

## Particularités des ascocarpes et de l'hyménium des truffes (Ascomycètes)

### I. Développement et structure des ascocarpes

Marie-Claude JANEX-FAVRE\* & Agnès PARGUEY-LEDUC

Université Pierre et Marie Curie,  
Laboratoire de Parasitologie végétale, boîte 155  
4 Place Jussieu 75252 Paris Cedex 05

**Résumé** – Les caractères particuliers de l'organogenèse de l'ascocarpe chez *Tuber melanosporum* Vitt. sont rappelés : la formation du primordium, sa transformation en une cupule (ébauche apothéciode, dont les paraphyses produisent le réseau arachnoïde), la réalisation d'une ébauche globuleuse close, comprenant un périidium écaillé et une volumineuse glèbe, la présence dans l'ascocarpe adulte d'un hyménium « dissocié ». D'autres espèces de *Tuber* et diverses autres truffes sont comparées. La diversité morphologique et structurale de l'ensemble de ces ascocarpes ne permet toutefois pas de les présenter selon un enchaînement cohérent.

#### Ascocarpes / truffes / primordium / stade apothéciode

**Abstract** – The ascocarp development is recorded in *Tuber melanosporum* Vitt. The chief characteristic points are: the primordium formation, the cup-like apothecioid "ébauche" (with arachnoid network growing from paraphyses) which gradually becomes globular and closed, comprising a scaly peridium and a voluminous gleba, the "dissociated" hymenium in mature ascocarps. Comparative data are provided concerning other *Tuber* species and other genera of truffles. Morphological and structural features of ascocarps are so diverse that it is impossible to arrange the group in order of growing complexity.

#### Ascocarps / truffles / primordium / apothecioid stage

### INTRODUCTION

Ayant fait de nombreuses observations sur les ascocarpes de truffes nous avons pu confirmer ou mettre en évidence diverses particularités tout à fait spécifiques de ce groupe d'Ascomycètes caractérisé, au plan écologique, par son habitat hypogé. Dans ce premier article nous présentons le développement et la structure des ascocarpes ; un second article traitera plus particulièrement de

\* Correspondence and reprints.

l'hyménium, son organisation et les caractères des asques. Nous reprenons nos résultats relatifs à *Tuber melanosporum*, espèce la plus complètement étudiée, et proposons ensuite une interprétation comparative des ascocarpes d'autres espèces, dont certaines nouvellement examinées. Cela nous permet de faire ressortir les caractères originaux de l'ensemble des truffes, dont la position systématique, au sein des Ascomycètes, a été diversement appréciée selon les auteurs et les critères utilisés ; ce point sera traité dans la discussion finale.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les observations ont porté sur la morphologie et la structure de l'ascocarpe au cours de son développement ainsi que sur la cytologie de certains éléments constitutifs. Les cultures *in vitro* de mycélium truffier n'ayant pas abouti, à notre connaissance, à la production de truffes, seules les récoltes dans le sol même des truffières ont pu être utilisées pour cette étude.

L'espèce *T. melanosporum* a pu être étudiée de façon assez complète, du stade apothécioïde au stade adulte, du fait qu'il a été relativement aisé d'obtenir des échantillons, grâce à des récolteurs dans diverses régions de France : Sud-Est de la France pour tous les stades, et notamment les plus jeunes (primordium et stade apothécioïde : récoltes de J.L. Bastide, J.P. Braye et G. Callot) et Sud-Ouest de la France depuis le stade apothécioïde jusqu'au stade adulte (récoltes de B. Darchen, R. Gleize, M. Kulifaj et C. Montant).

Les échantillons de truffe chinoise (*T. indicum* Cooke et Masee) de la province de Sichuan nous ont été transmis par l'entreprise Pebeyre (Cahors) et par M. Carpentier de la Fédération Nationale des Producteurs de Truffes. Les autres espèces de *Tuber* nous ont été fournies par L. Ballureau (Meuse), F. Magne (Ile-de-France) et L. Rioussset (Sud-Est de la France, Sardaigne).

Enfin, des échantillons de diverses autres truffes nous ont été procurés par L. Ballureau, J.P. Braye, M. Carpentier, G. Chevalier, L. Khabar, F. Magne, J. Pebeyre et L. Rioussset.

