UNIVERSITE KASDI MERBAH- OUARGLA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE, DE LA VIE,DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

****

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Option : MICROBIOLOGIE

Mémoire de fin d'étude

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES

Thème

Contribution à l'inventaire et la caractérisation macro et microscopique des espèces de Terfez dans la région d'Oued M'ya Ouargla

Présenté par :

BOUDOUDA MOUNA
MEHAMMEDI ASSIA

Promoteur : M^{r}. BRADAI Lyés . Magister en Science Agronomique .

Co-promoteur : Mme BISSATI Samia. (Maitre de Conférences),Université de kasdi Merbah - Ouargla.

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2008/2009

الإهداء

الي من كان سببا في وجودي، إلي من تحمل الصعاب ليذلل لي أسباب الحياة ،إلى من لم يبخل علي بكبيرة أو صغيرة حتى أوصلني إلي ما أنا عليه ،إليك أهدي عصارة جهدي :يا أبي .

،إلي من حملتني خلق من بعد خلق ،إلي من سهرت الليالي لأنام ،ومن تعبت لأرتاح ،ومن شارفت الموت لأقبل على الحياة إليك أهدي ثمرة عملي يا أمي.

إلي فيض الحنان ومنبع الحب وموفور العناية،إليك أهدي ثمرة عملي إليك يا إمي الكبيرة "جدتي ".

إلي أخواتي مهدي ،عبد الغفار ،مسعود ،محمد نور الإسلام،. جوهرة ،سمية.

إلي كل أفراد أسرتي

إلي كل صديقاتي العزيزات :سهام ،صبرينة ،خليدة ،أمال ،فريدة،وإلي كل صديقاتي الذين رافقوني في الدرب الدراسي.

إلي كل من ساعدني و ساندني في إنجاز هذا العمل من قريب أو من بعيد.ـ

منى

Http://maomao520.yoah.net

Remerciements

Avant de conclure ce travail, nous remerciement Dieu le tout puissant de nous avoir donner le courage, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à notre promoteur ***Mr BRADAI Lyés*** pour avoir suive et dirigé ce travail. Nous le remercie infiniment pour son aide, ses conseils, ses orientations et sa correction sérieuse.

Nous n'oublierions pas de remercier ***Mme BISSATI S***. Maitre de conférences à l'Université KASDI MERBAH-OUARGLA pour ça grande contribution et précieuse à la réalisation de ce travail.

A tout les personnels du laboratoire du département de Biologie et pour tous l'équipe de la bibliothèque, et laboratoire du bioressources sahariennes préservation et volorisation.

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et à remercier :

A Tous les enseignants du département de biologie et d'agronomie**,** nous leur adressons nous sincères remerciements pour leur patience et pour tout ce qu'ils nous ont offert comme enseignements et conseils durant ce long cycle de formation.

Et enfin nos remercions tous ceux qui nous ont aidé de prés ou de loin pour la réalisation de ce travail**.**

Résumé :

Notre thème de recherche porte sur l'identification et la caractérisation macro et microscopique de la truffe du désert, comiquement appelée les (Terfez), dans la région d'Oued M'ya – Ouargla.

L'identification des espèces fongiques a montré que les Terfez récoltés sont répartis sur trois espèces, appartenant à deux genres différents : *Tirmania nivea, Terfezia arenaria, Terfezia claveryi.*

Il porte encore sur un essai d'isolement à partir des carpophores frais des deux espèces de Terfez récoltés dans la région d'Oued M' ya, Ouargla et de la culture sur trois milieux déférents. Les résultats obtenus ont révélé que notre travail représente une illustration des différentes espèces de truffes de désert récoltées dans la région d'Oued M' ya, Ouargla.

Mots clés : Terfez, inventaire, caractérisation macro et microscopique, Oued M'ya.

Abstract :

Our research theme focuses on the identification and characterization of macro and microscopic truffle desert comic called (Terfez) in the region of Oued M'ya - Ouargla.

The identification of fungal species showed that Terfez are harvested over three species, belonging to two different kinds: *Tirmania nivea, Terfezia arenaria, Terfezia claveryi.*

It is still on a test of isolation from carpophores costs of the two species Terfez harvested in the region of Oued M 'ya, Ouargla and culture over three quarters deferens.

The results showed that our work is an illustration of the different species of desert truffles harvested in the region of Oued M 'ya, Ouargla.

Key words: Terfez, inventory, macro and microscopic characterization, Oued M'ya.

ملخص :

قمنا في هذا البحث بدراسة المميزات المرئية بالعين المجردة و المجهرية لكماة الصحراء المسمى الترفاس في منطقة واد ميا –ورقلة.

التعرف على الأنواع الفطرية يبن بان الترفاس المجنى يتوزع على ثلاث أنواع ، تأتي من جنسين مختلفين : *Tirmania nivea, Terfezia arenaria, Terfezia claveryi.*

كما تضمن البحث على محاولة العزل انطلاقا من الدرنات الناضجة لنوعين من الترفاس في منطقة واد ميا –ورقلة ، وزرعها في ثلاث أوساط مختلفة . النتائج المتحصل عليها توحي بان عملنا تشهير لمختلف أنواع الترفاس الصحراوي المتواجدة في منطقة واد ميا –ورقلة.

الكلمات المفتاحية : الترفاس، جرد، المميزات المرئية بالعين المجردة و المجهرية، واد ميا.

Liste des abréviations

Abréviations	***Signification***
MNM	Milieu Mélin Norkran's modifie par Marx ,1969.
PDA	Pomme de terre Dextrose Agar.
MS	Matière sèche.
T	*Terfezia*.

Liste des tableaux

N°	***Titre***	***Page***
01	Caractères distinctifs entre les genres *Tirmania* et *Terfezia*.	**07**
02	Caractéristiques morphologiques et anatomiques des Terfez récoltés dans le Sud algérien.	**13**
03	Préparation le réactif de MELZER.	**27**
04	Composition des milieux de culture MNM (Mélin Norkran's modifié par Marx ,1969).	**29**
05	Composition des milieux de culture PDA (Pomme de terre Dextrose Agar).	**30**
06	Composition des milieux de culture l'extrait de malt.	**30**

Liste des figures

N°	***Titre***	***page***
01	Cycle biologique de *Terfezia boudieri* (BRADAI, 2006)	**16**
02	Cycle biologique de *Tuber melanosporum* (GIRAUD, 2004)	**18**
03	Carte schématique de Oued M'ya (Entreprise Nationale de Géophysique, 2005)	**27**

Liste des planches

planche	***Titres***	***Page***
1	Morphologie d' ascocarpe de Terfez blanche *Tirmania nivea*	**39**
2	Morphologie des asque et spores de la Terfez blanche *Tirmania nivea*	**41**
3	Morphologie d' ascocarpe de Terfez noir *Terfezia arenaria*	**44**
4	Morphologie des asques et spores de la Terfez noir *Terfezia arenaria*	**46**
5	Morphologie d' ascocarpe de *Terfezia claveryi*	**49**
6	Morphologie des asques et spores de la Terfez *"Terfezia claveryi*".	**51**
7	Coloration des asques de deux espèces de Terfez par réactif de Melzer.	**53**
8	Photo des espèces et les différents asques de Terfez noir récolté dans la région d'Ouargla.	**55**

Liste des photos

N°	***Titre***	***Page***
1	L'ascocarpe de déférent espèces de Terfez.	**35**
2	Péridium de *Termania nivea*.	**36**
3	Structure microscopique de la gléba de *Terfezia sp*.	**37**
4-6-7	Morphologie d'ascocarpe de *Tirmania nivea* à Péridium blanchâtre.	**39**
5	Morphologie de gléba d'ascocarpe de *Tirmania nivea*.	**39**
8	Morphologie des asques ovoïde ,piriforme ;octosporté.	**41**
9	Morphologie des spores ellipsoïde.	**41**
10-11	Morphologie des ascocarpes de *Terfezia arenaria* à Péridium noir foncé.	**44**
12	Morphologie des ascocarpes de *Terfezia arenaria* à gléba rose .	**44**
13	Morphologie de la spore desséchée G ×100.	**46**
14	Morphologie des asques Subglobuleux à ellipsoïde G×100.	**46**
15	Morphologie d' ascocarpe de *Terfezia claveryi* à péridium jaune brunâtre.	**49**
16	Morphologie d' ascocarpe de *Terfezia claveryi* à gléba blanche teinté de jaune homogène.	**49**
17	Morphologie des asques ellipsoïdes ou largement piriforme continent de 6 à 8spores de la Terfezia claveryi ".	**51**
18	Morphologie des spores sphériques, finement réticulée	**51**
19-20	Coloration des asques de Terfezia arenaria par réactif de Melzer se colore en jaune à grossissement respectivement x 400, x100.	**53**
21-22	Coloration des asques de Tirmania nivea par réactif de Melzer se colore en teinte grise bleu à grossissement respectivement x 100, x400.	**53**

Sommaire

Introduction …… 2

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES TERFEZ **3**

I-1-Origine …….. 4

I-2- Position taxonomique ……... 5

I-3- Biologie de Terfez …….. 9

I-3-1- Forme de croissance de la truffe (anamonie structurale) ……. 9

I-3-1-1- La partie végétative ……... 9

I-3-1-2- L'ascocarpe :""Forme sexuée"…… 9

A- Péridium …….. 9

B- Gléba ……..…… 10

I-4- Bio-écologie ……. 10

I-4-1- La répartition géographique …….. 11

I-4-2- Le climat ……... 14

I-4-3- Type de sol …… 14

I-4-4- Plantes symbiotiques …… 14

I-4-5-cycle biologique de la truffe …….. 15

I-5-Intérêt nutritionnel ……. 20

I-6- Effet thérapeutique des Terfez ……. 20

I-7- Aromes et propriétés organoleptiques ……. 21

I-8- Synthèse des travaux sur les Terfez ……. 22

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES **25**

II-1- Origine du Matériel fongique ……. 26

II-1-1- Présentation de la zone de Oued M'ya …….. 26

II-1-2- Récolte des Terfez …….. 28

II-2- Identification des espèces récoltes …….. 28

II-2-1- Identification du genre ……. 29

II-2-2- Identification de l'espèce ……. 29

II-3- Description morphologique et anatomique des Terfez récoltés ……. 29

II-3-1- Les caractères macroscopiques …… 29

II-3-2- Les caractères microscopiques …… 29

II-4- Essai d'isolement , germination et culture des spores du Terfez …… 30
II-4-1- Composition des milieux de culture ……..…….. 30
II-4-2- Préparation des milieux de culture ……. 31
II-4-3- Méthodes d'isolement ……. 32
II-4-3-1- Isolement à partir de gléba d'un carpophore frais …… 32
II-4-3-2- Isolement à partir de la suspension sporale …….. 32
II-4-4- Technique de culture ……... 33
CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES **34**
III-1- Identification des espèces de Terfez récoltées ……. 35
III-2- Description morphologique et anatomique des espèces récoltées. …….. 35
III-2-1- Aspects généraux des Terfez récoltés …… 35
III-2-2- Structure macroscopique …… 36
III-2-3- Structure microscopique …… 37
III-3- Etude macro et microscopique des espèces de Terfez récolté …….. 38
III-3-1- *Tirmania nivea* ……... 38
III-3-2- *Terfezia arenaria* …… 43
III-3-3- *Terfezia claveryi* …… 48
III-4- Essai d'isolement et de germination des spores de Terfez ……... 56
Conclusion Générale …….. 57
Références bibliographiques ……. 60
Annexes*……... *65

قـــــــال تعـــــــالى :

بســـم الله الرحـمن الرحـــيم

«وَظَلَّلْنَا عَلَيْكُمُ الْغَمَامَ وَأَنزَلْنَا عَلَيْكُمُ الْمَنَّ وَالسَّلْوَى كُلُواْ مِن طَيِّبَاتِ مَا رَزَقْنَاكُم وَمَا ظَلَمُونَا وَلَكِن كَانُوٓاْ أَنفُسَهُمْ يَظْلِمُونَ.»

صدق الله العظيم.

الآية 57 من سورة البقرة.

و روى الترمذي عن أبي هريرة رضي الله عنه : أن أناس من أصحاب النبي صلى الله عليه و سلم قالوا : الكمأة جدري الأرض ، فقال : النبي صلى الله عليه و سلم : (الكمأة من المن و ماؤها شفاء للعين و العجوة من الجنة و هي شفاء من السم).

Introduction

La truffe du désert, appelée régulièrement « Terfez », est un champignon symbiote avec les Hélianthèmes, demeure encore une empreinte mystérieuse, mais aussi le témoin d'une adaptation étonnante aux conditions du désert, assurant une association biologique très particulière.

Quelle que soit l'espèce de Terfez, elle reflète le champignon hypogé comestible, non seulement appréciée par la population locale, mais présente également une notoriété mondiale du fait qu'elle soit très recherchée et considérée comme étant une denrée alimentaire de luxe **(BRADAI, 2006).**

Les travaux de recherche sur Terfez dans le sud algérien sont peu nombreux, on trouve des études écologiques et mycorhization des diverses espèces de Terfez avec des plantes ; on citons **FORTAS,1990 ; SADAT,1994 ; TADJA, 1996 ; BASSAH,1999 ; BRADAI, 2006** ; une recherche du pouvoir antibactérien et antifongique de certaines espèces de Terfez (*Tirmania pinoyi* **) (AMARA ET AMIRA, 2007) .**

Parmi les particularités du Terfez, nous citons son étrange isolement dans un environnement mal connu, de sa rareté, de très faibles quantités récoltées, des difficultés d'accès aux zones à vocation truffière, et de son prix élevé à l'échelle nationale et internationale**(BRADAI, 2006).**

La région de Oued M'ya "***Le fleuve aux cent affluents***", se caractérise par une biodiversité endémique, et par une vocation trufficole très importante **(BRADAI, 2006).**

Cependant, l'importance et les vertus inconnues de ce champignon symbiote dans la région, nous suscitent à dresser un inventaire des espèces truffières, d'effectuer une caractérisation micro et macroscopiques des Terfez dans la région de Oued M'ya.

