et Européen, ce qui a pu permettre aux champignons des régions semi-arides et désertiques d'Afrique du Nord de migrer vers l'Europe (Moreno *et al.*, 2000b).

Le continent africain contient douze espèces de truffes du désert dont neuf sont présentes en Afrique du Nord et trois dans le Désert du Kalahari. Elles appartiennent aux genres *Terfezia*, *Tirmania*, *Picoa*, *Delastria*, *Kalaharituber*, *Eremiomyces* et *Mattirolomyces* (Alsheikh, 1994; Trappe *et al.*, 2008b ; Fortas, 2009 ; Slama, 2010 ; Sbissi, 2013 ; *in* Moustafa et Abdel-Azeem, 2011 ; Khabar, 2014 ; Zitouni-Haouar *et al.*, 2015). L'Algérie, la Tunisie et le Maroc constituent des biotopes très propices à la prolifération de ces champignons hypogés qui sont récoltés abondamment dans la région saharienne (Chatin, 1891) (**Tableau 1**).

Le continent asiatique compte quatre genres de terfez, *Terfezia*, *Tirmania*, *Picoa* et *Mattirolomyces* répartis en Turquie, Iran et la Péninsule arabique (Alsheikh, 1994; *in* Ammarellou *et al.* 2014; Kagan-Zur et Akyuz, 2014) (**Tableau 1**).

Le Désert de l'outback australien renferme cinq genres et six espèces de truffes du désert (Trappe *et al.*, 2008a; 2010a). L'espèce de terfez australienne *Reddellomyces westraliensis* est l'unique taxon de Tuberales qui se développe en milieu désertique. Etant donné qu'elle appartient aux Basidiomycota, *Horakiella watarrkana* est qualifiée de «fausse truffe» (Claridge *et al.*, 2014) (**Tableau 1**).

6.2. Régions à terfez en Algérie :

En Algérie, les truffes du désert sont réparties dans trois régions :

- **régions semi-arides littorales** : Stidia, Mostaganem, Annaba, Taref.
- **régions semi arides et arides steppiques**: Batna, Msila, Biskra, Boussaâda, Djelfa, El-Aricha, Ksar Chellala, Saida, El-Bayadh, Naama.
- **régions sahariennes**: Bechar, Tindouf, Ghardaia, Ouargla, Tamanrasset.

Dans ces régions les terfez sont récoltées en abondance pendant les années de bonne production; ils sont représentés par sept espèces appartenant à trois genres : *Terfezia*, *Tirmania* et *Picoa* (Fortas, 2009 ; Zitouni-Haouar *et al.*, 2015).

Les herbiers élaborés par Maire, Patouillard et Chatin, ont été d'une grande importance pour l'identification et la description des espèces de *Tirmania* (Alsheikh et Trappe, 1983a),

Picoa (Alsheikh et Trappe, 1983b) et *Terfezia* (Alsheikh, 1994) proliférant en Algérie: **Tlemcen** (El-Aricha): *T. claveryi*, **Ain Temouchent**: *T. boudieri*, **Oranais**: *T. claveryi*, au sud *T. pinoyi* (Alsheikh et Trappe, 1983 a); **Alger** (station de railway): *T. claveryi*, **El Taref** (La Calle): *T. arenaria* (autrement appelée *Tuber algeriensis*), **Constantine**: *T. claveryi*, **Relizane** (Oued Rhiou): *T. claveryi* (Alsheikh, 1994). **Hauts plateaux à Ksar Chellala**: *T. pinoyi* (Maire, 1907; Alsheikh et Trappe 1983 a); *P. lefebvrei* (Alsheikh et Trappe, 1983b); *T. claveryi* (Alsheikh, 1994); **Msila**, au Sud de Bou Saada: Ain Ograb, *T. boudieri* (Alsheikh, 1994); à Bou Saada *T. claveryi* (Alsheikh, 1994); **Batna** (Hodna, Barika): *T. boudieri* (Alsheikh, 1994); **Biskra**: *P. lefebvrei* (Maire, 1907); *T. nivea* (Alsheikh et Trappe, 1983a); *T. claveryi* (Alsheikh, 1994); **Laghouat**: *P. lefebvrei* (Alsheikh et Trappe, 1983b); *T. claveryi* (Alsheikh, 1994); **El Bayadh** (El Kheiter, Sidi Khelifa): *T. pinoyi* (Maire, 1907; Alsheikh et Trappe, 1983 a); *T. boudieri* sur les racines de *Plantago albicans* et *H. hirtum var deserti* (Maire, 1907); *T. claveryi* sur les racines de *Plantago albicans* (Maire, 1907); **Naama**: à Ain Sefra *T. pinoyi* (Maire, 1907; Alsheikh et Trappe 1983 a); à Ben-Zireg *T. claveryi* (Maire, 1907); **Béchar**: à Béchar *T. claveryi* (Alsheikh, 1994); à Béni Abbès *T. pinoyi* (Maire, 1907; Alsheikh et Trappe, 1983a); **Ghardaïa**: à El Golea *T. boudieri* (Alsheikh, 1994); à El-Guerrera: *T. boudieri* (Alsheikh, 1994); **Ouargla**: à Touggourt, Bir Seba *T. arenaria* (Alsheikh, 1994); à Oued el Righ *T. nivea* (Alsheikh et Trappe, 1983a).

Tableau 1 : Répartition géographique mondiale des truffes du désert associées à leurs phytosymbiotes naturels

Genre	Espèce	Phytosymbiotes naturels et plantes accompagnatrices	Distribution géographique	Source dans la littérature	
<i>Terfezia</i>	<i>T. albida</i>	<i>Helianthemum</i> spp.	Sud-Est de la Péninsule Ibérique	Bordallo <i>et al.</i> , 2013	
	<i>T. alsheikii</i>	Plantes Cistacées, <i>Cistus monspeliensis</i> à la frontière d'une piste forestière	Espagne, Portugal	Bordallo <i>et al.</i> , 2013	
	<i>T. arenaria</i>	Forêts de <i>Quercus robur</i> . <i>Helianthemum guttatum</i> ssp. <i>plantagineum</i> , <i>Quercus</i> spp. <i>H. guttatum</i> , Forêts de <i>Quercus ilex</i> et <i>Quercus suber</i> , terrains dominés par les Cistes, <i>Helianthemum</i> . <i>H. guttatum</i> .	Europe du Sud Italie Espagne	Alsheikh, 1994 Alsheikh, 1994; Rana <i>et al.</i> , 2015 Diez <i>et al.</i> , 2002; <i>in</i> Chevalier, 2014	
		<i>Tuberaria guttatum</i> , <i>Helianthemum macrosepalum</i> , <i>Helianthemum</i> spp., Autres espèces de Cistaceae. <i>H. guttatum</i> / /	Portugal Maroc	Diez <i>et al.</i> , 2002 Alsheikh, 1994; Diez <i>et al.</i> , 2002; Haimed <i>et al.</i> , 2013. Fortas, 1990 ; Fortas et Chevalier 1992b. Alsheikh, 1994 <i>in</i> Moustafa et Abdel-Azeem, 2011	
		/ <i>Asphodelus aestivus</i> /	Arabie Saoudite Turquie Iran, Azerbaïdjan	Alsheikh, 1994. Türkoğlu <i>et al.</i> , 2015. <i>in</i> Ammarellou <i>et al.</i> , 2014	
		<i>Helianthemum</i> spp., <i>Helianthemum ledifolium</i> , <i>Helianthemum salicifolium</i> , <i>Helianthemum squamatum</i> .	Péninsule Ibérique	Moreno <i>et al.</i> , 2002	
	<i>T. boudieri</i>	<i>Helianthemum lippii</i> , <i>Helianthemum apertum</i> . <i>Helianthemum sessiliflorum</i> , <i>Helianthemum kahiricum</i> , <i>Rhanterium suaveolens</i> . <i>Helianthemum hirtum</i> var <i>deserti</i> , <i>H. salicifolium</i> , <i>H. ledifolium</i> , <i>Plantago albicans</i> . <i>Helianthemum</i> sp. /	Maroc Tunisie Algérie Egypte Lybie	Khabar <i>et al.</i> , 2001 Slama <i>et al.</i> , 2006; Sbissi <i>et al.</i> , 2011. Maire, 1907; Diez <i>et al.</i> , 2002 ; Zitouni-Haouar <i>et al.</i> , 2014 El-Kholi et Ali, 1991. Al-Saadi <i>et al.</i> , 2005	
		/ <i>H. lippii</i> <i>Kobresia bellardii</i> <i>H. salicifolium</i> <i>Helianthemum</i> sp.	Koweït, Bahreïn, Syrie. Arabie Saoudite Iran Turquie Iraq	Awameh et Alsheikh 1980a; Alsheikh, 1994. Hussain et Al-Ruqaie, 1999. Ammarellou <i>et al.</i> , 2007 Akyuz <i>et al.</i> , 2012. Ewaze et Al-Naama, 1989.	
		<i>T. canariensis</i>	<i>Helianthemum canariense</i>	Espagne	Bordallo et Rodriguez, 2014; Chevalier, 2014
		<i>T. claveryi</i>	<i>Helianthemum</i> spp. /	Espagne Canaries, Chypre, Sardaigne	Diez <i>et al.</i> , 2002 Alsheikh, 1994
	<i>P. albicans</i> , <i>H. guttatum</i> , <i>H. hirtum</i> <i>H. lippii</i> , <i>H. apertum</i> . <i>Helianthemum kahiricum</i> . /		Algérie Maroc Tunisie Lybie, Egypte	Maire, 1907; Fortas, 1990 ; Zitouni-Haouar <i>et al.</i> , 2014 Khabar <i>et al.</i> , 2001. Sbissi <i>et al.</i> , 2011. Ahmed <i>et al.</i> , 1981 ; Bidak <i>et al.</i> , 2015	

Tableau 1 (suite)

Terfezia	<i>T. claveryi</i>	/ <i>Helianthemum</i> spp. / <i>H. salicifolium</i> . <i>H. salicifolium</i> . <i>Helianthemum</i> spp. / <i>Helianthemum</i> spp.	Est de la péninsule arabique, Est de l'Arménie, Syrie, Jordanie, Koweït, Liban. Iraq Arabie Saoudite Turquie Iran Qatar Azerbaïdjan Bahreïn	Alsheikh, 1994. Ewaze et Al-Naama, 1989. Bokhary et Parvez, 1993. Akyuz <i>et al.</i> , 2015. Jamali et Banihashemi, 2012. Moubasher, 1995; Al-Thani, 2010. <i>in</i> Ammarellou <i>et al.</i> , 2014 Mandeel et Al-Laith, 2007.	
	<i>T. cistophila</i>	<i>Cistus monspeliensis</i> , <i>Cistus creticus</i> . <i>Cistus ladanifer</i>	Grèce Espagne (Estrémadure)	Bordallo <i>et al.</i> , 2015	
	<i>T. eliocrocae</i>	<i>Helianthemum almeriense</i> , <i>Helianthemum violaceum</i>	Espagne (Murcie)	Bordallo <i>et al.</i> , 2013	
	<i>T. extremadurensis</i>	<i>T. guttata</i> (Syn. <i>H. gutattum</i>)	La moitié Ouest de la Péninsule Ibérique, Prairies de L'Estrémadure	Bordallo <i>et al.</i> , 2013	
	<i>T. fanfani</i>	<i>T. guttata</i>	Espagne	Bordallo <i>et al.</i> , 2013	
	<i>T. grisea</i>	<i>Helianthemum</i> spp	Grèce, Espagne	Bordallo <i>et al.</i> , 2015	
	<i>T. leptoderma</i>	<i>T. guttata</i> , <i>Cistus ladanifer</i> , <i>Pinus halepensis</i> . <i>T. guttata</i> , <i>Q. ilex</i> , Plantations d'oliviers, strates d'arbustes de <i>Cistus albidus</i> ou d'autres espèces Cistaceae. <i>T. guttata</i> , Forêts de pins sous <i>Quercus</i> sp. <i>T. guttata</i> , <i>Erica arborea</i> , <i>Smilax</i> sp. ou sous <i>Pinus canariensis</i> . <i>T. guttata</i> , <i>Pinus radiata</i> .	Espagne France Hongrie îles Canaries Italie	Diez <i>et al.</i> , 2002 Alsheikh, 1994; Diez <i>et al.</i> , 2002 Alsheikh, 1994 Alsheikh, 1994 Janex-Favre <i>et al.</i> , 1988; Alsheikh, 1994	
		<i>H. guttatum</i> , <i>Pinus pinaster</i> var. <i>atlantica</i>	Maroc	Khabar <i>et al.</i> , 2001	
		<i>Geranium</i> , <i>Helianthemum</i> , <i>Cerastium</i> sp.	Turquie	Castellano et Turkoğlu, 2012; Türkoğlu et Castellano, 2014.	
	<i>T. olbiensis</i>	<i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp. Pin d'Alep, chêne vert, <i>Quercus</i> spp., <i>Cistus</i> , <i>Helianthemum</i> spp. Forêts de <i>Quercus</i> et <i>Pinus</i> ; plantations de <i>P. radiata</i> , <i>P. halepensis</i> , <i>Cistus salvifolius</i> . / / / <i>H. salicifolium</i>	Espagne France Italie Portugal, Espagne, Tchécoslovaquie, îles Canaries Maroc, Tunisie Palestine, Turquie	Bordallo <i>et al.</i> , 2013 Bordallo <i>et al.</i> , 2013; <i>in</i> Chevalier, 2014 . <i>in</i> Chevalier, 2014; Rana <i>et al.</i> , 2015. Alsheikh, 1994 Alsheikh, 1994 Akyuz <i>et al.</i> , 2015	
		<i>T. pseudoleptoderma</i>	Cistaceae, <i>Pinus</i>	Espagne	Bordallo <i>et al.</i> , 2013
		<i>T. pini</i>	<i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.	Espagne	Bordallo <i>et al.</i> , 2013

Tableau 1 (suite)

Tirmania	T. nivea	/	Espagne, Sicile	Moreno <i>et al.</i> , 2000b, Chevalier <i>et al.</i> , 2004
		<i>H. lippii</i> .	Algérie	Bradai <i>et al.</i> , 2014
		<i>H. hirtum</i> .	Maroc	Khabar <i>et al.</i> , 2001
		<i>H. lippii</i> .	Tunisie	Slama <i>et al.</i> , 2006
		<i>Helianthemum</i> sp.	Egypte	El-Kholi et Ali, 1991; Abdel Lattif et Atia, 2005
	T. pinoyi	/	Syrie	Alsheikh et Trappe, 1983a.
		<i>H. lippii</i>	Arabie Saoudite	Hussain et Al-Ruqaie, 1999.
		<i>H. salicifolium</i> .	Koweït	Diez <i>et al.</i> , 2002
		/	Iran	Jamali et Banihashemi, 2012.
		<i>Helianthemum</i> sp.	Qatar	Al-Thani, 2010.
Picoa	P. juniperi	<i>H. guttatum</i>	Algérie	Fortas et Chevalier 1992b.
		<i>H. hirtum</i>	Maroc	Khabar <i>et al.</i> , 2001
		/	Lybie	Stojkovic <i>et al.</i> , 2012; 2013
		<i>H. lippii</i>	Tunisie	Slama <i>et al.</i> , 2006
		/	Egypte	<i>in</i> Moustafa et Abdel-Azeem, 2011
	P. lefebvrei	/	Syrie	Bawadikji, 2004.
		<i>Helianthemum</i> sp.	Iraq	Ewaze et Al-Naama, 1989.
		/	Koweït	Moustafa, 1985.
		<i>H. lippii</i>	Arabie Saoudite	Hussain et Al-Ruqaie, 1999.
		/	Iran	Mostowfizadeh-Ghalamfarsa <i>et al.</i> , 2014.
Mattirolomyces	M. austroafricanus (ex Terfezia austroafricanus)	/	Turquie	Kagan-Zur et Akyuz, 2014
		<i>H. apenninum</i> .	France	<i>in</i> Chevalier, 2014
		<i>Cistus, Quercus, Helianthemum</i> .	Italie	<i>in</i> Chevalier, 2014
		<i>H. almeriense, Q. ilex</i> ssp. <i>ballota</i> .	Espagne	Moreno <i>et al.</i> , 2000b; <i>in</i> Chevalier, 2014
		<i>H. lippii, H. apertum</i> .	Maroc	Khabar <i>et al.</i> , 2001
	M. austroafricanus (ex Terfezia austroafricanus)	<i>H. lippii, Rhanterium suaveolens</i> .	Tunisie	Slama <i>et al.</i> , 2006 ; Sbissi, 2013
		<i>H. ledifolium</i>	Iran	Jamali et Banihashemi, 2012; 2013
		<i>H. salicifolium</i>	Turquie	Akyuz <i>et al.</i> , 2015.
		<i>H. squamatum, Plantago argentea, Helianthemum</i> spp.	Espagne	Moreno <i>et al.</i> , 2000b; Calonge <i>et al.</i> , 2003
		/	Algérie, Lybie	Alsheikh et Trappe 1983b.
M. austroafricanus (ex Terfezia austroafricanus)	<i>H. sessiliflorum</i>	Tunisie	Sbissi <i>et al.</i> , 2010 ; Sbissi, 2013	
	/	Iraq, Koweït	Alsheikh et Trappe 1983b.	
	/	Iran	Jamali et Banihashemi, 2012; 2013.	
	/	Turquie	Gucin <i>et al.</i> , 2010.	
	<i>Helianthemum</i> sp.	Qatar, Bahreïn	Moubasher, 1995; Mandeel et Al-Laith, 2007.	
M. austroafricanus (ex Terfezia austroafricanus)	<i>H. lippii</i>	Arabie Saoudite	Hussain et Al-Ruqaie, 1999.	
	/	Nord de la province du Cap, Afrique du Sud	Trappe <i>et al.</i> , 2008b	

Tableau 1 (suite)

Mattiolomyces	M. mulpu	<i>Cassia, Eragrostis</i> spp.	Sud de Roe Creek, Australie	Trappe <i>et al.</i> , 2008a; 2010a
	M. spinosus (<i>ex T. spinosa</i>)	<i>Ficus</i> spp., <i>Enterolobium cyclocarpum</i> , <i>Acacia</i> sp., et <i>Quercus</i> spp.	États-Unis, Arizona et le Sud de Louisiane jusqu'au Mexique	Kovacs <i>et al.</i> , 2011a
	M. terfezioides (<i>ex T. terfezioides</i>)	<i>Robinia pseudoacacia</i> ; <i>Ribes rubrum</i> . <i>Diospyrus kaki</i> . Terrain cultivé sous <i>Prunus avium</i> et <i>Solanum</i> , <i>Helianthus</i> et <i>Tubera</i> spp.	Hongrie France Italie Espagne (Madrid)	Bratek <i>et al.</i> , 1996; 2004; Diez <i>et al.</i> , 2002. Alsheikh, 1994
		/	Grèce Slovaquie	Kovács <i>et al.</i> , 2009 Chevalier <i>et al.</i> , 2004 Glejdura et Kunca, 2012
	<i>Gleditschia triacanthos</i> , <i>R. Pseudoacacia</i> . <i>R. pseudoacacia</i> L., <i>Pinus tabulaeformis</i> .	Chine	<i>in</i> Ammarellou <i>et al.</i> 2014.	
Kalaharituber	K. pfeillii (<i>ex Terfezia pfeillii</i>)	<i>Acacia hebeclada</i> . <i>Citrullus vulgaris</i> /	Kalahari Botswana, Namibie Nord de la province du Cap, Afrique du Sud	Pole-Evans, 1918. <i>in</i> Taylor <i>et al.</i> , 1995; <i>in</i> Kagan-Zur <i>et al.</i> , 1999. Trappe <i>et al.</i> , 2008b; Adeleke et Dames, 2014.
Stouffera	S. longii (<i>ex Terfezia longii</i>)	/	Argentine	Kovacs <i>et al.</i> , 2011a
Delastria	D. rosea	<i>Artemisia</i> et <i>Juniperus</i> spp. <i>P. pinaster</i> var. atlantica	Etats unis au Nouveau-Mexique	
Eremiomyces	E. echinulatus (<i>ex Choiromyces echinulatus</i>)	/	Maroc	Khabar <i>et al.</i> 2001.
Carbomyces	C. emergens	<i>Larrea tridentata</i> . <i>Artemisia</i> , <i>Atriplex</i> , <i>Prosopis</i> et plusieurs plantes herbacées	Kalahari (Botswana); Nord de la province du Cap, Afrique du Sud	Trappe <i>et al.</i> , 2008b
		<i>Larrea tridentata</i> , <i>Prosopis</i> sp., <i>Opuntia</i> sp. <i>Prosopis glandulosa</i> .	Désert du Chihuahuan, Mexique Du Nouveau-Mexique au sud de la Californie: Désert du Chihuahuan, de Sonora et des Mojaves	Moreno <i>et al.</i> , 2012 Trappe et Weber, 2001
	C. gilbertsonii	<i>L. tridentata</i> .	Désert du Chihuahuan, Mexique Nouveau-Mexique	Moreno <i>et al.</i> , 2012 Trappe et Weber, 2001
Elderia	E. arenivaga	/	Désert du Chihuahuan, Mexique	Moreno <i>et al.</i> , 2012
Mycoclelandia	M. arenacea	<i>Acacia aneura</i>	Désert de l'Australie	Trappe <i>et al.</i> , 2008a; 2010a
	M. bulundari	/	Sud-Est du Nord de l'Australie Nord-Est de la partie Ouest de l'Australie jusqu'au désert Tanami	Trappe <i>et al.</i> , 2008a; 2010a
Reddellomyces	R. westraliensis	<i>Eucalyptus microtheca</i>	Partie Sud du Nord de l'Australie	Trappe <i>et al.</i> , 2008a; 2010a
	R. parvulosporus	<i>Acacia cyanophylla</i>	Tunisie	Sbissi, 2013
Ulurua	U. nonparaphysata	/	Nord de l'Australie	Trappe <i>et al.</i> , 2008a; 2010a

(/) : non reporté ; (Syn.) : Synonyme

7. Valeurs nutritionnelles et thérapeutiques des truffes du désert :

7.1. Composition chimique :

Les terfez représentent une source nutritive non négligeable par leur richesse en protéines (8-27 %), acides gras (1,3-7,5%), fibres (2,6-13%), hydrates de carbone (16.66-60%) et en vitamines (2-5% d'acide ascorbique) (Ackerman *et al.*, 1975; Al-Delaimy, 1977; Ahmed *et al.*, 1981; Sawaya *al.*, 1985; Bokhary *et al.*, 1987; 1989; Sakri, 1989 *in* Kagan- Zur, 2001; Agaoglu *et al.*, 1992 ; Kiraly et Bratek , 1992 ; Bokhary et Parvez , 1993 ; 1995 ; Hashem et Al-Obaid , 1996 ; Hussain et Al-Ruqaie, 1999 ; Khabar , 2002 ; Murcia *et al.*, 2003 ; Khabar *et al.*, 2004 ; Shavit , 2008 ; Kagan-Zur et Roth-Bejerano, 2008 ; Dundar *et al.*, 2012 ; Akyüz, 2013 ; Al-Laith, 2014 ; Kivrak, 2014). Elles sont également riches en minéraux : potassium, magnésium, phosphore, sodium et calcium (Sawaya *al.*, 1985; Bokhary *et al.*, 1987; Bokhary et Parvez, 1993 ; 1995 ; Dundar *et al.*, 2012 ; Kivrak, 2014).

7.2. Activités biologiques :

Outre leur valeur nutritive, les truffes du désert sont utilisées depuis longtemps en médecine traditionnelle par les populations autochtones d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient (*in* Shavit et Shavit, 2014) en particulier les bédouins et les nomades du désert qui les emploient pour traiter les infections oculaires (Mandaville, 2011; Volpato *et al.*, 2013), les rhumes, les affections respiratoires, l'arthrite ou le rhumatisme (Volpato *et al.*, 2013).

C'est ainsi que de nombreux chercheurs se sont intéressés aux activités biologiques de ces champignons. Différents travaux ont montré que les extraits de *Terfezia* et de *Tirmania* possèdent une activité antibactérienne sur diverses bactéries pathogènes Gram- et Gram+ et une activité antifongique surtout sur *Candida albicans* et *Aspergillus niger* (Rougieux, 1963 ; Chellal et Lukasova, 1995 ; Dennouni, 1996 ; Mohamed-Benkada, 1999 ; Janakat *et al.*, 2004 ; 2005 ; Fortas et Bellahouel-Dib, 2007 ; Neggaz, 2010 ; Dib-Bellahouel et Fortas, 2011 ; Gouzi *et al.*, 2011 ; Dib-Bellahouel, 2012; Saddiq et Danial, 2012; Stojkovic *et al.*, 2012 ; 2013 ; Aldebasi *et al.*, 2013 ; Dogan et Aydin, 2013 ; Hamza *et al.*, 2013 ; Neggaz et Fortas, 2013 ; Hamza et Neffati, 2014 ; Mekawey, 2014b ; Neggaz *et al.*, 2015). Les extraits des truffes du désert n'ont aucun effet antibactérien sur certaines bactéries lactiques à effet probiotique (Saddiq *et al.*, 2015).

Les truffes du désert contiennent des antioxydants, ces derniers protègent le corps humain des dommages du stress oxydatif induit par la formation des radicaux libres (Murcia *et al.*,

2002 ; Al-Laith, 2010 ; Dundar *et al.*, 2012 ; Saddiq et Danial, 2012 ; Hamza *et al.*, 2013 ; Kıvrak, 2014 ; Mekawey, 2014a ; Neggaz *et al.*, 2015 ; Dahham *et al.*, 2016). D'autres travaux ont également montré que les extraits de truffes ont des propriétés hépatoprotectrices (Janakat et Nassar, 2010), anticancéreuses (Mekawey, 2015 ; Dahham *et al.*, 2016) et aphrodisiaques (Khojasteh *et al.*, 2013 ; AL-Damegh, 2014).

8. Cycle biologique des truffes :

Certains aspects fondamentaux du cycle vital des truffes restent toujours ambigus. Cependant, avec le séquençage du génome de *Tuber melanosporum* (Martin *et al.*, 2010; Kües et Martin, 2011), ce champignon est devenu un modèle pour l'étude de la biologie et l'écologie des ascomycètes ectomycorhiziens (Payen *et al.*, 2016). L'hétérothallisme au sein du cycle biologique de la truffe est maintenant confirmé. Les mécanismes de la reproduction sexuée chez la truffe ont été élucidés à travers la découverte du gène de compatibilité sexuelle avec ses deux idiomorphes MAT1-1 et MAT1-2 de structure différente (Martin *et al.*, 2010; Kües et Martin, 2011). La caractérisation du sexe des individus est désormais possible grâce à l'emploi d'amorces spécifiques (Rubini *et al.*, 2011a et b).

Ces résultats pertinents rejoignent ceux de Fortas (1990) et Fortas et Chevalier (1992 b) qui ont obtenu la formation de primordiums de truffes du désert en conditions axéniques à partir de cultures mycéliennes polyspores. Au moment où les cultures monospores se sont montrées mycorhizogènes mais incapables de produire des fructifications. Ces résultats révèlent que la présence simultanée des deux types sexuels (*Mating type*) MAT+ et MAT- est indispensable pour la formation des truffes et que la fusion entre les deux mycéliums homokaryotiques peut se produire avant l'infection des racines du moment que le mycélium d'origine polyspore (dikaryotique) s'est montré mycorhizogène et a donné naissance à des primordiums dès sa sortie des racines de la plante hôte.

Le cycle biologique des truffes est caractérisé par l'alternance de trois phases principales : saprotrophique (pré-symbiotique), symbiotique et reproductive (Molinier, 2013).

La première phase commence avec la germination des ascospores (**Figs. 7 et 8**) libérées des ascomes par plusieurs moyens. Selon Trappe *et al.* (2014), l'émergence des ascomes de truffes du désert à ras du sol entraîne leur dessèchement sous la chaleur accablante du désert. Le péridium se craquèle laissant apparaître la glèbe qui se transforme en poudre sporifère véhiculée par le vent. La dissémination des spores de truffes peut être également assurée par plusieurs animaux mycophages qui libèrent les spores lors de leur défécation (Frank *et al.*,

2006; Ammarellou *et al.*, 2007 ; Ammarellou et Saremi, 2007; Laessoe et Hansen, 2007 ; Vernes et Lebel, 2011). Piattoni *et al.* (2014) ont démontré que des ascospores issues d'ascomes de *Tuber aestivum* consommés par des sangliers sauvages passent à travers leurs tubes digestifs indemnes, et sont éjectés avec leurs matières fécales. C'est ainsi que les ascospores libérées des asques, changent de structure et leurs paroi s'érodent en perdant ses ornements. La viabilité des spores ne semble pas être affectée par ce processus comme en témoigne leur fort pouvoir mycorhizogène testé vis-à-vis du chêne pédonculé (*Quercus robur*) comparé aux ascospores provenant d'ascomes intacts.

Les hyphes issus de la germination des spores prolifèrent dans le sol à la rencontre des racines des plantes hôtes compatibles. La phase symbiotique s'initie alors avec la colonisation des racines par l'un des deux types de mycéliums haploïdes primaires (MAT+ ou MAT-) et la formation des mycorhizes fonctionnelles (**Fig. 8**) (Rubini *et al.*, 2012).