Les espèces étudiées sont les suivantes<sup>1</sup> : *Balsamia vulgaris* Vitt., *Delastreopsis oligosperma* (Tul.) Matt. (= *Tuber oligospermum* (Tul.) Trappe), *Genea sphaerica* Tul., *Genea verrucosa* Vitt., *Genea lespiaultii* Zobel, *Hydnocystis clausa* (Tul.) Ceruti, *Hydnotrya tulasnei* Berk. et Br., *Terfezia claveryi* Ch., *T. leonis* Tul., *T. leptoderma* Tul., *Tuber asa* Tul., *T. brumale* Vitt. (= *T. moschatum* Ferry), *T. dryophilum* Tul., *T. excavatum* Vitt., *T. indicum* Cooke et Masee, *T. melanosporum* Vitt., *T. nitidum* Vitt., *T. rufum* Pico et *T. uncinatum* Ch.

En ce qui concerne *Tuber melanosporum*, certaines observations morphologiques ont été effectuées *in situ*, dans la terre de truffières, et d'autres après prélèvement. Des observations sous la loupe binoculaire ont permis de repérer, auprès de jeunes ébauches bien visibles à l'œil nu car colorées en rouge, des stades antérieurs plus petits. Pour cela des fragments de cette terre ont été mis en suspension dans de l'eau, ce qui est indispensable pour repérer les primordiums, de taille extrêmement réduite.

1. Pour le genre *Tuber*, la taxonomie adoptée est celle proposée par Chevalier *et al.* (1988) puis Rioussset *et al.* (2001) ; pour les autres taxons, celle de Ceruti (1960).

Pour l'étude morphologique des autres truffes, certaines observations ont été effectuées *in situ* dans les terres de truffières et d'autres après prélèvement de fragments de terre contenant des ascocarpes.

Les études structurales des diverses espèces examinées ont été effectuées à l'aide de simples coupes à main levée ou de coupes sériées après fixation des échantillons par le liquide de Westbrook et inclusion dans la paraffine. Les coupes, de 5 µm d'épaisseur, ont été colorées par l'hématoxyline ferrique et l'éosine. Selon leurs dimensions, les échantillons ont été inclus entiers ou débités en fragments cubiques.

## RÉSULTATS

### Caractères originaux de l'ascocarpe de *Tuber melanosporum*

Ces caractères concernent le développement et l'organisation de l'ascocarpe tant au plan morphologique qu'au plan structural. Certains d'entre eux ont déjà été décrits dans diverses publications antérieures (Parguey-Leduc *et al.*, 1984 et 1987; Parguey-Leduc *et al.*, 1989; Callot, 1999).

### Évolution morphologique

Le plus jeune stade observé est celui du primordium, constitué à l'origine par un simple enroulement d'un filament (Fig. 1 et 2) correspondant à un filament ascogonial et son trichogyne autour d'un filament stérile. Le primordium plus âgé comprend trois parties (Fig. 3) : une partie basale constituant le pied, une partie moyenne formée par le filament ascogonial enveloppé de filaments recouvrants hélicoïdaux issus du pied, et enfin la partie terminale correspondant à un trichogyne court. Ces primordiums, jusqu'alors clairs, deviennent ensuite globuleux, et se transforment en ébauches de teinte jaune, puis orangée, repérables *in situ*.

La plus jeune ébauche observée (Fig. 4) se présente sous forme d'une cupule ocre jaunâtre (hauteur : 0,3 mm), non évasée, à surface lisse avec une petite cavité sommitale remplie d'un feutrage mycélien blanc. En grandissant, elle conserve quelque temps cette forme (Fig. 5) mais devient progressivement orangée, ce qui facilite son repérage dans la terre. Sur sa moitié inférieure se forment les premières écailles caractéristiques des jeunes « truffettes ». Par la suite (Fig. 6), elle devient globuleuse et toute la partie extérieure rouge orangé de la cupule, qui a continué à grossir, est recouverte d'écailles, encore peu nombreuses, constituant un début de périidium. La cavité sommitale est toujours occupée par un dense feutrage mycélien blanc. Plus tard (Fig. 7), à mesure que le volume de la truffette s'accroît, les écailles qui la recouvrent entièrement se multiplient et prennent une teinte noirâtre, tandis que les sillons qui les séparent demeurent clairs.