CHAPITRE I :

GENERALITES SUR LES TERFEZ

Les Terfez ou truffes du désert, sont des champignons hypogés (vivant sous terre), charnu. Ils vivent en associassions mycorhiziennes avec des Hélianthèmes (Cistacées) annuelles ou pérennes (**FORTAS et DIB 2005).**

I-1 Origine

La truffe est un champignon connu et consommé depuis la plus haut antiquité, par les Grecs et Romains, la truffe est l'un des produits naturels du Sahara ; produite par le sable du désert sans intervention de l'homme ; c'est l'une des grâces au Dieu tout Puissant, le plus haut, à l'humanité ; engendré par les pluies orageuses d'automne ; accompagnées de corps de tonnerre et d'éclairs (**BRADAI, 2006).**

Contrairement aux apparences ; le mot arabe **"Terfez"** et le mot français **" Truffe"** ont une même origine. Ils viennent tous deux. De **"Tabarli"** ; nom apparu aux alentours de 3500 année A. JC dans le langage sumérien qui signifiait << **champignon souterrain** >>.

Les anciens qui pour la première fois, on parlé de truffes, Théophraste d'abord puis Dioscoride, Cicéron, Pline, Plutarque, et Juvénal, ce n'est qu'à la fin du XVIIe siècle et le début du XVIIIe siècle que la connaissance réelle de la nature et de la biologie de la truffe s'est peu à peu développée et que celle –ci pris place parmi les champignons.

Selon les régions dans lesquelles on les trouvait, ils étaient désignés par des appellations diverses .En Europe ; ils sont communément appelés **"Truffes du désert"** ou **"Truffes du sable "**, En Algérie ; ils sont appelés **Terfez**, **Torfez**, **Torfas** et **Koma** en Kabylie (**CHATIN, 1892).**

On leur donne le nom de **Kameh** et **kamés** en Asie et **Komah** au Poche et Moyen-Orient **(AWAMEH et ALSHEIKH, 1979).**

I-2 Position taxonomique

Les clés de la classification des Terfez selon plusieurs auteurs est basée essentiellement sur les caractéristiques du péridium (aspect : couleur) et sur celles des spores (forme ; ornementation), des caractères complémentaires (forme ou taille des corps fructifères, coloration de la gléba ; disposition des veines, odeur) (**CHEVALIER, 1986**).

Selon la classification de **TRAPPE (1979**) les Terfez appartiennent à :

- **Règne** : *Fungi*.
- **L'embranchement** : *Septomycota.*
- **Le sous embranchement** : *Ascomycotina.*
- **La classe** : *Euascomycetes (Eutuniquées).*
- **La sous classe** : *Discomycetidae*.
- **L'ordre** : *Tubérales*.
- **La famille** : *Terfeziacea.*
- **Le genre** : *Terfezia* ou *Tirmania.*

L'ordre auquel sont rattachées ces espèces fait toujours l'objet de recherche ; certains auteurs les rattachent à l'ordre des *Tubérales*, d'autre *Pezizales*.

L'identification de genre est basée sur la propriété des asques par la méthode Chloro-ido-iodure ou réactive de **MELZER.;** le principe de cette méthode est basé sur la coloration des parois amyloïdes suite au taux et la présence d'amidon dans les parois. Les asques du genre *Terfezia* se colorent en jaune ou orange, et ceux du genre *Tirmania* prennent une teinte grise bleu (**TRAPPE, 1979).**

Il y a une autres méthode complémentaire des espèces peut être utilisée, mais elles est plus fluctuante. Cette méthode est appelée la méthode génomique, utilisée dans certain cas, où il ya une forte convergence morphologique des ascocarpes ou mycorhizes, rendent l'identification difficile. Cette méthode utilise les techniques de

biologie_moléculaire, permette d'étudie le génome, d'un organisme vivant dont la composition constitue la signature d'une espèce bien déterminé (**RICARD ,2003).**

La truffe du désert comprend une quatorze (14) espèces, réparties sur deux espèces principales *Terfezia* et *Tirmania*; Selon **TRAPPE (1979**), le genre *Terfezia* regroupe douze (12) espèces et celui de *Tirmania* est représenté par deux (02) espèces.

Le genre Terfezia

- *Terfezia claveryi* (Chatin).
- *Terfezia spinosa* (Hark).
- *Terfezia longii* (Gilkey).
- *Terfezia arenaria* (Moris).
- *Terfezia leptoderma Tul.*
- *Terfezia gigantea* (Imai).
- *Terfezia decaryi* (Heim).
- *Terfezia boudieri* (Chatin).
- *Terfezia pfleilii* (Henn).
- *Terfezia austroafricana* (Marasas et Trappe).
- *Terfezia arenaria*(Moris) (la seule espèce connue en chine).
- *Terfezia erimita* (Malençon).

Le genre Tirmania

- *Tirmania nivea (*Desf) TRAPPE.
- *Tirmania pinoyi* (Maire) Malençon.

Tableau 01: Caractères distinctifs entre les genres *Tirmania* et *Terfezia*.

1- Morphologie de l'ascocarpe	***Tirmania***	***Terfezia***
1-1 Forme	Subglobuleuse à turbinée ou lobée.	Subglobuleuse à turbinée ou irrégulière.
1-2 Diamètre	>14 cm	2 à 10 cm
1-3 Configuration de la surface	Lisse, glabre, ridée ou craquelée	Lisse, glabre.
1-4 Couleur externe	Jaune-brun, ou rouge-brun.	Jaune-brunâtre à brun ou brun-noir.
1-5 Structure de la Gléba	Solide comportant un réseau de veines stériles blanches délimitant les modules fertiles blancs à jaune claire ou ochracés.	Solide comportant un réseau de veines stériles délimitant les modules fertiles jaunâtres à brunâtres.

2- Péridium	***Tirmania***	***Terfezia***
2-1- Présence ou non **2-1- Cuticule externe**	Présence Hyphes entrelacées ou parallèles	Présence Hyphes entrelacées ou mêlées à des cellules isodiamétriques.
3- Asques		
3-1 Forme	Ellipsoïde	En sac ou globuleuse
3-2 Nombre de spores/ asque à maturité	8	(-3) 5 – 8
3-3 Arrangement des spores dans l'asque	Irrégulièrement groupées	Irrégulièrement groupées
3-4 Réaction iodée avec le réactif de Melzer	Bleu (amyloïde)	Jaune à rouge (non amyloïde)
3-5 Arrangement des asques	Indéhiscents, répartis au hasard dans les tissus.	Indéhiscents, répartis au hasard dans les tissus.
3-6 Couleur avec KOH	Hyaline	Hyaline
4- Forme Spores		
4-1 Ornementation à maturité (les spores de toutes les espèces sont lisses à l'état jeune).	Lisse ou si elles sont rugueuses, elles sont incluses dans une épispore lisse et hyaline.	Avec des épines, papilles libres ou incluses dans un mucilage ou avec un réseau.
4-2 4 Couleur maturité (les spores immatures de tous sont hyalines).	Hyaline	Jaune-pale à brune
5- Habitat	Désertiques	Désertiques
6- Plantes associées	Hélianthème	Hélianthème
7- Nombre d'espèces	2	12
8- Répartition géographique	Ouest de l'Asie Afrique du Nord	Sud de l'Amérique du Nord Amérique du sud Europe centrale et du sud Afrique et Asie

(TRAPPE, 1979).

I- 3 Biologie de Terfez

I-3-1-Forme de croissance de la truffe (Anatomie structurale)

I-3-1-1- La partie végétative

La partie végétative est très discrète et non comestible qui s'associe avec les racines de certains arbres. Cette partie est constituée de mycélium, de mycorhizes et de stromas; ces différentes formes sont relieés.de façon complexe entre elles et avec le système racinaire (**RICARD, 2003**).

-**Mycélium :** désigne l'ensemble des filaments, appelés hyphes, constituant un même organisme.les filaments mycéliens s'organisent pour constituer des structures plus complexes élaborées par la truffe ; Mycorhize ; Stroma et Ascocarpe (**RICARD, 2003**).

-**Stroma**: les filaments mycéliens peuvent s'agglomérer en pelotes denses qualifies de stroma .ces stroma sont des "faux tissus", formés par la soudure des filaments.

Les stromas sont constitués d'hyphes agrégées en contact direct avec les cellules de l'écorce de la racine et se retrouver dans le sol.

-**Mycorhizes:** la Mycorhizes est un organe mixte formé par l'association entre une racine et un champignon du sol, elles favorisent l'absorption par les racines des éléments minéraux de la Rhizosphère et du sol et améliorent ainsi la nutrition de la plupart des espèces végétales (**RICARD, 2003**).

I-3-1-2 L'ascocarpe :"Forme sexuée"

L'ascocarpe est constitué de filaments mycéliens organisés et spécialisés.la partie externe est appelée **Péridium,** partie centrale ou **Gléba** est à l'origine des asques et des spores.

A- Péridium

Péridium une structure résistante qui assure la protection de gléba interne ; peut présenter des écailles de dimension et de forme très différentes.

Au niveau des écailles du péridium ; il se forme des houppes de filaments mycéliens qui jouent un rôle actif dans les échanges nutritionnels entre le champignon et le sol.

On peut observer également ; en surface du péridium, la formation de plaque calcaire d'une centaine de µm, provenant de précipitations de carbonates de calcium dues à des sécrétions acides par les filaments mycéliens.

Ces phénomènes protègent progressivement l'ascocarpe de la dessiccation et lui donnent une excellente résistance à la sécheresse (**RICARD, 2003**).

B- Gléba

C'est la partie centrale ; qu'est l'origine des asques et des spores; elle constitué la masse interne de l'ascocarpe dont coupe révèle ; à maturité la présence "de marbrures" ou lignes sinueuses blanches appelées "veines". Ces veines est variable selon les espèces, ont reçu également le nom de "veines aérifères" ou "veines stériles " car elles ne contiennent jamais de spores ces veines remplies d'hyphes qui s'allongent, se ramifient et s'apparient entre elles pour former un véritable réseau mycélien ; ces l'hyphe est facilement visibles à la surface de truffes matures; ces veines s'ouvrent à l'extérieur au niveau des écaillés du péridium de la truffe. Ou elles permettent les échanges gazeux entre la gléba du champignon et le sol (oxygène: gaz carbonique : vapeur d'eau) (**RICARD, 2003**).

La structure anatomique de Terfez n'est plus différent de celle de genre *Tuber*

(FAHRETTIN et BASARAN, 1997; BRADAI, 2006).

I- 4 Bio -Ecologie

I-4-1 La répartition géographique

Les deux genres de Terfez reconnus sont répartis essentiellement sur le pourtour du Bassin méditerranéen et dans zones arides sèches du Moyen- Orient ; en Afrique du Nord, dans le sud de l'Europe, approximativement entre le 28^{éme} et le 45^{éme} degré de latitude Nord (**SADAT, 1994).**

Les espèces les plus connus du genre *Terfezia* sont :

-T.claveryi.

-T.arenaria.

-T.leptoderma Tul.

L'espèce *Terfezia leonis* rencontrée au Maroc **(KHABAR, 1994)** à été également trouvée dans le sud de la France **(MEYEN ,1889)** en Tunisie et en Lybie **(CHATIN, 1891),** ou Portugal **(MATIROLO, 1905)** et en Italie **(LANGUI, 1979) (TRAPPE, 1979).**

Dans le désert du Kuwait ; il existe quatre espèces de Truffes : *Terfezia claveryi* : *Terfezia boudieri* ; *Tirmania pinoyi* ; *Tirmania nivea* ; ces espèces se trouvent également dans les pays voisins du Kuwait (Syrie ; Arabie Saoudite…) ; en Afrique du Nord (Algérie) et au Sud de l'Europe (Espagne ; Italie ; France) **(AWAMEH et ALSHEIKH, 1980 b).**

Une Terfez Française *Terfezia leptoderma* est récoltée en France et en Sardaigne (Italie) (**JANEX-FAVRE** et ***al.*, 1988**).

D'autre part, *Terfezia leptoderma* se développe en mélange avec d'autres champignons hypogés : tels que le *Tuber asa* et *Terfezia arenaria :* localisés dans différentes régions à étage bioclimatiques aride et semi- aride (Djelfa ; Laghouat ; Saida ; El Bayadh ; Ouargla ; bachar et N'aama **(FORTAS** et ***al.*, 1990**).Les espèces le plus répondues sont *Terfezia boudieri* ; *Terfezia claveryi* et *Tirmania nivea* (**CHATIN, 1892**).

Terfez ou truffes du désert : sont des champignons hypogés (fructification souterraine), naissent au printemps ; charnus mycorhiziennes ; ils vivent en association symbiotique avec les plantes herbacées (Cistacées) ; le plus souvent du genre

Helianthemum dite « Reguigue » "*Helianthemum lippii*" ou arbustives (Chêne, noisetier, pin) (**SADAT, 1994**; **BRADAI, 2006).**

Les Terfez se développent dans des zones semi-arides et arides (zone à climat chaud), sont adaptés à des conditions tempérées avec alternance de saisons. Les Terfez sont des champignons comestibles : Ascomycètes à cycle sexuel complet avec formation d'un carpospore renferment des asques contenant des spores (ascospores) (**SADAT, 1994**; **BRADAI, 2006).**

.