Le mycélium haploïde émis par les mycorhizes se développe dans le sol et entre en contact avec un mycélium compatible de type sexuel opposé issu de mycorhizes voisines ou de la germination de spores qui n'ont pas infecté de racines (**Figs. 7 et 8**). Ceci conduit à la fécondation, première étape de la phase reproductive diploïde (**Fig. 8**). La plasmogamie suivie de la caryogamie ont lieu dans les primordiums (Paolocci *et al.*, 2006). Les hyphes de ces derniers continuent à s'enrouler et à se compacter pour former de jeunes ascocarpes globuleux dont la maturation (**Fig. 8**) est régie par plusieurs facteurs physiologiques et nutritionnels qui jouent un rôle crucial dans le développement des ascomes (Saltarelli *et al.*, 1998 ; Kues et Liu, 2000 ; Montanini *et al.*, 2003 ; Harki *et al.*, 2006 ; *in* Murat *et al.*, 2008 ; Splivallo *et al.*, 2011). Les ascomes des truffes, séparés des racines de leurs plantes hôtes, interagissent avec leur microenvironnement afin de prélever les nutriments du sol et assurer leur développement. Le mycélium truffier présente dans cette phase un comportement saprophytique (Fortas, 1990; Pargney, 2014). Chez les truffes du désert, les hyphes les plus externes du périidium créent des interstices en se dissociant de leurs voisines. Elles forment à la surface du périidium des émergences plus ou moins arquées qui explorent le microenvironnement. Des particules de sol peuvent s'incruster entre les interstices des hyphes de surface et de fortes concentrations en minéraux sont parfois observées (Pargney, 2004). Chez les *Tuber*, les hyphes du périidium montrent une différenciation beaucoup plus poussée, les houppes mycéliennes qui sont issues de zones potentiellement actives du périidium. Elles explorent le microenvironnement édaphique et pénètrent dans les agrégats du sol liant matière minérale et résidus organiques. Les fragments de racines, de feuilles, de bourgeons, mais aussi des restes de mycorhizes,

présents au voisinage de l'ascocarpe, peuvent être piégés, colonisés et dégradés par les filaments émis par la truffe (Pargney, 2014).

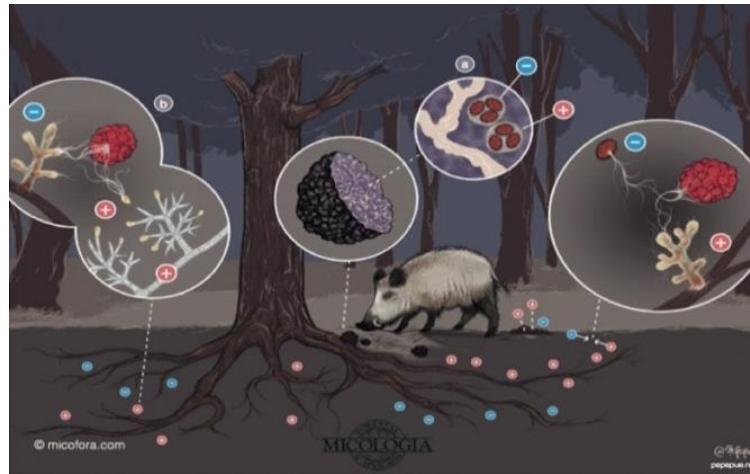


Fig. 7 : Cycle biologique de la truffe (Morcillo *et al.*, 2015)

A complète maturité, l'ascocarpe non récolté se lyse sur place ou est consommé par des animaux mycophages. La dissémination des spores est assurée par le vent ou par zoochorie (**Fig. 7**). Les spores ainsi libérées sont prêtes à entamer un nouveau cycle biologique.

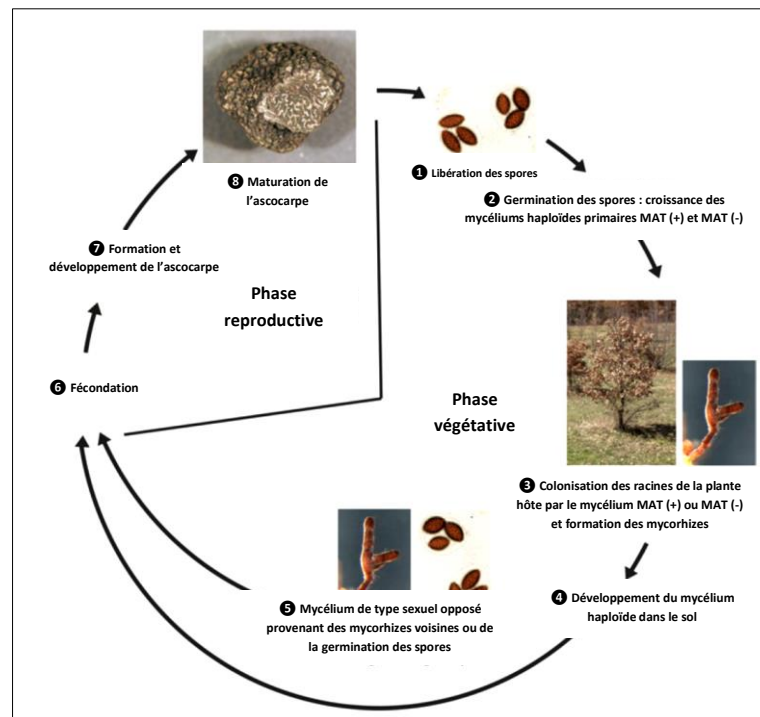


Fig. 8 : Représentation schématique du cycle de vie des truffes (*Tuber* spp.). Les ascospores libérées dans le sol à partir d'ascocarpes matures (1) germent et produisent des mycéliums haploïdes primaires MAT (+) ou MAT (-) (2). Les mycéliums primaires colonisent les racines des arbres hôtes et forment des ectomycorhizes (3); sous un arbre donné, la concurrence entre les différentes souches peut conduire à la formation de mycorhizes qui partagent le même type sexuel. En présence de conditions climatiques favorables, les mycéliums MAT (+) et / ou MAT (-) provenant des mycorhizes poussent dans le sol (4); le contact avec des mycéliums de types sexuels opposés (5), qui peuvent provenir soit de la germination des ascospores ou des mycorhizes des arbres voisins, est nécessaire pour que la fécondation a lieu (6). Le processus de fécondation entraîne la naissance des corps fructifères des truffes (7) qui sont composés d'hyphes dicaryotiques et de gleba, un mycélium stérile haploïde d'origine uni parentale. A l'intérieur de l'ascocarpe mature (8), les hyphes dicaryotiques génèrent les asques où la caryogamie a lieu pour former les zygotes; ces noyaux diploïdes subissent une méiose pour produire les ascospores haploïdes (Rubini *et al.*, 2012).

9. Généralités sur les symbioses mycorhiziennes:

9.1. Introduction :

Les champignons mycorrhizogènes sont apparus il y a plus de 450 millions d'années et ont probablement permis aux premières plantes de coloniser les niches terrestres. Ainsi, les associations mycorhiziennes se rencontrent chez quasiment tous les végétaux supérieurs (Gianinazzi et Wipf, 2010).

Le terme de mycorhize (du grec : *myko* = champignon, *rhiz* = racine) créé par Frank en 1885 (Smith et Bonito, 2012) désigne une racine associée à un champignon symbiotique. Cette symbiose mycorhizienne concerne 95 % des plantes terrestres (Gianinazzi et Wipf, 2010).

Les mycorhizes sont à l'origine d'un échange bi-directionnel des ressources nutritionnelles favorisant le développement et la survie des deux partenaires. Lors de cette interaction, les réseaux d'hyphes fongiques, spécialisés dans l'absorption des minéraux, de l'azote organique et des éléments peu mobiles dans le sol, procurent une extension de la surface et du volume de sol prospecté, augmentant ainsi l'assimilation par la plante de nutriments essentiels tels que le phosphore, l'azote, le soufre et l'eau (Tinker, 1984 ; Mousain, 1984 ; Smith et Read, 2008). Ainsi, à travers cette symbiose mutualiste, de nouvelles fonctionnalités métaboliques sont acquises par les plantes hôtes leur conférant l'utilisation de niches écologiques inaccessibles sans les mycosymbiotes (Read et Perez-Moreno, 2003). Par ailleurs, les champignons procurent d'autres bénéfices aux plantes hôtes dont l'amélioration de la tolérance aux stress hydrique (Oihabi et Meddich, 1996; Morte et *al.*, 2000 ; Augé, 2001; 2004), la détoxification de l'environnement des racines par séquestration des métaux lourds (Brunner et Frey, 2000 ; Kahoul, 2004 ; Drénou, 2006) et la protection contre les infections par des agents pathogènes (Singh et Singh, 1996; Dumas-Gaudot et *al.*, 2000; Hao et *al.*, 2005; Vierheilig et *al.*, 2008; Souna et *al.*, 2009).

En contrepartie, les champignons obtiennent des sucres dérivés de la photosynthèse des plantes. Jusqu'à 20% des éléments carbonés issus des plantes terrestres sont alloués aux champignons mycorhiziens (Högberg *et al.*, 2001).

9.2. Structure des mycorhizes :

Les structures générées par l'association symbiotique mycorhizienne sont traditionnellement classées en plusieurs catégories selon la nature du mycosymbiote et les

caractéristiques anatomiques et morphologiques de l'organe mixte formé par les deux partenaires (Peterson *et al.*, 2004; Smith et Read, 2008) (**Tableau 2**).

Actuellement, il existe sept types de mycorhizes : les endomycorhizes à arbuscules (AM), les ectomycorhizes (ECM), les ectendomycorhizes, les mycorhizes éricoïdes (ERM), les mycorhizes arbutoïdes, les mycorhizes monotropoïdes et les mycorhizes à orchidées. Les deux formes de symbiose mycorhizienne les plus représentées sont la symbiose mycorhizienne arbusculaire et la symbiose ectomycorhizienne. Lors de cette dernière, le mycosymbiote se développe dans les espaces intercellulaires des racines (apoplaste), au moment où la symbiose arbusculaire manifeste une colonisation purement intracellulaire (**Fig. 9, Tableau 2**) (Smith et Read, 2008).

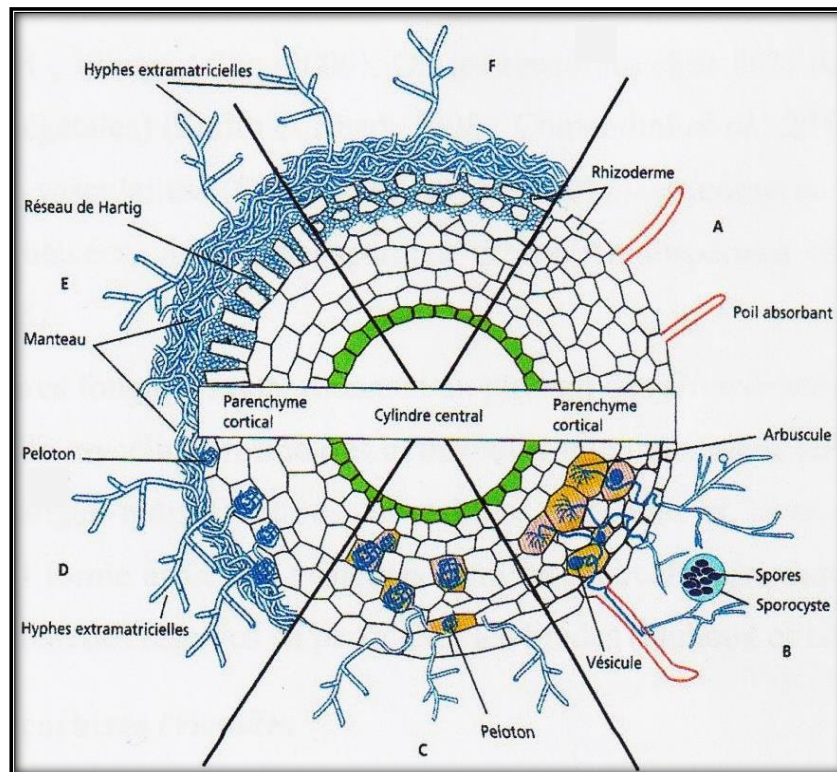


Fig. 9 : Schéma d'une coupe transversale montrant les principaux types d'associations symbiotiques entre des champignons du sol et des racines de végétaux; **(A)** racine sans mycorhize, **(B)** endomycorhizes à vésicules et à arbuscules, **(C)** endomycorhizes à pelotons, **(D)** ectendomycorhizes, **(E)** ectomycorhizes chez les angiospermes, **(F)** ectomycorhizes chez les Gymnospermes (Duhoux et Nicole, 2004).

Tableau 2: Caractéristiques principales des différents types de mycorhizes (D'après Smith et Read, 2008)

Type de mycorhize	Mycorhizes à arbuscules	Ectomycorhizes	Ectendomycorhizes	Mycorhizes arbutoïdes	Mycorhizes monotropoïdes	Mycorhizes éricoïdes	Mycorhizes à orchidées
CHAMPIGNON							
Hyphes septés	-	+	+	+	+	+	+
Hyphes non septés	+	-	-	-	-	-	-
Colonisation intracellulaire	+	-	+	+	+	+	+
Arbuscules	+	-	-	-	-	-	-
Pelotons	-	-	+	+	+	+	+
Manteau	-	+	+ ou -	+ ou -	+	-	-
Réseau de Hartig	-	+	+	+	+	-	-
Taxa	Gloméromycètes	Basidiomycètes Ascomycètes	Basidiomycètes Ascomycètes	Basidiomycètes	Basidiomycètes	Ascomycètes	Basidiomycètes
PLANTE HOTE							
Taxa	Bryophytes Ptéridophytes Gymnospermes Angiospermes	Gymnospermes Angiospermes	Gymnospermes Angiospermes	Ericacées	Monotropacées	Ericacées Bryophytes	Orchidées
Chlorophylle	+ (-)*	+	+	+	-	+	_***

- = absent ; + = présent ; * = rare ; ** = les Orchidaceae ne sont pas chlorophylliennes au stade juvénile ; plusieurs Orchidaceae sont chlorophylliennes au stade adulte.

10. Associations mycorhiziennes formées par les truffes du désert en conditions 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). Influencés par des facteurs biotiques ou abiotiques, ces champignons peuvent présenter une grande élasticité en formant des ectomycorhizes, des endomycorhizes ou encore des ectendomycorhizes.

10.1. Chez les Cistacées annuelles :

Les premières synthèses mycorhiziennes à terfez ont été réalisées par Awameh *et al.* (1979 a) et (Awameh, 1981). Ces auteurs ont associé en conditions gnotoxéniques, deux hélianthèmes annuels, *Helianthemum salicifolium* et *H. ledifolium* à quatre espèces de truffes du désert du Koweït (*T. boudieri*, *T. claveryi*, *T. pinoyi*, *T. nivea*) et ont abouti à la formation d'endomycorhizes. Ce type d'endomycorhizes a été qualifié plus tard comme « mycorhizes hélianthémoïdes » par Alsheikh (1984) qui les a distingué des ectomycorhizes, ectendomycorhizes et mycorhizes arbusculaire et a décelé des similitudes avec quelques caractéristiques des mycorhizes éricoïdes.

Chevalier *et al.* (1984) ont obtenu des ectomycorhizes “sans un vrai manteau” dans l'association symbiotique *T. leptoderma* / *Helianthemum salicifolium* ou *H. guttatum*. Ces auteurs ont conclu que la morphologie des mycorhizes varie en fonction de l'espèce fongique impliquée et ont souligné que les mycorhizes de *T. leptoderma* pourraient constituer une forme de transition entre les endomycorhizes des truffes du désert et les ectomycorhizes typiques des Tuberales. Des études ultrastructurales des racines d'*H. salicifolium* inoculées par *T. leptoderma* ont révélé la présence des ectomycorhizes sans manteau dans l'association *H. salicifolium* / *T. leptoderma* et des endomycorhizes dans celle *H. salicifolium* / *T. claveryi* (Dexheimer *et al.*, 1985 ; Leduc *et al.*, 1986).

Fortas (1990) et Fortas et Chevalier (1992 b) ont été les premiers à étudier l'influence des facteurs nutritionnels (fertilité du sol) sur le type de mycorhize formé chez *H. guttatum* associée à trois espèces de truffes du désert d'Algérie. *T. arenaria*, *T. claveryi* et *T. pinoyi* ont formé des ectomycorhizes sans manteau sur les substrats riches en phosphore et des ectendomycorhizes sans manteau sur les milieux carencés en phosphore (**Fig. 10 c,d**).

Khabar (2002) a associé, en conditions gnotoxéniques et axéniques, *Helianthemum guttatum* à *T. arenaria*, *T. claveryi*, *T. leptoderma* et *T. pinoyi*. *T. leptoderma* a formé des ectomycorhizes avec manteau en conditions axéniques tandis que les trois autres espèces de terfez ont formé des ectomycorhizes sans manteau.

Des endomycorhizes ont été obtenues dans l'association *H. ledifolium* / *T. boudieri* (Aïbeche, 2008).

10.2. Chez les Cistacées vivaces:

Les associations mycorhiziennes réalisées entre *T. leptoderma* et cinq Cistacées pérennes (*H. apenninum*, *C. albidus*, *C. salviaefolius*, *C. monspeliensis*, *Fumana procumbens*) ont conduit à la formation d'ectomycorhizes sans manteau (Chevalier *et al.*, 1984).

Des études ultrastructurales des racines de *Cistus albidus* et *C. salviaefolius* mycorhizées par *T. leptoderma*, en conditions contrôlées, ont révélé la présence d'ectomycorhizes sans manteau (Dexheimer, 1985 ; Leduc *et al.*, 1986). Les associations entre *Helianthemum apenninum* et *T. boudieri*, *T. claveryi* et *T. pinoyi* ont conduit à la formation d'endomycorhizes coralloïdes (Ravolanirina, 1986).

La formation d'ectomycorhizes sans manteau est décrite par Roth-Bejerano *et al.* (1990) dans l'association mycorhizienne *H. lippii var sessiliflorum* / *T. arenaria* synthétisée *in vitro*.

Morte *et al.* (1994) ont obtenu *in vitro* des ectendomycorhizes avec un manteau lâche dans l'association entre *T. claveryi* et des plants d'*H. almeriense* micropropagés et des endomycorhizes en pots sous serre avec cette même association (Morte *et al.*, 2000).

Gutiérrez *et al.* (2003) ont montré que dans les associations mycorhiziennes *H. almeriense*/*T. claveryi* et *P. lefebvrei*, ces deux espèces fongiques forment des endomycorhizes au champ, des ectomycorhizes ainsi que des ectendomycorhizes sans manteau en culture en pots et des ectomycorhizes à manteau typique en culture *in vitro*. Ces résultats révèlent que le type de mycorhizes formé peut également dépendre des conditions de culture (**Fig. 10 a,b**).

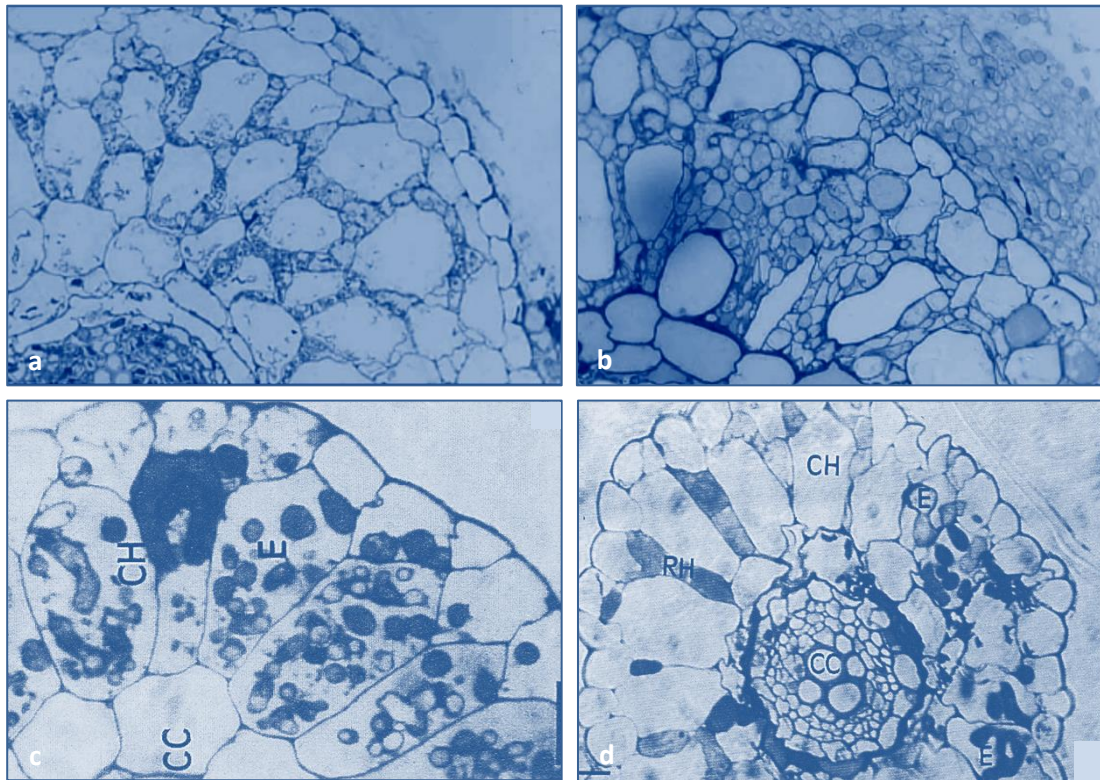


Fig. 10: Diversité morphologique des mycorhizes formées par les truffes du désert en conditions contrôlées. **a:** racine d'*H. almeriense* cultivé en serre, ectomycorhizée par *T. clavaryi*, montrant un réseau de Hartig sans manteau. **b :** ectomycorhize d'*H. almeriense* avec manteau et réseau de Hartig, synthétisée par *T. clavaryi in vitro* (Gutiérrez *et al.*, 2003). **c :** racine d'*H. guttatum* mycorhizée avec *T. clavaryi* (en milieu pauvre en phosphore), les cellules corticales (CH) sont envahies par des hyphes (E). **d :** racine d'*H. guttatum* mycorhizée avec *T. arenaria* en terre de truffière pauvre en phosphore, on observe des ectendomycorhizes sans manteau, avec un réseau de Hartig et des hyphes intracellulaires. E, endophyte (Fortas, 1990; Fortas et Chevalier, 1992 b).

L'association mycorhizienne entre *H. ovatum* et *T. terfezioides* réalisée par Kovacs *et al.* (2003) sur des milieux à différentes concentrations en phosphore a abouti à la formation des ectendomycorhizes sans manteau. Ces auteurs concluent que l'élévation de la teneur en phosphore dans le milieu intensifie la colonisation des racines par le mycosymbiote.

Zaretsky *et al.* (2006) ont décrit dans l'association entre *Terfezia boudieri* et des clones de racines transformées de *Cistus incanus*, que la transition de formation d'ectomycorhizes vers celles d'endomycorhizes dépend de l'isolat fongique et de la variabilité de sensibilité à l'acide indolacétique dans la plante hôte, qui peut être reliée à l'interdépendance entre le niveau du phosphate exogène et celui des auxines. Ces dernières semblent inhiber la formation d'endomycorhizes à des teneurs élevées.

Slama *et al.* (2012) ont obtenu des endomycorhizes dans l'association entre *H. sessiliflorum* (= *Helianthemum lippii*) et *T. boudieri*.

Navarro-Rodenas *et al.* (2012) ont étudié *in vitro* l'influence de la source et la concentration du phosphore sur le type de mycorhize dans l'association *H. almeriense* x *T. claveryi*. Les plants cultivés sur un milieu dépourvu de phosphore ont présenté des pourcentages plus élevés en ectomycorhizes et plus faibles en endomycorhizes. Des pourcentages élevés d'endomycorhizes et d'ectendomycorhizes et de faibles pourcentages d'ectomycorhizes sont obtenus sur un milieu contenant du phosphore inorganique (le phytate).

Navarro-Rodenas *et al.* (2013) ont démontré que le stress hydrique induit un changement du type de mycorhize formé par *T. claveryi* sur *H. almeriense*. Le champignon forme des ectomycorhizes ou des ectendomycorhizes chez les plantes bien irriguées et des endomycorhizes sous des conditions de stress hydrique.

L'association mycorhizienne entre *H. lippii* et deux espèces de *Tirmania* (*T. pinoyi* et *T. nivea*) a conduit à la formation d'endomycorhizes (Kermani, 2013).

10.3. Chez les espèces arborescentes :

Bratek *et al.* (1996) ont obtenu des endomycorhizes dans l'association entre des plants de *Robinia pseudoacacia* micropropagés et le mycélium de *T. terfezioides* tandis que Kovacs *et al.* (2003) ont obtenu des ectendomycorhizes sans manteau dans cette même association. Ces auteurs ont suggéré que le terme de "mycorhizes terfezioides" serait probablement plus adapté que celui « d'hélianthémoïdes » pour qualifier les mycorhizes des *Terfezia*.

Une synthèse mycorhizienne réalisée par Chafi *et al.* (2004) entre *Pinus halepensis* et *T. pinoyi* en conditions gnotoxéniques a abouti à la formation d'ectomycorhizes.

Dib-Bellahouel (2012) a associé *T. leptoderma* à deux essences forestières *P. halepensis* et *Quercus ilex*, le champignon a formé des ectomycorhizes. Des résultats analogues ont été obtenus par Bouazza (2013) dans les associations synthétisées entre *Q. ilex* / *T. leptoderma* ou *T. pinoyi*. Cependant, *T. pinoyi* / *P. halepensis* a formé une ectomycorhize avec un manteau lâche tandis que *T. leptoderma* a formé des ectomycorhizes sans manteau.

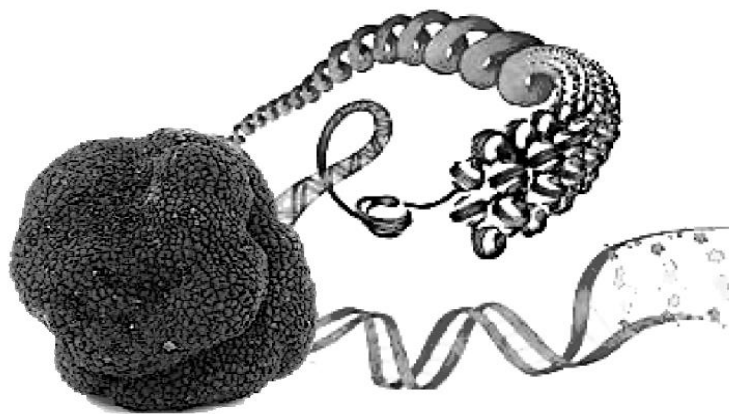
Deuxième partie :

Etude expérimentale

Rapport-Gratuit.com

Chapitre II :

Phylogénie moléculaire et diversité génétique des truffes du désert d'Algérie



La première partie de ce chapitre a fait l'objet d'un article publié dans le journal Plos One (Impact Factor « 2014/2015 » : 3.23).

Article 1: 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* (Pyronemataceae, Pezizales). PLoS ONE, 10 (9):1-16. e0138513. doi:10.1371/journal.pone.0138513.

RESEARCH ARTICLE

Contrasted Genetic Diversity, Relevance of Climate and Host Plants, and Comments on the Taxonomic Problems of the Genus *Picoa* (Pyronemataceae, Pezizales)

Fatima El-Houaria Zitouni-Haouar¹✉, Pablo Alvarado²✉, Imed Sbissi^{3,4*}, Abdellatif Boudabous⁴, Zohra Fortas¹, Gabriel Moreno², José Luis Manjón², Maher Gtari⁴

1 Laboratoire de Biologie des Microorganismes et de Biotechnologie, Département de Biotechnologie, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université d'Oran 1, Ahmed Ben Bella, Algérie,

2 Departamento Ciencias de la Vida, Universidad de Alcalá, 28871, Alcalá de Henares, Madrid, Spain,

3 Laboratoire d'Ecologie Pastorale, Institut des Régions Arides, 4119, Médenine. Tunisia, **4** Laboratoire Microorganismes and Biomolécules Actives, Université Tunis El Manar & Université de Carthage, Campus Universitaire, 2092, Tunis, Tunisia

✉ These authors contributed equally to this work.

* sbissimed@gmail.com



OPEN ACCESS

Citation: Zitouni-Haouar FE-H, Alvarado P, Sbissi I, Boudabous A, Fortas Z, Moreno G, et al. (2015) Contrasted Genetic Diversity, Relevance of Climate and Host Plants, and Comments on the Taxonomic Problems of the Genus *Picoa* (Pyronemataceae, Pezizales). PLoS ONE 10(9): e0138513. doi:10.1371/journal.pone.0138513

Editor: Helge Thorsten Lumbsch, Field Museum of Natural History, UNITED STATES

Received: April 27, 2015

Accepted: August 30, 2015

Published: September 21, 2015

Copyright: © 2015 Zitouni-Haouar et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: The sequences used in this study are available in public databases GenBank/EMBL/DDBJ under the accession numbers: ITS JN392146-JN392176, KR073950-KR073974, KT350943-KT350950 28S LSU JN392177-JN392201, KT350951-KT350961 RPB2 KT350962-KT350978 β-tubulin JN392123-JN392143, KR073929-KR073949.

Funding: This work was supported by the Tunisian Ministry of Higher Education and Scientific Research (LR03ES03); Algerian Ministry of Higher Education

Abstract

The species concept within the genus *Picoa* Vittad. is here revisited in light of new molecular and ecological data obtained from samples collected throughout the Mediterranean basin. Two highly diverse widespread clades and four additional minor lineages were significantly supported by three genes dataset (ITS, 28S LSU and RPB2) inferences for 70 specimens. The two widespread clades occur in very different geographical and ecological areas associated with exclusive host plants in the genus *Helianthemum*. SEM study of spore surface morphology in these lineages revealed the existence of smooth ascospores in the majority of these clades. However the most frequent lineage in Europe and coastal North Africa displayed either smooth or verrucose spores. Hence this morphological criterion cannot be reliably used to discriminate between the different clades. In addition, SEM observations made on ascospores from several original collections of *P. juniperi* and *P. lefebvrei* supported the hypothesis that ornamentation depends on the degree of maturity in some of these lineages. Geographical and ecological, rather than morphological data are here suggested as the most useful characters to separate the different lineages in *Picoa*. Further studies focusing on these features are needed before the names *P. juniperi* and *P. lefebvrei* can be unambiguously linked with the genetic lineages observed.

Introduction

Specimens of *Picoa* Vittad. produce hypogeous ascomata that can be found in semi-arid and desert ecosystems of most countries around the Mediterranean basin and the Middle East



and Scientific Research; Spanish Ministry of Education and Culture FPU grant AP2006-00890, and the "Subprograma AGR del Ministerio de Ciencia y Innovación (Plan Nacional I+D+I)" Research Project AGL2009-12884-C03-03.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

[1,2,3,4,5,6,7,8,9]. They establish mycorrhizal associations with several annual and perennial xerophytic host plants in the Cistaceae, especially those in the genus *Helianthemum* [10]. These plants and their associated fungi may play a major role in the maintenance of Mediterranean shrublands and grasslands and help prevent erosion and desertification [11].