Le stade adulte, ou « truffe » proprement dite, est réalisé lorsque le périidium constitué d'écailles est entièrement noir (Fig. 8 et 9). Avant d'atteindre sa complète maturité, l'ascocarpe s'accroît considérablement. De forme généralement globuleuse, il peut être également oblong ou réniforme. En vieillissant, il devient fréquemment bosselé, du fait d'une part de l'alternance d'humidification et de dessiccation entraînant une irrégularité dans la croissance, et d'autre part de différences de dureté dans la terre où il se développe. Régulier dans les terrains meubles, il est beaucoup plus bosselé lorsqu'il rencontre des obstacles (pierres,

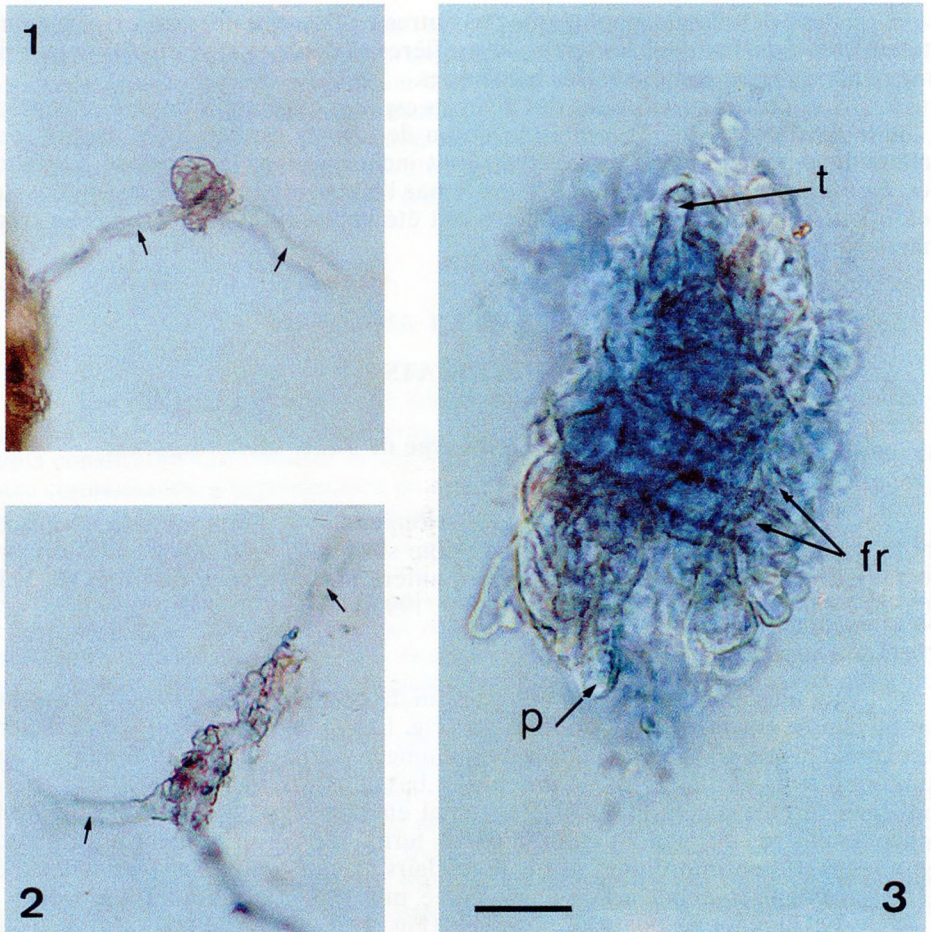


Fig. 1-3. Evolution morphologique de l'ascocarpe de *Tuber melanosporum*. Primordiums d'âge croissant; coloration par le bleu coton. *fr*: filaments recouvrants; *p*: pied; *t*: trichogyne; les flèches indiquent les filaments mycéliens qui reliaient ces primordiums à une ébauche plus développée. Echelle: 10  $\mu$ m.