***Tableau N°02* :** Caractéristiques morphologiques et anatomiques des Terfez récoltés dans le Sud algérien.

Caractéristiques / **Provenances**	**Péridium**	**Gléba**	**Nombre d'ascospores**	**Genre**
OUARGLA	Blanc	Blanche	8	*Tirmania*
	Marron	Blanc rosâtre	7	*Terfezia*
	Noir	Blanc rosâtre	6	*Terfezia*
LAGHOUAT	Blanc	Blanche	8	*Terfezia*
	Brun	Blanche	8	*Terfezia*
	Noir	Grisâtre noir	6	*Terfezia*
BECHAR	Blanc	Blanche	7	*Tirmania*
	Brun avec des tâches rouges	Blanche	8	*Terfezia*
	Brun avec des tâches rouges	Blanche, Grisâtre	8	*Terfezia*
	Noir	Grisâtre à noir	6	*Terfezia*
	Marron, beige	Blanche	8	*Tirmania*
	Brun avec des tâches rouges et noires	Ocre	7	*Terfezia*
DJELFA	Brun clair à marron	Jaune clair	8	*Terfezia*
	Brun noir à noir	Ocre	9	*Terfezia*

(BESSAH, 1999).

I-4-2 Le climat

Sur le plant climatique les Terfez se développent sous des climats chauds .en Algérie ; les Terfez se développent dans des zones semi-arides et arides, et sahariennes (Djelfa, Saïda, Laghouat, Tindouf ….) et sont par été chaud et se sec et un hiver froid, les pluies d'automne constituant un indice de fructification des Terfez leurs production est conditionné par des niveaux de précipitations favorables au début de l'automne, cependant, leurs cycle biologique peut être perturbé par des précipitations excessives ou mal réparties ou par périodes de froid prolongées ou de fortes chaleurs **(BESSAH, 1999 ; BRADAI, 2006).**

Au Koweït, **AWAMEH** et **ALSHEIKH (1980 b)** ont montré le développement de Terfez nécessite un minimum de 18 mm de précipitations ; réparties sur la saison de la fructification des Truffe (Octobre à Mars).

I-4-3 Type de sol

Sur le plan pédologique, dans la région de Oued M'ya **BRADAI (2006)** montré que Terfez se développent sur des sols légèrement à PH alcalin varie entre 7.85 et 8.57 ; pauvre en matière organique, riche en magnésium bien pourvu en potassium et calcium ; pauvre en phosphore. Les espèces du Koweït se développent sur des sol soit gypseux, soit graveleux-gypseux salés qui leur écologie a été étudiée et décrite par **ALSHEIKH**, par contre *Terfezia leptoderma* et *Terfezia arenaria* (Moris) **TRAPPE** ont été récoltés sur des sols acides en Sardaigne (Italie) **(JANEX–FAVRE** et ***al.*, 1988) (in FORTAS, 1990) .**

I-4-4 Plantes symbiotiques

Les Terfez sont des champignons, vivant en symbiose avec des plantes annuelles et pérennes. Elles s'associent avec des plantes annuelles de la famille des cistacées et plus particulières avec des l'Hélianthèmes : *Helianthemum ledifolium* et *Helianthemum salicifolium* au Kuwait **(AWAMEH** et **ALSHEIKH, 1980 a)** avec *Helianthemum guttatum* en Algérie **(FORTAS, 1990) ;** *Helianthemum almeriense* **(GUTIERREZ** et ***al.*, 2003)** et avec *Helianthemum ovatum* (**KOVACS et *al.*, 2003)**. Avec les plantes pérennes; les Terfez peuvent développer des associations

mycorhiziennes avec les pins: Pin d'Alep (*Pinus halepensis*) et le Pin des canaries (*Pinus canariensis*) selon les travaux du **SADAT (1994)** et **BESSAH(1999).**

Aussi , le bon développement des Terfez exige la présence des plants d'hélianthème en forte densité et en pleine vigueur. la maturité de la truffe du désert (formation des asques) correspondons au stade inflorescence de la plante **(BRADAI , 2006)**.

Les Terfez peuvent s'associer également avec des espèces céréalières selon les travaux **TADJA (1996)** a pu réaliser un essai de mycorhization avec trois espèces céréalières (blé dur ; orge et maïs).

I-4-5 Cycle biologique de la Truffe

Les Terfez rencontrés en Algérie sont des printanières on les retrouve ou pied de l'Hélianthème indiquant leur présente sur un sol pauvre en éléments nutritifs à 5 cm de la profondeur du sol, facilement remarquable sur terrain car ils présentent un renflement au dessus de la surface de la terre qui se craquelle après les pluies orageuses de printemps suivies d'une période de sécheresse (**SADAT, 1994; BRADAI, 2006).**

Les stades du cycle biologique des Terfez sont encore inconnus, ils ne sont que partiellement connus chez les *Tuber* qui montré par **GRENTE** et **CHAVALIER (1973) (in FORTAS, 1990).**

Le cycle biologique de Terfez débute par la germination d'un certain nombre de spores ; donnera naissance à un filament (hyphe) s'associant à un hyphe d'une autre spore ; et le champignon infectera les radicales d'Hélianthème ; en donnant naissance à de nouvelles mycorhizes; les fortes chaleurs de juillet et l'orage d'Aout (apport d'eau) ; stimulent le cycle biologique des Terfez par la germination des spores ; à condition que les quantités d'eau et de chaleur soient optimales **(figure 01).**

La majorité du cycle biologique s'effectue sous forme de filaments; formant un réseau ou mycélium .Le mycélium permet aux champignons de se nourrir et de coloniser des sites nouveaux, le développement de ce mycélium est un préalable indispensable avant l'introduction du Terfez dans les racines de l'Helianthemum. Le mycélium, s'associant aux racines de l'arbre, crée un mycorhize permettant au

champignon de se nourrir en sucre (hydrates de carbone) début septembre **(BRADAI,2006).**

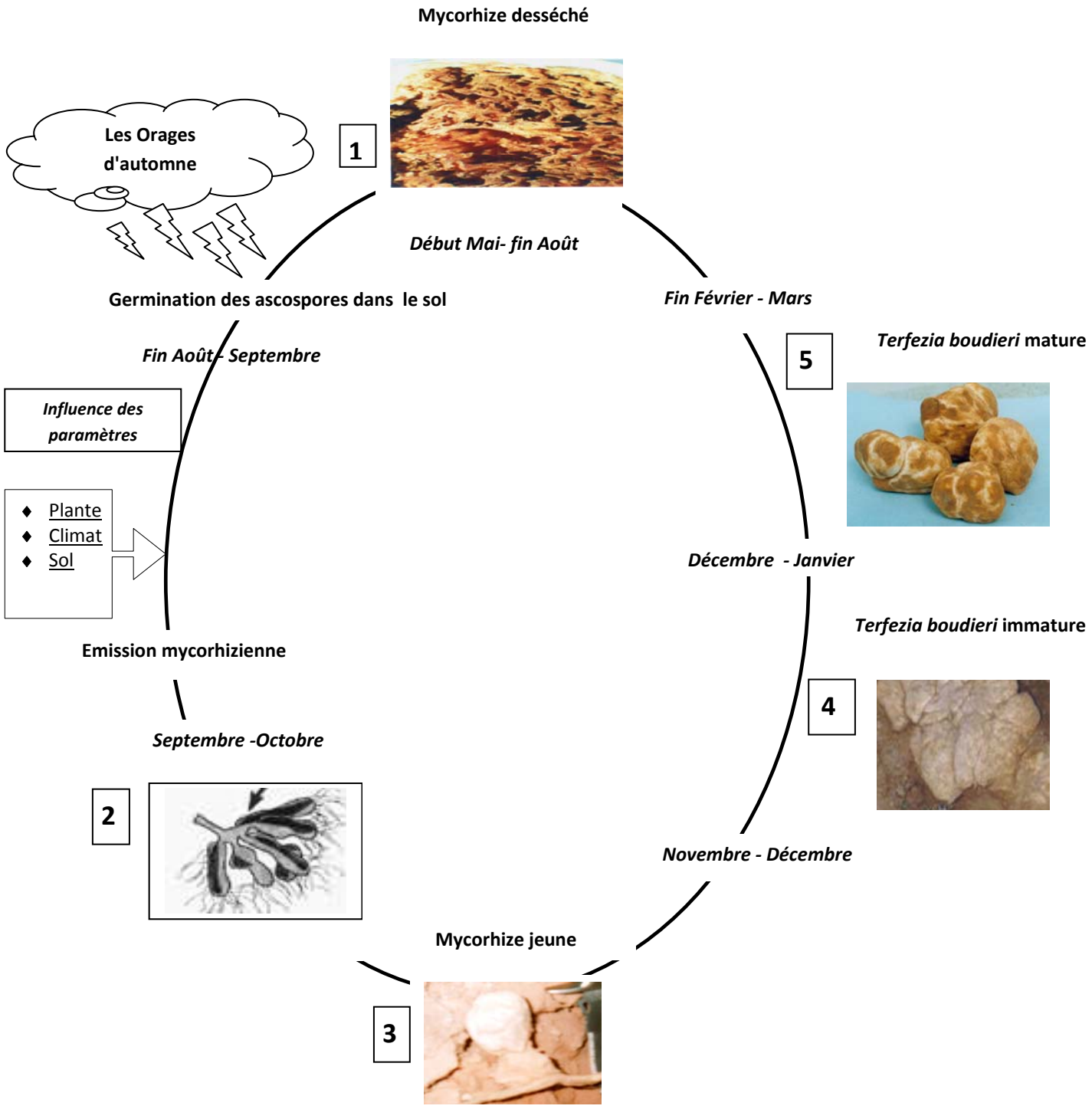

Figure 01 : Cycle biologique de *Terfezia boudieri* (**BRADAI, 2006).**

Les hyphes mycéliens divergent et se ramifient; l'ensemble évoluant globalement vers l'édification d'un organisme à front de croissance circulaire. Avec le temps: l'initiation fructifères débute par la formation de petits pelotons (primordium) au début de l'hiver: dans l'enchevêtrement des filaments du mycélium secondaire; à proximité des racines .chaque peloton évoluera en Terfez n'est pas récolté à la fin du printemps; l'ascocarpe se décompose, les ascospores libèrent les spores; et le cycle recommence **(BRADAI, 2006).**

Chez la *Tuber melanosporum* l'induction fructifère à lieu principalement entre début du moi de Maï et début du moi de Juin. ou la formation de petits pelotons (primordium) dans l'enchevêtrement des filament du mycélium secondaire, à proximité des racines. En mois d'Août, la truffe passe une phase de croissances de très rapide selon les conditions climatiques ensuite en décembre et durant tout l'hiver le développement est terminé, la maturation du champignon se solde par un dégagement brutal des de la truffe **(RICARD, 2003) (Figure 02).**

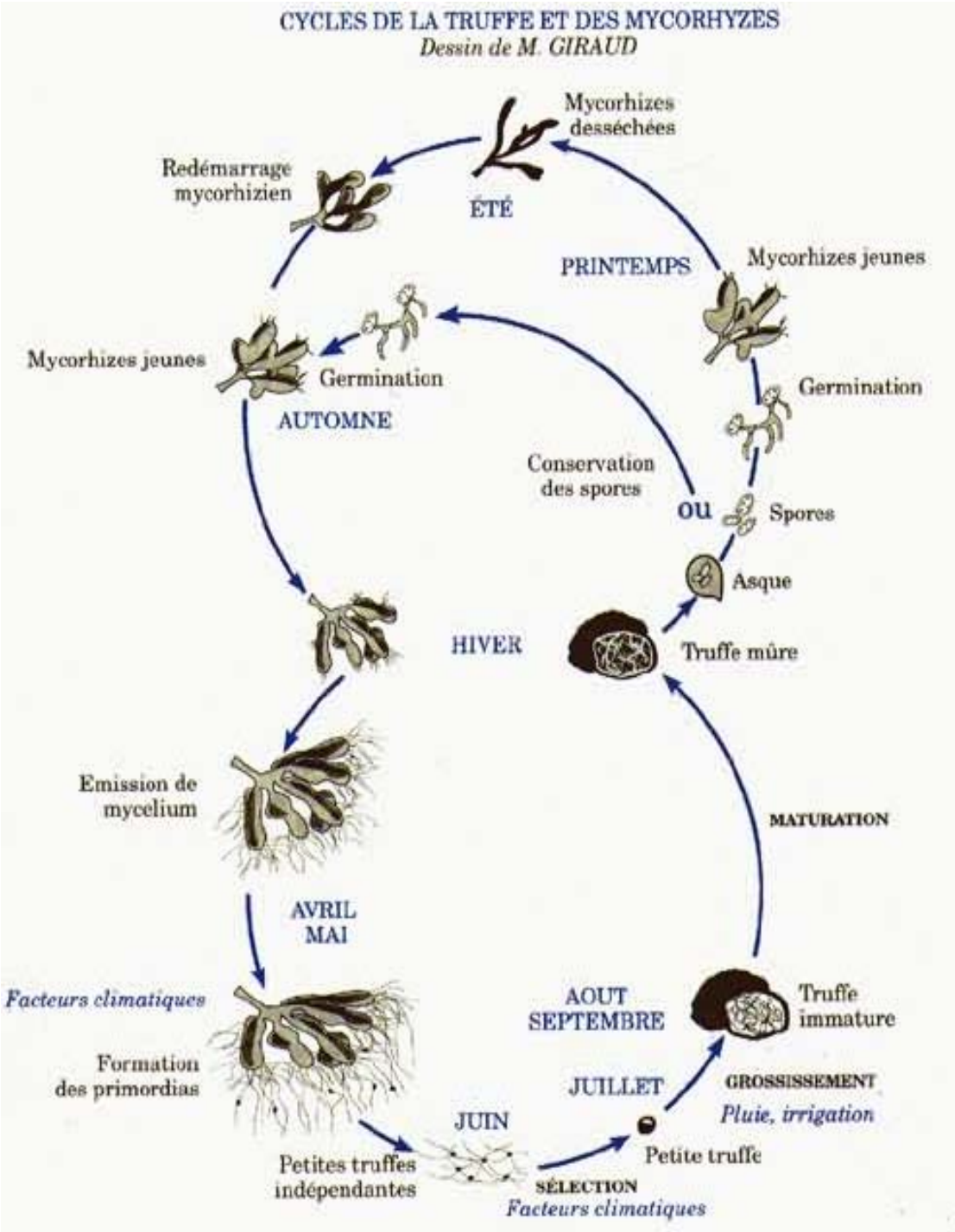

Figure 02: Cycles de la truffe (truffe noire) et des mycorhizes**(GIRAUD, 2004) (Anonyme 01).**

I-5 Intérêt nutritionnel

Les Terfez présentent un intérêt nutritionnel particulièrement intéressant .la richesse en protéine ; la teneur élevée en acide aminés essentielle et en certain éléments minéraux (phosphore, le fer, le potassium et le calcium) en font une source alimentaire non négligeable **(FORTAS, 1990).**

D'après les recherches effectuées sur la composition chimique de ces champignons par **Al-DELAIMY(1977)** ; **ASHOUR A. et *al.* (1981) ; DELMAS(1989)** in **FORTAS (1990)** et **BRADAI(2006)** sur *Terfezia boudieri* et *Tuber melanosporum ;* les teneurs sont élevées en acides aminées et en certains éléments minéraux; (phosphore: 0.10-0.12 % (M S); potassium: 0.8 -1.4 % MS, fer : 0.015 %(MS) dans *Tuber melanosporum*, alors dans *Terfezia boudieri* les lipides sont 6.7 % (MS) et hydrate de carbone 56-60 % (MS).