The genus *Picoa* was proposed by Vittadini [12] for *Picoa juniperi* Vittad., a hypogeous ascomycete collected in northern Italy close to *Juniperus* sp. and characterized by its black flat-warted surface, white gleba filled with pseudoveins, and globose asci with smooth globose spores. Since their first description to the present time, species of the genus *Picoa* have been subject to important changes in their nomenclatural and taxonomic position, being reassigned into other genera or else being invested as new genera themselves. In 1894, Patouillard [13] described the genus *Phaeangium* Pat. and its only species *Phaeangium lefebvrei* Pat. to accommodate a sample collected at Ras-el-Oued (southern Tunisia). He described it as a hypogeous ascomycete characterized by brownish ascoma with hairy unwarted peridium, homogeneously white gleba, and globose to subglobose stipitate asci containing smooth ovoid spores. On the basis of observations made on Hennings specimens, Maire [14] disputed the Patouillard description related to sporocarp surface and gleba structure and recombined the species as *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire stating the absence of clear distinctive characteristics between *Phaeangium* and *Picoa*. Alsheikh & Trappe [15] reexamined the original material of *Phaeangium lefebvrei* from different localities, Tunisia, Algeria, Lybia, Iraq as well as new collections of this species from Kuwait. The spore ornamentation at maturity and the tomentous peridium placed *Phaeangium lefebvrei* again as the unique species of the *Phaeangium* genus [15]. These authors considered the smooth spores observed in the type specimen of *P. lefebvrei* as immature, and synonymised it with the Algerian species *Terfezia schweinfurthii* Hennings, which was reported to have warty spores. Moreno et al. [1] argued that *P. juniperi* and *P. lefebvrei* should be considered congeneric based on their similarities in peridial tomentum, overall colour of the ascoma, and spore ornamentation. Læssøe & Hansen [16] indicated that some earlier unpublished molecular results of O'Donnell et al. [17] already linked *P. juniperi* with the genus *Otidea* (Pers.) Bonord. within the Pyronemataceae. The first published sequences by Gutierrez et al. [10] confirmed this taxonomic affiliation. Sbissi et al. [4] agreed with the membership of both species in the genus *Picoa* close to *Geopora cooperi* Hark. within Pyronemataceae. In this work, smooth-spored samples from Tunisia were identified as *P. juniperi*, and those from Europe with minutely warted spores were named *P. lefebvrei*. The status of a third lineage of African samples with smooth spores could not be resolved. In the works of Ammarellou et al. [5] and Jamali & Banihashemi [7,8], new samples from Iran were sequenced, leading to similar conclusions. Unfortunately, no European samples with smooth spores were included in their analysis. Tedersoo and Smith [18] confirmed one more time the nesting of *Picoa lefebvrei* within *Pyronemataceae* next to its neighbor species *Geopora cooperi*. A third species in *Picoa*, *P. carthusiana* Tul & C. Tul, was found to be closely related to the Morchellaceae–Helvellaceae on the basis of morphological [19] and molecular data [17]. This species was combined in the genus *Leucangium* Quél. by Saccardo [20] as *Leucangium carthusianum* (Tul. & C. Tul.) Paol. It is currently considered as synonym of the type species of its genus, *Leucangium ophthalmosporum* Quél [16]. In 1956, Lange described *Picoa pachyascus* M. Lange, the first American representative species of this genus. However, it has been synonymised with the type species of *Imaia* Trappe & Kovács, *Imaia gigantea* (S. Imai) Trappe & Kovács [21]. Finally, Moreno et al. [22] described the last species in the genus, *Picoa melospora* G. Moreno, J. Díez & Manjón, which was treated later as *Tuber melosporum* (G. Moreno, J. Díez & Manjón) P. Alvarado, G. Moreno, J.L. Manjón & Díez [23].

In the present work, samples from most Mediterranean countries were analyzed in order to improve our understanding of the biogeographic and phylogenetic relationships between the

different lineages of *Picoa*. SEM was employed to study spore ornamentation in newly collected specimens and original herbarium collections of *P. juniperi* and *P. lefebvrei*, and results were compared with phylogenetic data from multilocus sequences to evaluate the taxonomic importance of this morphological feature.

Material And Methods

Ethics statement

Truffles of the genus *Picoa* are not listed in any national or regional law as protected or endangered species. The collection of specimens was not subjected to any restriction or specific permissions. Samples were harvested from open lands that are not privately-owned or protected and no specific permissions were required for these collection sites by the local authorities.

Fungal specimens

Ascomata were collected from a wide variety of habitats and regions across the Mediterranean basin ([S1 Text](#)), including semi-arid environments in the European shore (France, Italy, Spain, Greece), semi-arid habitats in the African shore (Algeria) and Middle East (Iran), and more deserted regions near Saharan desert in Africa (Algeria, Tunisia) and Middle East Syrian desert (Israel). Dried samples from Europe, Iran and Israel were preserved at Universidad de Alcalá herbarium (AH). Original collections of *Picoa juniperi*, *P. lefebvrei* and *Terfezia schweinfurthii* were studied and compared with the newly collected samples. Autoptic material from their original authors was kindly loaned by Farlow Herbarium (FH), Botanische Staatssammlung München (M), and Swedish Museum of Natural History (S). Morphological study of asci and ascospores was conducted using an Olympus CX22 microscope. Ascospore ornamentation was examined and photographed with a scanning electron microscopy (SEM) device JEOL JSM-6610LV at University of Science and Technology of Oran, or else with a Zeiss DSM-950 instrument at University of Alcalá.

DNA extraction, PCR amplification and sequencing

DNA from Algerian specimens was extracted from approximately 25 mg of dried samples from each sample. Tissues of the gleba were ground in liquid nitrogen and the ascomata Genomic DNAs were isolated using ABIopure™ Genomic DNA Plant Extraction Kit (Alliance Bio, USA) according to the manufacturer's instructions. Extracts were eluted in 50 µl of Elution Buffer supplied in the kit and stored at -20°C. DNA concentration was estimated using a Nano-Drop spectrophotometer (Thermo Scientific). Four different loci were amplified from DNA template by means of polymerase chain reaction (PCR). ITS rDNA was amplified using the primer pair ITS1 and ITS4 [24], large ribosomal subunit (28S nLSU) was obtained using primers LR0R and LR5 [25], β-tubulin gene was amplified using the couple (Bt2a–Bt2b) [26], and RNA polymerase II second largest subunit using bRPB2-6F and bRPB2-7R [27]. PCR amplifications were performed in a 25 µl final volume. Cycling conditions consisted in an initial denaturation step at 95°C for 2 min, followed by 35 cycles of a 1-min denaturation at 94°C, annealing at 53°C (ITS rDNA) or, or 58°C (β-tubulin), 47°C (LSU rDNA) and 55°C (RPB2) for 1 min, and elongation at 72°C for 1 min, with a final extension step at 72°C for 10 min. Amplification products were analyzed in 1.5% agarose gel in 0.5× TBE buffer (89 mmol l⁻¹ Tris, 89 mmol l⁻¹ borate, 2 mmol l⁻¹ EDTA), stained with ethidium bromide, and visualized under UV light. The PCR products were enzymatically purified by exonuclease and alkaline phosphatase (Exo/SAP) and then bi-directionally sequenced. Sequence reactions were performed using the ABI PRISM™ 3130 Genetic Analyzer with Big Dye Terminator v3.1 Cycle

Sequencing kit (Applied Biosystems; HTDS, Tunisia) according to the manufacturer instructions. DNA from European, Iranian and Israelite samples was extracted and amplified following the methods described in previous publications [28]. ITS1 / ITS4; LR0R / LR5; Bt2a / Bt2b and bRPB2-6F / bRPB2-7R were employed for amplification and sequencing purposes. Sequences produced are available in public databases (Table 1).

Phylogenetic analysis

ITS rDNA and LSU nucleotide sequences were first compared with public databases using the BLAST algorithm [29] and then aligned with the sequences retrieved using the ClustalW application [30]. Simultaneously, a manual correction of sequences was conducted. The reference *Picoa* sequences came from Bidartondo & Doring (unpublished), Gutiérrez et al. [10], Sbissi et al. [4], and Jamali & Banihashemi [7,8]. Aligned loci were independently subjected to MrModeltest 2.3 [31] in PAUP* 4.0b10 [32]. The best models (SYM for ITS and RPB2, GTR for LSU) were implemented in MrBayes 3.1 [33], where a Bayesian analysis was performed (two simultaneous runs, six chains, temperature set to 0.2, sampling every 100th generation) until standard deviation of split frequencies was <0.01 after 1 320 000 (ITS) and 310 000 generations (LSU-RPB2-ITS). Finally a full search for the best-scoring maximum likelihood tree was performed in RAxML [34] using rapid bootstrap algorithm and model GTRMIX. Significance thresholds were set above 70% for bootstrap (BP) and 95% for posterior probability (PP).

Results

Phylogenetic analysis

The whole genus *Picoa*, with 82 new sequences, presented an overall 40.9% ITS divergence (208/508 differences, $n = 86$), and six different lineages were supported by phylogenetic inference. Sample AH 39246 from Spain (Lineage I) produced the most divergent sequence, being consistently identified as the most basal branch of the genus by all analyses. The remaining main clade included at least 5 major lineages (Fig 1). Lineage II is composed of exclusively African (Algeria, Tunisia) and Middle Eastern (Iraq, Israel) specimens. Lineage III is formed by the southernmost European specimens (Greece, and southern Spain). Lineage IV is composed also of European samples (Italy, Spain). Lineage V contains exclusively Tunisian specimens. Finally, the inclusive lineage VI comprises a large group of several monophyletic clades from mixed origins: VI-1 (Algeria), VI-2 (Algeria, Iran, Iraq), VI-3 (Algeria, Spain), VI-4 (France, Greece, Italy, Spain), VI-5 (Spain), VI-6 (Algeria, Spain), VI-7 (Algeria, Italy, Spain), VI-8 (Algeria) and VI-9 (Iran, Spain). Intra-lineage variability was also high: lineage II (19.2%, $n = 28$), lineage III (2.3%, $n = 2$), lineage IV (7.1%, $n = 3$), lineage V (3.2%, $n = 3$), and lineage VI (28.2%, $n = 57$). Within Lineage VI, the measured intra-clade variability was: VI-1 (5.6%, $n = 4$), VI-2 (8.2%, $n = 11$), VI-3 (4.4%, $n = 3$), VI-4 (0.2%, $n = 9$), VI-5 (0.4%, $n = 4$), VI-6 (1.3%, $n = 4$), VI-7 (1.1%, $n = 13$), VI-9 (3.7%, $n = 8$). On the other hand, the combined LSU-RPB2-ITS analysis successfully supported the same lineages (Fig 2). β -tubulin sequences showed scarce variability, and the analysis of this marker did not support any phylogenetic structure within *Picoa* (data not shown).

Morphologic analysis

Macroscopically, samples in lineages I, III and IV were black or blackish, with regularly polygonal or pyramidal warts (Fig 3). European samples in Lineage VI were black, blackish, dark grey or dark brown in color, and were covered with regularly polygonal or pyramidal warts, although some specimens were also minutely warted, giving a papillose appearance. African

Table 1. Collection of *Picoa* species studied in the present work.

Taxon	Coll. N°	Origin	ITS	28S LSU	RPB2	β-tubulin
<i>Picoa</i> sp.	AH19561	Córdoba, Spain	JN392155	-	-	JN392136
<i>Picoa</i> sp.	AH37801	Zaragoza, Spain	JN392169	JN392200	-	JN392135
<i>Picoa</i> sp.	AH37802	Ciudad-Real, Spain	JN392176	JN392192	-	JN392139
<i>Picoa</i> sp.	AH38893	Guadalajara, Madrid, Spain	JN392175	JN392193	-	JN392140
<i>Picoa</i> sp.	AH38906	Burgos, Spain	JN392166	JN392198	-	JN392125
<i>Picoa</i> sp.	AH38931	Burgos, Spain	JN392153	-	-	JN392137
<i>Picoa</i> sp.	AH38956	Guadalajara, Madrid, Spain	JN392165	-	-	JN392127
<i>Picoa</i> sp.	AH39001	Oristano, Sardinia, Italy	JN392173	-	-	-
<i>Picoa</i> sp.	AH39204	Botsvuara, Israel	JN392147	JN392187	-	-
<i>Picoa</i> sp.	AH39205	Bouches-du-Rhône, Marseille, France	JN392162	JN392184	-	-
<i>Picoa</i> sp.	AH39206	Oristano, Sardinia, Italy	JN392172	JN392190	-	JN392138
<i>Picoa</i> sp.	AH39207	Oristano, Sardinia, Italy	JN392164	JN392178	-	-
<i>Picoa</i> sp.	AH39035	Albacete, Spain	JN392150	-	-	JN392141
<i>Picoa</i> sp.	AH39139	Guadalajara, Madrid, Spain	JN392149	JN392191	-	JN392142
<i>Picoa</i> sp.	AH39246	Burgos, Spain	JN392151	JN392201	KT350965	JN392134
<i>Picoa</i> sp.	AH39247	Burgos, Spain	JN392154	JN392186	KT350971	JN392131
<i>Picoa</i> sp.	AH39248	Burgos, Spain	JN392158	JN392196	-	-
<i>Picoa</i> sp.	AH39268	Guadalajara, Madrid, Spain	JN392160	JN392194	KT350978	JN392128
<i>Picoa</i> sp.	AH39269	Madrid, Spain	JN392174	JN392189	KT350976	-
<i>Picoa</i> sp.	AH39270	Guadalajara, Madrid, Spain	JN392161	JN392195	-	-
<i>Picoa</i> sp.	AH39282	Oristano, Sardinia, Italy	JN392171	JN392179	-	-
<i>Picoa</i> sp.	AH39285	L'Aquila, Italy	JN392152	JN392185	-	JN392132
<i>Picoa</i> sp.	AH39286	Fars, Iran	JN392157	JN392180	-	-
<i>Picoa</i> sp.	AH39287	Fars, Iran	JN392148	JN392181	-	JN392143
<i>Picoa</i> sp.	AH19584	Botsuvha, Israel	JN392146	JN392188	-	JN392130
<i>Picoa</i> sp.	AH37794	Madrid, Spain	JN392170	-	-	JN392129
<i>Picoa</i> sp.	AH37802	Ciudad-Real, Spain	JN392176	JN392192	KT350977	JN392139
<i>Picoa</i> sp.	AH38913	Madrid, Spain	JN392167	JN392199	-	JN392126
<i>Picoa</i> sp.	AH38914	Zaragoza, Spain	JN392168	JN392197	-	-
<i>Picoa</i> sp.	AH39204	Botsvuara, Israel	JN392147	JN392187	-	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBH1	Tiaret, Benhamed, Algeria	KR073969	-	-	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBH2	Tiaret, Benhamed, Algeria	KR073955	-	-	KR073935
<i>Picoa</i> sp.	BMBH3	Tiaret, Benhamed, Algeria	KR073970	-	-	KR073947
<i>Picoa</i> sp.	BMBH4	Tiaret, Benhamed, Algeria	KR073971	-	-	KR073948
<i>Picoa</i> sp.	BMBH5	Tiaret, Benhamed, Algeria	-	-	-	KR073936
<i>Picoa</i> sp.	BMBH6	Tiaret, Benhamed, Algeria	-	-	-	KR073949
<i>Picoa</i> sp.	BMBH7	Tiaret, Benhamed, Algeria	KR073956	KT350959	KT350972	KR073937
<i>Picoa</i> sp.	BMBH8	Tiaret, Benhamed, Algeria	KR073957	-	-	KR073938
<i>Picoa</i> sp.	BMBH9	Tiaret, Benhamed, Algeria	KR073972	-	-	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBC10	Tiaret, Bouchouat, Algeria	KR073950	-	-	KR073929
<i>Picoa</i> sp.	BMBC11	Tiaret, Bouchouat, Algeria	KR073965	-	-	KR073943
<i>Picoa</i> sp.	BMBC12	Tiaret, Bouchouat, Algeria	KT350949	-	-	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBC13	Tiaret, Bouchouat, Algeria	KR073973	KT350961	KT350974	KR073944
<i>Picoa</i> sp.	BMBC14	Tiaret, Bouchouat, Algeria	KR073974	KT350960	KT350973	KR073945
<i>Picoa</i> sp.	BMBC15	Tiaret, Bouchouat, Algeria	KR073951	-	-	KR073930
<i>Picoa</i> sp.	BMBC16	Tiaret, Bouchouat, Algeria	-	-	-	KR073946
<i>Picoa</i> sp.	BMBC17	Tiaret, Bouchouat, Algeria	-	-	-	KR073931

(Continued)

Table 1. (Continued)

Taxon	Coll. N°	Origin	ITS	28S LSU	RPB2	β-tubulin
<i>Picoa</i> sp.	BMBC31	Tiaret, Bouchouat, Algeria	KT350950	KT350954	KT350964	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBZ32	Tiaret, Sidi Bou Zebboudj, Algeria	KT350946	-	-	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBD33	El-Bayadh, Mesbah, Algeria	KT350947	KT350953	-	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBD34	El-Bayadh, Mesbah, Algeria	KT350948	-	-	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBO18	Bechar, Beni Ounif, Algeria	KR073966	KT350956	KT350967	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBO19	Bechar, Beni Ounif, Algeria	KR073952	KT350955	KT350966	KR073940
<i>Picoa</i> sp.	BMBO20	Bechar, Beni Ounif, Algeria	KR073953	-	-	KR073939
<i>Picoa</i> sp.	BMBO21	Bechar, Beni Ounif, Algeria	KR073958	-	-	KR073932
<i>Picoa</i> sp.	BMBO22	Bechar, Beni Ounif, Algeria	KR073959	-	-	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBO23	Bechar, Beni Ounif, Algeria	KR073960	-	-	KR073933
<i>Picoa</i> sp.	BMBO24	Bechar, Beni Ounif, Algeria	KR073961	KT350957	KT350968	KR073934
<i>Picoa</i> sp.	BMBT25	Bechar, Tabelbala, Algeria	KR073967	-	-	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBT26	Bechar, Tabelbala, Algeria	KR073968	-	-	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBT27	Bechar, Tabelbala, Algeria	KR073954	-	-	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBT28	Bechar, Tabelbala, Algeria	KR073962	-	-	KR073941
<i>Picoa</i> sp.	BMBT29	Bechar, Tabelbala, Algeria	KR073963	-	-	-
<i>Picoa</i> sp.	BMBT30	Bechar, Tabelbala, Algeria	KR073964	KT350958	KT350969	KR073942
<i>Picoa</i> sp.	IRA-MBA SBa	Medenine, Tunisia	KT350943	KT350951	KT350962	-
<i>Picoa</i> sp.	IRA-MBA SBb	Sbitla, Tunisia	KT350944	KT350952	KT350963	-
<i>Picoa</i> sp.	IRA-MBA SBc	Mahdia, Tunisia	KT350945	-	-	-
<i>Picoa</i> sp.	VK2106	Attica, Greece	JN392156	JN392177	KT350970	JN392133
<i>Picoa</i> sp.	VK2148	Attica, Greece	JN392159	JN392182	KT350975	JN392123
<i>Picoa</i> sp.	VK2043	Attica, Greece	JN392163	JN392183	-	JN392124

doi:10.1371/journal.pone.0138513.t001

samples of Lineage VI were dark brown to reddish-brown, nearly smooth or covered with more or less small rounded to angular warts. African and Middle Eastern samples of lineage II were either black with pyramidal warts, brown or dark brown with minutely papillose warts, or sometimes presented widely separated warts, looking yellowish in their interspaces. Spore ornamentation was hardly visible with a light microscope and boundaries among these samples were only perceivable in SEM (Fig 4). Lineage II produces exclusively smooth spores, while Lineage VI produces mostly verrucose, but also smooth spores. All other minor clades, except the Lineage V, have smooth spores. The study of original material (Figs 4 and 5) revealed that the type collection of *Phaeangium lefebvrei* FH 301557 (leg. Lefebvre, entre Ras-el-Oued et El Hamdon, Tunisia, 1894) has perfectly smooth spores under SEM, while Patouillard’s collection Lloyd 48192 (Gafsa, Tunisia, 1898) and Maire’s collection M 157945 (Algiers, Hauts-Plateaux à Chellala, 1922) presented verrucose spores. Schweinfurth’s *Terfezia schweinfurthii* syntype S F8693 (Algeria, pr. Biskra, 1901) presented also smooth spores under SEM. The study of autopic material of Vittadini’s *P. juniperi* in Mattiolo’s herbarium at Padova WU 10–145 (ex PAD) revealed the presence of both smooth and verrucose spores in the same sample.

Discussion

The present work provides a comprehensive view of phylogenetic diversity in *Picoa* around the Mediterranean basin. A high degree of genetic variability was found in the whole genus and within its major clades with ITS analysis. A combined LSU-RPB2-ITS multigenic analysis largely supported the same clades obtained from ITS inference, while β-tubulin failed to

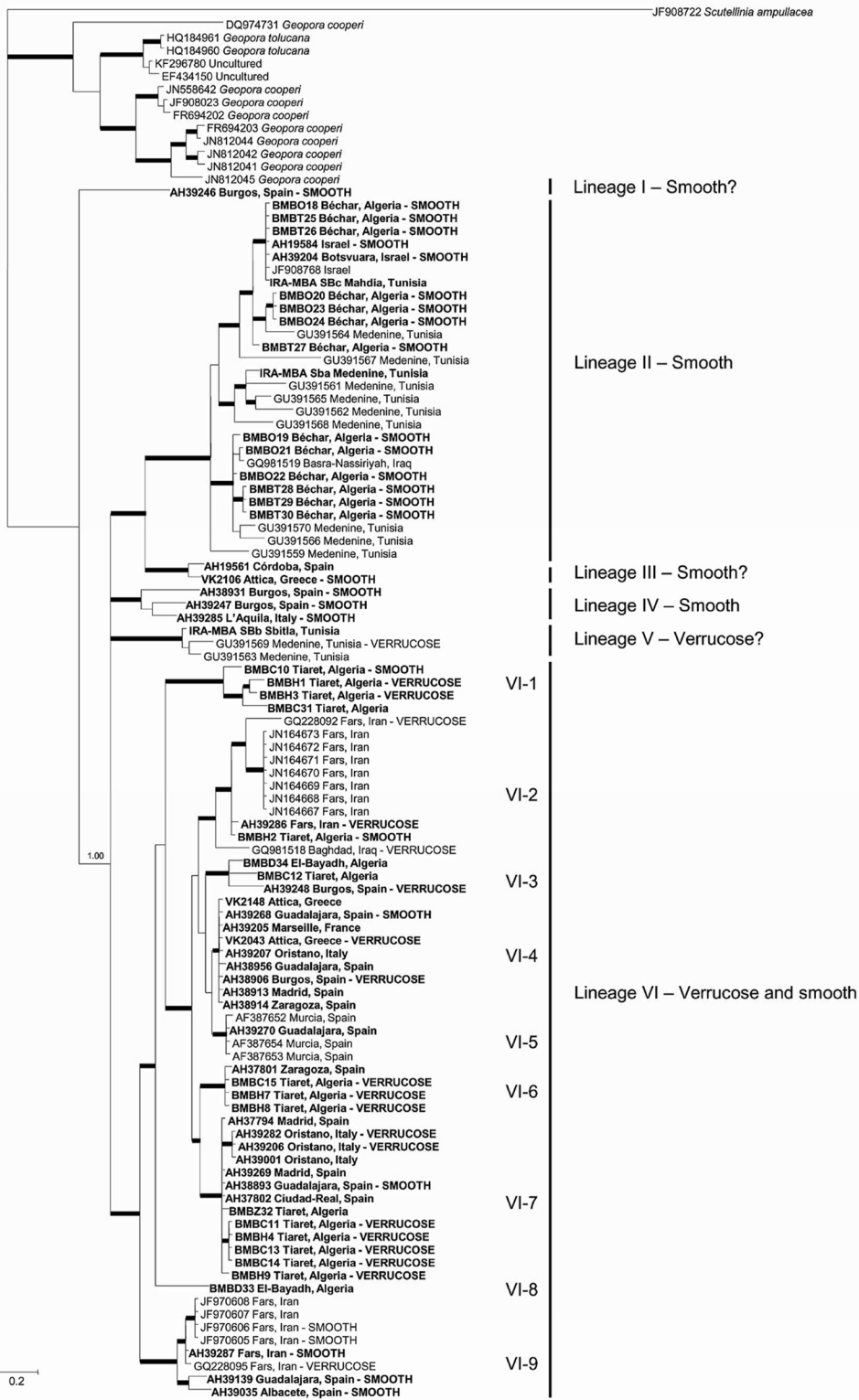


Fig 1. ITS consensus Bayesian phylogram of genus *Picoa* and its sister taxon *Geopora* reconstructed in MrBayes 3.1. Bold nodes are significantly supported by both inference methods employed (>70% BP and >95% PP). Nodes annotated were significantly supported by only one of these methods. Values represent Bayesian posterior probabilities, and RAxML bootstrap proportions, respectively.

doi:10.1371/journal.pone.0138513.g001

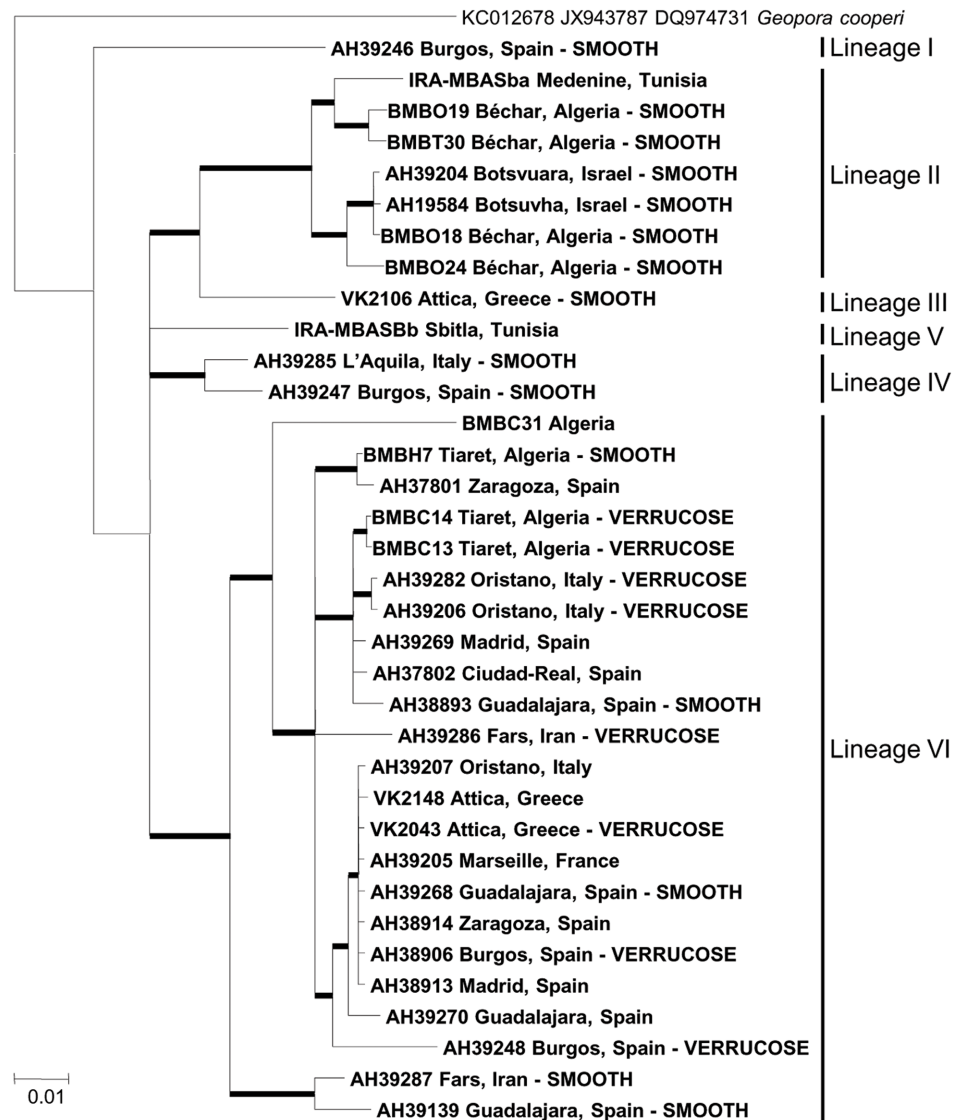


Fig 2. LSU-RPB2-ITS consensus Bayesian phylogram of genus *Picoa* reconstructed in MrBayes 3.1. Bold nodes are significantly supported by both inference methods employed (>70% BP and >95% PP). Nodes annotated were significantly supported by only one of these methods. Values represent Bayesian posterior probabilities, and RAxML bootstrap proportions, respectively.

doi:10.1371/journal.pone.0138513.g002

support any distinct lineage at all. Among the four regions analyzed, the internal transcribed spacer (ITS) region has a high amplification and sequencing success rate, and therefore we propose ITS as the suitable barcode for *Picoa*. β -tubulin was consistently the worst performing marker, with a non-discrimination power. The ITS region has the highest probability of successful identification for the broadest range of fungi and it was formally proposed to the Consortium for the Barcode of Life for adoption as the primary fungal barcode marker [35]. A high cryptic diversity can be observed also in the sister genus *Geopora*, where a number of distinct genetic lineages with high intraspecific diversity and few characteristic morphological features exist [36], but only one of them, *Geopora toluicana*, has been proposed as a new independent taxon because of its brownish hymenium, different from the typical whitish one of *G. cooperi* [37]. Results from the present analyses again provide strong evidence on the close relationships



Fig 3. Macroscopical images of some of the samples studied. a. AH 39247; b. AH 39268; c. VK 2043; d. VK 2106; e. AH 38906; f. AH 39139; g. AH 38893; h. AH 38956; i. VK 2148; j. habitat of *Picoa* in Castilblanco de Henares (Guadalajara, Spain); k. habitat of *Picoa* under *Helianthemum lippii* var. *sissiliflorum*; l. BMBC15; m. BMBH4.