Fig. 1-3. Morphological evolution of ascocarp in *Tuber melanosporum*. Successive stages of primordium; stained with cotton blue. *fr*: covering hyphae; *p*: foot; *t*: trichogyn; arrows point to mycelial hyphae connecting the primordia to a more developed "ébauche". Scale: 10  $\mu$ m.

racines, etc.). A l'état adulte, son diamètre varie de quelques millimètres à plusieurs centimètres et son poids d'un demi-gramme à plusieurs centaines de grammes, voire exceptionnellement un kilogramme ou même davantage.

Les nombreuses écailles, d'un noir brillant, qui constituent le périidium adulte, ont des dimensions et une forme variables selon les échantillons, avec pour extrêmes de grosses écailles pyramidales proéminentes (Fig. 8 et 10) et de petites écailles en pyramide tronquée (Fig. 9), séparées par des sillons profonds. Leur base penta- ou parfois hexagonale détermine cinq ou six pans délimités par de fins bourrelets. Leur sommet est souvent légèrement déprimé en une petite cuvette sur

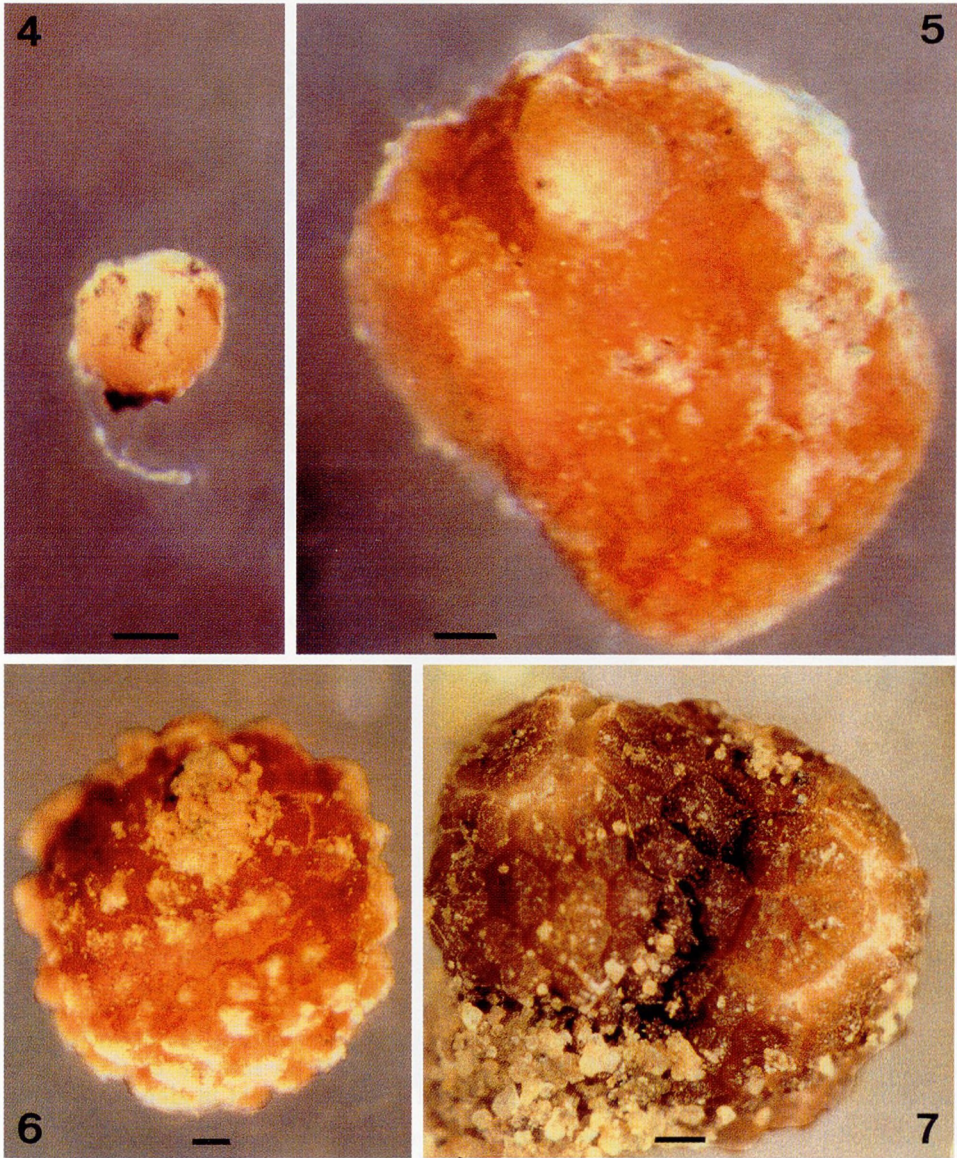


Fig. 4-7. Evolution morphologique de l'ascocarpe de *Tuber melanosporum*. 4 : ébauche, de 5 à 7 : truffettes d'âge croissant. Echelle : 125  $\mu\text{m}$  (4 et 5), 250  $\mu\text{m}$  (6 et 7).