CHELLAL (1995) in **AMARA et AMIRA (2007**) a trouve que *Tirmania pinoyi* crue est constituée de 74.3 g d'eau, 20.3g/100 g (MS) de protéines ; 3g/100 g (MS) de lipides, 72.5 g /100 g (MS) de glucides et 11.2 g/100 g (MS) de fibres (cellulose, lignine et hémicellulose). Aussi il a mentionné la présence de 16 acides aminés.

I- 6 Effet thérapeutique des Terfez

Les effets thérapeutiques des Terfez sont connu chez les musulmans de puis longtemps .de Notre Prophète Mohamed a égale évoqué l'importance thérapeutiques des Terfez :

في فتح الباري شرح البخاري لأحمد بن حجر العسقلاني نجد الحديث التالي : حدثني محمد بن المثنى حدثنا غندر حدثنا شعبة عبد الملك قال سمعت النبي صلى الله عليه وسلم يقول "الكما من المن و ماؤها شفاء للعين ".

و روى الترمذي عن أبي هريرة رضي الله عنه : أن أناس من أصحاب النبي صلى الله عليه و سلم قالوا : الكمأة جدري الأرض ، فقال : النبي صلى الله عليه و سلم : (الكمأة من المن و ماؤها شفاء للعين و العجوة من الجنة و هي شفاء من السم).

اخرج الترمذي في جامعه بسند صحيح أن أبا هريرة قال :"أخذت ثلاثة أكمؤ أو خمسا أو سبعا فعصرتهن فجعلت ماءهن في قارورة فكحلت بها جارية لي فبرئت."

EL-MARZOUKI (1980), en présentant ses résultats sur le traitement de trachome (maladie infectieuse de l'œil due au *Chlamydia trachomatis*) ; a obtenu des résultats positif (une goute dans l'œil, Trois fois par jour pendant un moins) **(anonyme 02).**

Il existe un pouvoir antimicrobien dans différentes espèces de Terfez, l'extraits de *Terfezia boudieri* a une action inhibitrice sur une espèce bactériennes *Staphylococcus aureus* a été mise en évidence par **ROUGIEUX (1963)** et **MADJABEUR (1991**) à montré la présence d'une substance inhibitrice sur la croissance de quelques espèces bactériennes dans les extraits de *Terfezia claveryi* et *Termania pinoyi* qui inhibent la croissance de quelques espèces bactériennes et levuriformes comme *salmonella Typhi* **(AMARA et AMIRA, 2007**).

FAHRETTIN et **BASARAN (1997) ; FAKIRI** et **SEDDIKI(2003)**; **BENAMAR(2004)** ; **YSIDI(2005)** ; **HAMMOU(2005)** et **AMARA et AMIRA (2007)** en étudiant l'activité biologique de l'extrait de gléba mâtures et desséchée de *Termania pinoyi*, ont constate que cet extrait possède un pouvoir antibactérien et antifongique on mit en évidence sont activité inhibitrice sur la croissance d'une souche fongique (Fusarium oxysporum) et une souche bactérienne (*salmonella Typhimurium*).

I- 7 Arômes et propriétés organoleptiques

Ces champignons souterrains seraient restés discrets s'ils n'avaient pas été trahs par les arômes qu'ils dégagent lorsqu'ils arrivent à maturé. Les personnes expertes sont capables de déceler l'odeur du champignon dans la terre, mais pour le repérer il est plus efficace de dresser à différents animaux ; le chien le plus utilisé. Les Terfez ont des arômes différents selon l'espèce; la blanche à des arômes fortement alliacés **(GABRIEL, 1999)**.

I- 8 Synthèse des travaux sur les Terfez

Les premières études de recherche sur les truffes ont concerné surtout le genre Tuber et plus particulièrement. *Tuber melanosporum* ou la Truffe du Périgord. Elles sont d'ordre systématique **(CHEVALIER et *al*., 1986)** ; biologique et ultra structural **(DELMAS, 1983 ; JANEX- FAVRE et *al*., 1988 ; PARGNEY, 1990).**

Des synthèses de mycorhizes ont été réalisées avec diverses plantes symbiotiques appartenant au genre *Helianthemum* et *Pinus* **(CHEVALIER, 1972-1973 ; CHEVALIER et *al*., 1978 ; KULIFAJ, 1984 ; BARON, 1984 ; BOUTEKRABT et *al*.,1990 -1991).**

Les deux genres *Terfezia* et *Tirmania* ont fait l'objet de recherches essentiellement par plusieurs auteurs. Les premiers travaux ont été effectués par **AWAMEH** et **ALSHEIKH (1979).** Ces auteurs ont décrit les caractéristiques de la germination des ascospores de quatre espèces du désert du Kuwait : *Terfezia* claveryi ; *Terfezia boudieri* ; *Tirmania pinoyi* et *Tirmania nivea*. **(FORTAS, 1990).**

La physiologie du mycélium de cinq espèces de Terfez à été étudiée par **KAVOLANIRINA (1986)**, cette auteur étudiée les facteurs influençant la croissance mycélienne de Terfez dont l'étude a abouti è la sélection d'un milieu nutritif favorable à leur croissance ; comme elle à également réalisé l'association mycorhizienne avec une plante pérenne (Pin d'Alep) et deux plantes annuelles (Hélianthèmes).

La structure des asques et des ascospores des Terfez à été observée en microscopie photonique et électronique. Ces études menée sur *Terfezia claveryi* **(JANEX- FAVRE et *al*., 1985)** ; *Terfezia leptoderma* **(JANEX- FAVRE et *al*., 1988)** et *Terfezia leonis* **(KHABAR et *al*., 1994)** ont permis de dégager les caractères propres aux Terfez : péridium lisse ; gleba comprenant des nodules fertiles enserrés dans un réseau de veines stériles de structure dense ; asques généralement à huit (8) ascospores ; pourvues d'une ornementation d'origine éxoporique et d'une endospore.

DEXHEIMER et *al*. (1985) ont décrit l'organisation ultra structurale des mycorhizes obtenues par synthèses entre *Helianthemum salicifoluim* et deux espèces de Terfez : *Terfezia* claveryi et *Terfezia leptoderma.*

EWAZE et *al.* (1989) ont étudie le métabolisme de l'azote des *Terfezia*_et *Tirmania***.**

En Iran **AMMARELLOU et SAREMI (2007),** qui étudient mycorhization de *Kobresia bellardii* (All.) avec *Terfezia boudieri* et étudient avec **Gucin** l'évaluation de morphologie, cytologie, et relation mycorhizienne de la truffe de désert *(Terfezia boudieri*).

En Maroc **BOUZIANI et *al.* (2006)** étudient la caractérisation biochimique du Terfez du Maroc oriental.

KOVACS et *al.* (2002) étudié l'association des racines du plantes et truffe *Terfezia terfezioides*.

GUTIERREZ et *al.* (2003) étudient la description anatomique des systèmes mycorhiziennes de *Helianthemum almeriense*, la structure et l'ultrastructure des mycorhizes constitués par *Terfezia claveryi* Chatin et *Picoa lefebvrei.*

ZOLTAN BRATEK et *al.* (1996) étudient mycorhization entre (*Robinia pseudoacacia*) et *Terfezia* t*erfezioides.*

En Algérie ; les travaux de recherche sur les Terfez sont rares ; nous citerons les premiers travaux de **FORTAS (1990**) ; concernant la mycorhization *d'Helianthemum guttatum* par trois espèces des genres *Terfezia* et *Tirmania* ; ils sont suivis par les travaux de **SADAT (1994) ;** qui a mis en évidence ; dans des conditions de culture gnotoxéniques ; l'association symbiotique entre une Truffe du genre *Terfezia*_et deux résineux : le Pin d'Alep et le pin des canaris.

BESSAIH(1994) étude l'isolement, identification et la germination de trois espèces de Terfez d'Algérie.

TADJA (**1996),** a abordé l'étude écologique de deux espèces de Terfez dans le sud Ouest algérien, et a pu réaliser un essai de mycorhization avec trois espèces céréalières (blé dur ; orge et maïs).

BESSAH (1999) ; s'est intéressée 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.

En **2002**, **DIB** à recherché des conditions optimales de la croissance mycélienne de deux espèces de Terfez d'Algérie et essai de mycorhization avec le pin d'Alep en conditions axéniques,

A la suite, **BRADAI (2006)** à étudié la bio-écologie de la truffe blanche du désert *Terfezia sp* dans la région d' Oued M'ya.

Enfin en **2007**, **AMARA et AMIRA** à étudié le pouvoir antimicrobien et essai d'identification chimique de l'extrait de *Tirmania pinoyi*.

CHAPITRE II :

MATERIELS ET METHODES

II-1 Origine du Matériel fongique

II-1-1 Présentation de la zone de Oued M'ya

Oued M'ya ou "***Le fleuve aux cent affluents***", est une rivière quaternaire, recouverte et cachée sous une épaisse couche sédimentaire. **(Figure 03).**

Sa vallée n'apparaît même plus, seuls se perçoivent une série de bassins fermés dont le chapelet n'a aucune liaison visible. Le cours de ses eaux devait être jadis, des plus impressionnants avec ses 700 Km de longueur, venait d'au-delà d'In Salah et coulait le long du plateau de Tademaït, au bas de Ohnet près de Djanet, maintenant bien connu par ses puits de pétrole **(LETHIELLEUX, 1984).**

II-1-2 Récolte des Terfez

Suite à plusieurs sorties vers Oued M'ya, durant la période de la fin du mois de janvier 2009 jusqu'au mois d' Avril 2009,nous avons récolté des carpophores frais de Terfez.

Pour la recherche des Terfez, nous nous sommes basés sur les critères suivants :

- Les indicateurs des Terfez conformément aux illustrations motionnées par **BRADAI (2006),** notamment l'observation des surfaces du sol, qui sont souvent gonflées et fendillées ;
- Les orientations et conseils des nomades rencontrés dans la zone de Oued M'ya ;
- Choix des Dayas et des zones de dépression ;
- La forte dominance du genre *Helianthemum* ;