doi:10.1371/journal.pone.0138513.g003

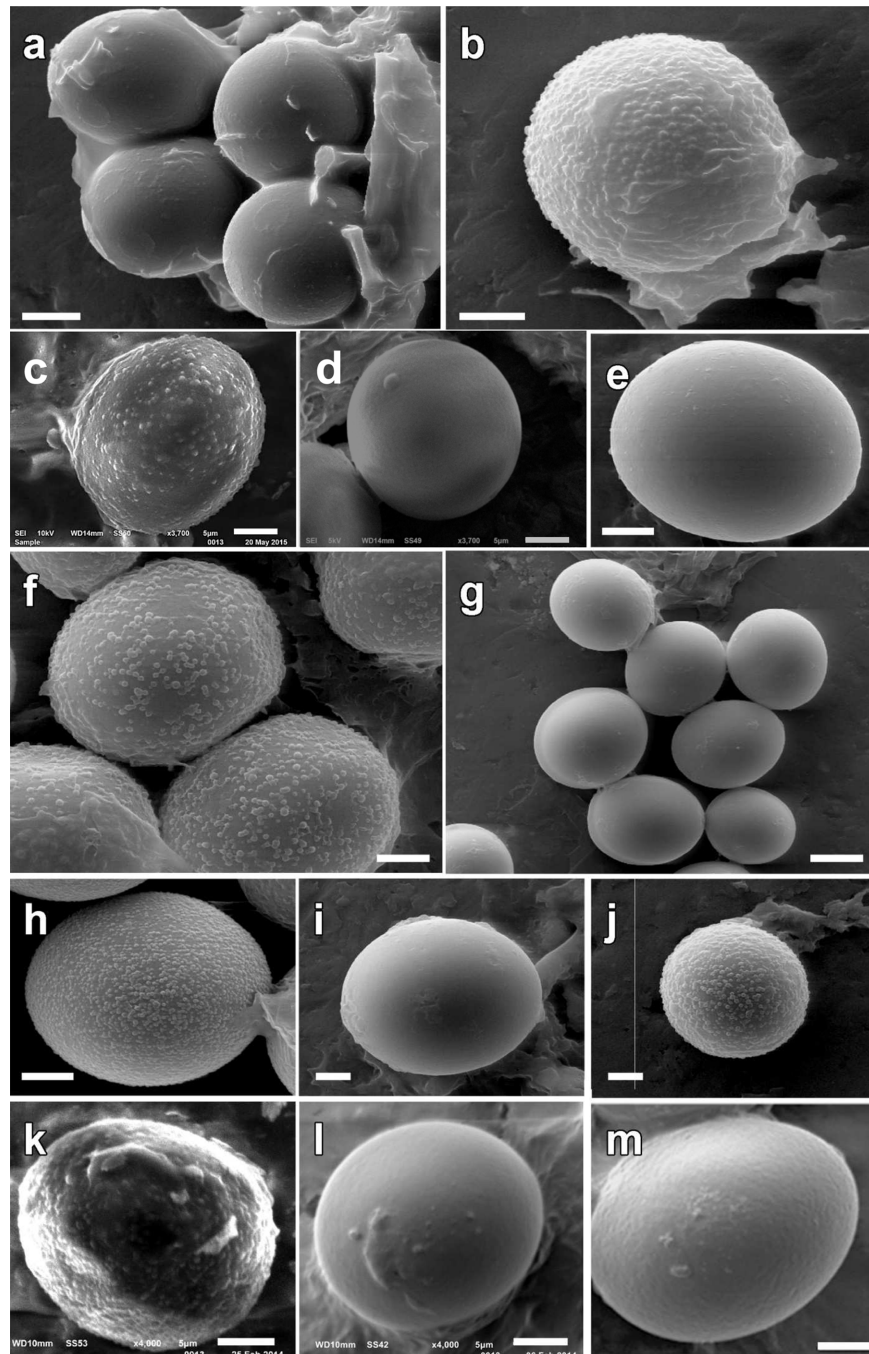


Fig 4. SEM and LM images of some of the samples studied. **a-b.** Autoptic specimen of *Picoa juniperi* from Vittadini's herbarium WU10-145 ex PAD; **c.** BMBH1; **d.** BMBT26; **e.** AH 19584; **f.** M-0157945; **g.** AH 39246; **h.** AH 39286; **i.** AH 38931; **j.** AH 39206; **k.** BMBH9; **l.** BMBH5; **m.** BMBO19. Bars: **a** = 10 µm; **b** = 5 µm; **c-d** = 5 µm; **e-f** = 5 µm; **g** = 10 µm; **h-j** = 5 µm; **k-l-m** = 5 µm.

doi:10.1371/journal.pone.0138513.g004

between *Picoa* and *Geopora* species, particularly *Geopora cooperi*; and clearly supported the nesting of *Picoa* within the Pyronemataceae. Several studies supported the deep nesting of *Picoa* within the *Geopora* lineage [4,5,7,8,18,37,38] as a sister taxon of *G. cooperi* [4,18,37,38]. Perry et al. [39] pointed out a difficulty in delineating Pyronemataceae family due to the

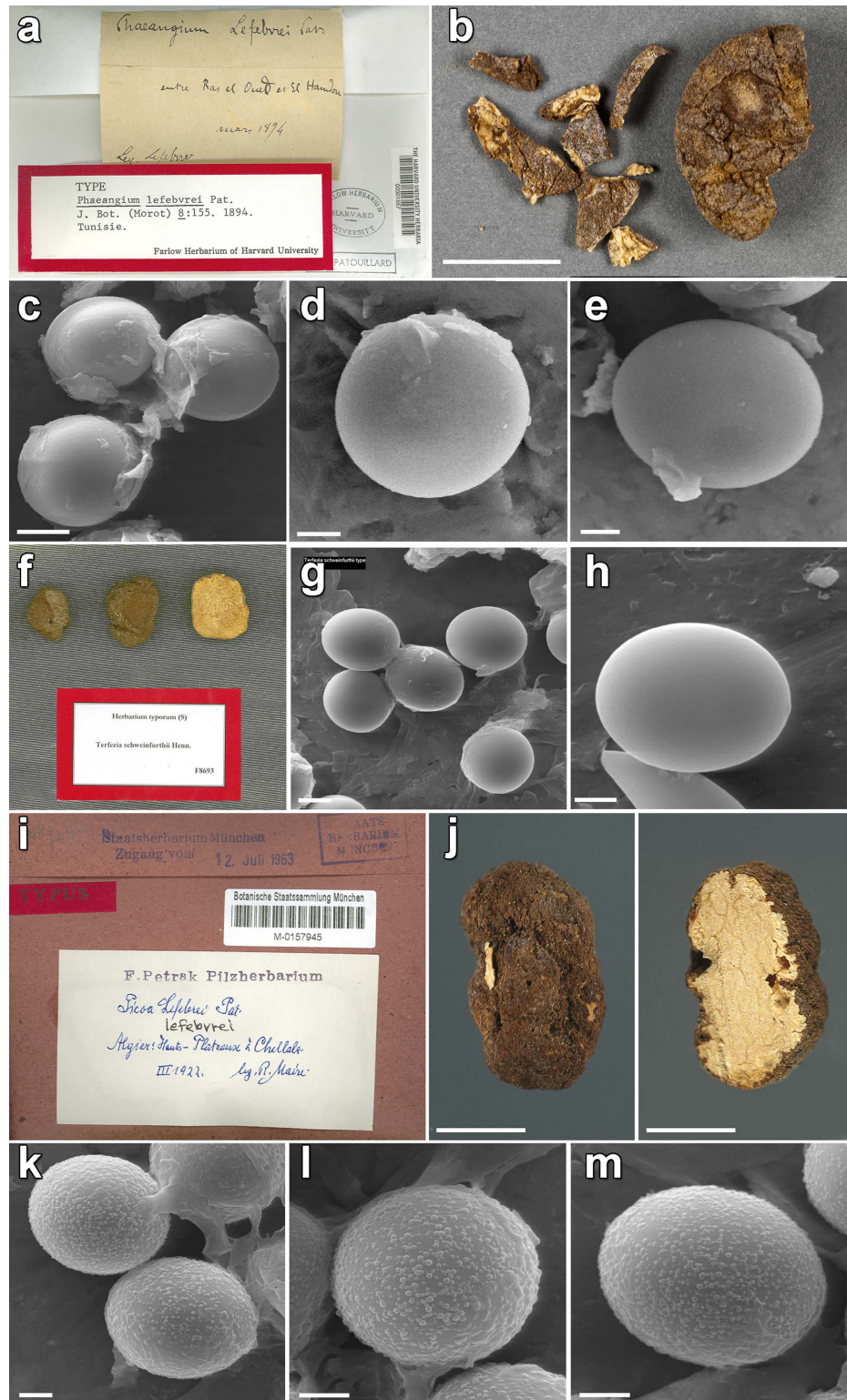


Fig 5. Type studies in African *Picoa* lineage. a-e. *Phaeangium lefebvrei* holotype FH 301557; f-h. *Terfezia schweinfurthii* syntype S F8693; i-m. *Picoa lefebvrei* M 157945. Bars: 5 μ m.

doi:10.1371/journal.pone.0138513.g005

absence of clear combinations of characters, either macro- or microscopically. These authors suggest that morphological characters traditionally used to segregate this family into subfamilial groups are not phylogenetically informative above the genus level [39]. Of the six genetic lineages identified in *Picoa*, four of them (I, III, IV and V) are yet too poorly represented to draw reliable hypothesis on their ecology and distribution. The remaining two (II and VI) clearly differ in their bioclimatic origin (arid / Lineage II; semi-arid / Lineage VI) (Fig 6), and putative host plants, but share most morphological features, excepting that Lineage II never produces verrucose spores. Morphological species delimitation within *Picoa* has always been challenging since diagnostic characters have been considered often ambiguous [13,22]. Spore surface is widely thought to be smooth in *P. juniperi* and warty in *P. lefebvrei* [40], despite the fact that *P. lefebvrei* was originally described with smooth spores [13]. Alsheikh & Trappe (1983) [15] checked Patouillard's type collection (FH 301557, leg. Lefebvre, entre Ras-el-Oued et El Hamdon, Tunisia, 1894) and verified it has smooth spores under light microscope, but considered them to be immature. Pacioni & El-Kholy [41] and Moreno et al. [22] found new African and Middle-Eastern collections with smooth spores under SEM, but they also attributed this fact to insufficient maturity. In the present work, we confirm that the type specimens of *P. lefebvrei* and *T. schweinfurthii* have smooth spores under SEM, in accordance with their respective protologues, while other African collections from Patouillard and Maire exhibit verrucose spores. It is here demonstrated also that the most widespread lineage in Africa and Middle East produces exclusively smooth spores. On the other hand, SEM images of an original collection of Vittadini in Mattiolo's herbarium WU 10-145 (ex PAD) revealed the presence of smooth and verrucose spores in the same sample. This could be the result of a contamination, but most probably an intermediate developmental stage. Most newly collected European

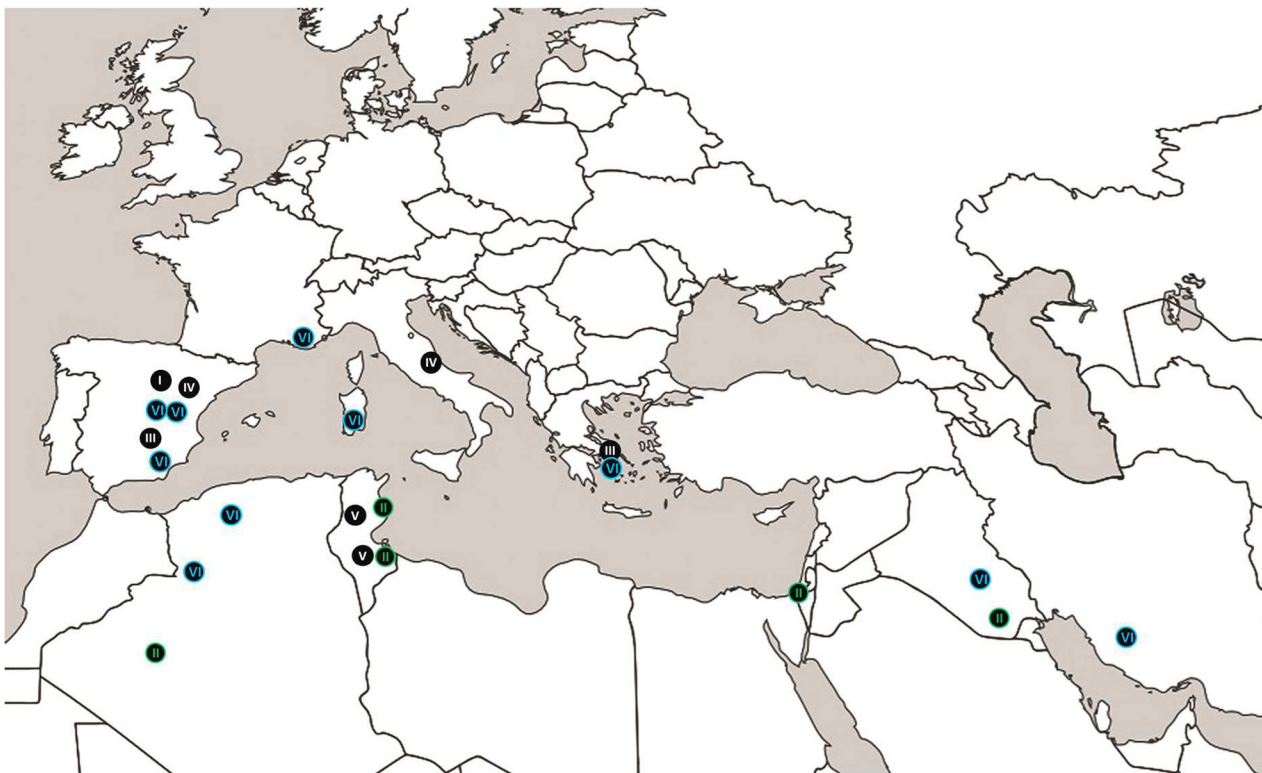


Fig 6. Geographic origin of the collections belonging to the two major lineages observed. Lineage II in green; lineage VI in blue.

doi:10.1371/journal.pone.0138513.g006

specimens of *Picoa* display exclusively verrucose spores (Lineage VI), although some collections have smooth spores instead. The same can be seen in Algerian specimens of Lineage VI. Results of these analyses reveal a strong taxonomic affinity between the two species. Whereas the lineage II was consistently smooth, the lack of spore ornamentation in immature ascomata of the remaining lineages was very likely the main difficulty that has prevailed in *Picoa* species delimitation. The genetic pattern within *Picoa* seems to correlate well with ecological features and putative host plants in the genus *Helianthemum*, which may have played a key role in their evolution. The Lineages II and V reflect a predominant presence of the perennial *Helianthemum* shrubs *H. lippii* in the Algerian and Tunisian specimens. This *Helianthemum* species is also reported as a putative host in Israeli desertic areas [42] although the sample AH 19584 (Lineage II) was collected under *H. kahiricum*. The only putative sequence from Botswana stored in GenBank is the result of an inappropriate transcription, and comes from Kibbutz Revivim, Israel (Giusto Giovanetti, pers. comm.). It is currently a part of A. Montecchi's personal collection [40]. Lineage VI is associated with several annuals and perennials *Helianthemum* species; *H. salicifolium* and *H. hirtum* in the Algerian samples from semiarid habitats; *H. ledifolium* in the Iranian semiarid areas of Fars province [7,8]; *H. ledifolium* and *H. salicifolium* in the Spanish sample AH 37802 and *Juniperus oxycedrus*, *Cistus* sp., *Ephedra* sp. and *Pistacia* sp. in Italian sample AH 39001. In Spain, Honrubia [11] and Gutiérrez et al. [10] noted a mycorrhizal association between *Picoa* (Lineage VI) and *H. almeriense*. In France, it was linked to *H. nummularium* [43,44]. However, the ecological data of Lineages III and IV do not include any *Helianthemum* species. Indeed, sample VK 2106 (Lineage III) was collected under *Fumana* sp., *Pinus* sp. and *Cistus monspeliensis*; AH 38931 and AH 39247 (Lineage IV) were harvested under *Quercus* spp., with some *Cistus* plants present. Finally, sample AH 39246 (Lineage I) was found in a treeless mixed field with *Cistus*, *Tuberaria* and *Helianthemum*.

The distribution areas of lineages II and VI seem to be mutually exclusive, actually matching different biogeographical provinces of Palearctic realm as delimited by Urdvardy [45]. This suggests that host plants or edapho-climatic conditions play an important role in the distribution of *Picoa* [46,47,48,49,50] and could be driving the speciation process in these hypogeous fungi. However, the existence of additional minor lineages suggests that some degree of sympatric evolution can take place, and so putative hosts are here regarded as the most probable factor behind the observed pattern. Both groups of *Helianthemum* hosts belong in fact to distinct sections and phylogenetic lineages within this genus [51,52]. Unfortunately, the taxonomic treatment of the different ecological lineages in *Picoa* is not fully clear, due to the lack of information about putative *Helianthemum* hosts in the original protologues of *P. juniperi* or *Ph. lefebvrei* which require more studies. One of the features mentioned by Vittadini in his description of *P. juniperi* is that this species was collected under *Juniperus* sp. Only one sample analyzed in the present study matched this condition (AH 39001, Is Arenas, Sardinia, Italy), and its molecular profile linked it to Lineage VI. Interestingly, another feature mentioned by Vittadini was that *P. juniperi* specimens fruit in autumn and winter along with other edible truffles, and they are even sold mixed with them in the markets. In the present work, only two samples AH 38893 and AH 39139 (both in Lineage VI) were collected in autumn or early winter (November-December), all others being found in late winter or spring (February-May), excepting samples in Lineage IV, which were all collected even later, in summer (June-July). It is hence tempting to associate the name *P. juniperi* with lineage VI (which is also the most widespread in Europe). On the other hand, *P. lefebvrei* type was collected at Ras-el-Oued, south of Gabes [13], where the dominant *Helianthemum* host is *H. lippii*, a host with uncertain presence in Europe [53]. Because of this host distinction, this name can only be applied to Lineages II or V, and it is tempting to use it for Lineage II, the most widespread in Africa and Middle East. Unfortunately, we lack conclusive ecological information about the putative hosts and

fruiting season of the minor lineages (I, III, IV and V), and so we cannot reject the possibility that either *P. juniperi* or *P. lefebvrei* were proposed for specimens of these clades. It is even possible that some or all subclades within lineage VI (VI-1 to VI-9) should be considered independent taxa if no intermediate specimens can be found and some apomorphic features can be identified (e.g. affinity for a specific *Helianthemum* host). Further studies including richer sampling and providing more accurate data on these key ecological parameters are needed to understand the processes of speciation in these conspicuous species.

Supporting Information

S1 Text. Fungal samples used in this study.
(PDF)

Acknowledgments

We express our gratitude to Dr. Sahraoui T., University of Science and Technology of Oran, Algeria for the valuable assistance in the SEM observations. We would like to thank Dr. Martin I. Bidartondo from the Imperial College London for kindly providing the geographic origin of some reference specimens used in this study. This work was partially financed by the Spanish Ministry of Education and Culture FPU grant AP2006-00890, and the “Subprograma AGR del Ministerio de Ciencia y Innovación (Plan Nacional I+D+I)” Research Project AGL2009-12884-C03-03. We wish to express our gratitude to Dr. B. Aguirre-Hudson, Dr. S. Jamali, V. Kaounas, A. Montecchi, Dr. G. Pacioni, A. Rodríguez, F. Sáinz, and M.A. Sáinz for providing sequences, samples, images and unvaluable ecological data, and also to Dr. J.M. Trappe and Dr. G. Pacioni for their helpful comments on this work. Authors thank L. Monje and A. Puebla of the Department of Drawing and Scientific Photography, A. Priego and J.A. Pérez of the Electron Microscopy Service, and Dr. J. Rejos, curator of the AH herbarium at the University of Alcalá.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: MG ZF PA. Performed the experiments: FE-HZ-H PA IS. Analyzed the data: PA IS MG. Contributed reagents/materials/analysis tools: AB ZF GM JLM MG. Wrote the paper: IS PA MG.

References

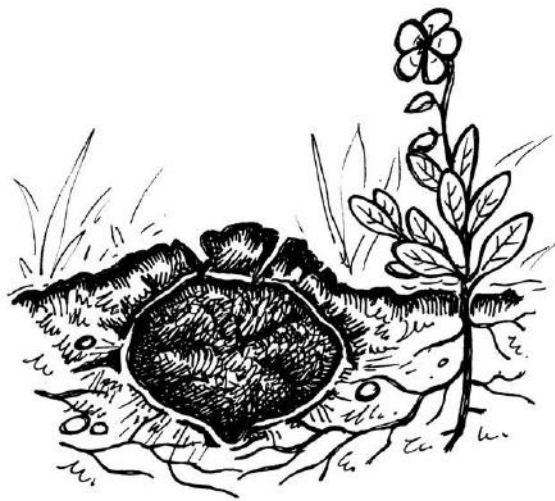
1. Moreno G, Diez J, Manjon JL (2000b) *Picoa lefebvrei* and *Tirmania nivea*, two rare hypogeous fungi from Spain. *Mycol Res* 104:378–381.
2. Calonge FD, García A, Sanz M, Bastardo J (2003) Some interesting fungi found in Spain, with special reference to the province of Valladolid. *Mycologia italiana* 2:45–52.
3. Gücin F, Kaya A, Soylu MK (2010). *Picoa* Vittad., a new truffle genus record for Turkey. *BioDiCon* 3: 23–25.
4. Sbissi I, Neffati M, Boudabous A, Murat C, Gtari M (2010) Phylogenetic affiliation of the desert truffles *Picoa juniperi* and *Picoa lefebvrei*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 98:429–436. doi: [10.1007/s10482-010-9456-y](https://doi.org/10.1007/s10482-010-9456-y) PMID: [20559873](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20559873/)
5. Ammarellou A, Smith ME, Tajick MA, Trappe JM (2011) The Phylogenetic placement of *Picoa*, with a first report on *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire (= *Phaeangium lefebvrei*) from Iran. *Int J Environ Res* 5 (2):509–514.
6. Bawadekji A, Gargano ML, Saitta A, Venturella G (2012) A new record of the desert truffle *Picoa lefebvrei* in Saudi Arabia. *Mycotaxon* 122: 243–247.
7. Jamali S, Banihashemi Z (2012) Hosts and Distribution of Desert Truffles in Iran, Based on Morphological and Molecular Criteria. *J Agr Sci Tech* 14: 1379–1396.

8. Jamali S, Banihashemi Z (2013) Species-specific ITS primers for the identification of *Picoa juniperi* and *Picoa lefebvrei* and using nested-PCR for detection of *P. juniperi* in planta. *Mol Biol Rep* 40:5701–5712. doi: [10.1007/s11033-013-2672-6](https://doi.org/10.1007/s11033-013-2672-6) PMID: [24065525](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24065525/)
9. Türkoğlu A 1, Castellano MA (2014) New records of some Ascomycete truffle fungi from Turkey. *Turkish Journal of Botany* 38: 406–416.
10. Gutiérrez A., Morte A., Honrubia M. (2003) Morphological characterization of the mycorrhiza formed by *Helianthemum almeriense* Pau with *Terfezia claveryi* Chatin and *Picoa lefebvrei* (Pat) Maire. *Mycorrhiza*. 13: 299–307. PMID: [12721817](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12721817/)
11. Honrubia M, Cano A, Molina Ninirola C (1992). Hypogeous fungi from Southern Spanish semiarid lands. *Persoonia*. 14: 647–653.
12. Vittadini C (1831) *Monographia Tuberacearum*. Rusconi. Milán
13. Patouillard N (1894) Les téréz de la Tunisie. *J Bot* 8:153–156.
14. Maire R (1906) Notes mycologiques. *Ann Mycol* 4:329–399.
15. Alsheikh AM, Trappe JM (1983) Taxonomy of *Phaeangium lefebvrei*, a desert truffle eaten by birds. *Can J Bot* 61:1919–1925.
16. Læssøe T, Hansen K. 2007. Truffle trouble: what happened to the Tuberales? *Mycol Res* 111:1075–1099. PMID: [18022534](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18022534/)
17. O'Donnell K, Cigelnic E, Weber NS, Trappe JM (1997) Phylogenetic relationships among ascomycetous truffles and the true and false morels inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequence analysis. *Mycologia* 89:48–65.
18. Tedersoo L, Smith M (2013) Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: Foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. *Fungal biology reviews* 27: 83–99
19. Li L-T. 1997. Ultrastructural studies of *Leucangium carthusianum* (hypogeous Pezizales). *International Journal of Plant Sciences* 158:189–197.
20. Saccardo PA. (1889) *Sylloge Fungorum* VIII: 900
21. Kovács GM, Trappe JM, Alsheikh AM, Bóka K, Elliott T. (2008) *Imaia*, a new truffle genus to accommodate *Terfezia gigantea*. *Mycologia*, 100(6), 930–939. PMID: [19202847](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19202847/)
22. Moreno G, Diez GJ, Manjon JL (2000a) *Picoa melospora* sp. nov (Pezizales) from the Iberian Peninsula. *Bull Fed Assoc Mycol Medit* 18:87–92.
23. Alvarado P, Moreno G, Manjón JL. (2012a) A new *Tuber* without spore ornamentation. *Tuber melosporum* comb. nov. *Bol Soc Micol Madrid* 36:23–28.
24. White TJ, Bruns TD, Lee S, Taylor JW (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky J, White TJ (eds) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic, San Diego.
25. Vilgalys R, Hester M (1990) Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *J Bact* 172(8): 4238–4246. PMID: [2376561](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2376561/)
26. Glass LN, Donaldson GC (1995) Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous Ascomycetes. *Appl Environ Microb* 61:1323–1330.
27. Matheny PB. (2005) Improving phylogenetic inference of mushrooms with RPB1 and RPB2 nucleotide sequences (*Inocybe*; Agaricales). *Mol Phyl Evol* 35:1–20.
28. Alvarado P, Moreno G, Manjón JL. (2012b) Comparison between *Tuber gennadii* and *T. oligospermum* lineages reveals the existence of the new species *T. cistophilum* (Tuberaceae, Pezizales). *Mycologia* 104(4): 894–910.
29. Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang JH, Zhang Z, Miller W, et al. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25: 3389–3402. PMID: [9254694](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9254694/)
30. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 22:4673–4680. PMID: [7984417](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7984417/)
31. Nylander JAA. (2004) MrModeltest v2. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
32. Swofford DL (2001) PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Version 4.0b10. Sinauer, Sunderland, Mass.
33. Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572–1574. PMID: [12912839](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12912839/)
34. Stamatakis A (2006) RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22(21):2688–2690. PMID: [16928733](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16928733/)

35. Scoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA, et al. (2012) Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for *Fungi*. PNAS 109 (16):6241–6246. doi: [10.1073/pnas.1117018109](https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109) PMID: [22454494](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22454494/)
36. Tamm H, Pöldmaa K, Kullman B (2010) Phylogenetic relationships in genus *Geopora* (Pyronemataceae, Pezizales). Mycol Progress 9:509–522
37. Guevara-Guerrero G, Benjamin S, Heidi T, Efrén CG, Markus G (2012) *Genea mexicana*, sp. nov., and *Geopora tolucana*, sp. nov., new hypogeous Pyronemataceae from Mexico, and the taxonomy of *Geopora* reevaluated. Mycol Progress doi: [10.1007/s11557-011-0781-y](https://doi.org/10.1007/s11557-011-0781-y)
38. Stielow B, Hensel G, Strobelt D, Makonde HM, Rohde M, Dijksterhuis J, et al. (2013) Hoffmannoscypha, a novel genus of brightly coloured, cupulate Pyronemataceae closely related to *Tricharina* and *Geopora*. Mycol Progress 12: 675–686.
39. Perry BA, Hansen K, Pfister DH (2007) A phylogenetic overview of the family Pyronemataceae (Ascomycota, Pezizales). Mycol Res 111:549–571 PMID: [17572335](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17572335/)
40. Montecchi A., Sarasini M (2000) Funghi ipogei d'Europa. A.M.B. Fondazione Centro Studi Micologici. 714 pp.
41. Pacioni G, El-Kholy H (1994) Tartufi del deserto egiziano. Micologia e Vegetazione Mediterranea 9(2): 69–84.
42. Kagan-Zur V, Akyuz M (2014) Asian Mediterranean desert truffles. In: Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A, Kagan-Zur V (eds) Desert truffles. Springer, Berlin Heidelberg, pp 159–171. doi: [10.1007/978-3-642-40096-4_11](https://doi.org/10.1007/978-3-642-40096-4_11)
43. Rioussset L, Rioussset G, Jalade M, Chevalier G (1989) Prima raccolta in Francia di *Phaeangium lefebvrei* Patouillard. Il Fungo 3:9–11.
44. Rioussset L, Rioussset G, Jalade M, Chevalier G (1996) Prima raccolta in Francia di *Picoa lefebvrei* (Patouillard) Maire. Il Fungo 3:15–17.
45. Urdvardy MDF (1975) A classification of the biogeographical provinces of the world. Morges (Switzerland): International Union of Conservation of Nature and Natural Resources. IUCN Occasional Paper no. 18.
46. Díez J, Manjón J L, Martín F (2002) Molecular phylogeny of the mycorrhizal desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*), host specificity and edaphic tolerance. Mycologia, 94(2), 247–259. PMID: [21156494](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21156494/)
47. Kovács G, Balázs TK, Calonge D, Martín MP (2011) The diversity of *Terfezia* desert truffles: new species and a highly variable species complex with intrasporocarpic nrDNA ITS heterogeneity. Mycologia 103: 841–853. doi: [10.3852/10-312](https://doi.org/10.3852/10-312) PMID: [21289106](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21289106/)
48. Bordallo JJ, Rodríguez A, Muñoz-Mohedano JM, Suz LM, Honrubia M, Morte A (2013) Five new *Terfezia* species from the Iberian Peninsula. Mycotaxon 124:189–208.
49. Claridge AW, Trappe JM, Paull DJ (2014) Ecology and distribution of desert truffles in the Australian Outback. In: Desert Truffles, Kagan-Zur V. et al. (eds.), Soil Biology. Springer, Berlin, 38:203–214. doi: [10.1007/978-3-642-40096-4_9](https://doi.org/10.1007/978-3-642-40096-4_9)
50. Chevalier G (2014) The European Desert Truffles. In: Desert Truffles, Kagan-Zur V. et al. (eds.), Soil Biology. Springer, Berlin, 38:121–141. doi: [10.1007/978-3-642-40096-4_9](https://doi.org/10.1007/978-3-642-40096-4_9)
51. Sánchez-Gómez P, Jiménez JF, Vera JB (2011) *Helianthemum motae* (Cistaceae), a new species from southeastern Spain. Annales Botanici Fennici 48:49–56.
52. Parejo-Farnés C, Albadalejo RG, Arroyo J, Aparicio A (2013) A phylogenetic hypothesis for *Helianthemum* (Cistaceae) in the Iberian Peninsula. Botanica Complutensis 37:83–92.
53. Peruzzi L, Passalacqua NG. (2004) On the lectotypification of the names of four species described by Desfontaines reported for Calabria (S. Italy). Taxon 53 (2): 543–547

Chapitre III :

Variabilité morphologique des mycorrhizes formées par les truffes du désert avec différentes espèces végétales



Ce travail a été valorisé sous forme d'une publication dans le journal *Mycorrhiza* (Impact Factor « 2014/2015 » : 3.46).