Fig. 4-7. Morphological evolution of ascocarp in *Tuber melanosporum*. 4: "ébauche", 5 to 7: "truffettes" of increasing age. Scale: 125  $\mu\text{m}$  (4 and 5), 250  $\mu\text{m}$  (6 and 7).

les bords de laquelle s'interrompent ces bourrelets (Fig. 10). En période de croissance active, la cuvette sommitale est remplacée par des houppes mycéliennes (Fig. 11) qui assurent un continuum entre le sol et l'ascocarpe et lui confèrent une autonomie nutritionnelle. Au cours de cette période, des stries superposées appa-

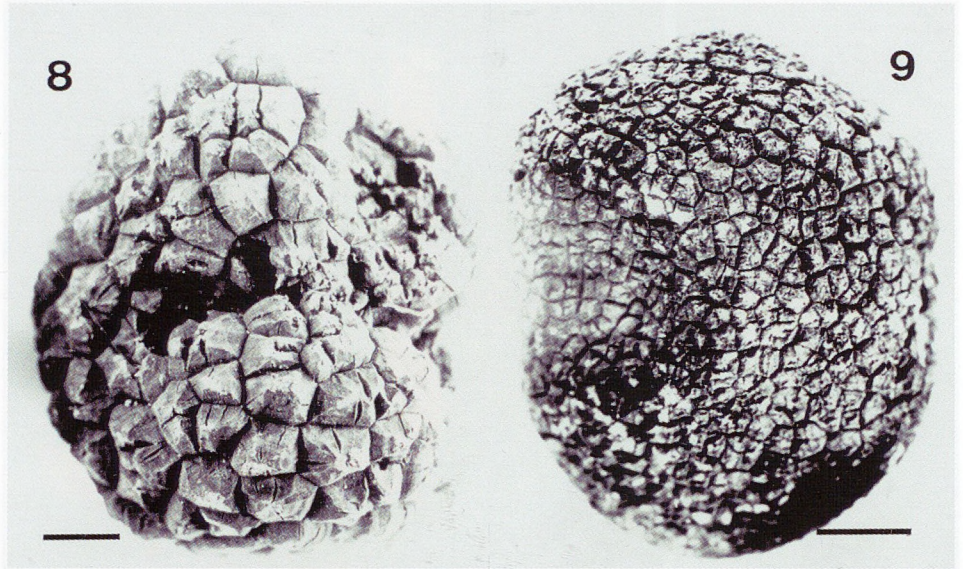


Fig. 8 et 9. Morphologie d'ascocarps adultes de *Tuber melanosporum* ; en 8, à grosses écailles proéminentes ; en 9, à petites écailles planes. Echelle : 5 mm.

Fig. 8 and 9. Morphology of adult ascocarps in *Tuber melanosporum*. 8: with large prominent scales; 9: with small flat scales. Scale: 5 mm.

raissent sur les pans des écailles, témoins de leur croissance rythmique ; elles sont bien visibles en microscopie électronique à balayage (Fig. 12). Les pans des écailles sont en outre fréquemment traversés par de profondes fentes passant par le sommet (Fig. 10 et 12), qui permettent leur division ; l'apparition de nouvelles écailles accompagne la croissance en volume de l'ascocarpe.