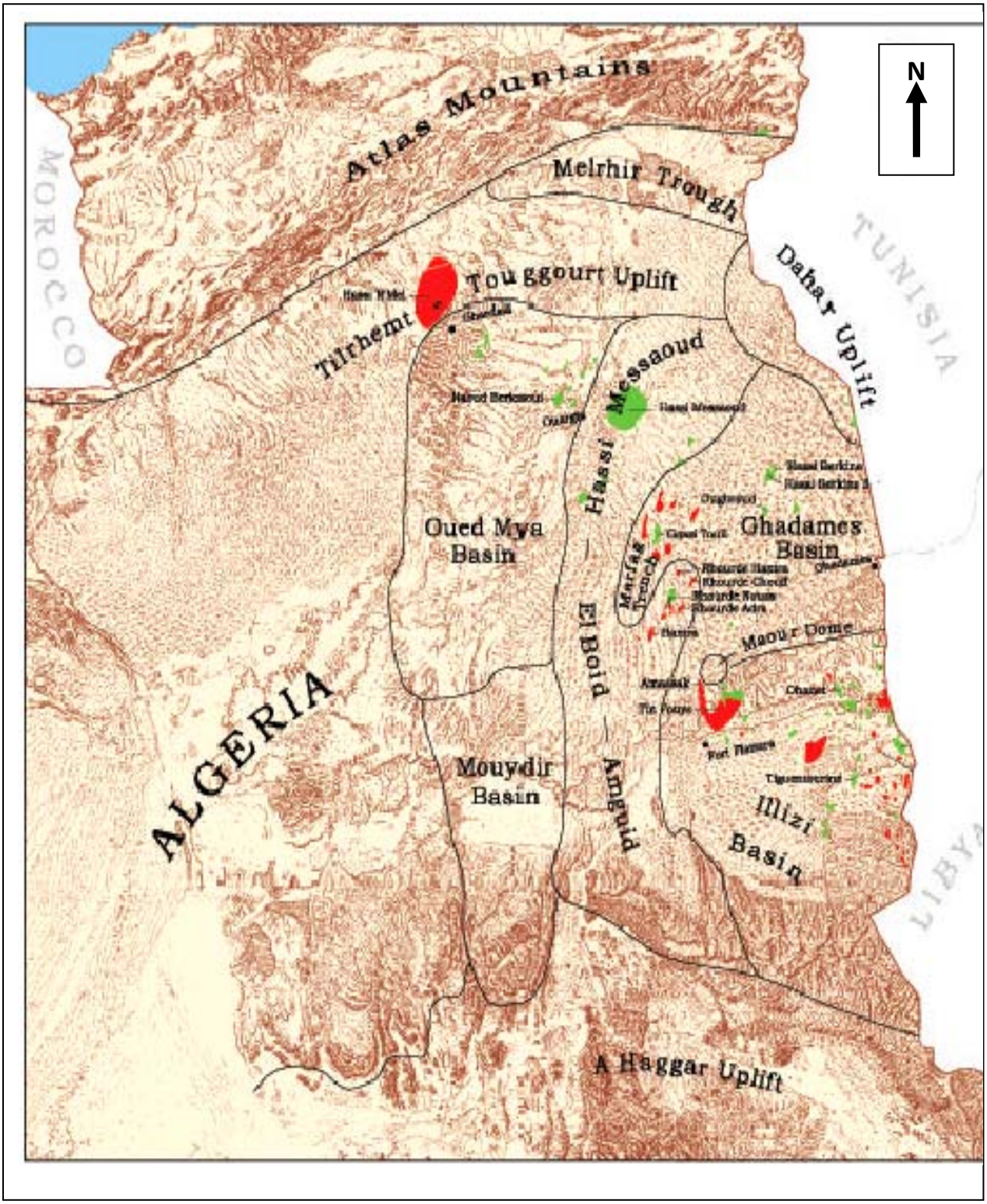

Figure03 *:* Carte schématique de Oued M'ya (Entreprise Nationale de Géophysique, 2005)

II-2 Identification des espèces récoltes

L'identification de genre des espèces récoltées est basée sur la propriété des asques par la coloration Chloro -ido- iodure ou réactif de **MELZER.**

L'identification des trois espèces de Terfez été basée sur les caractères morphologiques des corps fructifères et la couleur de gléba, ainsi que la dimension des spores ; d'asque et leur morphologie.

L'identification des espèces se fait par la comparaison des observations macroscopiques et microscopique des espèces récoltes à l'aide les descriptions de classification selon **TRAPPE (1979).**

II-2-1 Identification du genre

- **Coloration des asques**

Préparation le réactif de MELZER

Nous avons pu préparer une solution du réactif **de MELZER** qui comporte la composition suivante :

Matière	Quantité
Eau bidistillée	100 g
L'iodure de potassium	5 g
L'iode	1,5 g
Hydrate de chloral	100 g

(JOSSERAND, 1983).

Le principe de cette méthode est basé sur la coloration des parois amyloïdes suite autaux et la présence d'amidon dans les parois. Les asques du genre ***Terfezia*** se colorent en jaune ou orange, et ceux du genre ***Tirmania*** prennent une teinte grise bleue **(TRAPPE, 1979).**

Pour la coloration des asques par le réactif de **MELZER**, nous avons pris un fragment du champignon récolté ; mur puis desséché et broyé. Ensuite, nous avons additionné quelques gouttes du réactif de **MELZER**, après 10 min nous avons effectué une observation au microscope optique à grossissement x40 et x 100.plusieurs

observations successives s'imposent après des temps de 4, 6, 24, jusqu'à 48 heures, afin de confirmer la coloration finale des asques**.**

Avant de préparer ce réactif, il faut suivre les recommandations suivantes :

- Bien mélangé et attendre jusqu'à la dissolution totale de chaque constituant avant d'ajouter le suivant.
- Ne pas amener l'iode au contact d'objets métalliques, qu'il attaque très aisément. La dissolution de l'iode peut être assez lente.
- Le réactif de Melzer est assez dangereux : l'hydrate de chloral est toxique, éviter tout contact avec la peau ou les yeux, et éviter de respirer les vapeurs.
- Il faut éviter d'en tacher les vêtements en coton (l'iode se fixe sur la cellulose ; il donne une coloration noirâtre les taches peuvent être enlevées à l'aide d'une solution diluée de thiosulfate de sodium : $Na_2S_2O_3$).

II-2-2 Identification de l'espèce

Pour la détermination de l'espèce, nous nous sommes basés sur les descriptions de **TRAPE (1979)** ; **AWAMEH ET ALSHEIKH (1980), FORTAS** et ***al.*, (1990) ; BESSAH (1999)** ; **BOUCHET(1999).**

II-3 Description morphologique et anatomique des Terfez récoltés

II-3-1 Les caractères macroscopiques

L'examen des caractères macroscopiques a été effectué pour chaque partie du champignon, à savoir l'ascocarpe, le Péridium, et le gléba, du point de vue forme, couleur, et la taille **(voir Annexe N °1).**

II-3-2 Les caractères microscopiques

L'examen des caractères microscopique a été effectué par le prélèvement d'un fragment frais de chaque espèce à l'aide d'une aiguille; le mettre sur une lame ; ajouter une goûte de l'eau distillée, ensuite la recouvrir par une lamelle, l'observation se fait sous microscopique optique avec plusieurs grossissement, qui permettent d'observer la morphologie des asques, des ascospores et mesurer leur dimension ,la mesure ont été effectuées à l'aide d'un **logiciel Bio microscopique Motic Image plus 2..0** qui permet de donner la dimension réelle des asques et ascospores.

II-4 Essai d'isolement , germination et culture des spores du Terfez

De nombreux champignons mycorhiziens sont facilement isolés et cultivés sur milieu artificiel, par contre, les cultures de mycélium des champignons des genres ***Tuber***, ***Terfezia*** *et* ***Tirmania*** sont plus difficiles à obtenir ; on ne connaît aucun milieu véritablement favorable à la germination des ascospores des *Tuber* **(FORTAS, 1990).**

Pour la recherche d'un milieu favorable à la croissance du mycélium, on a choisis trois milieux de cultures**; MNM :** Mélin Norkran's modifié par **Marx (1969)**, **PDA** : Pomme de terre Dextrose Agar et **l'extrait de Malt,** (ces milieux pour la culture et croissance du mycélium et de conservations des spores récoltées de Terfez).

II-4-1 Composition des milieux de culture

MNM (Mélin Norkran's modifié par Marx ,1969)	
$CaCl_2$	0,05g
NaCl	0,025g
KH_2PO_4	0,5g
PO_4 (NH4) 2H	0,25g
$MgSO_47H_2O$	0,15g
$FeCl_3$	0,03g
Thiamine	0,0005g
Extrait de malt	3g
Glucose	10g
Agar	15g
Eau Distillée	1L

(BESSAH, 1999).

PDA (Pomme de terre Dextrose Agar)	
Fragment de pomme de terre âgé	200g
Glucose	15g
Agar	20g
L'eau distillée	1L

(LARPENT, 1985).

L'extrait de malt	
Agar	20g
L'extrait de malt	20g
L'eau distillée	1L

(LARPENT, 1985).

II-4-2 Préparation des milieux de culture

MNM (Mélin Norkran's modifie par Marx ,1969)

- Mesurer la masse nécessaire des produits et d'éventuels additifs.
- Les produits gros on les a broyés à l'aide d'un mortier.
- Mettre les poudres en suspension dans le volume de diluant (l'eau distillée) inferieur au volume nécessaire.
- Chauffer pour dissoudre si nécessaire en agitant (à ébullition en général).
- Ajouter le complément de diluant.
- Conditionner, en prenant garde à la solidification d'un milieu contenant de l'agar et en respectant les contraints de volumes pour certains milieux.
- Rectifier le pH par addition de NaOH à 1 % à l'aide d'un pH-mètre

Les milieux de culture préparés sont stérilisés dans l'autoclave à une température de 115°C pendant 20 minutes puis on ajoute un antibiotique (**chloramphénicol à 0,2g/l)** pour réduite les contaminations bactériennes.

Pour notre travail, nous avons remplacé l'antibiotique **chloramphénicol** par **Thiamphénicol**. Cet antibiotique est analogue de chloramphénicol ; il inhibe la multiplication des bactéries en bloquant la synthèse des protéines.

- **PDA (pomme de terre dextrose agar)**

L'extrait de pomme de terre est préparé comme suite : 200g de pomme de terre sont lavés découpés et portés à l'ébullition pendant une heures dans un litre d'eau distillée, filtrer, presser la pulpe, le filtrat est complété à un litre avec de l'eau distillée.

Après ajout de glucose et ajustement de PH à 5.6, la solution est additionnée de 20 g d'agar –agar, puits mettre le milieu dans l'autoclave à une température de 121 °C pendant 20 min**.**

- **L'extrait de malt**

Le PH est à 3,4 ; ajuster à 6,5 avec une solution NaOH 0,1%, stérilisée 20 min à 120 °C dans l'autoclave**.**

II-4-3 Méthodes d'isolement

Pour isoler le mycélium ; nous avons utilisé deux méthodes.

II-4-3-1 Isolement à partir de gléba d'un carpophore frais

Après plusieurs lavage à l'eau stérile, l'ascocarpe est plongé dans l'alcool à 90 puis flambé ; après élimination du Péridium et de la partie externe de la gléba à la l'aide d'un lame stérile : puis enlevé à l'aide d'un pince stérile des fragments d'environ 0.5 cm de coté sont découpés ; désinfectés pendant 5 minutes dans du peroxyde d'oxygéné (10v) ; lavés à l'eau distillée stérile puis séchés entre deux feuilles de papier filtre stérile et mis en culture**(SADAT, 1994; BESSAH, 1999).**

II-4-3-2 Isolement à partir de la suspension sporale

La suspension sporale est obtenue en prélevant des fragments de la gléba sur un carpophore sain désinfecté comme précédemment .

Après broyage et centrifugation, le culot est désinfecté avec du peroxyde d'hydrogène (10v) pendant 60 minutes puis lavé à l'eau distillée stérile . Les spores sont ensuite ensemencées sur milieu de culture**(SADAT, 1994; BESSAH, 1999).**

II-4-4 Technique de culture

Dans notre travail, on a choisi la méthode d'isolement à partir de la suspension sporale, D'abord Couler les milieux de culture **; MNM :** Milieu Mélin Norkran's modifie par Marx (1969), **PDA** : Pomme de terre Dextrose Agar **et l'extrait de Malt** à raison 20 ml dans des boites de Pétri de 90 mm de diamètre.

PDA et extrait de Malt sont coulés dans 5 boites de Pétri, et MNM sont coulés dans 120 boites de pétri reparties entre deux espèces récoltées de Terfez *(Terfezia arenaria et Tirmania nivea*).

Après que les milieux gélosés (MNM, PDA et l'extrait de Malt) sont solidifiés, nous avons procédé à l'ensemencement de chaque boite, en utilisant la solution sporale.

Les boites de pétri sont fermées par un ruban adhésif pour réduire les contaminations ; les cultures sont conduites à une température de 25 °C dans une étuve.

Remarque:

- Toutes ces opérations d'isolement et culture sont réalisés en hotte stérile.
- L'incubation de *Tirmania nivea* est faite le 02/03/2009.
- L'incubation de *Terfezia arenaria* est faite le 08/03/2009**.**

CHAPITRE III :

RESULTATS ET DISCUSSIONS

III-1 Identification des espèces de Terfez récoltées

La comparaison des caractères morphologiques et structuraux (structures morphologiques, macroscopiques et microscopiques), avec les différentes descriptions rapportées par **TRAPE (1979) ; AWAMEH** et **ALSHEIKH (1980 a) ; JANEX-FAVRE** et ***al*. (1988) ; FORTAS (1990) ; FORTAS** et ***al*. (1990) ; KHABAR et *al*. (1994) ; TADJA (1996) ; BESSAH (1999) ; KHABAR (2001)** ; nous permettent de conclure que les Terfez récoltés dans la région de Oued M'ya appartiennent aux deux genres ***Terfezia*** et ***Tirmania*** et répartis sur trois espèces à savoir :

- ***Terfezia arenaria***
- ***Tirmania nivea***
- ***Terfezia claveryi***

III-2 Description morphologique et anatomique des espèces récoltées

III-2-1 Aspects généraux des Terfez récoltés

- **L'ascocarpe**

Pour tous les champignons récoltés, l'ascocarpe est hypogé, à forme lobée et présentant un pied à sa base (Photo 1). L'aspect général est globuleux avec une apparence turbinée, le diamètre varie de 3 à 10cm. L'odeur est très caractéristique puissant et agréable.

***Photo* 1**: L'ascocarpe de déférent espèces de Terfez récolté.

- **Péridium**

La couleur du péridium varie selon l'espèce, est de couleur mate passant à brun pour *Terfezia arenaria*, et de couleur jaune brunâtre devenant plus foncé avec l'âge pour *Terfezia claveryi* et blanche lacté pour *Tirmania nivea*.

Pour les trois espèces récoltées, la surface est relativement lisse, hérissée de minuscule pyramide de 3 à 4 faces, forant des petites écailles polygonales (Photo 2).

***Photo* 2:** Péridium de *Termania nivea*.

III-2-2 Structure macroscopique

L'organisation structurelle de la truffe est très particulière, car elle résulte d'une adaptation à la vie souterraine **(BOUCHET** et ***al*., 1999).**

L'examen d'une coupe transversale, à l'aide d'une loupe binoculaire à un grossissement x 10, révèle que les Terfez récoltés se composent de deux couches :

- A l'extérieur, le péridium représente une enveloppe externe, son épaisseur est de 0,5 à 1 mm, de couleur pâle blanc- jaunâtre à marron.
- La chair (Glèba) est de couleur blanche, charnue, parcourue de petites veines (sillons) de couleur pâle jaunâtre.