Article 2 : 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.

Morphological characterization of mycorrhizae formed between three *Terfezia* species (desert truffles) and several *Cistaceae* and Aleppo pine

Fatima El-Houaria Zitouni-Haouar · Zohra Fortas · Gerard Chevalier

Received: 5 March 2013 / Accepted: 9 December 2013 / Published online: 3 January 2014
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Abstract Six *Cistaceae* species, *Helianthemum ledifolium*, *Helianthemum lippii*, *Fumana procumbens*, *Cistus albidus*, *Cistus incanus*, *Cistus salvifolius*, and *Pinus halepensis* (Aleppo pine) were inoculated with three mycorrhizal desert truffles, *Terfezia leptoderma*, *Terfezia boudieri*, and *Terfezia claveryi* under greenhouse conditions, on soil originating from desert truffle natural habitat in Algeria. The syntheses have led to the formation of typical endomycorrhizae in annual *Cistaceae* (*H. ledifolium*) and perennial ones (*H. lippii* and *F. procumbens*) and an ectomycorrhiza with a less developed sheath in *Cistus* species and Aleppo pine. These results demonstrate the plasticity of *Terfezia* species to form different mycorrhizal types. The formation of an endomycorrhiza with *H. ledifolium* and *F. procumbens* and a sheathing ectomycorrhiza with *P. halepensis* inoculated by *T. leptoderma* in in vivo culture conditions was obtained for the first time.

Keywords Desert truffles · *Terfezia* · *Cistaceae* · *Pinus halepensis* · Mycorrhiza morphology

Introduction

Desert truffles are mycorrhizal hypogeous fungi, which include several species of the genera *Terfezia*, *Tirmania*, and *Picoa*. These fascinating fungi have evolved in the hard and hostile conditions of the arid and semiarid regions of the Middle East, and mostly in countries around the Mediterranean basin, forming ectomycorrhizal, endomycorrhizal, and ectendomycorrhizal associations on roots of members of the *Cistaceae* family including different annual and perennial species of the genus *Cistus*, *Tuberaria*, and more especially *Helianthemum* (Fortas and Chevalier 1992; Morte et al. 2008; Loizides et al. 2011; Jamali and Banihashemi 2012). These edible fungi are highly appreciated in African and Middle Eastern countries, where they are better known as Terfez or Terfass. They are of considerable interest for ecological, agroforestry, and commercial purposes. The cultivation of these valuable mycorrhizal fungi in association with their host plants may play a major role in the maintenance of Mediterranean shrublands and xerophytic grasslands and, thus, in preventing erosion and desertification in arid and semiarid areas (Honrubia et al. 1992, Morte et al. 2000, 2008).

The mycorrhizal state of the desert truffles established in in vivo culture conditions has been poorly studied. The first mycorrhizal synthesis between desert truffles and *Helianthemum* species was carried out by Awameh et al. (1979) and Awameh (1981). These authors obtained an endomycorrhiza in *Helianthemum ledifolium* and *Helianthemum salicifolium* plants inoculated by different *Terfezia* and *Tirmania* species under greenhouse conditions. These mycorrhizae were named later as “helianthemoid” mycorrhizae by Alsheikh (1984) who distinguished them from ectomycorrhizae, ectendomycorrhizae, and arbuscular mycorrhizae and found similarities with some of the characteristics of ericoid mycorrhizae. On the other hand, Chevalier et al. (1984) obtained ectomycorrhizae without a “real” sheath in

F. E.-. Zitouni-Haouar (✉) · Z. Fortas
Laboratoire de Biologie des microorganismes et de Biotechnologie,
Département de Biotechnologie, Faculté des Sciences, Université
d’Oran, Es Sénia, Algeria
e-mail: fzitouni84@yahoo.fr

Z. Fortas
e-mail: torfez2000@yahoo.fr

G. Chevalier
Résidence Cristelle, 33 rue des Vergers, Coumon d’Auvergne 63800,
France
e-mail: charlemagne33@orange.fr

the symbiotic associations between *Terfezia leptoderma*, *Helianthemum*, *Cistus*, and *Fumana procumbens* species. These authors concluded that the morphology of mycorrhizae varied with the fungus species involved, and they pointed out that *T. leptoderma* mycorrhizae could be a transitional form between desert truffles, endomycorrhizae and tuberaceae ectomycorrhizae. Still working on *Cistaceae–Terfezia* spp. symbiotic associations, Dexheimer et al. (1985) and Leduc et al. (1986) described ultrastructural features of ectomycorrhizae formed in *H. salicifolium*, *Cistus albidus*, and *Cistus salvifolius* colonized by *T. leptoderma* and endomycorrhizae in *H. salicifolium* plants associated with *Terfezia clavaryi*. Fortas and Chevalier (1992) were the first to examine the influence of culture conditions on the type of mycorrhiza formed in *Helianthemum guttatum* seedlings associated with three desert truffle species. All species formed an ectomycorrhiza in high phosphorus conditions; whereas, they developed ectendomycorrhiza in phosphorus deficient culture. Furthermore, Gutiérrez et al. (2003) showed that the type of mycorrhiza formed among *Helianthemum almeriense* × *T. clavaryi* and *Picoa lefebvrei* mycorrhizal associations may also depend on the mycorrhiza culture conditions. For both fungal species, *H. almeriense* formed an endomycorrhiza in natural field conditions, an ectomycorrhiza and ectendomycorrhiza without a sheath in pot cultures, and an ectomycorrhiza with a characteristic sheath and Hartig net in in vitro cultures. These authors pointed out that there is no clear barrier between these two main types of mycorrhiza organization in *Helianthemum* species. Slama et al. (2010) reported the formation of endomycorrhizae in *Helianthemum sessiliflorum* (= *Helianthemum lippii*) potted plants mycorrhized by *Terfezia boudieri* under greenhouse conditions. The primary goal of this study is to characterize the morphological types of mycorrhizae formed by three *Terfezia* species on several annual and perennial host plants cultivated under greenhouse culture conditions. This work allows us eventually, to select the most compatible fungal–host species combinations adapted to the environmental conditions of the future transplantation sites designed for desert truffle cultivation.

Materials and methods

Fungal and plant material

Fruit bodies of *T. boudieri* and *T. clavaryi* were collected in April 2005 and 2009 in semiarid areas of Algeria (Stidia and Ksar Chellala) near *H. ledifolium* and *Helianthemum hirtum* respectively; those of *T. leptoderma* were collected in March 2005 in southern France under *Quercus ilex*. Ascocarps collected were sun-dried during 2 months, and then stored at room temperature. The seeds of *Helianthemum* species were

collected from desert truffle beds: *H. ledifolium* seeds were collected in May 2009 (Stidia, Algeria); those of *H. lippii* at the same period in Bechar (southwest Algeria), and those of *Pinus halepensis* in Tlemcen (northwest of Algeria). *Fumana procumbens* seeds were collected in Auvergne (central France); and those of *C. albidus*, *Cistus incanus*, and *Cistus salvifolius* in Provence (southeastern France). The two soil types used for the experiment were collected from the top 20 cm of soil surface of the desert truffles and *Helianthemum* species natural habitat in Algeria. The first is sandy–clayey–loamy sampled from Ksar Chellala (central steppe of Algeria, 002°11' 54.3"N; 35° 15' 23.6"E; 806 m; organic matter=0.34 %, K=71.22 ppm, Mg: 16.29 ppm, assimilable phosphorus=200 ppm, AC: 2.25 %, EC=0.172 ms cm⁻¹, pH=8.69). The second is sandy sampled from Stidia forest (Algerian North West coast: organic matter=3.38 %, assimilable phosphorus=100 ppm, AC: 3.87 %, EC=0.76 ms cm⁻¹, pH=8.37 (Aïbeche 2008)). Both soils were 2 mm, sieved, and sterilized in an autoclave at 120 °C for 1 h.

Mycorrhizal synthesis

Seeds of the six *Cistaceae* were surface scarified by moderate abrasion with a fine-grained sandpaper for a few minutes. No prior scarification or stratification treatments were applied for Aleppo pine seeds. They were rinsed in tap water and surface-sterilized with 35 % H₂O₂ for 3 h and 30 min. After these presowing treatments applied for enhancing germination, the seeds were sown directly in 400-cm³ polyethylene pots (12-cm high and 10-cm top diameter) filled with the two sterilized soils. A mature aqueous spore suspension of the three *Terfezia* species was prepared by blending the finely-chopped carpophores with a blender, until the spores were released. In each pot, the ascospore suspension containing 1 g of rehydrated fruit body in 50 ml of sterilized distilled water and with a concentration of approximately 1–2.8 × 10⁹ spores per seedling was directly applied in contact with the roots. The inoculation was performed according to the technique used for the production of plants mycorrhized by *Tuber melanosporum* (Chevalier et al. 1973; Chevalier and Grente 1979) and by species of desert truffles in the genera *Terfezia* and *Tirmania* from Algeria (Fortas and Chevalier 1992). The inoculated and non-inoculated seedlings were grown in a greenhouse without air conditioning and under natural light conditions from November 2009 to February–May 2010 for *Cistaceae* (4–7 months) and November 2009 to December 2010 for the Aleppo pine (14 months). Plants were watered when necessary with 100 ml of water during the experimental period. No fertilizers were applied to the plants. Each host plant has been associated with a fungal species which is naturally present in its habitat to facilitate mycorrhizal installation between the two partners (Table 1).

Table 1 The different types of mycorrhizae and colonization frequency in various host plants (*Cistaceae* and Aleppo pine) inoculated by *Terfezia* species and grown in greenhouse conditions

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

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

Mycorrhiza characterization

Fungal colonization was assessed in the roots of the inoculated plants at the end of the experimental period (4 to 7 months for *Cistaceae* and 14 months for the Aleppo pine). Substrate particles were carefully removed from the root systems of the seven host plants and were observed by stereomicroscope to determine the pattern of the mycorrhizal system. Later on, samples of the roots were cut into pieces of 1-cm length, cleared according to Phillips and Hayman (1970) method with 10 % KOH solution, and stained with 0.1 % trypan blue in lactophenol. Five randomly selected stained root pieces were taken from each mycorrhizal plant. A total of 50 root pieces were prepared from ten mycorrhizal plants randomly selected and mounted as ten parallel rows on five glass slides in clear lactoglycerol (*v/v*). These root pieces were then examined under light microscope. The percentage of fungal root colonization was estimated based on the frequency of infection. This last F (percent) is expressed by: $F\% = 100(N - N_0)/N$. Where N is the total number of observed root fragments and N₀ is the number of root fragments uninfected (Trouvelot et al. 1986).

Plant growth

For each host plant–fungus combination, 30 randomly sampled seedlings were harvested, of which 15 were not inoculated and 15 were inoculated with one of the three *Terfezia* species. The growth of inoculated and non-inoculated seedlings was estimated by measurements of their height, number, and length of their leaves. For the measurements of the dry weight of shoot, shoots were oven-dried 60 °C for 48 h for *Cistaceae* and 72 h for Aleppo pine.

Relative mycorrhizal dependency

The shoot dry matter of mycorrhizal and non-mycorrhizal plants was used to calculate the relative mycorrhizal dependency (RMD) according to Plenchette et al. (1983), it is expressed by: $RMD = [(dry\ mass\ myc\ plants - dry\ mass\ non\ myc\ plants) / dry\ mass\ myc\ plants] \cdot 100$, where “dry mass myc” represented the shoot dry matter of mycorrhizal plants and “dry mass non-myc” of non-mycorrhizal plants.

Statistical analyses

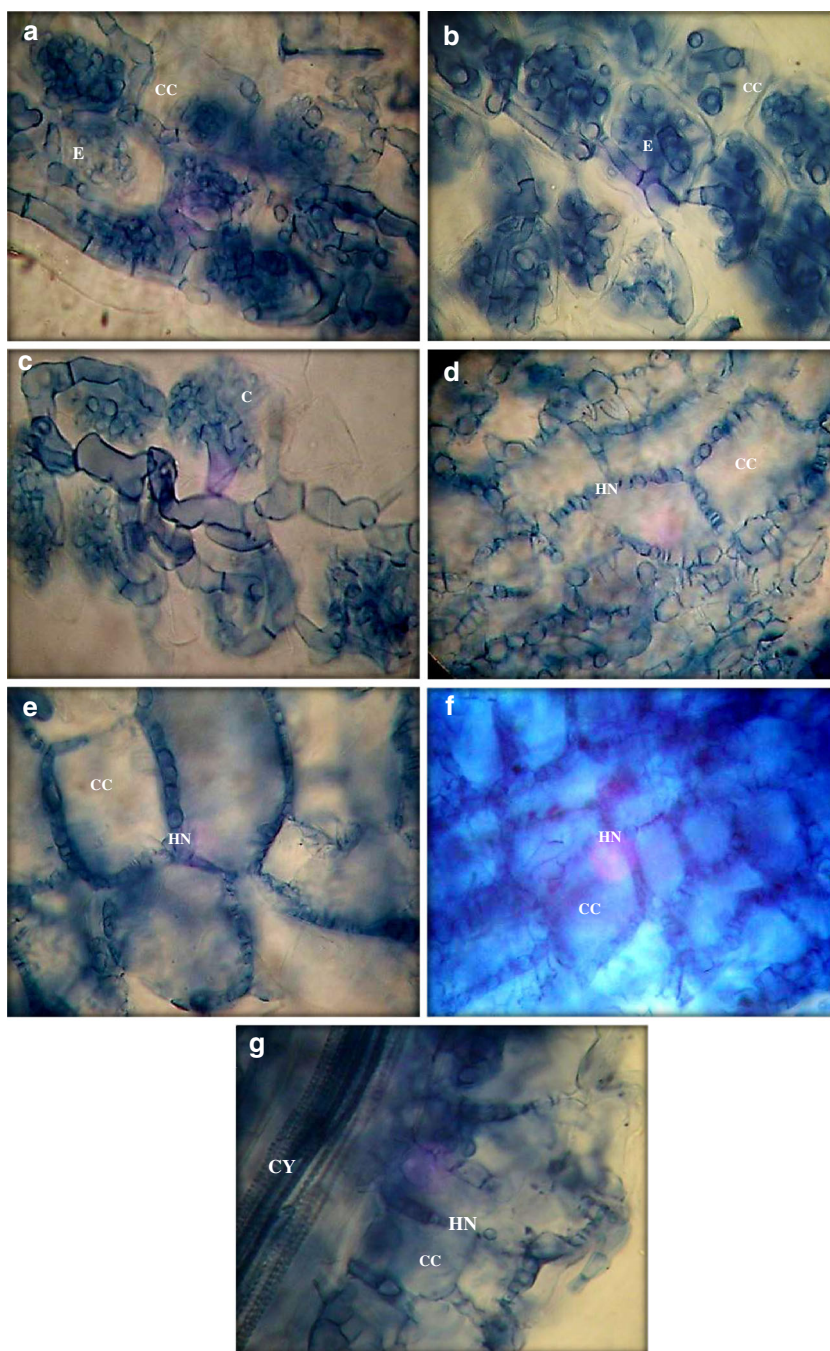
The effects of treatments on growth parameters were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) using the statistical package STATISTICA (version 5.0, StatSoft) and the treatment means were compared by the least significant difference ($P < 0.05$).

Results

Under the stereomicroscope, an external bright yellowish mycelium was observed around all the mycorrhizal roots and radiated from the mycorrhiza into the soil. The *Cistaceae* roots were enveloped by a compact mycelium capturing soil particles and forming dense mycelial masses whereas the mycelium surrounding the Aleppo pine roots was loose. Colonized root tips were slightly swollen, transparent, and devoid from root hairs compared to uncolonized ones. Furthermore, dichotomous and coralloid branching of *P. halepensis* short roots was observed. The colonization of the different host plant roots by the three *Terfezia* species was strong. Two types of mycorrhizae were observed in roots of inoculated plants with the three *Terfezia* species:

- In the annual *Cistaceae* (*H. ledifolium*) and the two perennial ones (*H. lippii* and *F. procumbens*), *T. leptoderma* and *T. claveryi* form endomycorrhizae. The fungal hyphae invaded the cortical cells of the host plant roots and formed coils or “pelotons” with some coralloid ramifications similar to “arbusculate coils” observed in arbuscular mycorrhiza. These coils occupied entirely the cortical cells. The central cylinder was free of colonization. This type of mycorrhizae is morphologically identical to those roots which are colonized naturally by desert truffles (Fig. 1a, b, c).
- In the Aleppo pine and the *Cistus* species (*C. salvifolius*, *C. albidus*, *C. incanus*), the three species of desert truffles *T. leptoderma*, *T. claveryi*, and *T. boudieri* formed an ectomycorrhiza (Table 1) with a thin, less developed sheath (Fig. 2) and a well-developed Hartig net that is inserted between cortical cells. Fungal hyphae have become very septate, forming a pearl structure which

Fig. 1 **a** Mycorrhizal roots of *H. ledifolium* synthesized with *T. leptoderma* showing endomycorrhizae (*E*) where the fungus invades cortical cells (*CC*) and forms coils, $\times 640$. **b** Endomycorrhizal roots of *F. procumbens* synthesized with *T. leptoderma* infected by “pelotons”; *E* endomycorrhizae, *CC* cortical cells, $\times 640$. **c** Mycorrhizal roots of *H. lippii* inoculated with *T. claveryi* showing endomycorrhizae, the mycelial mass form a coralloid ramifications (*C*), $\times 640$. **d** Mycorrhizal roots of *C. salvifolius* and *T. leptoderma* showing ectomycorrhizae with a well differentiated Hartig net (*HN*) that is inserted between cortical cells (*CC*), $\times 640$. **e** Mycorrhizal roots of *P. halepensis* and *T. leptoderma* showing ectomycorrhizae with a well-developed Hartig net (*HN*); *CC* cortical cells, $\times 640$. **f** Mycorrhizal roots of *C. albidus* and *T. boudieri* showing ectomycorrhizae, the fungal hyphae form a pearl structure which developed within the intercellular spaces; *CC* cortical cells, *HN* Hartig net, $\times 640$. **g** Ectomycorrhizal roots of *C. incanus* and *T. claveryi*; *HN* Hartig net, *CY* central cylinder, $\times 640$



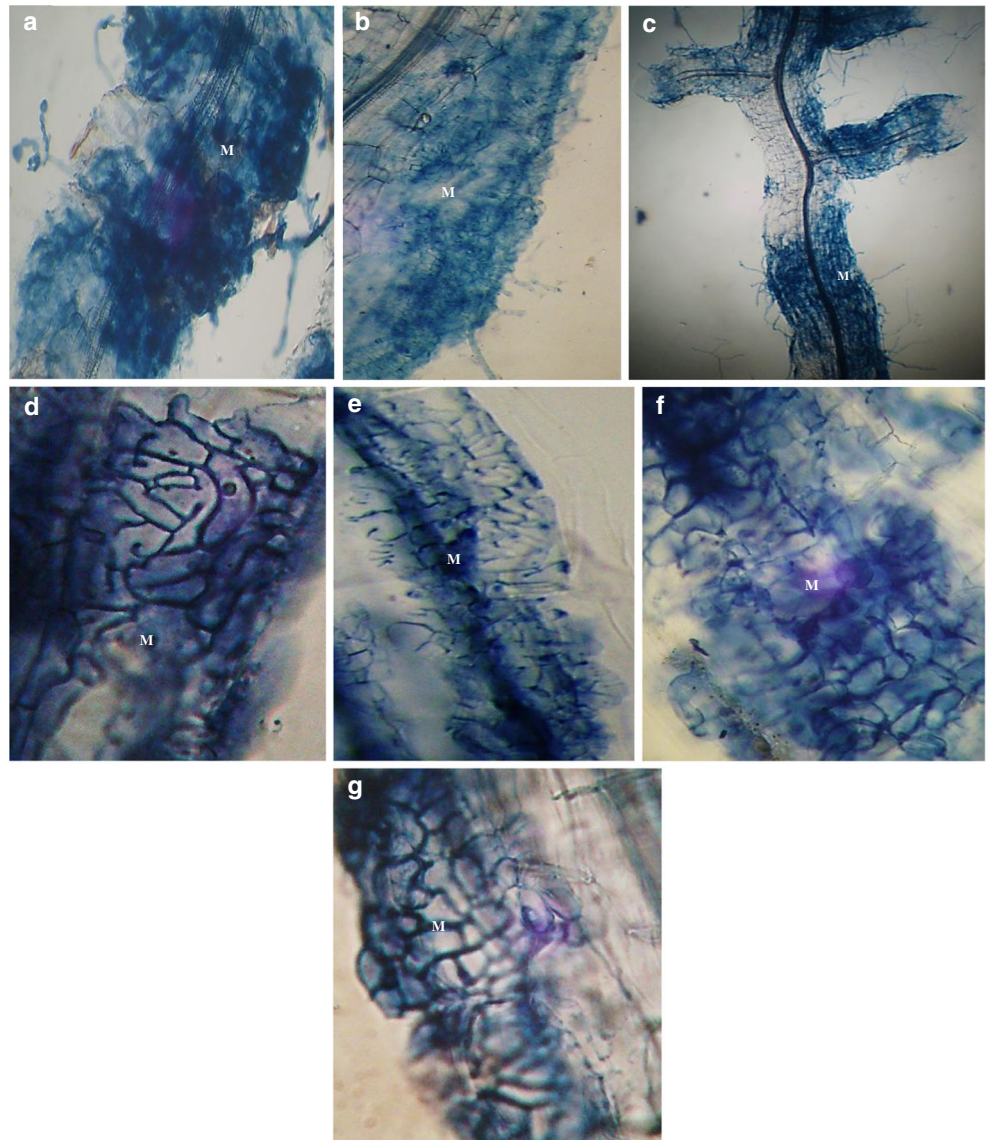
developed within the intercellular spaces (Fig. 1d, e, f, g). By following the penetration of hyphae in the roots, we may suggest that hyphae passed from cell to cell throughout the outer layer of cells (epidermal cells) in order to colonize the other layers of cortical cells. In some cases, the same hypha penetrated several adjacent cortical cells. However, desert truffles hyphae spared the endodermal and the central cylinder cells. In all the cases, it is observed that all the non-inoculated control plants have shown no evidence of mycorrhizal colonization (data not shown).

The seven mycorrhizal host plants exhibited high percentage of mycorrhizal colonization regardless of their mycosymbiot species, whereas no infection was observed in non-inoculated plants (Table 1).

Significant differences in plant growth were observed between the mycorrhizal and the non-mycorrhizal plants. These latter were stunted, chlorotic, and grew poorly. Plant height, leaf number, leaf length, and shoot dry matter values were higher in mycorrhizal plants than non-mycorrhizal plants (Table 2). Although not quantified, roots of inoculated plants appeared much more developed than those of non-inoculated



Fig. 2 **a** Mycorrhizal roots of *P. halepensis* and *T. leptoderma* surrounded by a thin mantle (*M*), $\times 160$. **b** Mycorrhizal roots of *C. salvifolius* and *T. leptoderma* showing a less-developed sheath (*M*), $\times 160$. **c** Mycorrhizal roots of *C. albidus* and *T. boudieri* enveloped by a less-developed sheath (*M*), $\times 160$. **d** Organization of the outer mantle layer (*M*) of *T. leptoderma* on *P. halepensis* roots, $\times 640$. **e** Organization of the outer mantle layer (*M*) of *T. leptoderma* on *P. halepensis* roots, $\times 1600$. **f** Organization of the outer mantle layer (*M*) of *T. leptoderma* on *C. salvifolius* roots, $\times 640$. **g** Organization of the outer mantle layer (*M*) of *T. claveryi* on *C. incanus* roots, $\times 640$



ones (data not shown). The different annual and perennial species of *Cistaceae* recorded higher values of relative mycorrhizal dependency compared to the Aleppo pine (Fig. 3).

Discussion

The results of the present work show that *Terfezia* species are able to form different types of mycorrhizal associations. The species *T. leptoderma* like *T. claveryi* exhibited a great plasticity to form an endomycorrhiza or a sheathing ectomycorrhiza with both annual and perennial host plants in in vivo culture conditions. This is the first report of the presence of a sheath in *P. halepensis*, *C. incanus*, and *C. albidus* inoculated by *T. leptoderma*, *T. claveryi*, and *T. boudieri* respectively. The formation of endomycorrhizae with *H. ledifolium* and *F. procumbens* inoculated by

T. leptoderma in in vivo culture conditions was also obtained for the first time.

Several researchers have discussed the influence of abiotic factors on the three main types of desert truffle mycorrhiza organization (endomycorrhizae, ectendomycorrhizae, and ectomycorrhizae) by focusing mainly on nutritional factors such as the availability or the source of phosphorus (Fortas and Chevalier 1992; Navarro-Ródenas et al. 2012), the interaction between phosphorus level and sensitivity to auxins (Zaretsky et al. 2006), and the culture conditions (Gutiérrez et al. 2003). More recently, Navarro-Ródenas et al. (2013) confirm that the scarcity of the water, induced a change in the formed desert truffle mycorrhizal type, which was more intracellular under drought stress. Whereas, other authors attributed this mycorrhizal morphotype to biotic factors such as the fungus species (Chevalier et al. 1984) or the common mycorrhizal type

Table 2 Mean plant height (centimeter), leaf number, leaf length (centimeter), and DW measurements (gram) of shoots of M and NM plants

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

One-way ANOVA analysis. Values are means±standard error

^{NS}absence of significance, *DW* dry weight, *M* mycorrhizal plants, *NM* non-mycorrhizal plants

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

**P*<0.05, level of significance

of the host plant species involved in the mycorrhizal symbiosis (Kovács et al. 2003).

The in vivo mycorrhization has a beneficial effect on the development of the different host plants inoculated with the three desert truffle species. The data presented here are in agreement with previous reports that showed the positive effects of mycorrhizae on host plant growth (Awameh 1981; Fortas and Chevalier (1992); Turgeman et al. 2011; Slama et al. 2012; Navarro-Ródenas et al. 2012). All the host plants tested in this study seem to depend strongly on their mycosymbiont for growth. According to Gerdemann (1975), this mycorrhizal dependence, refers to the degree of plant

responsiveness to mycorrhizal colonization by producing maximum growth or yield at a given level of soil fertility.

Regarding the mycorrhizal colonization, our data show that all plant partners associated experimentally with the three *Terfezia* species expressed high rates of mycorrhization (Table 1). The remarkable rates of mycorrhizal colonization observed in *T. leptoderma* mycorrhizal partners are quite logical since the majority of these plant species are natural host plants of these desert truffle species. Diez et al. (2002) suggested an edaphic and biotic specificity of *Terfezia* and *Tirmania* species. These desert truffle species exhibited host specificity especially to *Helianthemum* species except in *T. leptoderma* which was associated with *Quercus* spp., *Pinus* spp., and Cistaceae plants. According to these authors, *T. leptoderma* might be either a species with wide edaphic tolerance and host range or a complex species. These authors emphasized also that the distribution of desert truffle species in relation to soil features might therefore just reflect the edaphic tolerance of their hosts. These observations are consistent with those of Kovács et al. (2011) on certain host specificity of some *T. leptoderma* lineages to *Quercus*/*Helianthemum*/*Cistus* or *Pinus* hosts.

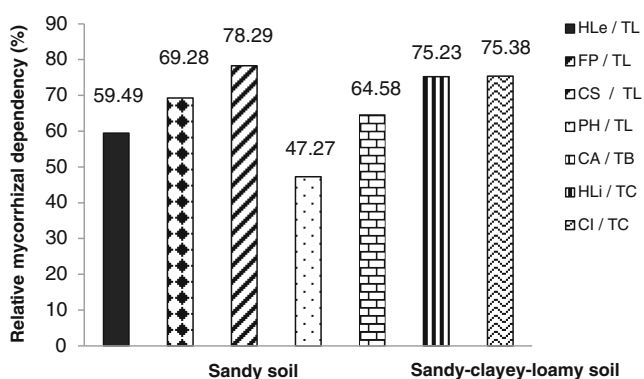


Fig. 3 Relative mycorrhizal dependency (RMD) of the different host plants inoculated by the three desert truffle species. *HLe* (*H. ledifolium*), *FP* (*F. procumbens*), *CS* (*C. salvifolius*), *PH* (*P. halepensis*), *CA* (*C. albidus*), *HLi* (*H. lippii*), *CI* (*C. incanus*), *TL* (*T. leptoderma*), *TB* (*T. boudieri*), *TC* (*T. claveryi*)

Conclusion

The present study shows the structural versatility of *Terfezia* species mycorrhizae formed with both natural and exotic hosts. These results raise several fundamental questions about

the main biotic factors that control the desert truffle mycorrhizal types. Further studies in greenhouse or field conditions with a wide range of host plant–desert truffle combinations are needed to answer the question. The successful gnotoxenic mycorrhizal synthesis between the desert truffles and the different host plants will be of greater importance for choosing the potential host plant, the most adapted to the strong environmental conditions of the desert, for planned cultivation of the Algerian desert truffles.