### Développement de l'ascocarpe, passage par un stade apothécioïde

#### *Le primordium*

Le primordium, déjà décrit (Fig. 3), se transforme en ébauche dès qu'apparaît une distinction structurale entre une partie interne et une partie périphérique ; chez la truffe elles deviendront respectivement la glèbe et le péri-dium.

#### *Le stade apothécioïde transitoire et la formation du réseau arachnoïde des veines stériles*

Au plan structural, la jeune ébauche représentée morphologiquement figure 4 est essentiellement constituée (Fig. 13) par une masse de filaments stériles dérivant des filaments recouvrants du primordium, qui se sont multipliés et sont devenus coalescents. Au sein de cette masse stérile en forme de cupule non évasée, de grosses cellules ascogoniales, appartenant à un ou plusieurs filament(s) ascogonial(aux) sont encore visibles. La cavité sommitale, qui s'ouvre sur l'extérieur, est tapissée d'une palissade de paraphyses pluricellulaires. En périphérie, le jeune péri-dium, formé à partir des filaments recouvrants les plus externes, est constitué de cellules disposées en files rayonnantes et dont les plus périphériques

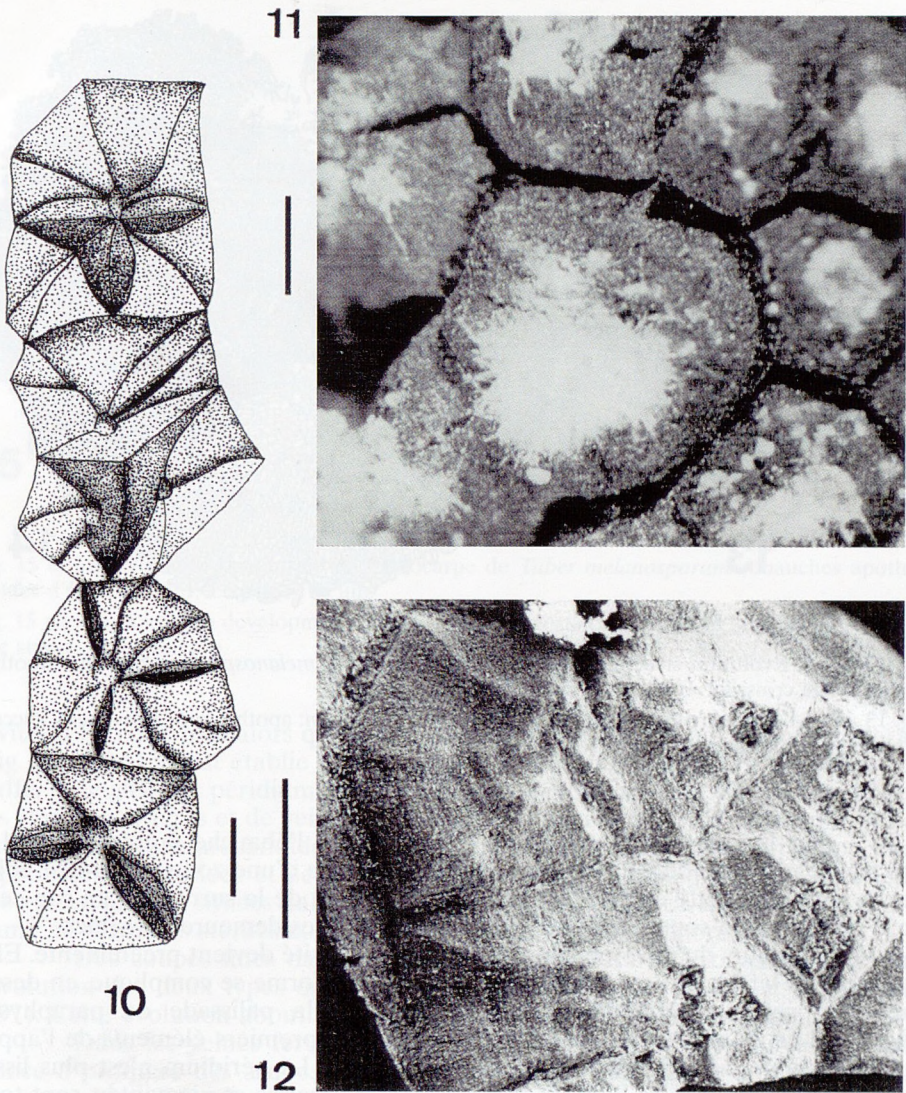