Les truffes comportent une enveloppe externe ou **péridium**, visible extérieurement sous forme d'écailles polygonales, entourant une **Glèba** interne correspondant au tissu fertile **(DELMAS, 1983).**

Le cortex de la truffe du genre *Tuber* est très dur, à écailles pyramidales (**GABRIEL** et ***al*., 1999).**

III-2-3 Structure microscopique

L'examen microscopique de la Glèba de Terfez mature, montre qu'elle est formée par un nombre important de mycéliums placés sans ordre et contenant des ascospores (Photo 3).

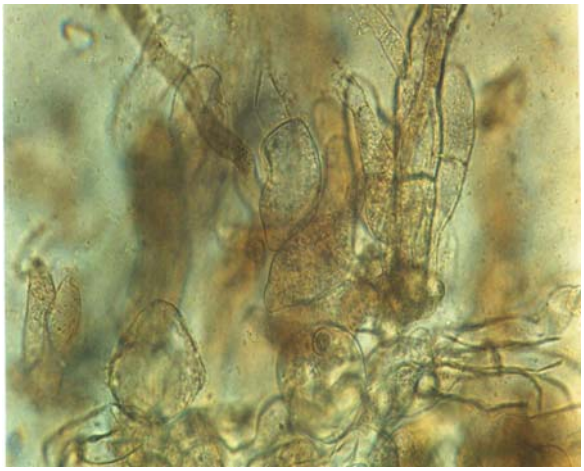

Photo n 3: Structure microscopique de la gléba de *Terfezia sp*.

Les hyphes mycéliens se ramifient et l'ensemble acquiert une forme plus ou moins annulaire. La structure est dense, formée par un nombre très élevé de veines renferment des asques.

Ces descriptions convergent avec celles mentionnées par **JANEX-FAVRE** et ***al*. (1988)** et **KHABAR (1994)**, qui ont montré que les Terfez possèdent un péridium lisse, une glèba comprenant des nodules fertiles, dégagés dans un réseau de veines stériles de structure dense.

D'une manière générale, la truffe comprend des filaments mycéliens entrelacés et agrégés en un stroma, entourant plusieurs zygospores **(BOUCHET et *al*., 1999).**

III-3 Etude macro et microscopique des espèces de Terfez récoltées

III-3-1 *Tirmania nivea*

- **Le corps fructifères** forme sphérique : lisse subglobuleuse à turbinée et lobée**.**
- **Couleur**:-blanche- jaune à brun.
- **Diamètre:** 54,64mm**.**
- **Configuration de la surface :** lisse ; ridée ; craquelée.
- **Le Péridium:** présence.
- **La gléba:** a un aspect spongieux, elle est homogène charnue de couleur blanchâtre à jaunâtre**.**
- **Le nombre des spores:** (5-8).
- **L'asque:** piriforme de dimension 565,9 × 345,1µm.
- **l'ascospore:** de forme ellipsoïde; elle mesure 105,4× 76,3 µm.

Planche N °01

Photo n°:4

Photo n°:5

Photo n°:6

Photo n°:7

Planche N°01 :

Morphologie des ascospores de Terfez blanche *Tirmania nivea*

Photo n° 4, 6 et **7 :** Morphologie d'ascocarpe de *Tirmania nivea* à péridium blanchâtre.

Photo n°5 : Morphologie de gléba d'ascocarpe de *Tirmania nivea*.

Planche N° 02

Photo n°:8

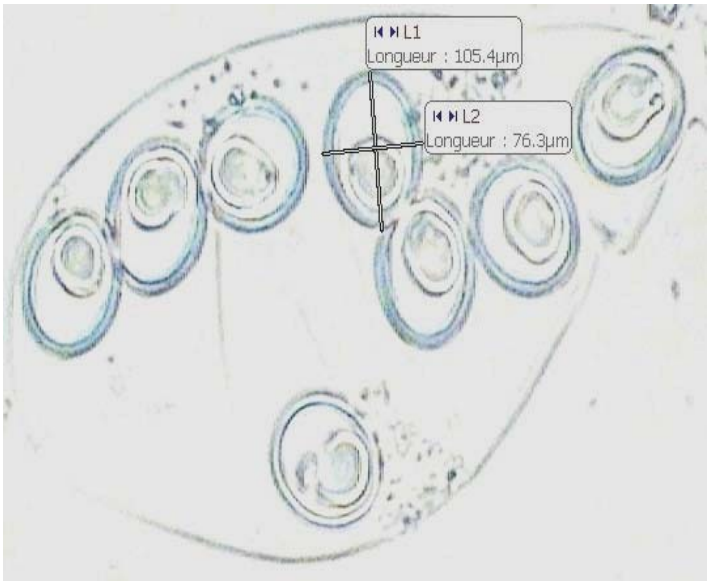

Photo n°:9

Planche N° 02

Morphologie des asque et spores de la Terfez blanche *Tirmania nivea*

Photo n°8 : Morphologie des asques ovoïde ,piriforme ;octosporté.

Photo n°9 : Morphologie des spores ellipsoïde.

III-3-2 *Terfezia arenaria*

Le corps fructifères étudiés ont une couleur marron foncée **;** passant à la couleur noire ; présentent un pédoncule à la base**.**

- **Diamètre:** 73,7mm**.**
- **Configuration de la surface :** lisse ; glabre**.**
- **Le Péridium :** présence épais de couleur brun à marron foncé.
- **La gléba:** couleur brin- rouge, marbrée à rose.
- **Le nombre des spores :** (6-8).
- **l'asque:** subarrondi de dimension 601× 470 µm.
- **L'ascospore**: de forme sphérique ; elles mesurent 122× 106 µm**.**

Planche N ° 03:

Photo n°:10

Photo n°:11

Photo n°:12

Planche N ° 03

Morphologie des ascocarpes de Terfez noir *Terfezia arenaria*

Photo n°10 et 11: Morphologie des ascocarpes de *Terfezia arenaria* à Péridium noir foncé.

Photo n°12: Morphologie des ascocarpes de *Terfezia arenaria* à gléba rose .

Planche N° 04

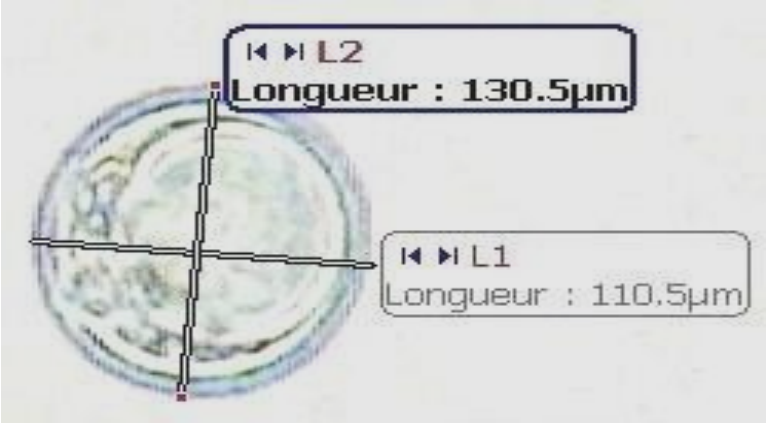

Photo n ° :13

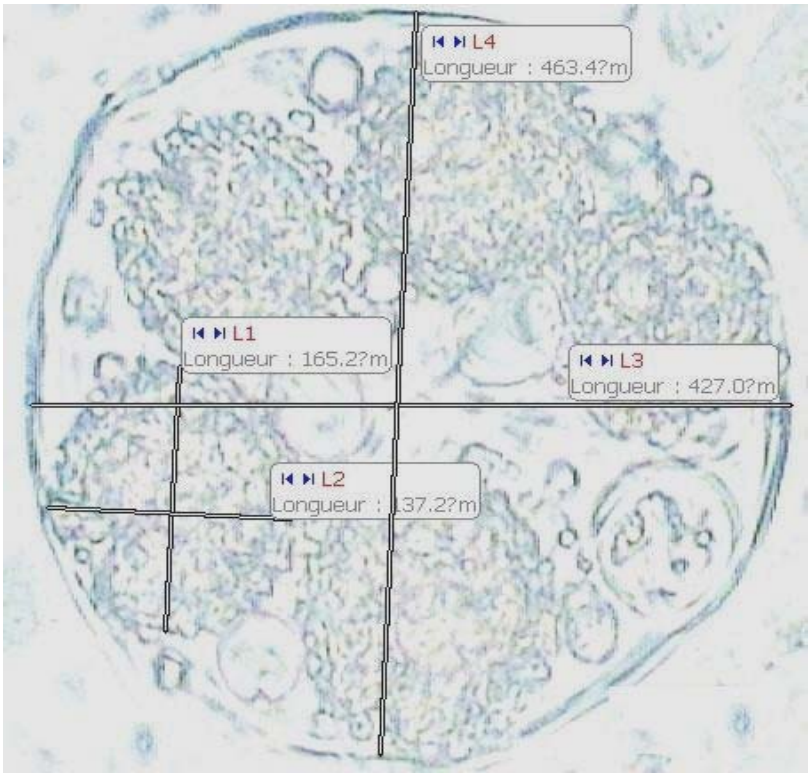

Photo n ° :14

Planche N° 04 :

Morphologie des asques et spores de la Terfez noir *Terfezia arenaria*

Photo n°13 : Morphologie de la spore desséchée G ×100.

Photo n°14 : Morphologie des asques Subglobuleux à ellipsoïde G×100.

III-3-3 *Terfezia claveryi*

- **Le corps fructifères** :-**forme:** subglobuleuse à turbinée et lobée**.**
- **Couleur**: pale, brun clair à marron, non poli.
- **Diamètre :** 54 mm**.**
- **Configuration de la surface :** lisse.
- **Le Péridium :** présence.
- **La gléba:** jaune clair, charnue parcourue par des sillons brun clair**.**
- **Le nombre des spores:** (8).
- **L'asque:** globuleux parfois ellipsoïde de dimension 573× 508 µm.
- **l'ascospore:** de forme globuleuses ; elle mesure167×160 µm.

Planche N° : 05

Photo n ° :15

Photo n ° :16

Planche N°05

Morphologie d' ascocarpe de *Terfezia claveryi*

Photo n°15: Morphologie d' ascocarpe de *Terfezia claveryi* à péridium jaune brunâtre.

Photo n° 16 : Morphologie d' ascocarpe de *Terfezia claveryi* à gléba blanche teinté de jaune homogène.

Planche N° :06

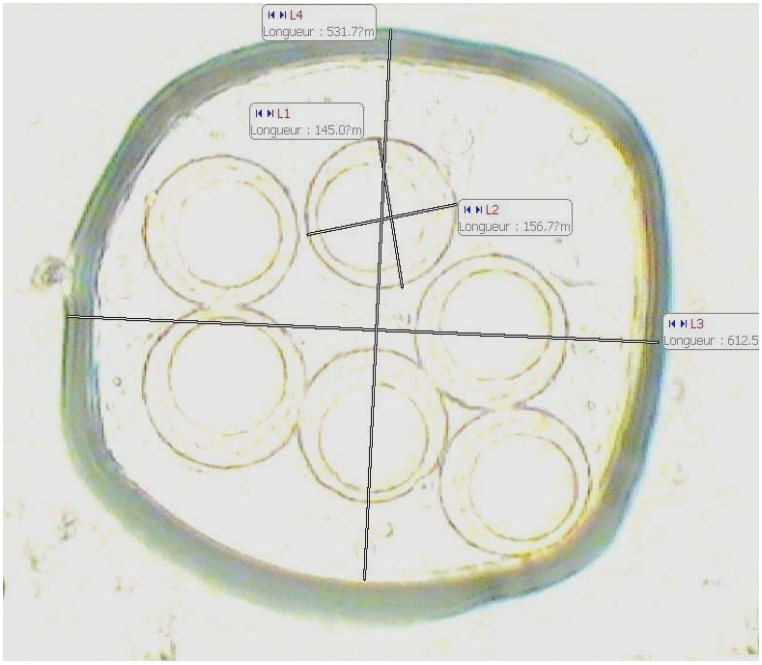

Photo n° :17

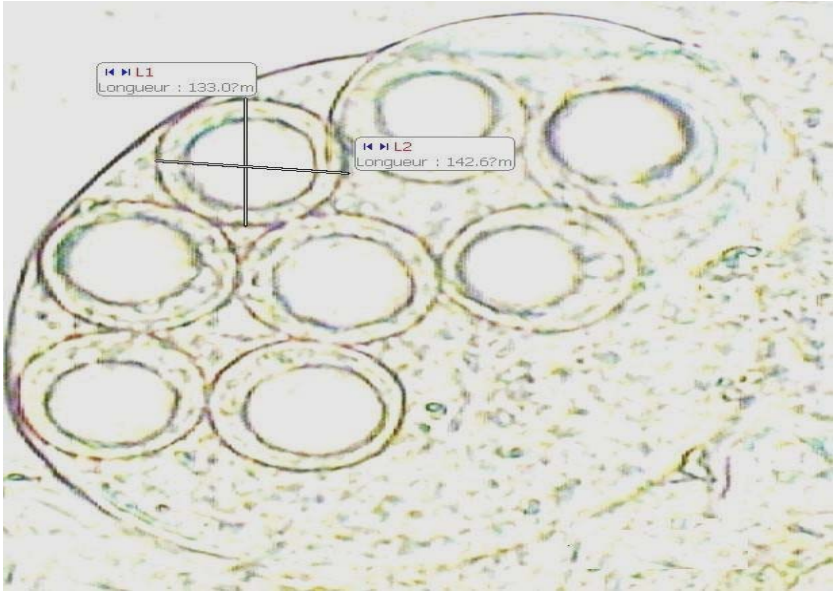

Photo n° :18

Planche N° :06

Morphologie des asques et spores de la Terfez *"Terfezia claveryi*".