Acknowledgments Authors are grateful to Dr. Randy Molina and the anonymous reviewers for their valuable guidelines and comments.

References

- Aïbeche C (2008) Caractéristiques écologiques et mycologiques d'une espèce de terpez du littoral Ouest algérien. Essai de mycorrhization contrôlée avec sa plante-hôte naturelle *Helianthemum guttatum*. Magister Thesis. Univ. of Oran
- Alsheikh A (1984) Mycorrhizae of annual *Helianthemum* species formed with desert truffles. Proc NACOM6
- Awameh MS (1981) The response of *Helianthemum salicifolium* and *H. ledifolium* to infection by the desert truffle *Terfezia boudieri*. Mush Sci 11:843–853
- Awameh MS, Alsheikh A, Al-Ghawas S (1979) Mycorrhizal synthesis between *Helianthemum ledifolium*, *H. salicifolium* and four species of the genera *Terfezia* and *Tirmania* using ascospores and mycelial cultures obtained from ascospore germination. In: Proceedings of the 4th North American Conference on Mycorrhizae, Colorado State University, Fort Collins, Colorado, pp 23–23
- Chevalier G, Grente J (1979) Application pratique de la symbiose ectomycorhizienne: production à grande échelle de plants mycorrhizés par la truffe (*Tuber melanosporum* Vitt.). Mush Sci 10: 483–505
- Chevalier G, Grente J, Pollacsek A (1973) Obtention de mycorrhizes de différents *Tuber* par synthèse à partir de spores en conditions gnotoxéniques et à partir de cultures pures de mycélium en conditions axéniques et gnotoxéniques. Ann Phytopathol 5: 107–108
- Chevalier G, Dupré C, Rioussat L, Dexheimer J (1984) Synthèse mycorrhizienne entre *Terfezia leptoderma* Tul et diverses Cistacées. Agronomie 4:210–211
- Dexheimer J, Gerard J, Leduc JP, Chevalier G (1985) Etude ultrastructurale comparée des associations symbiotiques mycorrhiziennes *Helianthemum salicifolium*–*Terfezia claveryi* et *Helianthemum salicifolium*–*Terfezia leptoderma*. Can J Bot 63:582–591
- Diez J, Manjón JL, Martín F (2002) Molecular phylogeny of the mycorrhizal desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*), host specificity and edaphic tolerance. Mycologia 94:247–259
- Fortas Z, Chevalier G (1992) Effet des conditions de culture sur la mycorrhization de l'*Helianthemum guttatum* par trois espèces de terpez des genres *Terfezia* et *Tirmania* d'Algérie. Can J Bot 70: 2453–2460
- Gerdemann JW (1975) Vesicular–arbuscular mycorrhizae. In: Torrey JG, Clarkson DT (eds) The development and function of roots. Academic Press, New York and London, pp 575–591
- Gutiérrez A, Morte A, Honrubia M (2003) Morphological characterization of the mycorrhiza formed by *Helianthemum almeriense* Pau with *Terfezia claveryi* Chatin and *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire. Mycorrhiza 13:299–307
- Honrubia M, Cano A, Molina-Niñirola C (1992) Hypogeous fungi from southern Spanish semi-arid lands. Persoonia 14(4):647–653
- Jamali S, Banihashemi Z (2012) Hosts and distribution of desert truffles in Iran, based on morphological and molecular criteria. J Agric Sci Technol 14:1379–1396
- Kovács GM, Vágvölgyi C, Oberwinkler F (2003) In vitro interaction of the truffle *Terfezia terfezioides* with *Robinia pseudoacacia* and *Helianthemum ovatum*. Folia Microbiol 48(3):369–378. doi:10.1007/bf02931369
- Kovács GM, Balázs TK, Calonge FD, Martín MP (2011) The diversity of *Terfezia* desert truffles: new species and a highly variable species complex with intrasporocarpic nrDNA ITS heterogeneity. Mycologia 103(4):841–853
- Leduc JP, Dexheimer J, Chevalier G (1986) Etude ultrastructurale comparée des associations de *Terfezia leptoderma* avec *Helianthemum salicifolium*, *Cistus albidus* et *Cistus salviaefolius*. In: Aspects physiologiques et génétiques des mycorrhizes. 1^{er} Sem sur les mycorrhizes, Eds.V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi, INRA, Paris, pp 291–294
- Loizides M, Hobart C, Konstantinides G, Yiangou Y (2011) Desert truffles: the mysterious jewels of antiquity. 13: 17–21. doi:10.1016/j.jfl dmyc.2011.12.004
- Morte A, Lovisolo C, Schubert A (2000) Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense*–*Terfezia claveryi*. Mycorrhiza 10(3): 115–119
- Morte A, Honrubia M, Gutiérrez A (2008) Biotechnology and cultivation of desert truffles. In: Varma A (ed) Mycorrhiza. Springer, Berlin, pp 467–483. doi:10.1007/978-3-540-78826-3_23
- Navarro-Ródenas A, Pérez-Gilabert M, Torrente P, Morte A (2012) The role of phosphorus in the *ectendomycorrhiza* continuum of desert truffle mycorrhizal plants. Mycorrhiza. doi:10.1007/s00572-012-0434-2
- Navarro-Ródenas A, Bárzana G, Nicolás E, Carra A, Schubert A, Morte A (2013) Expression analysis of aquaporins from desert truffle mycorrhizal symbiosis reveals a fine-tuned regulation under drought. Mol Plant Microbe Interact 26(9):1068–1078
- Phillips IM, Hayman DS (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans Br Mycol Soc 55:158–161
- Plenchette C, Fortin JA, Furlan V (1983) Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P fertility. Plant Soil 70:199–209
- Slama A, Fortas Z, Boudabous A, Neffati M (2010) Cultivation of an edible desert truffle (*Terfezia boudieri* Chatin). Afr J Microbiol Res 4:2350–2356
- Slama A, Gorai M, Fortas Z, Boudabous A, Neffati M (2012) Growth, root colonization and nutrient status of *Helianthemum sessiliflorum* Desf. inoculated with a desert truffle *Terfezia boudieri* Chatin. Saudi J Biol Sci 19:25–29
- Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: les Mycorrhizes : physiologie et génétique. 1^{er} Séminaire Dijon, Eds. V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi, INRA, Paris, 217–221
- Turgeman T, Ben Asher J, Roth-Bejerano N, Kagan-Zur V, Kapulnik Y, Sitrit Y (2011) Mycorrhizal association between the desert truffle *Terfezia boudieri* and *Helianthemum sessiliflorum* alters plant physiology and fitness to arid conditions. Mycorrhiza 21:623–630. doi: 10.1007/s00572-011-0369-z
- Zaretsky M, Kagan-Zur V, Mills D, Roth-Bejerano N (2006) Analysis of mycorrhizal associations formed by *Cistus incanus* transformed root clones with *Terfezia boudieri* isolates. Plant Cell Rep 25:62–70

Conclusion générale

Conclusion

Dans ce travail, nous avons étudié les caractéristiques écologiques et ethnomycologiques des truffes du désert dans une station à terfez, la diversité morphologique et génétique des truffes du désert d'Algérie par approches moléculaires, leurs associations mycorhiziennes avec différentes espèces végétales et enfin nous avons suivi la germination des ascospores issues d'ascomes de *Picoa lefebvrei*.

L'étude des caractéristiques écologiques des truffes du désert dans la station de Bouchouat (steppe centrale) a montré que les facteurs pédoclimatiques jouent un rôle important dans le développement et la production des ascomes. Ces champignons se développent sur un sol à texture sablo-limoneuse, non salé, pauvre en matière organique, en azote et en phosphore assimilable, bien pourvu en calcaire, à pH \approx alcalin. Ils exigent une pluviométrie > 200 mm avec des pluies orageuses en Août et des précipitations bien réparties en automne et au printemps. Leurs plantes hôtes naturelles sont deux espèces de Cistaceae, *Helianthemum salicifolium* et *Helianthemum hirtum* var. *deserti* qui sont accompagnées d'une diversité d'espèces végétales.

Au cours des examens macroscopiques des ascomes de *Picoa* sp., nous avons décelé dans la gléba de *Picoa juniperi* la présence d'un mycoparasite dont les caractéristiques morphologiques se rapprochent de celles de l'ascomycète *Melanospora zobellii* et dans la gléba de *Picoa lefebvrei*, la présence d'un insecte dont la morphologie se rapproche de celle du liodès, coléoptère mycétophage des truffes.

L'enquête ethnomycologique menée dans cette station auprès de ramasseurs de terfez expérimentés ou de simples amateurs de ces champignons nous a fourni de précieuses informations telles que: la période des précipitations (25 Août- 15 Octobre, pluies estivales accompagnées d'orages) influençant le développement et la production des terfez, la période de récolte des ascomes (15 Février au 30 Avril), les indices de repérage des gîtes, la profondeur et le nombre d'ascomes par gîte, la distance entre la plante hôte naturelle et les gîtes de l'ascome, les outils utilisés pour déterrer les ascomes et les précautions à prendre pour éviter les morsures surtout par des vipères ou des scorpions, une estimation de la quantité de truffes du désert récoltées par jour et par année, les méthodes de conservation des ascomes après leur récolte, leur vente sur les marchés locaux ou internationaux, les préparations culinaires et enfin leur utilisation en médecine traditionnelle.

Les résultats de cette enquête nous ont permis d'identifier cinq espèces de truffes du désert: *Terfezia boudieri* (*Terfess lakhel*), *Terfezia claveryi* (*Terfess lahmar*), *Tirmania pinoyi* (*Belhourech*), *Picoa lefebvrei* (*Jaouber lahmar*) et *Picoa juniperi* (*Jaouber lakhal*).

La caractérisation morphologique et moléculaire de 73 spécimens de truffes du désert, récoltés de 26 stations productrices de terfez en Algérie, a permis d'établir la cartographie de cinq espèces appartenant à la famille des Pezizaceae: *Terfezia arenaria*, *T. boudieri*, *T. claveryi*, *Tirmania pinoyi*, *T. nivea* et deux espèces du genre *Picoa* appartenant à celle des Pyronemataceae dont l'identité taxonomique n'est pas pleinement claire.

Les analyses phylogénétiques des espaces intergéniques ITS de l'ADNr de plusieurs taxa de *Picoa* provenant de différents pays situés sur le pourtour du bassin méditerranéen ont révélé un degré élevé de variabilité génétique dans l'ensemble du genre et à l'intérieur de ses clades majeurs au moment où les séquences du gène de la β -tubuline n'ont supporté aucune structure phylogénétique au sein du genre *Picoa* et n'ont manifesté de la sorte aucun pouvoir discriminant. Les séquences ITS sont donc proposées dans cette étude comme un code-barres pertinent pour le *Picoa*. Les résultats de ces analyses révèlent une forte affinité taxonomique entre les deux espèces de *Picoa*. L'ornementation des ascospores s'est avérée comme l'unique critère pouvant délimiter les espèces de *Picoa*. Cependant, ce caractère morphologique n'est pas facilement percevable étant donné qu'il dépend de l'état de maturité des ascomes.

La structure génétique du genre *Picoa* à travers le bassin méditerranéen semble être influencée par les caractéristiques écologiques de leur biotope en particulier, leurs phytosymbiotes du genre *Helianthemum*, qui ont pu jouer un rôle déterminant dans leur distribution et évolution. La ségrégation génétique des taxa de *Picoa* algériens est fonction de la nature bioclimatique de leurs habitats. Cette étude démontre que l'évolution biologique des *Picoa* d'Algérie est basée principalement sur les stratégies d'adaptations écologiques développées face aux contraintes environnementales de chaque écosystème.

Les résultats de cette étude confirment encore une fois la forte liaison présente entre les espèces de *Picoa* et *Geopora*, plus particulièrement *Geopora cooperi* et supportent pleinement l'affiliation du genre *Picoa* à la famille des Pyronemataceae.

Les analyses phylogénétiques effectuées sur les espaces intergéniques ITS de l'ADNr provenant de plusieurs taxa de *Terfezia* et *Tirmania* d'Algérie ont révélé une remarquable variabilité génétique inter- et intraspécifique y compris pour certains spécimens récoltés dans la même station. La répartition génétique des taxa ne présente aucun lien avec l'origine

géographique, bioclimatique ou encore les exigences édaphiques mais peut refléter probablement une spécificité vis-à-vis de la plante hôte ou plus précisément son type morphologique ou biologique. Ce phénomène a été pleinement noté chez *Terfezia claveryi* qui s'est avérée comme l'espèce présentant la plus grande variabilité intraspécifique.

L'étude des associations mycorhiziennes entre six espèces de truffes du désert et dix espèces végétales révèle que la morphologie des mycorhizes diffère selon le type biologique de la plante hôte. En effet, les Thérophytes (*H. ledifolium*) et les Chaméphytes (*F. procumbens* et *H. lippii*) forment avec *T. leptoderma* et *T. claveryi* des endomycorhizes terfezioides typiques tandis que les Phanérophytes (*P. halepensis*, *A. raddiana*, *C. salvifolius*, *C. albidus*, *C. incanus*, *C. crispus*) forment avec quatre espèces de *Terfezia* et deux espèces de *Tirmania* des ectomycorhizes avec un manteau peu développé et un réseau de Hartig bien différencié. Ces résultats montrent la grande plasticité des espèces de *Terfezia* pour former des endomycorhizes ou des ectomycorhizes à manteau avec divers phytosymbiotes *in vivo*. La morphologie des mycorhizes formée par les terfez semble être déterminée par la plante hôte en fonction de ses exigences nutritionnelles ou de sa stratégie de survie face aux conditions environnementales.

Ce sont les premiers résultats qui révèlent la présence d'un manteau fongique formé par les truffes du désert dans les ectomycorhizes des Phanérophytes et la formation d'endomycorhizes chez *H. ledifolium* et *F. procumbens* inoculés par *T. leptoderma*.

La mycorhization a un effet bénéfique sur la croissance des plantes et la production de biomasse, ainsi que sur les teneurs relatives en eau et en chlorophylles. Le gain de biomasse est >100 % et les valeurs de l'indice de dépendance mycorhizienne sont élevées chez la plupart des plantes mycorhizées.

Quant à la germination des ascospores de *Picoa lefebvrei*, elle est obtenue difficilement, et pour la première fois, sur le milieu Oddoux après une phase de latence de 120 jours et un taux de germination très faible.

En perspectives, il serait utile :

- d'effectuer des études ultra-structurales des ascospores de *Picoa* afin de délimiter clairement les espèces appartenant à ce genre ;
- d'étudier par des approches de biologie moléculaire des relations qui existent entre les truffes du désert et 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.

Références Bibliographiques

Rapport-Gratuit.com

- **Abdel Lattif M.S., Atia A.I.**, 2005. Nutritive Value of Irradiated Egyptian Truffles. *Egyptian Journal of Radiation Sciences and Applications*, 18 (1):193-206.
- **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.
- **Adeleke R., Dames J.F.**, 2014. *Kalaharituber pfeilii* and associated bacterial interactions. *South African Journal of Botany*, 90: 68-73.
- **Agaoglu Y.S., Artik N., Ercan R., Guler M., Baspinar E.**, 1992. Chemical composition of desert truffle (*Terfezia boudieri*) grown in Turkey. *Micologiae Vegetazione Mediterranea*, 7(2): 295-301.
- **Ahmed A.A., Mohamed M.A., Hamid M.A.**, 1981. Libyan truffles “*Terfezia boudieri* Chatin”: Chemical composition and toxicity. *J.Food. Sci.*, 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*. Mémoire de Magister, Univ. d’Oran, Es-Sénia, 85 p.
- **Akyuz M.**, 2013. Nutritive value, flavonoid content and radical scavenging activity of the truffle (*Terfezia boudieri* Chatin). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(1): 143-151.
- **Akyuz M., Kirbag S., Kursat M.**, 2012. Ecological aspects of the arid and semi-arid truffle in Turkey: Evaluation of soil characteristics, morphology, distribution, and mycorrhizal relationships. *Turk. J. Bot.*, 36: 386-391.
- **Akyuz M., Kirbag S., Bircan B., Gürhan Y.**, 2015. Diversity and distribution of arid-semi arid truffle (*Terfezia* and *Picoa*) in Elazığ-Malatya region of Turkey. *Mycosphere*, 6 (6): 766–783.
- **Al-Damegh M.A.**, 2014. *Tirmania* (Zubaidi) and *Terfezia* (Khallasi) fungi preparation method modulates body and testicular weights and blood and testicular testosterone concentration in albino rats. *Journal of American Science*, 10 (6): 60-66.
- **Aldebasi Y.H., Aly S.M., Qureshi M.A., Khadri H.**, 2013. Novel antibacterial activity of *Terfezia claveryi* aqueous extract against clinical isolates of corneal ulcer. *African Journal of Biotechnology*, 12(44): 6340-6346.
- **Al-Delaimy K.S.**, 1977. Protein and amino acid composition of truffles. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 10: 221-222.
- **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: 15-22.
- **Al-Laith A.A.A.**, 2014. Nutritional and Antioxidant Properties of the White Desert Truffle *Tirmania nivea* (Zubaidi). In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), *Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication*, *Soil Biology*, 38: 275-297, Springer, Berlin.
- **Allen M.F.**, 2007. Mycorrhizal fungi: Highways for water and nutrients in arid soils. *Vadose Zone Journal*, 6 (2): 291-297.
- **Al-Marzooky M.A.**, 1981. Truffles in eye disease, in: *Proceedings of the International Conference on Islamic Medicine*, Kuwait, pp 353-357.

- **Al-Ruqaie, I.M.**, 2002. Effect of different treatment processes and preservation methods on the quality of truffles. I. Conventional methods (drying/freezing). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 5: 1088-1093.
- **Al-Ruqaie I.M.**, 2006. Effect of different treatment processes and preservation methods on the quality of truffles I. conventional methods (Drying/Freezing). *J. Food Process. Preservation*, 30: 335-351.
- **Al-Ruqaie I.M.**, 2009. Effect of Treatment Process and Preservation Method on Shelf Life of Truffles: II. Non-Conventional Methods (Radiation). *Int. J. Biol. Chem.*, 3: 126-131.
- **Al-Saadi A.H., Benkayal F.A., Al-Saadi M.H.**, 2005. Libyan Truffles *Terfezia boudieri* Chatin: Characterization of Lipids and Total Protein Electrophoretic Pattern. *دراسات العلوم الأساسية* 32 (2) : 269-277.
- **Al-Shabibi M.M.A., Toma S.J., Hadad B.A.**, 1982. Studies on Iraqi truffles. I. Proximate analysis and characterization of lipids. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 15:200–202.
- **Alsheikh A.M.**, 1984. Mycorrhizae of annual *Helianthemum* species formed with desert truffles. *Proc. 6 th North Amer. Conf. on myc.*, Corvallis, Oregon: p 445.
- **Alsheikh A.M.**, 1994. Taxonomy and mycorrhizal ecology of the desert truffles in the genus *Terfezia*. Ph.D. dissertation. Oregon State University, Corvallis, 239 p.
- **Alsheikh A.M., Trappe J.M.**, 1983a. Desert truffles: The genus *Tirmania*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 8 (1): 83-90.
- **Alsheikh A.M., Trappe J.M.**, 1983b. Taxonomy of *Phaeangium lefebvrei*, a desert truffle eaten by birds. *Can.J.Bot.*, 61(7): 1919-1925.
- **Al-Thani R.F.**, 2010. Survey of Macrofungi (including Truffles) in Qatar. *KBM Journal of Biology*, 1 (2): 26-29.
- **Altschul S. F., Madden T. L., Schaffer 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.*, 1 (25):3389–3402.
- **Amadou B., Duponnois R., Diabaté M.**, 2011. Les champignons ectomycorhiziens des arbres forestiers en Afrique de l'Ouest. Eds. IRD, Marseille, 249 p.
- **Ammarellou A., Saremi H.**, 2007. Mycorrhiza between *Kobresia bellardii* (All.) Degel and *Terfezia boudieri* Chatin. *Turk. J. Bot.*, 31: 1-7.
- **Ammarellou A., Saremi H., Gučin F.**, 2007. Evaluation of morphology, cytology and mycorrhizal relationships of desert truffles (*Terfezia boudieri*) in Iran. *Pakistan Journal of Biological sciences*, 10 (9): 1486-1490.
- **Ammarellou A., Smith M.E., Tajick M.A., Trappe J.M.**, 2011. The Phylogenetic placement of *Picoa*, with a first report on *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire (= *Phaeangium lefebvrei*) from Iran. *Int. J. Environ. Res.*, 5 (2):509–514.
- **Ammarellou A., Wang Y., Nematzadeh G., Tajick M.**, 2014. Non-Mediterranean Asian Desert Countries. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), *Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication*, *Soil Biology*, 38: 173-192, Springer, Berlin.
- **Arioui S.**, 2013. Etude des sols à terfez et de leurs plantes associées et accompagnatrices dans la région Sud-Ouest de la Wilaya de Béchar. Mémoire de Magister, Univ. de Béchar, 113 p.

- **Augé R.M.**, 2000. Stomatal behavior of arbuscular mycorrhizal plants. In: *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*, Eds. Kapulnik Y, Douds DD Kluwer Academic Press, p 201-237.
- **Augé R.M.**, 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11: 3-42.
- **Augé R.M.**, 2004. Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. *Canadian Journal of Soil Science*, 84: 373-381.
- **Aviram S., Roth-Bejerano N., Kagan-Zur V.**, 2004. Two ITs forms co-inhabiting a single genet of an isolate of *Terfezia boudieri* (Ascomycotina), a desert truffle. *Anton. Van. Leeuw.*, 85: 169-174.
- **Awameh M.S.**, 1981. The response of *Helianthemum salicifolium* and *Helianthemum ledifolium* to the infection by the desert truffle *Terfezia boudieri*. *Mushroom Science*, 11: 843-853.
- **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.
- **Awameh M.S., Alsheikh A.**, 1979b. Characteristics and ascospore germination of white kame (*Tirmania nivea* and *T. pinoyi*). *Ann. Phytopathol.*, 11: 223-229.
- **Awameh M.S., Alsheikh A.**, 1980a. Ascospore germination of black kame (*Terfezia boudieri*). *Mycologia*, 72 (1): 50-54.
- **Awameh M.S., Alsheikh A.**, 1980b. Features and analysis of spore germination in the brown kame *Terfezia claveryi*. *Mycologia*, 72 (3): 494-499.
- **Awameh M., Alsheikh A., Al-Ghawas S.**, 1979. Mycorrhizal synthesis between *Helianthemum ledifolium*, *H. salicifolium* and four species of the genera *Terfezia* and *Tirmania* using ascospores and mycelial cultures obtained from ascospore germination. In: *Proceedings of the 4th North American Conference on Mycorrhizae*, Colorado State University, Fort Collins, Colorado, pp 23–23.
- **Barbieri E., Guidi C., Bertaux J., Frey-Klett P., Garbaye J., Ceccaroli P., Saltarelli R., Zambonelli A., Stocchi V.**, 2007. Occurrence and diversity of bacterial communities in *Tuber magnatum* during truffle maturation. *Environ. Microbiol.*, 9(9):2234-2246.
- **Barrs H.D.**, 1968. Determination of water deficits in plant tissue. In: Kozłowski, T.T. (Ed) *Water deficits and plant growth*. New York, Academic Press, v.1, pp 235-368.
- **Baumer M., Zerraïa L.**, 1999. La plus continentale des stations de l'arganier en Afrique du Nord. *Rev. For. Fr. Li.*, 3: 446-452.
- **Bawadikji A.H.**, 2004. La truffe de désert en Syrie : Aspects écologiques et économiques. Premier symposium sur les champignons hypogés du bassin méditerranéen, Rabat, Maroc, p 19.
- **Bawadekji A., Gargano M.L., Saitta A., Venturella G.**, 2012. A new record of the desert truffle *Picoa lefebvrei* in Saudi Arabia. *Mycotaxon*, 122: 243-247.
- **Belhacini F.**, 2011. Contribution à une étude floristique et biogéographique des matorrals du versant sud de la région de Tlemcen. *Mémoire de Magister, Univ. Abou Bakr Belkaid–Tlemcen*, 139 p.
- **Bendahou H.**, 2013. Ecologie des terfez dans la région Nord-Est de la wilaya de Béchar. *Mémoire de Magister, Univ. de Béchar*, 67 p.

- **Ben Naceur M., Ben Salem M.,** 2000. Amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'eau chez le blé par l'emploi d'antitranspirants. *Medit.*, 1: 58-62.
- **Beniston N.T., Beniston W.S.,** 1984. Fleurs d'Algérie. Ed. Entreprise nationale du livre, Alger, 359 p.
- **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. Mémoire de Magister, I.N.A, El-Harrach, Alger, 153p.
- **Bessaih A., Hellal B., Ayad N.,** 2014. Réhabilitation par l'Atriplex des parcours steppiques du sud de la préfecture de Saïda (Algérie Occidentale). *European Scientific Journal*, 10 (32): 81-92.
- **Bidak L.M., Kamala S.A., Halmy M.W.A., Heneidya S.Z.,** 2015. Goods and services provided by native plants in desert ecosystems: Examples from the northwestern coastal desert of Egypt. *Global Ecology and Conservation*, 3: 433-447.
- **Bokhary H.A.,** 1987. Desert truffles "Al-Kamah" of the Kingdom of Saudi Arabia.1. Occurrence, identification and distribution. *Arab. Gulf. J. Scient. Res.*, B5: 245-255.
- **Bokhary H.A., Parvez S.,** 1988. Desert truffles "Al-Kamah" of the Kingdom of Saudi Arabia.2. Additional contribution. *Arab. Gulf. J. Scient. Res. Agric. Biol. Sci.*, 6: 103-112.
- **Bokhary H.A., Parvez S.,** 1992. Soil mycoflora from truffle native areas of Saudi Arabia. *Mycopathologia*, 118:103-107.
- **Bokhary H.A., Parvez S.,** 1993. Chemical composition of desert truffle *Terfezia claveryi*. *Journal of food composition and analysis*, 6 (3): 285-293.
- **Bokhary H.A., Parvez S.,** 1995. Studies on the chemical composition of the Ascomycète fungus *Phaeangium lefebvrei* Pat. *J. King Saud Univ.*, 7; Science (2): 215-224.
- **Bokhary H.A., Suleiman A.A.A., Basalah M.O.,** 1989. Fatty acid components of the desert truffle "Al-Kamah" of Saudi Arabia. *J. Food. Protect.*, 52: p 608.
- **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.
- **Bonfante P., Anca I.A.,** 2009. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: A network of interactions. *Annu. Rev. Microbiol.*, 63:363-383.
- **Bonifacio E., Morte A.,** 2014. Soil Properties. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), *Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication*, *Soil Biology*, 38: 57-67, Springer, Berlin.
- **Bordallo J.-J., Rodríguez A.,** 2014. Cryptic and New Species. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), *Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication*, *Soil Biology*, 38: 39-53, Springer, Berlin.
- **Bordallo J.J., Rodríguez A., Muñoz-Mohedano J.M., Suz L.M., Honrubia M., Morte A.,** 2013. Five new *Terfezia* species from the Iberian Peninsula. *Mycotaxon*, 124:189-208.
- **Bordallo J.J., Rodríguez A., Kaounas V., Camello F., Honrubia M., Morte A.,** 2015. Two new *Terfezia* species from Southern Europe. *Phytotaxa*, 230 (3): 239-249.
- **Bouazza F.,** 2013. Intérêt de la mycorhization contrôlée du chêne vert (*Quercus ilex* L.) et du Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Miller.) par deux espèces de Terfez, en conditions gnotoxéniques et axéniques. Mémoire de Magister, Univ. d'Oran Es-sénia, 168 p.

- **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, 81p.
- **Boullard B.**, 1957. La mycotrophie chez les ptéridophytes. Sa fréquence, ses caractères, sa signification. *Le Botaniste*, 41: 5-185.
- **Boumakhleb A., Chehma A.**, 2014. Diversité floristique des Atriplexaies de la région de Djelfa. *Revue des BioRessources*, 4 (2) : 29-39.
- **Bouzenoune A.**, 2013. Les écosystèmes steppiques et sahariens. 39ème Anniversaire de la création de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, 21-24 Avril.
- **Bradai L., Bissati S., Chenchoune H.**, 2013. Etude 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.
- **Bradai L., Bissati S., Chenchoune H.**, 2014. Desert truffles of the North Algerian Sahara: Diversity and bioecology. *Emir. J. Food Agric.*, 26 (5): 425-435.
- **Bradai L., Bissati S., Chenchoune H., Amrani K.**, 2015a. Effects of climate on the productivity of desert truffles beneath hyper-arid conditions. *Int. J. Biometeorol.*, 59 (7): 907-915.
- **Bradai L., Neffar S., Amrani K., Bissati S., Chenchoune H.**, 2015b. Ethnomycological survey of traditional usage and indigenous knowledge on desert truffles among the native Sahara Desert people of Algeria. 162: 31-38.
- **Bratek Z., Jakucs E., Boka K.**, 1996. Mycorrhizae between black locust (*Robinia pseudoacacia*) and *Terfezia terfezoïdes*. *Mycorrhizae*, 6: 271-274.
- **Bratek Z., Gogan A., Berecz B., Dimeny J.**, 2004. Habitat preferences of *Terfezia terfezoïdes* in Hungary. Premier symposium sur les champignons hypogés du bassin méditerranéen, Rabat (Maroc), p 22.
- **Brosse-Genevet E.**, 2003. Gestion des Cistaies sur coupures de combustible. RCC N°7, éd. Cardère, 85 p.
- **Brunner I., Frey B.**, 2000. Detection and location of aluminium and heavy metals in ectomycorrhizal Norway spruce seedlings. *Environmental pollution and systematics*, 10: 13-27.
- **Callot G.**, 1999. La truffe, la terre, la vie. Ed. INRA., Paris, 209 p.
- **Calonge D., de la Torre M., Lawrynowicz M.**, 1977. Contribucion al estudio de los hongos hipogeos de Espana. *Anales del Instituto Botanico A. J. Cavanilles*, 34 (1): 15-31.
- **Calonge F.D., García A., Miguel S., Bastardo J.**, 2003. Some interesting fungi found in Spain, with special reference to the province of Valladolid. *Micologia Italiana*, 2: 45-52.
- **Cannon P.F., Hawksworth D.L.**, 1982. A re-evaluation of *Melanospora* Corda and similar Pyrenomycetes, with a revision of the British species. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 84: 115-160.
- **Castellano M.A., Turkoğlu A.**, 2012. New records of truffle taxa in *Tuber* and *Terfezia* from Turkey. *Turk. J. Bot.*, 36: 295-298.
- **Cavalli-Sforza L.L., Edwards A.W.F.**, 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution*, 21 : 550-570.