Fig. 10-12. Détail d'écaillés du périidium de *Tuber melanosporum*. 10: écaillés pyramidales à cuvette sommitale et fentes de division le long des pans; 11: écaïlle en période de croissance active, avec houppes mycéliennes (MEB); 12: écaillés pyramidales avec cuvette sommitale, fentes de division et stries d'accroissement (MEB). Echelle: 1 mm.

Fig. 10-12. Detail of peridial scales in *Tuber melanosporum*. 10: pyramidal scales with an apical concavity and dividing splits along the sides; 11: actively growing scale with hyphal tufts (SEM); 12: pyramidal scale with apical concavity, dividing splits and growth stria (SEM). Scale: 1 mm.

ont une paroi un peu plus épaisse. Ce stade représente le début du stade apothécioïde que nous avons ainsi nommé (Parguey-Leduc *et al.*, 1985) en raison de sa ressemblance avec une apothécie (ascocarpe caractéristique des Discomycètes).

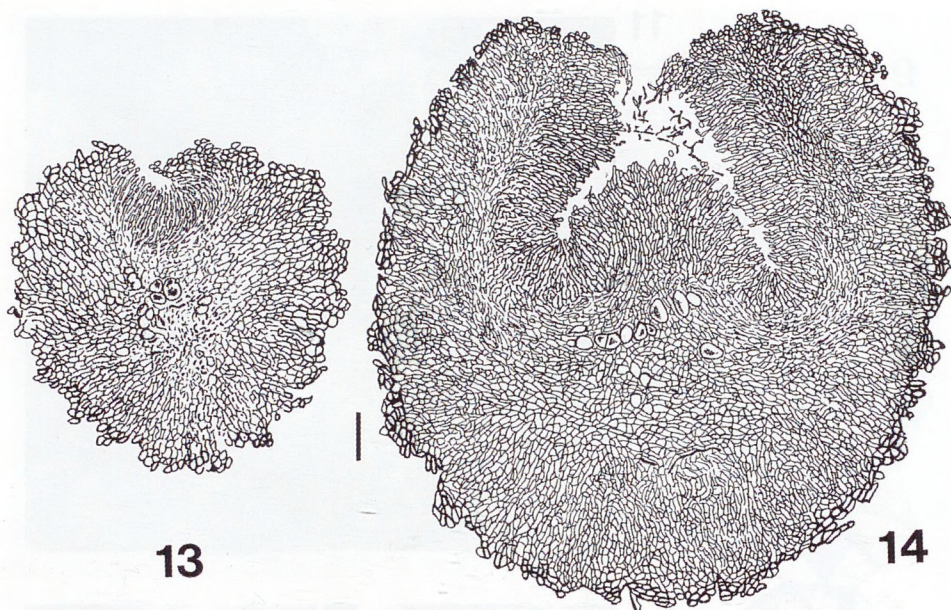


Fig. 13 et 14. Evolution structurale de l'ascocarpe de *Tuber melanosporum*: ébauches apothécioïdes d'âge croissant. Echelle: 50  $\mu\text{m}$ .

Fig. 13 and 14. Ascocarp development in *Tuber melanosporum*: apothecioid "ébauches", successive stages. Scale: 50  $\mu\text{m}$ .

Par la suite, après une phase de croissance, l'ébauche présente (Fig. 14) une cavité plus grande, ouverte au sommet au centre d'une zone nettement aplatie. La forme de cette cavité s'est compliquée du fait de la surrection en son centre d'un mamelon sous lequel les cellules ascogoniales demeurent visibles.