Photo n°17 : Morphologie des asques ellipsoïdes ou largement piriforme continent de 6 à 8spores de la Terfezia claveryi ".

Photo n°18 **:** Morphologie des spores sphériques, finement réticulée .

Planche N ° : 07

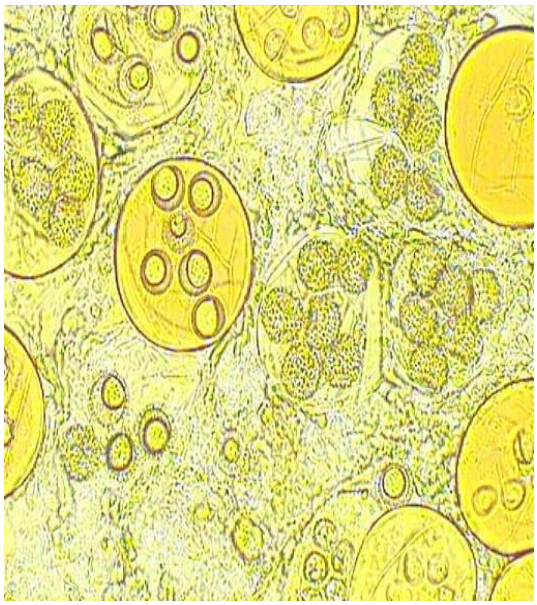

Photo n °:19

Photo n °:20

Photo n °:21

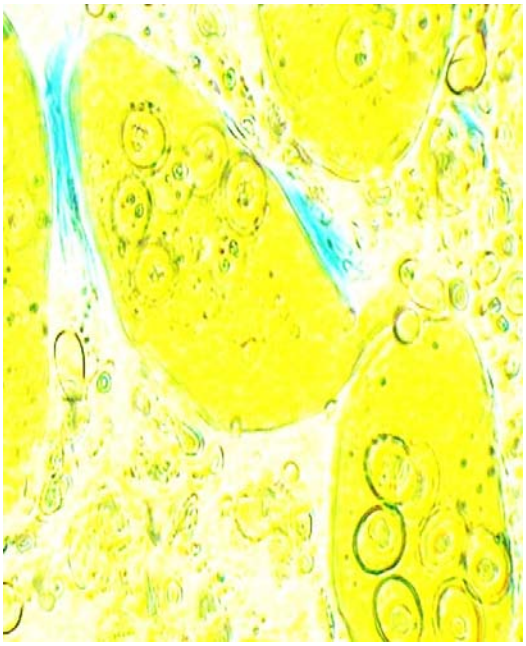

Photo n°:22

Planche N ° 07 :

Coloration des asques de deux espèces de Terfez par réactif de Melzer

Photo n °19 et 20 : Coloration des asques de Terfezia arenaria par réactif de Melzer se colore en jaune à grossissement respectivement x 400, x100.

Photo n ° 21 et 22 : Coloration des asques de Tirmania nivea par réactif de Melzer se colore en teinte grise bleu à grossissement respectivement x 100, x400.

III-4 Essai d'isolement et de germination des spores de Terfez

Dans cette partie de l'étude, on a essayé d'isoler et de faire germer les Terfez a partir d'une suspension sporale.

Après la première semaine d'incubation nous avons noté le développement de champignons pathogènes et de bactéries surtout dans l'espèce noir, malgré l'utilisation de bactéricide et toutes les précautions prises dans laboratoire de l'université.

Pour les deus milieux PDA et l'extrait de Malt, nous n'avons noté aucun développement mycélienne et la contamination peu importe que le milieu MNM.

La germination des ascocarpes des espèces de Terfez est précédée par une phase de latence de durée variable selon les espèces et le milieu de culture.

La germination des ascospores des espèces de Terfez ,*Terfezia arenaria* et *Tirmania nivea* , est précédée par une phase de latence d'origine inconnu , et de durée variable selon les espèces ; selon **FORTAS(1990)** la phase de latence chez *Terfezia arenaria* de 5 à 12 jours . **ALSHEIKH** et **AWAMEH (1980**) à montré que le temps de latence dans le cas des deux genres *Terfezia* et *Tirmania* diffère d'un ascospore à un autre .Au début de leur germination , on observe la libération de globules lipidiques réfringents ,suivi par le gonflement des ascospores qui double presque de volume avant la germination **(FORTAS, 1990)** et **(FORTAS et CHEVALIER, 1992 a).**

AWAMEH et **ALSHEIKH (1979)** et **FORTAS (1990),** constatant que chez quatre espèces de Terfez du Koweït au période de germination des ascospores des espèces de Terfez, le tube germinatif émerge d'un point quelconque de l'ascospore , et la germination des ascospores à l'intérieur de l'asque est possible et le tube germinatif émis traverse directement la paroi de l'asque.

Au débit de leur germination, on observe la libération de globules lipidiques réfringents et le gonflement des ascocarpes qui double presque de volume initial.

Dans les ascospores de *Tirmania nivea*, nous avons observé au débit de germination, il y a la formation de bourgeon qui est suivie par le détachement de la couche externe de l'ascocarpe puis l'extrusion du tube germinatif.

Dans les ascospores de *Terfezia arenaria*, on a constaté des ascospores qui gonflent et germé même à l'intérieur de l'asque, le tube germinatif émis à travers la paroi de l'asque.

Les essais d'isolement de souches pures de champignons sont réalisés à partir de carpophore de Terfez frais et ont abouti à l'isolement de souches mycéliennes pures dont présente une croissance très lente.

Toutes les opérations d'isolement et culture ne sont pas réalisées en chambre à UV stérile, sous hotte à flux luminaire. La présence de contamination, pourrait être engendrée par des erreurs de manipulation, et l'utilisation d'antibiotique non efficace Thiamphénicol (médicament) qui remplace le chloramphénicol.

La croissance lente revient probablement par l'influence de la composition de milieux de culture ou le peroxyde qui empêche la germination des spores.

Conclusion Générale

Au cours de ce travail, nous avons pu identifier et mettre en évidence les caractéristiques macro et microscopiques des Terfez, récoltés dans la région d'Oued M'ya Ouargla.

L'identification de genre est basée sur la propriété des asques par la méthode Chloro-Ido-Iodure ou réactif de MELZER.

L'identification des espèces fongiques a montré que les Terfez récoltés sont répartis sur trois espèces, appartenant à deux genres différents : *Tirmania nivea, Terfezia arenaria, Terfezia claveryi.*

De point de vue morphologique, et pour tous les champignons récoltés, l'ascocarpe est hypogé, a avec forme lobée et présentant un pied à sa base. L'aspect général est globuleux avec une apparence turbinée, le diamètre varie de 3 à 08 cm. L'odeur est très caractéristique puissant et agréable.

Le péridium représente une enveloppe externe, son épaisseur est de 0,5 à 1 mm, avec une surface est relativement lisse, hérissée de minuscule pyramide de 3 à 4 faces, forant des petites écailles polygonales.

La couleur du péridium est parmi les clés principales pour la détermination de l'espèce ; elle est de couleur blanche- jaune à brun pour *Tirmania nivea,* de couleur brun à marron foncé pour *Terfezia arenaria* et de couleur brun clair à marron pour *Terfezia claveryi.*

La gléba correspond à correspondant au tissu fertile. C'est une chair charnue, parcourue de petites veines (sillons). L'examen microscopique de la glèbe nous a montré qu'elle est formée par un nombre important de mycéliums placés sans ordre et contenant des ascospores.

Les hyphes mycéliens se ramifient et l'ensemble acquiert une forme plus ou moins annulaire. La structure est dense, formée par un nombre très élevé de veines renferment des asques.

Les asques et les ascospores, pour chacune des espèces, demeurent des caractères spécifiques.

En effet, pour *Tirmania nivea* les asques apparaissent sous une forme piriforme, pour *Terfezia arenaria* de forme subarrondie et pour *Terfezia claveryi* de forme globuleux parfois ellipsoïde.

La germination des ascocarpes des Terfez est précédée par une phase de latence de durée variable selon les espèces et le milieu de culture.

Au débit de leur germination, on observe la libération de globules, probablement lipidiques réfringents, et le gonflement des ascocarpes qui double presque de volume initial.

Pour *Tirmania nivea*, et au débit de germination, il y a la formation de bourgeon qui est suivie par le détachement de la couche externe de l'ascocarpe puis l'extrusion du tube germinatif.

Concernant *Terfezia arenaria*, les ascospores se gonflent et germent à l'intérieur de l'asque, le tube germinatif émis travers la paroi de l'asque. Les essais d'isolement de souches pures de champignons sont réalisés à partir de carpophore de Terfez frais, et ont abouti à l'isolement de souches mycéliennes pures dont présente une croissance très lente.

Au moment que notre travail représente une illustration les différentes espèces de truffes de désert récoltées dans la région d'Oued M'ya, Ouargla, notre étude demeure est ébauche, et beaucoup reste à faire, pour connaître leur bio-écologie, et d'essai de fonder une trufficulture propres aux régions du Sud- Ouest algérien.

Reférences bibliographiques

1. **AMMARELLOU A.,SAREMI H.,2007-** Mycorrhiza between Kobresia bellardii (All.) Degel and *Terfezia boudieri* Chatin. University of Zanjan, Faculty of Agriculture, Department of Plant Breeding, Zanjan – IRAN.
2. **AWAMEH M.S et ALSHEIKH A.,1980 a-**Ascospore germination of the (KAME) (*Terfezia Boudieri*) .Mycologia 1,pp 50-55.
3. **AWAMEH M.S et ALSHEIKH A.,1980 b**-Laboratory nad fied study of the truffe (KAME) *Terfezia* and *Tirmania* .sp and its relationship to the environments for the purpose of cultivation Part KIISR KUWAITR ,65 P.
4. **AWAMEH M.S,ALSHEIKH,A.AND 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 ascospores germination..Proceedings of the 4 th North American Conference on Myc.Fort Collins, Colorado. U.S.A.
5. **AWAMEH,M.S.,1981**-The response of *Helianthemum salicifolium* and *H.ledifolium* to infection by the desert truffle *Terfezia boudieri*.Mush.Sc.,11,pp843-853.
6. **BASSAH G., 1999**-Contribution à l étude de la symbiose mycorhiziennes entre deux espèces de Terfez :*Terfezia claveryi, Terfezia boudieri* avec le pin d'Alpe(*Pinus halepensis Mill*)dans la région du djelfa.Thése Maj Institu National D'Agronomie EL-HARACH,153p.
7. **BESSAIH A., 1994** -Isolement, identification et l'étude de la germination de trois espèces de Terfez d'Algérie . Université d'ORAN ES-SENIA pp
8. **BOUCHET PH.,GUIGNARD J.L,VILLAR J.,1999-**les champignons: Mycologie fondamentale et appliquée .Ed .Masson ,Paris, 195 p.
9. **BOUZIANI N. BOUAKKA M.,BELABED A.et TAHR .H.;2006** -Caractérisation biochimique du Terfez du Maroc oriental :(1) Isolement et culture in Vitro .Congrès International de Biochimie .Agadir: 519-522 .
10. **BRADAI L., 2006-**contribution à l'étude bioécologique de la truffe blanche de désert (Terfezia sp) cas de la région de Oued Mya (Ouargla).Thèse de Magister. Univ .Kasdi Merbah, Ouargla.
11. **CHEVALIER G. RIOUSSET F. et DUPRE C., 1986** –Taxonomie des truffes européennes les mycorhizes : physiologie et génétique . INRA Paris ,pp 631-635.
12. **DELMAS J., 1983** –la Truffe et sa culture .Ed. INRA Paris ,pp 55.

13. **FAHRETTIN G-CİN. BASARAN D.LGER .,1997-** YENEN ve ANTIMIKROBIYALAKTİVİTELERİ OLAN KEME MANTARI(=*Terfezia boudieri* Chatin)ZERİNDE ARAŞTIRMALAR. Fatih.niversitesi Fen-Edb. Fak. Biyoloji B◌lümü, Beylikdüzü – İSTANBUL, Uludağ -niversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji B◌lümü, BU RSA**.**

14. **FORTAS Z .et DIB S., 2005**- Essaie de mycorhization d'une espèces de Terfez d'Algérie avec le pain d'Alp en conditions axéniques .colloque Euro –Méditerranéen en biologie végétale et environnement .Université BADHI MOKHTAR –ANNABA ,pp 31.
15. **FORTAS Z.et CHEVALIER G.,1990**- Effet des conditions de culture sur la mycorhization de l'*Helianthemum guttatum* par trois espèces de Terfez des genres *Terfezia* et *Tirmania* (truffes du désert).pp 197 -203 d'Algérie .Can .Bot . ,70 pp 2453-2460.
16. **FORTAS Z.,1990-**Etude de trois Terfez caractères culturaux et cytologie du mycélium isolé et associé à *l'Helianthemum guttatum* .Thèse Dot d'Etat .Université d'ORAN ES-SENIA pp9-68.
17. **GABRIEL C.,1999**-la truffe , la terre ,la vie du labo au terrain .Ed. INRA .Paris .
18. **GUTIERREZ A. MORTE A.et HONRUBIA M., 2003**- Morphological characterization of the mycorrhiza formed by *Helianthemum almeriense* Pau with *Terfezia claveryi* Chatin and *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire. Departamento de Biologia Vegetal, Facultad de Biologia.Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30100, Murcia, Spain.
19. **JANEX-FAVRE et PARGUEY-LEDUC A. et RIOUSSET L.,1985-**L'ascospore hypogé d'une Terfez française *Terfezia leptoderma* Tul ; (Tubérales ,Discomycètes). Bull.sco. Myc fr.,pp 104.
20. **JANEX-FAVRE et PARGUEY-LEDUC A.,1988**-Les asques et ascospores de *Terfezia claveryi* Ch.(Tubérales). Cryptogamie ,Mycol. tome (06) ,pp27-99.
21. **JOSSERAND M**.J.,1983-La description des champignons supérieurs (Basidiomycètes charnus).Encyclopédie mycologique XXXVII. Ed. Le chevalier. Paris,398p.
22. **KHABAR L.,2001**-Condition à l'étude de la flore mycologique du Maroc les Truffes marocaines (Discomycètes) Extrait du Bull. Soc .mycol .Fr.117(3) ,pp213-229.