- **Chafi M.E.-H.**, 1992. Prospection des plantes à associations symbiotiques de type mycorhizes des zones arides algériennes. Cas de la région d'Ain Ben Khellil, W. de Naama. Mémoire de Magister, Univ. d'Oran, Es-sénia, 114 p.
- **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.
- **Chang J.-H., Wang Y.-Z.**, 2009. Six new records of Ascomycetes from Taiwan. Fung. Sci., 24: 29-37.
- **Chapuis M.F., Candèze M.E.**, 1853. Catalogue des larves des coléoptères, connues jusqu'à ce jour : avec la description de plusieurs espèces nouvelles VIII. Mémoires de la Société Royale de Sciences de Liège, 8: 347-653.
- **Chatin A.**, 1891. Contribution à l'histoire naturelle de la truffe. II Terfas ou truffes d'Afrique et d'Arabie, genres *Terfezia* et *Tirmania*. Bull. Soc. Bot. France, 38:54-64.
- **Chatin A.**, 1892. Nouvelle contribution à l'histoire de la truffe: *Tirmania cambonii*; Terfas du Sud algérien. Bull. Soc. Bot. France, 39: 275-278.
- **Chellal A.**, 1995. *Terfezia boudieri* et *Tirmania pinoyi* : Composition chimique et effet des traitements thermiques, pouvoir antibiotique. Mémoire de Magister, Univ. Ferhat Abbas, Sétif, 109 p.
- **Chellal A., Lukasova E.**, 1995. Evidence for antibiotics in the two Algerian truffles *Terfezia* and *Tirmania*. Pharmazie, 50 (3): 228–229.
- **Chevalier G.**, 2014. The European Desert Truffles. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication, Soil Biology, 38: 121-141, Springer, Berlin.
- **Chevalier G., Grente J.**, 1979. Application pratique de la symbiose ectomycorhizienne: production à grande échelle de plants mycorhizés par la truffe (*Tuber melanosporum* Vitt.). Mush Sci, 10: 483–505
- **Chevalier G., Grente J., Pollacsek A.**, 1973. Obtention de mycorhizes de différents *Tuber* par synthèse à partir de spores en conditions gnotoxéniques et à partir de cultures pures de mycélium en conditions axéniques et gnotoxéniques. Ann. Phytopathol., 5 : 107–108
- **Chevalier G., Rioussset L., Dexheimer J., Dupre C.**, 1984. Synthèse mycorhizienne entre *Terfezia leptoderma* Tul et diverses Cistacées. Agronomie, 4 : 210-211.
- **Chevalier G., Rioussset L., Rioussset 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), p 23.
- **Clarck J.M., Mac-Caig T.N.**, 1982. Excised leaf water relation capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. Can. J. Plant Sci., 62: 571-576.
- **Claridge A.W., Trappe J.M., Paull D.J.**, 2014. Ecology and Distribution of Desert Truffles in the Australian Outback. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication, Soil Biology, 38: 203-214, Springer, Berlin.
- **Colombani J., Lamagat J.-P., Thiebaut J.**, 1972. Mesure de la perméabilité des sols en place: un nouvel appareil pour la méthode Muntz une extension de la méthode Porchet aux sols hétérogènes. Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Hydrol., 9 (3): 15-46.

- **Coutin, R.**, 1989. Truffes et mouches rabassières. *Insectes*, 75 : 6-8.
- **Coutin R.**, 2005. Insectes mycophages. *Insectes*, 138 (3): 3-8.
- **Cruz R.E., de la Zarade J.F., Agganzae N.S., Lorilla E.B.** 1999. Differential mycorrhizal development of some agricultural, horticultural and forestry crops to inoculation of mycorrhizal fungi. In: Jasper D (ed) Proceedings of the international symposium on management of mycorrhizas on agriculture, horticulture and forestry. Aust. Inst. Agric Sci., Australia, p 54.
- **Dahham S.S., Al-Rawi S.S., Ibrahim A.H., Shah Abdul Majid A., Shah Abdul Majid A.M.**, 2016. Antioxidant, anticancer, apoptosis properties and chemical composition of black truffle *Terfezia claveryi*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, Article in press.
- **Dalpé Y., Séguin S.M.**, 2013. Microwave-assisted technology for the clearing and staining of arbuscular mycorrhizal fungi in roots. *Mycorrhiza*, 23 (4):333-340.
- **Dennouni N.**, 1996, Mise en évidence des activités antibactériennes et antifongiques chez deux espèces de terfez d'Algérie (*Tirmamia nivea* et *Tirmamia pinoyi*). Mémoire de Magister, Univ. Aboubakr Belkaid, Tlemcen, 112 p.
- **Dexheimer J., Gérard J., Leduc J.P., Chevalier G.**, 1985. Etude ultrastructurale comparée des associations symbiotiques mycorhiziennes *Helianthemum salicifolium* – *Terfezia claveryi* et *Helianthemum salicifolium* – *Terfezia leptoderma*. *Can. J. Bot.*, 63: 582–591.
- **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, Univ. d'Oran Es-Sénia, 200 p.
- **Dib-Bellahouel S., Fortas Z.**, 2009. Activité antibactérienne des produits extraits à partir des terfez d'Algérie. Congrès International: Biotechnologie microbienne au service du développement, Marrakech (Maroc), p 195.
- **Dib-Bellahouel S., Fortaz Z.**, 2011. Antibacterial activity of various fractions of ethyl acetate extract from the desert truffle, *Tirmania pinoyi*, preliminary analyzed by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). *African J. Biotech.*, 10 (47): 9694–9699.
- **Dib-Bellahouel S., Fortas Z.**, 2014. Activity of the desert truffle *Terfezia boudieri* Chatin, against associated soil microflora. *African journal of microbiology research*, 8 (32): 3008-3016.
- **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.
- **Di Santo D.P.**, 2012. Interazioni pianta–micorriza–insetto: il modello *Quercus* spp.–*Tuber* spp.–*Leiodes cinnamomea* (Panzer). Thèse de Doctorat, Università Degli Studi Del Molise, Italie, 106 p.
- **Djelloul R.**, 2014. Cartographie des champignons au niveau du Parc National d'El Kala (Nord Est Algérien). Thèse de Doctorat, Univ. de Badji Mokhtar – Annaba, 232 p.
- **Doğan H.H., Aydın S.**, 2013. Determination of antimicrobial effect, antioxidant activity and phenolic contents of desert truffle in Turkey. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10 (4): 52-58.
- **Dommergues Y., Duhoux E., Diem H.G.**, 1999. Les arbres fixateurs d'azote. Ed. CIRAD, Espaces, FAO, IRD, Montpellier, Rome, Paris, 499 p.

- **Doucet R.**, 2006. Le climat et les sols agricoles. Ed. Berger, Eastman, Québec, 443 p.
- **Drénou C.**, 2006. Les racines, face cachée des arbres. Ed. Institut pour le développement forestier CNPPF, Paris, p 28-49.
- **Duhoux E., Nichole M.**, 2004. Biologie végétale. Association et interaction chez les plantes. Ed. Dunod, Paris, 166 p.
- **Dumas-Gaudot E., Golotte A., Cordier C., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V.**, 2000. Modulation of host defense systems. In: Arbuscular mycorrhiza: physiology and function, Ed. Y Kapulnick and DD Douds Jr. Kluwer Academic Press, 173-200.
- **Dundar A., Faruk Yesil O., Acay H., Okumus V., Ozdemir S., Yildiz A.**, 2012. Antioxidant properties, chemical composition and nutritional value of *Terfezia boudieri* (Chatin) from Turkey. Food Science and Technology International, 18 (4): 317-328.
- **Durand J.H.**, 1983. Les sols irrigables, Agence de coopération culturelle et technique. P.U. France, 190 p.
- **El Enshasy H., Elsayed E.A., Aziz R., Wadaan M.A.**, 2013. Mushrooms and Truffles: Historical Biofactories for Complementary Medicine in Africa and in the Middle East. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013:1-10.
- **El-Kholy H.K., Ali A.M.M.**, 1991. Truffles in Egypt: Field survey and identification. Micologia e Vegetazione Mediterranea, 7 (1):46.
- **Ewaze, J.O., Al-Naama, M.M.**, 1989. Studies on nitrogen metabolism of *Terfezia* spp. and *Tirmania* spp. New Phytologist, 112: 419–422.
- **Fan L., Hou C.-l., Cannon P.F., Li Y.**, 2012. A new species of *Melanospora* on truffles from China. Mycologia, 104 (6): 1433–1442.
- **Farlow W.G.**, 1888. La truffe: études sur les truffes et les truffières. Librairie Baillièrre et Fils, Paris, 312 p.
- **Feeney J.**, 2003. Desert truffles galor. Mycological society of San Francisco, 54 (9):1-8.
- **Felsenstein J.**, 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution, 39: 783-791.
- **Ferdman Y., Aviram S., Roth-Bejerano N., Trappe J.M., Kagan-Zur V.**, 2005. Phylogenetic studies of *Terfezia pfeilii* and *Choiromyces echinulatus* (Pezizales) support new genera for Southern African truffles: *Kalaharituber* and *Eremiomyces*. Mycol. Res., 109 (2): 237-245.
- **Ferdman Y., Sitrit Y., Li Y.F., Roth-Bejerano N., Kagan-Zur V.**, 2009. Cryptic species in the *Terfezia boudieri* complex. Antonie Van Leeuwenhoek, 95 (4): 351-362.
- **Fischer E.**, 1938. Klasse Ascomycetes, Reihe Euascales. Unterreihe VIII. Tuberineae. In: Engler A., Harms H. (eds) Naturlichen Pflanzenfamilien V. Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- **Fitch W.M.**, 1971. Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. Systematic Zoology, 20:406-416.
- **Fortas Z.**, 1990. Etude de trois espèces de terfez : caractères cultureux et cytologie du mycélium isolé et associé à *Helianthemum guttatum*. Thèse de Doctorat d'état, Univ. d'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), p 24-25.

- **Fortas Z.**, 2009. Diversité des espèces de terfez (truffes des sables) des zones arides algériennes. Séminaire international: Protection et préservation des écosystèmes sahariens « Ouargla », p 51.
- **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). 2^{ème} congresso internazionale sul. tartufo spoletto, 197-203.
- **Fortas Z., Chevalier G.**, 1992 a. Caractéristiques de la germination des ascospores de *Terfezia arenaria* (Moris) Trappe, récoltée en Algérie. Cryptogamie Mycol., 13: 21-29.
- **Fortas Z., Chevalier G.**, 1992 b. Effet des conditions de culture sur la mycorhization de l'*Helianthemum guttatum* par trois espèces de terfez des genres *Terfezia* et *Tirmamia* d'Algérie. Can. J. Bot., 70: 2453-2460.
- **Fortas Z., Bellahouel-Dib S.**, 2006. Extraction des substances bioactives des terfez d'Algérie et mise en évidence de leur activité antimicrobienne. SIPAM.
- **Fortas Z., Bellahouel-Dib S.**, 2007. Extraction des substances bioactives des terfez d'Algérie et mise en évidence de leur activité antimicrobienne. Revue des régions arides, 1 : 280-282.
- **Fortin J.A., Plenchette C., Piché Y.**, 2016. Les mycorhizes. L'essor de la nouvelle révolution verte. Eds. Quae, Québec, Versailles, 184 p.
- **Foureau F.**, 1896. Essai de catalogue des noms arabes et berbères de quelques plantes, arbustes et arbres. Ed. A. Challamel, 60 p.
- **Frank J., Barry S., Madden J., Southworth D.**, 2006. Oaks Belowground: Mycorrhizas, Truffles, and Small Mammals. Sixth California Oak Symposium: Today's Challenges, Tomorrow's Opportunities, October 9-12, Rohnert Park, California, pp 131-138.
- **Gerdemann J.W.**, 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: The development and Function of Roots. Torrey J.G., Clarkson D.T. (eds). Academic Press, New York and London, pp 575-591.
- **Ghezlaoui B.D., Benabadji N., Benabadji N.**, 2013. Phytoecological and phytoedaphological characterization of steppe plant communities in the south of Tlemcen (western Algeria). Open Journal of Ecology, 3 (8) : 495-500.
- **Gianinazzi S., Wipf D.**, 2010. Des champignons au service des plantes. PHM–Revue Horticole, 521 : 9-11.
- **Gilkey H.M.**, 1947. New or otherwise noteworthy species of Tuberales. Mycologia, 36:441–452.
- **Giovannetti G., Fontana A.**, 1982. Mycorrhizal synthesis between Cistaceae and Tuberales. New phytologist, 92 (4): 533-537.
- **Glass L.N., Donaldson G.C.**, 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous Ascomycetes. Appl. Environ. Microb., 61:1323–1330.
- **Glejdura S., Kunca V.**, 2012. First record of *Mattirolomyces terfezioides* from Slovakia-the northernmost locality in Europe. Catathelasma, 14: 5-9.
- **Goudjal Y., Zamoum M., Meklat A., Sabaou N., Mathieu F., Zitouni A.**, 2015. Plant-growth-promoting potential of endosymbiotic actinobacteria isolated from sand truffles

(*Terfezia leonis* Tul.) of the Algerian Sahara. Ann. Microbiol. DOI 10.1007/s13213-015-1085-2.

- **Gouzi H., Belyagoubi L., Abdelali K.N., Khalifi A.,** 2011. In vitro antibacterial activities of aqueous extracts from Algerian desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*, Ascomycetes) against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Int. J. Med. Mushrooms, 13:553–558.

- **Gucin F., Kaya A., Soylu M.K., Uzun Y.** 2010. *Picoa* Vittad., a new truffle genus record for Turkey. Biological Diversity and Conservation, 3: 23-25.

- **Guevara-Guerrero G., Benjamin S., Heidi T., Efrén C.G., Markus G.,** 2012. *Genea mexicana*, sp. nov., and *Geopora toluicana*, sp. nov., new hypogeous Pyronemataceae from Mexico, and the taxonomy of *Geopora* reevaluated. Mycol. Progress.doi: 10.1007/s11557-011-0781-y.

- **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.

- **Haimed M., Nmichi A., Ouazzani Touhami A., Benkirane R., Douira A.,** 2013. Bibliographic inventory of Moroccan Central Plateau fungi. Journal of Animal & Plant Sciences, 18 (2): 2723-2749.

- **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.

- **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, p 86, p 311.

- **Hamza A., Neffati M.,** 2014. Chemical screening and antimicrobial proprieties of *Terfezia boudieri* (a wild edible fungi N south Tunisia). Middle-East Journal of Scientific Research, 21 (8): 1317-1322.

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

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

- **Hannani A., Chehma A.,** 2012. Développement végétatif et longévité de l'*Acacia raddiana* au Sahara Septentrional. Revue de BioRessources, 2(1) : 50-57.

- **Hansen K., Laessoe T., Pfister D.H.,** 2001. Phylogenetics of the Pezizaceae, with an emphasis on *Peziza*. Mycologia, 93: 958-990.

- **Hansen K., Lo-Buglio K.F., Pfister D.H.,** 2005. Evolutionary relationships of the cup-fungus genus *Peziza* and Pezizaceae inferred from multiple nuclear genes: RPB2, beta-tubulin and Lsu rDNA. Mol. Phylogenet. Evol., 36: 1-23.

- **Hao Z., Christie P., Qin L., Wang C., Li X.,** 2005. Control of *Fusarium* wilt of cucumber seedlings by inoculation with an arbuscular mycorrhizal fungus. *Journal of Plant Nutrition*, 28 (11): 1961-1974.
- **Harki E., Bouya D., Dargent R.,** 2006. Maturation-associated alterations of the biochemical characteristics of the black truffle *Tuber melanosporum* Vitt. *Food Chemistry*, 99: 394-400.
- **Harkness H.W.,** 1899. Californian hypogeous fungi. *Proc. Calif. Acad. Sci.*, 1: 241-292.
- **Hashem A.R., Al-Obaid A.M.,** 1996. Mineral composition of soil and wild desert truffles in Saudi Arabia. *J. King Saud Univ.*, 8 (1): 5-10.
- **Hasnaoui O., Bouazza M.,** 2015. Indicateurs de dégradation des bio-ressources naturelles de l'Algérie Occidentale: cas de la steppe de la wilaya de Saida. *Algerian journal of arid environment*, 5 (1) : 63-75.
- **Heim R.,** 1934. Observations sur la flore mycologique Malagache. *Ann. Cryptog Exotique*, 7(5):5-10
- **Hetrick B.A.D., Wilson G.W.T., Cox T.S.,** 1992. Mycorrhizal dependence of modern wheat varieties, landraces, and ancestors. *Canadian Journal of Botany*, 70 (10): 2032-2040.
- **Hibbett D.S., Binder M., Bischoff J.F., Blackwell M., Cannon P.F., Eriksson O.E., Huhndorff S., James T., Kirk P.M., Lucking R., Thorsten Lumbsch H., Lutzoni F., Matheny P. B., McLaughlin D.J., Powell M.J., Redhead S., Schoch C.L., Spataforak J.W., Stalpers J.A., Vilgalys R., Aime C.M., Aptroot A., et al.,** 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological research*, 3: 509-547.
- **Högberg P., Nordgren A., Buchmann N., Taylor A.F.S., Ekblad A., Högberg M.N., Nyberg G., Ottosson-Löfvenius M., Read D.J.,** 2001. Large-scale forest girdling shows that current photosynthesis drives soil respiration. *Nature*, 4 (11):789-792.
- **Hoiland K.,** 1978. Funn av *Melanospora tulasnei*, en parasittisk pyrenomycet, i Norge. *Blyttia*, 36: 65-47.
- **Honrubia M., Andriano A., Morte A.,** 2014. Preparation and Maintenance of Both Man-Planted and Wild Plots. *The European Desert Truffles*. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), *Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication, Soil Biology*, 38: 367-387, Springer, Berlin.
- **Honrubia M., Cano A., Molina-Ninrola C.,** 1992. Hypogeous fungi from Southern Spanish semi-arid lands. *Personia*, 14: 647-653.
- **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.
- **Jabnoue M.,** 2008. Adaptation des plants au stress salin : caractérisation de transporteurs de sodium et de potassium de la famille HKT chez le riz. Thèse de Doctorat, Univ. de Montpellier, France, 127 p.
- **Jamali S., Banihashemi Z.,** 2012. Fungi associated with ascocarps of desert truffles from different parts of Iran. *J. Crop. Protect.*, 1: 41-47.
- **Jamali S., Banihashemi Z.,** 2013. Species-specific ITS primers for the identification of *Picoa juniperi* and *Picoa lefebvrei* and using nested-PCR for detection of *P. juniperi* in planta. *Mol. Biol. Rep.*, 40(10):5701-5712.

- **Janakat S., Nassar M.**, 2010. Hepatoprotective Activity of Desert Truffle (*Terfezia claveryi*) in comparison with the Effect of *Nigella sativa* in the Rat. Pakistan Journal of Nutrition, 9 (1): 52-56.
- **Janakat S., Al-Fakhiri S., Sallal A.K.**, 2004. A promising peptide antibiotic from *Terfezia claveryi* aqueous extract against *Staphylococcus aureus* in vitro. Phytotherapy research, 18: 810-813.
- **Janakat S.M., Al-Fakhiri S.M., Sallal A.K.J.**, 2005. Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the truffle *Terfezia claveryi* against *Pseudomonas aeruginosa*. Saudi Med. J., 26: 952–955.
- **Janex-Favre M.C., Parguey-Leduc A., Rioussset L.**, 1988. L'ascocarpe hypogé d'une terfez française (*Terfezia leptoderma* Tul., Tubérales, Discomycètes). Bull. Soc. Mycol. Fr., 104: 145-178.
- **Kaabeche M.**, 1996. Les relations climat-végétation dans le bassin du Hodna (Algérie). Acta Botanica Gallica, 143:1, 85-94.
- **Kagan-Zur V.**, 1998. Terfezias, a family of mycorrhizal edible mushrooms for arid zones. 2nd International conf. on mycorrhiza (ICOM 2), uppsala (Sweden).
- **Kagan-Zur V.**, 2001. Terfezias, a family of mycorrhizal edible mushrooms for arid zones. In combating desertification with plants. Plenum, New York, p 45-54.
- **Kagan-Zur V., Akyuz M.**, 2014. Asian Mediterranean Desert Truffles. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication, Soil Biology, 38: 159-172, Springer, Berlin.
- **Kagan-Zur V., Roth-Bejerano 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. Ed. A. Varma, Mycorrhiza, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 161-183.
- **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.
- **Kahoul M.**, 2004. La microflore fongique *in situ* dans la région d'Azzaba (N.E. Algérie) et relation avec les champignons hypogés. Premier symposium sur les champignons hypogés du bassin méditerranéen, Rabat, Maroc, p 37.
- **Kermani I.**, 2013. Mycorrhization contrôlée d'une Cistacée pérenne par les terfez en conditions gnotoxéniques et essai de leur transplantation sur le terrain. Mémoire de Magister, Univ. d'Oran, Es-sénia, 123 p.
- **Kers L.E.**, 1974. The Swedish Geopora and their Pyrenomycete Infections. Svensk Botanisk Tidskrift, Bd 68, pp 344-354.
- **Khabar L.**, 2002. Etudes pluridisciplinaires des truffes du Maroc et perspectives pour l'amélioration de production des « Terfess » de la forêt de la Mamora. Thèse de Doctorat d'Etat Es-sciences, Univ. Mohamed V–Agdal, Rabat (Maroc), 167 p.
- **Khabar L.**, 2014. Mediterranean Basin: North Africa. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication, Soil Biology, 38: 143-158, Springer, Berlin.



- **Khabar L., Najim L., Janex-Favre M.C., Parguey-Leduc A.**, 2001. Contribution à l'étude de la flore mycologique du Maroc : Les truffes marocaines, (Discomyètes). Bull. Soc. Mycol. Fr., 117 (3): 213-229.
- **Khabar L., Laruelle F., Fontaine J., Najim L., Sancholle M., Durand R.**, 2004. Acides gras et stérols de quelques champignons hypogés du Maroc. Premier symposium sur les champignons hypogés du bassin méditerranéen, Rabat (Maroc), p 39.
- **Khojasteh S.M.B., Amiri L., Sheikhzadeh F.**, 2013. Effect of the alcoholic extract of *Terfezia boudieri* on reproductive hormones in male rats. International Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 3 (2): 517-522.
- **Kimura M.**, 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. J. Mol. Evol., 16 (2):111-120.
- **Kiraly I., Bratek Z.**, 1992. *Terfezia terfezoïdes*, a common truffle in Hungary. Mycol. Veg. Med., 7 (1): 43-45.
- **Kivrak I.**, 2014. Analytical methods applied to assess chemical composition, nutritional value and *in vitro* bioactivities of *Terfezia olbiensis* and *Terfezia claveryi* from Turkey. Food Anal. Methods, DOI 10.1007/s12161-014-0009-2.
- **Komaki A.M., Fotouhifar Kh.B., Aghajani M.A.**, 2012. Study of micromycetes flora in Golestan province (N Iran). Rostaniha, 13 (1): 83-93.
- **Korf R.**, 1973. Sparassoid ascocarps in pezizales and tuberales. Rep. Tottori. Mycol. Inst., 10:389–403.
- **Kovacs G.M.**, 2002. Study of mycorrhizae on the Great Hungarian Plain. Summary of Ph.D. dissertation, Univ. Szeged, Hungary, 9 p.
- **Kovacs G.M., Trappe J.M.**, 2014. Nomenclatural History and Genealogies of Desert Truffles. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication, Soil Biology, 38: 173-192, Springer, Berlin.
- **Kovács G.M., Calonge D., Martín M.P.**, 2011b. The diversity of *Terfezia* desert truffles: new species and a highly variable species complex with intrasporocarpic nrDNA ITS heterogeneity. Mycologia, 103: 841-853.
- **Kovacs G.M., Jakucs E., Bagi I.**, 2007. Identification of host plants and description of sclerotia of the truffle *Mattirolomyces terfezoïdes*. Mycol. Progress, 6: 19-26.
- **Kovács G.M., Martín M.P., Calonge F.D.**, 2009. First record of *Mattirolomyces terfezoïdes* from the Iberian Peninsula: its southern- and westernmost locality. Mycotaxon, 110: 325-330.
- **Kovacs G.M., Vagvolgyi C., Oberwinkler F.**, 2003. In Vitro interaction of the truffle *Terfezia terfezoïdes* with *Robinia pseudoacacia* and *Helianthemum ovatum*. Folia Microbiol., 48 (3): 369-378.
- **Kovacs G.M., Bagi I., Vagvolgyi C., Kottke I., Oberwinkler F.**, 2002. Studies on the root associations of the truffle *Terfezia terfezoïdes*. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 49 (2-3): 207-213.
- **Kovacs G.M., Trappe J.M., Alsheikh A.M., Boka K., Elliott T.F.**, 2008. Imaia, a new truffle genus to accommodate *Terfezia gigantea*. Mycologia, 100 (6): 930-939.

- **Kovacs G.M., Rudnoy S., Vagvolgyi C., Lasztity D., Racz I., Bratek Z.,** 2001. Intraspecific invariability of the Internal Transcribed Spacer Region of the rDNA of the truffle *Terfezia terfezioides* in Europe. *Folia Microbial*, 46 (5): 423-426.
- **Kovacs G.M., Trappe J.M., Alsheikh A.M., Hansen K., Healy R.A., Vagi P.,** 2011a. *Terfezia* disappears from the American truffle mycota as two new genera and *Mattirolomyces* species emerge. *Mycologia*, 103:831-840.
- **Kues U., Liu Y.,** 2000. Fruiting body production in Basidiomycetes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 54 : 141-152.
- **Kues U., Martin F.,** 2011. On the road to understanding truffles in the underground. *Fungal Genet. Biol.*, 48 (6):555-60.
- **Kytöviita M.-M.,** 2005. Asymmetric symbiont adaptation to Arctic conditions could explain why high Arctic plants are non-mycorrhizal. *FEMS Microbiology Ecology*, 53 : 27-32.
- **Laboulbène A.,** 1864. Observations sur les insectes tubérovores. *Ann. Soc. Ento. Fr.*, 4: 5-114.
- **Laessoe T., Hansen K.,** 2007. Truffle trouble: what happened to the Tuberales? *Mycological research*, 3: 1075-1099.
- **Langeron M.,** 1952. Précis de mycologie. Ed. Masson, Paris, p 367-397.
- **Leduc J.P., Dexheimer J., Chevalier G.,** 1986. Etude ultrastructurale comparée des associations de *Terfezia leptoderma* avec *Helianthemum salicifolium*, *Cistus albidus* et *Cistus salviaefolius*. In: Aspects physiologiques et génétiques des mycorhizes. 1^{er} Sem sur les mycorhizes, Eds.V.Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi, I.N.R.A., Paris, 291- 294.
- **Le Houerou H.N.,** 1995. Bioclimatologie et biogéographie des steppes aride du Nord de l’Afrique. Diversité biologique, développement durable et désertification. Option Médit. Série B n°10. C.I.H.E.A.M. et A.C.C.T. 396 p.
- **Le Houerou H.N., Claudin J., Pouget M.,** 1977. Etude bioclimatique des steppes algériennes (avec une carte bioclimatique à 1/1.000.000ème). *Bull. Soc. Hist. nat. Afr. Nord*, 68 : 33-74.
- **Li L.T.,** 1997. Ultrastructural studies of *Leucangium carthusianum* (hypogeous pezizales). *International Journal of Plant Sciences*, 158: 189-197.
- **Loizides M., Hobart C., Konstandinides G., Yiangou Y.,** 2012. 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. *Bull. Soc. Bot. France*, 53:180-215.
- **Maire R.,** 1952-1987. Flore de l’Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara). Lechevalier, Paris, 16 v.
- **Malençon G.,** 1938. Les truffes européennes. Historique, morphogénie, organographie, classification, culture. *Revue Mycologique*, 3 ((N.S.) Méacutem 1): 1–92.
- **Mandaville J.P.,** 2004. Bedouin ethnobotany: plant concepts and plant use in a desert pastoral world. Thèse de Doctorat, université d’Arizona, 445 p.
- **Mandaville J.P.,** 2011. Bedouin ethnobotany: plant Concepts and uses in a desert pastoral world. University of Arizona Press, 352 p.

- **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.
- **Marasas W.F.O., Trappe J.M.**, 1973. Notes on Southern African Tuberales. *Bothalia*, 11: 139-141.
- **Martin F, Kohler A, Murat C, Balestrini R, Coutinho P M, Jaillon O, Montanini B, Morin E, Noel B, Percudani R, Porcel B, Rubini A, Amicucci A, Amselem J, Anthouard V, Arcioni S, Artiguenave F, Aury J-M, Ballario P, Bolchi A, Brenna A, Brun A, Buee M, et al.**, 2010. The Black Truffle Genome Uncovers Evolutionary Origins and Mechanisms of Symbiosis. *Nature*, 464:1033–1038.
- **Martin-Santafe M., Perez-Forteza V., Zuriaga P., Barriuso J.**, 2014. Phytosanitary problems detected in truffle cultivation in Spain. A review. *Forest Systems*, 23 (2): 307-316.
- **Mekawey A.I.M.** 2014a. Biological properties, nutraceutical potential, and antioxidant activity of *Terfezia boudieri* Chatin a wild edible desert truffle from Egypt. *Egypt. J. Biomed. Sci.*, 45: p 18.
- **Mekawey A.A.I.**, 2014b. Study of action of *Terfezia boudieri* Chatin, a wild edible desert truffle from Egypt on morphological features and ultra structures of certain bacterial and fungal isolates. *International journal of scientific research*, 3 (12): 36-42.
- **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.
- **Mohamed-Benkada M.**, 1999. Extraction et essai d'isolement des principes antimicrobiens de *Terfezia clavervyi* Chat. Thèse de Magister, Univ. d'Oran, Es-sénia, 83 p.
- **Mohammedi H., Benabdeli K.**, 2001. Impacts des plantations ligneuses du barrage vert dans la région d'Aflou dans la protection de la biodiversité en zone aride et semi-aride. *Recueil de résumés du Séminaire international sur l'Ecodéveloppement durable en zones arides et semi-arides, ECODEV, Ghardaia*, 6-8 Février, pp 375-381.
- **Molinier V.**, 2013. Diversité génétique et aromatique de la truffe de Bourgogne. Thèse de Doctorat, Univ. de Bourgogne, 316 p.
- **Montanini B., Betti M., Marquez A.J., Balestrini R., Bonfante P., Ottonello S.**, 2003. Distinctive properties and expression profiles of glutamine synthetase from a plant symbiotic fungus. *Biochem. J.*, 373: 357-368.
- **Montecchi A., Sarasini M.**, 2000. *Funghi ipogei d'Europa*. A.M.B. Fondazione Centro Studi Micologici, 714 p.
- **Morcillo M., Sanchez M., Vilanova X.**, 2015. *Truffle Farming Today, a Comprehensive World Guide*. Micologia Forestal & Aplicada SL, 352 p.
- **Moreno G., Alvarado P., Manjon J.L.**, 2014. Hypogeous Desert Fungi. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), *Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication*, *Soil Biology*, 38: 3-20, Springer, Berlin.
- **Moreno G., Diez G.J., Manjon J.L.**, 2000a. *Picoa melospora* sp. nov (Pezizales) from the Iberian Peninsula. *Bull. Fed. Assoc. Mycol. Medit.*, 18:87–92.
- **Moreno G., Diez J., Manjon J.L.**, 2000b. *Picoa lefebvrei* and *Tirmania nivea*, two are hypogeous fungi from Spain. *Mycol. Res.*, 104 (3): 378-381.

- **Moreno G., Diez J., Manjon J.L.**, 2002. *Terfezia boudieri*, first record from Europe of a rare vernal hypogeous mycorrhizal fungus. *Persoonia*, 17 (4).
- **Moreno G., Galen R., Ortega A.**, 1986. Hypogeous fungi from continental Spain. *Cryptogam. Mycol.*, 7 (3): 201- 229.
- **Moreno G., Lizárraga M., Esqueda M., Galán R., Alvarado P.**, 2012. New records of little-known species of *Carbomyces* (*Carbomycetaceae*, *Ascomycota*). *Mycotaxon*, 120: 89-98.
- **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 claveryi*. *Mycorrhiza*, 10 : 115-119.
- **Morte M.A., Cano A., Honrubia M., Torres P.**, 1994. In vitro mycorrhization of micropropagated *Helianthemum almeriense* plantlets with *Terfezia claveryi* (desert truffle). *Agricultural Science in Finland*, 3: 309-314.
- **Morte A., 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, 221-234.
- **Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R., Banihashemi Z., Jamali S.**, 2014. Specific Primers for Identification and Detection of Three Major Desert Truffle Species in Iran with Special Reference to *Terfezia claveryi*. *Iran Agricultural Research*, 33 (1): 29-42.
- **Moubasher A.H.**, 1995. Soil fungi are an active partner of our ecosystem, their biodiversity and activities should be appreciated. *Qatar Univ. Sci. J.*, 15 (1): 239-247.
- **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.
- **Moussu C., Lauriac A.**, 2008. Dossier les truffes. *Forêts de France*, 518 : 14-26.
- **Moustafa A.F.**, 1985. Taxonomic studies on the fungi of Kuwait. III: Ascomycotina (Plectomycetes and Discomycetes). *J. Univ. Kuwait. (Sci.)*, 12: 79-100.
- **Moustafa A.F., Abdel-Azeem A.M.**, 2011. An annotated check-list of Ascomycota reported from soil and other terricolous substrates in Egypt. *Journal of Basic & Applied Mycology*, 2: 1-27.
- **Mridha M.A.U., Al-Qarawi A.A., Al-Barakah F.N.I.**, 2014. Biodiversity and conservation of desert truffles in Saudi Arabia. 1st International Conference on truffle research 14, p 49.
- **Murat C.**, 2004. Etude de la diversité génétique de la truffe blanche du Piémont (*Tuber magnatum* Pico) et de la truffe noire du Périgord (*Tuber melanosporum* Vittad.). Thèse de Doctorat, Univ. Henri Poincaré-Nancy, France, 156 p.
- **Murat C., Mello A., Abbà S., Vizzini A., Bonfante P.**, 2008. Edible mycorrhizal fungi: Identification, life cycle and morphogenesis. Ed. A. Varma, *Mycorrhiza*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 707-732.

- **Murcia M.A., Martinez-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. *J. Food Protect.*, 65 (10): 1614-1624.
- **Murcia M.A., Martinez-Tomé M., Vera A., Morte A., Gutierrez A., Honrubia M., Jiménez A.M.,** 2003. Effect of industrial processing on desert truffles (*Terfezia claveryi* Chatin and *Picoa juniperi* Vittadini): Proximate composition and fatty acids. *J. Sci. Food Agric.*, 83 (6): 535-541.
- **Navarro-Rodenas A., Pérez-Gilabert M., Torrente P., Morte A.,** 2012. The role of phosphorus in the ectendomycorrhiza continuum of desert truffle mycorrhizal plants. *Mycorrhiza*, 22 (7):565–575.
- **Navarro-Rodenas A., Bárzana G., Nicolás E., Carra A., Schubert A., Morte A.,** 2013. Expression Analysis of Aquaporins from Desert Truffle Mycorrhizal Symbiosis Reveals a Fine-Tuned Regulation Under Drought. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 26 (9): 1068–1078.
- **Nazzaro F., Fratianni F., Picariello G., Coppola R., Reale A., Diluccia A.,** 2007. Evaluation of gamma rays influence on some biochemical and microbiological aspects in black truffles: *Food Chemistry*, 103: 344-354.
- **Neggaz S.,** 2010. Analyses chromatographiques et spectroscopiques des composés antimicrobiens d'une espèce de terfez : *Tirmania pinoyi* (Maire). Mémoire de Magister, Univ. Oran, Es-sénia, 107 p.
- **Neggaz S., Fortas Z.,** 2013. Tests of Antibiotic Properties of Algerian Desert Truffle against Bacteria and Fungi. *J. Life Sci.*, 7: 259–66.
- **Neggaz S., Fortas Z., Chenni M., El Abed D., Ramli B., Kambouche N.,** 2015. In vitro evaluation of antioxidant, antibacterial and antifungal activities of *Terfezia claveryi* Chatin. *Phytothérapie*, DOI 10.1007/s10298-015-0993-4.
- **Norman J.E., Egger K.N.,** 1999. Molecular phylogenetics analysis of *Peziza* and related genera. *Mycologia*, 91: 820-829.
- **O'Donnell K., Cigelnik E., Weber N.S., Trappe J.M.,** 1997. Phylogenetic relationships among ascomycetous truffle and the true and false morels inferred from 18s and 28s ribosomal DNA sequence analysis. *Mycologia*, 89: 48-65.
- **Oihabi A., Meddich A.,** 1996. Effet des mycorhizes à arbuscules (MA) sur la croissance et la composition minérale du trèfle. *Cahiers Agricultures*, 5: 382-386.
- **Omer E.A., El-Menshawi B.S., Smith D.L., Wood K.V.,** 1994. The volatiles of desert truffle: *Tirmania nivea*. *Plant Foods for Human nutrition*, 45: 247-249.
- **Ortiz A., Perez-Andueza G., Saucedo C., Herrero F.,** 2014. Electrophysiological (Eag) responses of *Leiodes cinnamomeus* to volatiles isolated from *Tuber melanosporum*. 1st International Conference on Tuffle research 14, p 38.
- **Pacioni G., El-Kholy H.,** 1994. Tartufi Del Deserto Egiziano. *Micologia e vegetazione Mediterranea*, 9 (2): 69-84.
- **Pacioni G., Bologna M.A., Laurenzi M.,** 1991. Insect attraction by *Tuber*: a chemical explanation. *Mycol. Res.*, 95 (12): 1359-1363.
- **Paolocci F., Rubini A., Riccioni C., Arcioni S.,** 2006. Reevaluation of the life cycle of *Tuber magnatum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72 : 2390-2393.

- **Parejo-Farnés C., Albadalejo R.G., Arroyo J., Aparicio A.,** 2013. A phylogenetic hypothesis for *Helianthemum* (Cistaceae) in the Iberian Peninsula. *Botanica Complutensis*, 37:83–92.
- **Pargney J.C.,** 2004. Le péridium des hypogés : une interface avec le sol. Premier symposium sur les champignons hypogés du bassin méditerranéen, Rabat (Maroc), p 50.
- **Pargney J.C.,** 2014. Aspects du comportement saprophytique du mycelium truffier. Deuxième symposium sur les champignons hypogés du bassin méditerranéen (HYPOGES2) & cinquième congrès *Tuber aestivum/uncinatum* du groupe scientifique européen (TAUESG5) 9-13 avril, Rabat – Maroc, p 34.
- **Patouillard N.,** 1894. Les terfez de la Tunisie. *Journal de Botanique*, 8 : 153-156.
- **Payen T., Murat C., Martin F.,** 2016. Reconstructing the evolutionary history of gypsy retrotransposons in the Périgord black truffle (*Tuber melanosporum* Vittad.). *Mycorrhiza*, DOI: 10.1007/s00572-016-0692-5.
- **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.
- **Pegler D. N.,** 2003. Useful fungi of the world: morels and truffles. *Mycologist*, 17 (4): 174-175.
- **Percudani R., Trevisi A., Zambonelli A., Ottonello S.,** 1999. Molecular phylogeny of truffles (Pezizales : Terfeziaceae, Tuberaceae) derived from nuclear rDNA sequence analysis. *Molecular phylogenetics and evolution*, 13 (1): 169-180.
- **Perry B.A., Hansen K., Pfister D.H.,** 2007. A phylogenetic overview of the family Pyronemataceae (Ascomycota, Pezizales). *Mycol. Res.*, 111:549–571.
- **Peterson R.L., Massicotte H.B., Melville L.,** 2004. *Mycorrhizas: anatomy and cell biology*. NRC Research Press, Ottawa, Canada.
- **Phillips I.M., Hayman D.S.,** 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55: 158–161.
- **Piattoni F., Amicucci A., Iotti M., Ori F., Stocchi V., Zambonelli A.,** 2014. Viability and morphology of *Tuber aestivum* spores after passage through the gut of *Sus scrofa*. *Fungal Ecology*, 9: 52-60.
- **Plenchette C., Fortin J.A., Furlan V.,** 1983. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P fertility. *Plant Soil*, 70: 199-209.
- **Pole-Evans I.B.,** 1918. Note on the genus *Terfezia*, a truffle from the Kalahari. *Transactions of the Royal Society of South Africa*, 7:117-118.
- **Pouget M.,** 1980. Les relations sol-végétation dans les steppes sudalgéroises. ORSTOM, Paris, 555 p.
- **Pradel L.,** 1914. *Manuel de trufficulture*. Ed. Librairie J.-B. Baillière et Fils, Paris, 310 p.
- **Quezel P., Santa S.,** 1962. *Nouvelle Flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales*, Tome 1. Ed. C.N.R.S. Paris, 565 p.
- **Quezel P., Santa S.,** 1963. *Nouvelle Flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales*, Tome 2. Ed. C.N.R.S. Paris, p 571-1170.

- **Rameau J.C., Mansion D., Dumé G., Gaubreville C., Bradat J., Bruno E., Keller R.,** 2008. Flore forestière française: guide écologique illustré 3. Ed. Institut pour le développement forestier, C.N.P.P.F., Paris, 2426 p.
- **Rana G.L., Mang S.M., Camele I.,** 2015. Biodiversity of Hypogeous Fungi in Basilicata. In A. Vastola (ed.), The Sustainability of Agro-Food and Natural Resource Systems in the Mediterranean Basin, pp 305-318, Springer, Berlin.
- **Ravolanirina F.,** 1986. Etude de l'influence de quelques facteurs sur la croissance mycélienne des terfez *in vitro* et synthèse des mycorrhizes. D.E.A de biologie et de physiologie végétale. Univ. de Clermont-Ferrand, 70 p.
- **Rea C.,** 1913. New and rare British fungi. Transactions of the British Mycological Society, 4: 307-317.
- **Read D.J., Perez-Moreno J.,** 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems—a journey towards relevance?. New Phytologist, 57: 475-492.
- **Regagba Z.,** 2012. Dynamique des populations végétales halophytes dans la région Sud-Est de Tlemcen. Aspects phytoécologiques et cartographiques. Thèse de Doctorat, Univ. Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 169 p.
- **Riousset L. et G., Chevalier G., Bardet M.C.,** 2001. Truffes d'Europe et de Chine. Ed. I.N.R.A., Paris, 181 p.
- **Riousset L., Riousset G., Jalade M., Chevalier G.,** 1989. Prima raccolta in Francia di *Phaeangium lefebvrei* Patouillard. II Fungo, 3: 9–11.
- **Riousset L., Riousset G., Jalade M., Chevalier G.,** 1996. Prima raccolta in Francia di *Picoa lefebvrei* (Patouillard) Maire. II Fungo, 3: 15–17.
- **Ronquist F., Huelsenbeck J.P.,** 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 19: 1572–1574.
- **Roth-Bejerano N., Livne D., Kagan-Zur V.,** 1990. *Helianthemum-Terfezia* relations in different growth media. New phytol., 114 (2): 235-238.
- **Rougieux R.,** 1963. Actions antibiotiques et stimulantes de la truffe du désert (*Terfezia boudieri* Chatin). Ann. Inst. Pasteur, Paris, 105: 315-318.
- **Rubini A., Belfiori B., Riccioni C., Paolocci F.,** 2012. Genomics of *Tuber melanosporum*: New Knowledge Concerning Reproductive Biology, Symbiosis, and Aroma Production. In Zambonelli A., Bonito G.M., (eds), Edible Ectomycorrhizal Mushrooms Current Knowledge and Future Prospects, Soil Biology, 34: 57-72, Springer, Berlin.
- **Rubini A., Belfiori B., Riccioni C., Arcioni S., Martin F., Paolocci F.,** 2011b. *Tuber melanosporum*: mating type distribution in a natural plantation and dynamics of strains of different mating types on the roots of nursery-inoculated host plants. New Phytologist, 189 (3):723-735.
- **Rubini A., Belfiori B., Riccioni C., Tisserant E., Arcioni S., Martin F., Paolocci F.,** 2011a. Isolation and characterization of MAT genes in the symbiotic ascomycete *Tuber melanosporum*. New Phytologist, 189 (3):710-722.
- **Ruiz-Lozano J.M.,** 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. Mycorrhiza, 13: 309-317.
- **Saddiq A.A., Danial E.N.,** 2012. Assessment of phenolic content, free radical-scavenging capacity and antimicrobial activities of *Terfezia claveryi*. Wulfenia J., 19: 403-422.

- **Saddiq A.A., Yousef J.M., Mohamed A.M., Danial E.N.**, 2015. *In vitro* and *in vivo* safety evaluation of *Terfezia claveryi* fruiting bodies extract. Romanian Biotechnological Letters, 20 (5): 10885-10892.
- **Saitou N., Nei M.**, 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol., 4 (4): 406-425.
- **Saltarelli R., Ceccaroli P., Vallorani L., Zambonelli A., Citterio B., Malatesta M., Stocchi V.**, 1998. Biochemical and morphological modifications during the growth of *Tuber borchii* mycelium. Mycol. Res., 102: 403-409.
- **Sanchez-Gomez P., Jimenez J.F., Vera J.B.**, 2011. *Helianthemum motae* (Cistaceae), a new species from southeastern Spain. Annales Botanici Fennici, 48:49–56.
- **Sanchez-Gomez P., Torrente P., Jimenez J.F., Canovas J.L., Gutierrez A.**, 2015. Cistáceas del Sureste Ibérico con interés por su potencial micorrízico con diversos hongos hipogeos. Anales de Biología, 37: 69-81.
- **Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R.**, 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 74 (12): 5463–5467.
- **Sawaya W.N., Al-Shalhat A., Al-Sogair A., Al-Mohammad M.**, 1985. Chemical composition and nutritive value of truffles of Saudi Arabia. J. Food Sci., 50 (2): 450-453.
- **Sbissi I.**, 2013. Phylogénie des truffes du désert en Tunisie Méridionale. Thèse de Doctorat, Univ. Tunis El-Manar, Tunisie, 120 p.
- **Sbissi I., Neffati M., Boudabous A., Murat C., Gtari M.**, 2010. Phylogenetic affiliation of the desert truffles *Picoa juniperi* and *Picoa lefebvrei*. Anton., van., Leeuw., 98: 429-436.
- **Sbissi I., Ghodhbane-Gtari F., Neffati M., Ouzari H., Boudabous A., Gtari M.**, 2011. Diversity of the desert truffle *Terfezia boudieri* Chatin. in southern Tunisia. Can. J. Microbiol., 57:599–605.
- **Schoeneberger P.J., Wysocki D.A., Benham E.C., and Soil Survey Staff**, 2012. Field book for describing and sampling soils, Version 3.0. Natural Resources, Conservation Service, National Soil Survey Center, Lincoln, NE, 298 p.
- **Scotch C.L., Seifert K.A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J.L., Levesque C.A., et al.**, 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. PNAS, 109 (16):6241–6246.
- **Seigue A.**, 1985. La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. Ed. Maisonneuve et Larose, Paris, 502 p.
- **Shavit E.**, 2008. Medicinal mushrooms : Truffles roasting in the evening fires, Pages from the History of desert truffles. Truffles, 1 (3): 18-23.
- **Shavit E., Shavit E.**, 2014. The Medicinal Value of Desert Truffles. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication, Soil Biology, 38: 323-340, Springer, Berlin.
- **Singh S., Singh S.**, 1996. Interaction of mycorrhizae with plant disease pathogens. Part I. Efficacy of mycorrhizal fungi as disease control agents. Mycorrhiza News, 8: 1-9.
- **Sitrit Y., Roth-Bejerano N., Kagan-Zur V., Turgeman T.**, 2014. Pre-symbiotic interactions between the Desert Truffle *Terfezia boudieri* and its host plant *Helianthemum sessiliflorum*. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), Desert Truffles

Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication, Soil Biology, 38: 81-92, Springer, Berlin.

- **Slama A.**, 2010. Etude des truffes de la Tunisie Méridionale et optimisation des techniques de leurs productions. Thèse de Doctorat, Univ. Tunis El-Manar, Tunisie, 137 p.
- **Slama A., Neffati M.**, 2004. Les truffes de la Tunisie méridionale: Etude écologique et mycologique. Revue des régions arides, 15 : 3-52.
- **Slama A., Gorai M., Fortas Z., Boudabous A., Neffati M.**, 2012. Growth, root colonization and nutrient status of *Helianthemum sessiliflorum* Desf. inoculated with a desert truffle *Terfezia boudieri* Chatin. Saudi J. Biol. Sci., 19:25–29.
- **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.
- **Smaïhi A.H.**, 2009. Influence du type de pineraies (pineraie, pineraie chenaie) sur la mobilisation de N, P et le comportement de plantules de pin d'Alep dans des sols forestiers de la région de Batna. Mémoire de Magister, Univ. El Hadj Lakhdar – Batna, 108 p.
- **Smith M.E., Bonito G.M.**, 2012. Systematics and Ecology of Edible Ectomycorrhizal Mushrooms. In Zambonelli A., Bonito G.M., (eds), Edible Ectomycorrhizal Mushrooms Current Knowledge and Future Prospects, Soil Biology, 34 :17- 39, Springer, Berlin.
- **Smith S.E., Read D.J.**, 2008. Mycorrhizal Symbiosis. Third Ed., Academic Press, London, 800 p.
- **Souna F., Chakroune K., Chafi A., Bouakka M., Hakkou A.**, 2009. Effet de la mycorhization sur la croissance et la protection du palmier dattier contre la fusariose vasculaire. Congrès International: Biotechnologie microbienne au service du développement, Marrakech (Maroc), p 104.
- **Splivallo R.**, 2007. Truffles Volatiles and Exudates Investigation of their Role in Truffle/Plant Interactions. Ph.D Course in Biology and Biotechnology of Fungi XIX Cycle, University of Torino, 142 p.
- **Splivallo R., Ottonello S., Mello A., Karlovsky P.**, 2011. Truffle volatiles: from chemical ecology to aroma biosynthesis. New Phytol., 189 (3):688-699.
- **Stamatakis A.**, 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. Bioinformatics, 22(21):2688–2690.
- **Stielow B., Hensel G., Strobel D., Makonde H.M., Rohde M., Dijksterhuis J., et al.**, 2013. *Hoffmannoscypha*, a novel genus of brightly coloured, cupulate Pyronemataceae closely related to *Tricharina* and *Geopora*. Mycol. Progress, 12: 675–686.
- **Stojkovic D., Reis F., Glamoclija J., Ciric A., Nikolic M., Barros L., Ferreira I., Giveli A., Sokovic M.**, 2012. Nutritional value and antibacterial activity of desert truffle *Tirmania pinoyi* (Maire) Malencon (1973) growing wild in Lybia. Proceedings of the International Conference Biological Food Safety and Quality. Belgrade, at <http://hdl.handle.net/10198/7845>.
- **Stojkovic D., Reiss F.S., Ferreira I.C.F.R., Barros L., Glamoclija J., Ciric A., Nikolic M., Stevic T., Giveli A., Sokovic M.**, 2013. *Tirmania pinoyi*: chemical composition, in vitro antioxidant and antibacterial activities and *in situ* control of *staphylococcus aureus* in chicken soup. Food Res., Int., 53:56-62.

- **Swofford D.L.**, 2001. PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Version 4.0b10. Sinauer, Sunderland, Mass.
- **Tadja A.**, 1996. Etude écologique de deux espèces de terfez du sud-ouest algérien. Essai de leur mycorrhization sur trois espèces céréalières. Mémoire de Magister, E.N.S.A, El-Harrach, Alger, 110 p.
- **Tajima F., Nei M.**, 1984. Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences. *Mol. Biol. Evol.*, 1 (3):269-285.
- **Takacs T., Voros I.**, 2003. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in the water and nutrient supplies of the host plant. *Novenytermeles*, 52: 583-593.
- **Tamm H., Põldmaa K., Kullman B.**, 2010. Phylogenetic relationships in genus *Geopora* (Pyronemataceae, Pezizales). *Mycol. Progress*, 9:509–522.
- **Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S.**, 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 30(12): 2725–2729.
- **Tarrier M., Delacre J.**, 2007. Carnets de voyages naturalistes au Maroc-Découverte, bioindication et menaces. Un état des lieux du Maroc naturel. Ed. La croisée des chemins, Casablanca, 1000 p.
- **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.
- **Tedersoo L., Smith M.**, 2013. Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: Foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. *Fungal biology reviews*, 27: 83–99.
- **Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J.**, 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.*, 22:4673–4680.
- **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.
- **Trabut L.C.**, 1935. Répertoire des noms indigènes des plantes spontanées, cultivées et utilisées dans le nord de l'Afrique. Collection du centenaire de l'Algérie, Flore du Nord de l'Afrique, Alger, 355 p.
- **Trappe J.M.**, 1971. A synopsis of the Carbomycetaceae and Terfeziaceae (Tuberales). *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 57: 85-92.
- **Trappe J.M.**, 1979. The orders, families and genera of hypogeous Ascomycotina (Truffles and their relatives). *Mycotaxon*, 9: 297-340.
- **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.
- **Trappe J.M., Castellano M.A.**, 1992 [1991]. Keys to the genera of truffles (Ascomycetes). *Mcilvainea*, 10: 47-65.
- **Trappe J.M., Weber N.S.**, 2001. North American desert truffles: the genus *Carbomyces* (Ascomycota, Carbomycetaceae). *Harvard Papers in Botany*, 6 (1): 209-214.
- **Trappe J.M., Kovacs G.M., Claridge A.W.**, 2010a. Comparative taxonomy of desert truffles of the Australian Outback and the African Kalahari. *Mycol. Progr.*, 9:131-143.

- **Trappe J.M., Kovacs G.M., Claridge A.W.**, 2010b. Validation of the new combination *Mattirolomyces austroafricanus*. Mycol. Progr., 9:145.
- **Trappe J.M., Kovacs G.M., Weber N.S.**, 2014. Ecology and Distribution of Desert Truffles in Western North America. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication, Soil Biology, 38: 106-120, Springer, Berlin.
- **Trappe J.M., Claridge A.W., Arora D., Adriaan Smit W.**, 2008 b. Desert truffles of the African Kalahari: Ecology, Ethnomycology and taxonomy. Economic Botany, 62 (3): 521-529.
- **Trappe J.M., Claridge A.W., Claridge D.L., Liddle L.**, 2008 a. Desert truffles of the Australian Outback: Ecology, Ethnomycology and taxonomy. Economic Botany, 62 (3): 497-506.
- **Trotter A.**, 1916. Caratteri ecologici e prospetto della Flora Micologica della Libia. Nuovo Giornale Botanico Italiano, 23 (1): 5-33.
- **Trouvelot A., Kough J.L., Gianinazzi-Pearson V.**, 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In : les Mycorrhizes : physiologie et génétique. 1^{er} SEM, Eds. V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi, INRA, Paris, 217-221.
- **Tulasne L.R., Tulasne C.**, 1851. Fungi Hypogaei. apud F. Klincksieck. Paris, 222 p.
- **Turgeman T., Asher Ben J., Roth-Bejerano N., Kagan-Zur V., Kapulnik Y., Sitrit Y.**, 2011. Mycorrhizal association between the desert truffle *Terfezia boudieri* and *Helianthemum sessiliflorum* alters plant physiology and fitness to arid conditions. Mycorrhiza, 21:623–630.
- **Turkoğlu A., Castellano M.A.**, 2014. New records of some Ascomycete truffle fungi from Turkey. Turk. J. Bot., 38: 406-416.
- **Turkoğlu A., Castellano M.A., Trappe J.M., Yaratankul Güngör M.**, 2015. Turkish truffles I: 18 new records for Turkey. Turk. J. Bot., 39: 359-376.
- **Turmel J.-M.**, 1953. Circulation de l'eau dans des sols sahariens et structure des éléments dunaires. Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale, 33 : 449-457.
- **Urdvardy M.D.F.**, 1975. A classification of the biogeographical provinces of the world. Morges (Switzerland): International Union of Conservation of Nature and Natural Resources. IUCN Occasional Paper no. 18.
- **Vernes K., Lebel T.**, 2011. Truffle consumption by New Guinea forest wallabies. Fungal ecology, 4: 270-276.
- **Vidal J.M.**, 1991. Contribución al conocimiento de la flora micológica del baix empordà y zonas limítrofes (catalunya). iv. hongos hipogeos (zygomycotina, ascomycotina y basidiomycotina). Butll. Soc. Catalana. Micol., 14-15: 143-194.
- **Vierheilig H., Steinkellner S., Khaosaad T., Garcia-Garrido J.M.**, 2008. The biocontrol effect of mycorrhization on soil-borne fungal pathogens and the autoregulation of the AM symbiosis: one mechanism, two effects ?. In: Mycorrhiza: Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics. Ed. A Varma, Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, p 307-320.

- **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.
- **Wellburn A.,** 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Plant Physiol.*, 144:307-313.
- **White T.J., Bruns T.D., Lee S., Taylor J.W.,** 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J., White T.J. (eds) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic, San Diego.
- **Wubet T., Kottke I., Teketay D., Oberwinkler F.,** 2003. Mycorrhizal status of indigenous trees in dry Afromontane forests of Ethiopia. *Forest Ecology and Management*, 179: 387-399.
- **Zambonelli A., Iotti M., Barbieri E., Amicucci A., Stocchi V., Peintner U., Hall I.R.,** 2009. The Microbial Communities and Fruiting of Edible Ectomycorrhizal Mushrooms. *Acta Botanica Yunnanica*, 16 : 81-85.
- **Zaretsky M., Kagan-Zur V., Mills D., Roth-Bejerano N.,** 2006 . Analysis of mycorrhizal associations formed by *Cistus incanus* transformed root clones with *Terfezia boudieri* isolates. *Plant. Cell. Rep.*, 25: 62-70.
- **Zemoura A.E.K.,** 2005. Etude comparative de quelques méthodes de dosage du phosphore assimilable des sols calcaires en région semi-aride (W. de Batna). Mémoire de Magister, Univ. El-Hadj Lakhdar de Batna, 154 p.
- **Zhang N.,** 2002. Molecular phylogeny of *Melanospora* and diaportheales, and population genetics of dogwood anthracnose fungus. Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, U.S.A., 90 p.
- **Zitouni-Haouar F.E-H.,** 2010. Etude des associations mycorrhiziennes entre quatre espèces de terfez et diverses plantes Cistacées et ligneuses en conditions contrôlées. Mémoire de Magister, Univ. d'Oran ES-Sénia, 264 p.
- **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.
- **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* (Pyronemataceae, Pezizales). *PLoS ONE*, 10 (9):1-16.

أحمد قدامة ، 1995. قاموس الغذاء والتداوي بالنبات دار النفائس – لبنان، 816 ص

- **Biblionet:**

Anonyme 1: ftp://ftp.fao.org/fi/CDrom/FAO_training/FAO_training/general/x6706f/x6706f09.htm

Anonyme 2: http://blog.ac-versailles.fr/formationcapa/public/MP2/Interpretation_AnalyseSol.pdf

Anonyme 3: <http://www.institut-numerique.org/432-analyse-et-interpretation-des-resultats-danalyse-des-sols-52eca9e777c31>