23. **KHABAR L.NAJIM L., FAVRE M.et PARGUEY-LEDUC A.,1994-** L'ascospores de *Terfezia leonis* Tul . (Tubérales ,Discomycètes).Cryptogamies, Mycol.15(3) ,pp 187-206.
24. **KOVACS GM. BAGI I., VAGVOLGYI C,.,KOTTKE I.et OBERWINKLER F., 2002-**Studies on the root associations of the truffle Terfezia terfezioides. Acta Microbiol Immunol Hung.; 49(2-3):207-13. Department of Botany, University of Szeged, P.O. Box 657, H-6701 Szeged, Hungary.
25. **KOVACS GM. VAGVOLGYI C.et OBERWINKLER F., 2003** - In vitro interaction of the truffle Terfezia terfezioides with Robinia pseudoacacia and Helianthemum ovatum. Department of Botany, University of Szeged, 6701 Szeged, Hungary. 48(3):369-78

26. **LARPENT J-**P.**LARPENT M-GOURGAUD.,1985-**Manuel pratique de Microbiologie ,PARIS. 142 P.
27. **RICARD J.M., 2003-**La Truffe-Guide technique de trufficulture. Ctifl.33, 48,49,50.
28. **SADAT G.,1994** –Contribution à l'étude de l'association symbiotiques entre le genre *Terfezia sp* .et les espèces *l'Helianthemum*, *Pinus halependis* et *Pinus canariensis*, Men .Ing .Agr. I.N.A .EL-HARACH .Alger ,57 p.
29. **TADJA A.,1996-** Etude écologique de deux espèces de *Terfezia* du sud Oued Algérie Essai de leur mycorhization sur trois espèces céréalières .Thèse magistère .I.N.A .EL-HARRACH .Alger ,57p.
30. **TRAPPE J.M., 1979-**The order, familier and genera of hypogeous Ascomycétte (Truffes and their relatives) .Mycotaxon N° 9, PP 297-340.

31. **ZOLTÁN B. ERZSÉBET J.,KÁROLY B., GYÖNGYI S.,1996** -Mycorrhizae between black locust (Robinia pseudoacacia) and *Terfezia terfezioides.* Department of Plant Physiology, Eötvös Loránd University, Budapest Múzeum Krt. 4/a, H-1088 Budapest, Hungary Department of Plant Anatomy, Eötvös Loránd University, Puskin u. 11-13, H-1088 Budapest, Hungary.page 271-274.

أحمد بن علي حجر العسقلاني , فتح الباري شرح صحيح البخاري ,دار المعرفة ,بيروت –لبنان ,852-883.

Anonyme

1. -http://www.dordogne-perigord.com/fr/gastronomie/produits-terroir/Truffe 02.asp#.
2. -http://www.fr .wikipedia .org /wiki/Truffe –(champignons) # les –esp .C_3.A8 Ces –de –Truffe.
3. -http//www.fft-tuber.org

Les annexes

Tableau de Trappe

Caractéristiques Genres et espèces	péridium	glèba	asque	Ascospore	Plante-hôte	habitat
Terfezia eremita (Malençon.1973)	Couleur brune à marron(1). Coriace à section brune. Extérieurement glabre ;lisse ou faiblement veinulé(1). Les hyphes sont larges ; confuses rameuses et septèes(1).	Parcourue de veines pâles délimitant des modules globuleux(1) Base stérile très brève ;homogène et charnue(1).	Ovoïde ou piriforme octosporè(1). Dimension : (1) 60 à 70x50àà55um	Sphérique avec une membrane épaisse de 1 µm groupées par 8parfois en nombre plus réduit par avortement(1). Dimension: (1) 12.3 à14µm ;sans les verrues.	Hélianthème (1).	Afrique du nord.
Terfezia pfleilii Henning(1897)	Couleur marron possède une couleur externe ; forme d'hyphes allant 4 à 12 µm.(1).	Couleur hyaline formée de poches séparées par des veines stériles.(1).	Subglobuleux et parfois ellipsoïde. (11). Jeune : Couleur hyaline âgé :couleur marron formé de poches.	Globuleuse. Dimension : 16 à 26 µm avec ornementation.	Hélianthème(11).	Afrique du sud. Province du cap Damarland(11).
Terfezia oustroafricana (Marasas et Trappe.1973)	Couleur jaune marron. Formé d'hyphes larges hyalines avec paroi épaisse.(11).	Couleur marron ; solide ;marbrée de veines.(11).	Subcylindrique ;réniforme ou asymétrique.(11). Arrangé dans des poches fertiles portant 4à 8 spore Dimension :(11).0à140x30à8µm.	Ellipsoïde à ovoïde ; très souvent irrégulière.(11). Couleur jaune pâle (11). Dimension :22 à 26µm.	Hélianthèmes(11).	Afrique du sud. Province du cap Damarland.(11).

Terfazia qiqantea **(Imai)**	**Couleur jaune marron (4).**	**Couleur blanche, solide, charnue, formée par des tissus fertiles séparée par des veines stériles.(12).**	**Forme irrégulière globuleuse.(12).** **Ellipsoïdes, avec une courte queue 2 à 8 spores.(12).** **Dimension : 100à145x75à105µm**	**Globuleuse.(12). Marron, hyaline, granuleuse et épineuse.** **Dimension :(12) 32,5à47,5µm de diamètre.**	**Hélianthème** **(12).**	**Montagne appache pennsylvane (Amérique)** **Hokkaido (Japon).(12).**
Terfezia Spinoza **(Marlen)**	**Couleur jaune pale.** **Formé par des hyphes enchevêtrées.(13).**	**Couleur blanche (13).**	**Subarrandi à légèrement arrondi (13).**	**Emoussé ou large, portant des épines qui peuvent être minces.(13).** **Dimension :16à32µm**	**Hélianthème**	**Louisiane (sud de l'Amérique du Nord).(13).**
Terfezia decaryi **(Heim)**	**Couleur brune charnue.(14).**	**Couleur blanche marquée de veines relativement large et peu nombreuses avec des terminaisons aigues et fermés sans être dures.(14).**	**Largement cylindrique, claviforme sublosangique.(14).** **Dimension : (14) 50à80µm**	**Ornementée d'une périspore très saillante atteignant 4µm d'épaisseur, d'aiguillons énormes isolés ou réunis par groupes.** **Dimension :20à30µm de diamètre (14).**	**Daro (résineux).(14).**	**Madagascar(14).**

Tableau de Trappe

Caractéristiques Genre et espèces	Péridium	Gléba	Asque	Ascospore	Plante-hôte	Habitat
Terfezia claveryi **(Chat)**	**Couleur jaune brunâtre devenant plus foncé avec l'âge.(2,17).** **Surface unie(2).**	**Couleur blanche teintée de jaune Homogène avec une saveur peu sucrée se termine par un court et épais pédicule.(2).**	**Ellipsoïde ou largement piriforme subsessile. (2).Octosporé (2).** **Dimension : (2) 80 à 100x65 à85µm.**	**Sphérique, finement réticulée hyaline(1). Ornée d'un beau réseau superficiel bas et serré(1).** **Dimension : (1) 16à23µm de diamètre.**	***Helianthemum salicifolium.(3).*** ***H. guttatum(3).***	**Espagne (Granada). (19) Moyen-Orient : Iraq, Koweït.(1,3).** **Algérie, Tunisie, Maroc, Libye.(1)** **Australie, Asie, Amérique du Nord (Louisiane).(3).**
Terfezia boudieri **(Chatin,1982)** **=T.Microspora.pat (1894)** **=T.aphroditis Chat (1893)** **=T.Metaxii Chat (1891).**	**Couleur jaune bistre.(2).** **Surface unie (2).**	**Couleur brune, sensiblement homogène.(2).** **Saveur agréable.(2).**	**Subglobuleux ou ellipsoïde.(3).** **Possède de 5 à 8 spores.(3).** **Dimension : (3) 66à 80µm.**	**Afaible relief avec courts festons munis de nombreuses granulations.(2).** **Dimension :22 à 26µm.**	**Hélianthème.(3).** **Cistes.(3).**	**Afrique septentrionale Algérie : (Boussaada,Biskra,Barika,Batna, El-Golea)(2). Libye(18).** **Moyen-Orient : Koweït et les pays voisins(Syrie, Iraq, Péninsule d'Arabie, Turiquie.Russie (Caucase).(3).**
Terfezia leptoderma **chatin (1891)** **=*T.olbiensis*(Tul, 1851).**	**Couleur jaune à marron .(6). formé d'hyphes larges et des cellules gonflées.(6).**	**Couleur jaune à marron foncée.(6). Possède des poches fertiles séparées par des veines terminales stériles.(6).**	**Ellipsoide ou sphérique. Possède de 4à spores subglobuleuses.(8).** **Dimension : 60x50 à 60µm (8).**	**Sphérique à épines serrées de couleur claire, subhyaline.(8).** **Dimension : 16 à 19µm de diamètre (8).**	**Hélianthème, Pins , Cistes**	**Amérique de sud.(3).** **Sud et centre de l'Europe,.(3).Asie.(9).**

Suivante le tableau

Caractéristiques / Genre et espèces	Péridium	Gléba	Asque	Ascospore	Plante-hôte	Habitat
Tirmania nivea **(trappe,1971)** ***T.Ovalispora*** **(Patouillard,1890)** ***T.africana*** **(chatin,1892)**	**Coloré en blanc lacté et jaunissant.** **Avec l'âge, (1). mat ,lisse, peut être turbiné, lobé ou bosselé.(1).**	**Couleur blanchâtre ou jaunâtre.(1).** **Homogène, charnue et spongieuse.(1).**	**Ovoïde, piriforme à base courte.(1).** **Octosporé.(1).** **Dimension : 80-90x35-40µm.(1).**	**Ellipsoïde à membrane peu épaisse. Hyaline, lisse ou sublisse.(2)** **Dimension :18 à 20µm sur 13-15µm.(2).**	**Hélianthème(3)** **Cistes.**	**Afrique septentrionale (Maroc, sud Algérien, Libye). Iraq(4,17),(Syrie, Péninsule d'Arabie, Turquie).(17).**
Tirmania pinoyi **(Maire,1906)**	**Couleur blanche, mal définie à peine différencié, réduit à un feutrage stérile (1).**	**Couleur peu rosée homogène, marbrée de quelques veinules ascendants.(1).**	**Piriformes(1) . Octosporé(1).** **Dimension :90à100x50µm**	**Sphérique parfois brièvement ellipsoïde avec un ou plusieurs globules.(1).** **Dimension : 15à 19µm de diamètre**	**Hélianthème(3).**	**Afrique du Nord : Maroc, Algérie, Iraq.(4,17). (Syrie, Péninsule d'Arabie, Turquie).(17).**
Terfezia arenaria **(Trappe,1971)** ***T .Leonis*** **Tul.**	**Couleur mate passant à brun.** **Rouge avec l'âge(2). Epais**	**Couleur blanchâtre puis marbrée rose Ocré.((1).** **lobée ou divisée en petites masses.(2).** **Présence de poches jaunes à marron sombre espacées de veines stériles(1).**	**Subglobuleux à ellipsoïde.(4).** **Grand contenant de 5à8spores.(2).** **Dimension :51à56 x62à65µm**	**Sphérique non alvéolée avec papilles. Grosses obtusés, tronquées(2).** **Pourtour avec des dents d'engrenage.(2)** **Dimension : 22à26µm**	***Tuberaria*** ***guttata.*** ***Helianthemum guttatum, Pinus*****(17).**	**Afrique du Nord : Algérie ,Maroc, Tunisie, Libye.(1,2).** **Dans les forêts de pins et de cèdres en Espagne. (2,19) .Amérique du Nord, Asie.(2).Italie (19).**

Suivante le tableau

Caractéristiques Genre et espèces	Péridium	Gléba	Asque	Ascospore	Plante-hôte	Habitat
Terfezia lonqii (Gilkey)	**Couleur jaune marron, lisse formée par des larges hyphes et d'un gros pseudoparnchyme.(15).**	**Couleur blanche.(15).**	**Globuleux parfois allongé.(15).** **Dimension : 60 à 80 µm.(15).**	**Alvéolée, épineuse : le nombre d'épies parfois supérieure à 15 dans la même circonférence** **Dimension : 20 à 24µm .(15).**	**Hélianthème** **(15).**	**Nouveau Mexique** **(15).**
Terfezia terqfeziiodes **=*T.mattirolomyces* (Fischer) Trappe**	**Couleur marron(16).** **Se confond avec la gléba (16).**	**Couleur marron divisée par des veines pseudo parenchymateuses délimitant des modules fertiles.(16).**	**Forme ovoïde avec une longueur 3fois plus grande que la largeur.(16).**	**Arrondie de manière irrégulière globuleuse, hyaline vire au jaune pale avec des épines aux angles des mailles.**	**Hélianthème** **(16).**	**Nord de l'Italie** **(16).**

Suivante le tableau

(Trappe ,1979)