Au cours du développement ultérieur, la cavité devient prééminente. Elle s'ouvre plus largement au sommet (Fig. 15) puis sa forme se complique, en dessinant de profondes circonvolutions bordées par la palissade de paraphyses (Fig. 16). Les filaments ascogoniaux ont produit les premiers éléments de l'appareil sporophytique, qui s'étend sous les paraphyses. Le périidium n'est plus lisse, mais découpé en écailles dont les cellules, à paroi épaisse et pigmentée, sont toujours disposées en files rayonnantes.

Au cours des phases successives du stade apothécioïde, les paraphyses qui tapissent la cavité deviennent de plus en plus nombreuses et produisent un réseau arachnoïde plus ou moins lâche qui tend à remplir la cavité, et à affleurer au niveau de son ouverture (Fig. 15 et 16). Ce réseau provient de certaines paraphyses dont l'extrémité se prolonge en formant des hyphes qui s'allongent, se ramifient et s'anastomosent (Fig. 19). Lorsque des circonvolutions se forment dans la cavité (Fig. 16) le réseau arachnoïde commence à dessiner les veines stériles aérifères de la future glèbe.

#### *Fermeture de la cavité de l'ascocarpe et formation d'un hyménium « dissocié »*

Après le stade apothécioïde transitoire va progressivement se réaliser un jeune ascocarpe de forme globuleuse et clos. La fermeture de la cavité de l'ébauche résulte du rapprochement, puis de la soudure, des bords supérieurs de cette



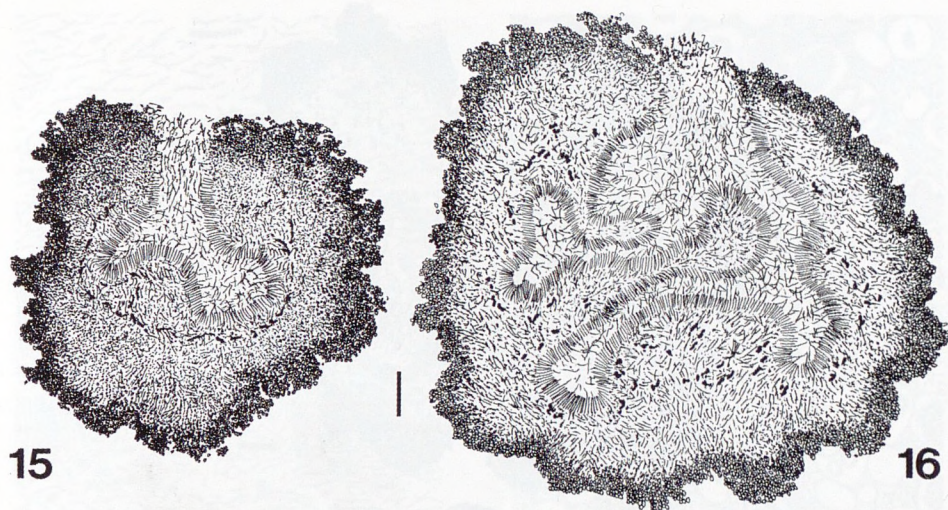


Fig. 15 et 16. Evolution structurale de l'ascocarpe de *Tuber melanosporum* : ébauches apothécioides d'âge croissant. Echelle : 100  $\mu\text{m}$ .

Fig. 15 and 16. Ascocarp development in *Tuber melanosporum*: apothecioid "ébauches", successive stages. Scale: 100  $\mu\text{m}$ .

cavité. Il ne reste plus alors qu'un cratère sommital (Fig. 17) qui ensuite disparaît (Fig. 18). Dès lors est établie la structure caractéristique d'un jeune ascocarpe de truffe, avec glèbe et périidium écaillé. La glèbe, volumineuse, est formée de veines stériles aérifères et de veines fertiles. Les premières, bordées de paraphyses et remplies du réseau arachnoïde, correspondent au reste de la cavité. En coupe, elles apparaissent morcelées et de forme irrégulière, parfois ouvertes vers l'extérieur. Les veines fertiles, situées dans l'intervalle des veines stériles, sont formées d'une trame de filaments stériles contenant, à ce stade, l'appareil sporophytique.

Des coupes fines dans des ascocarpes de maturité croissante montrent l'évolution des deux types de veines de la glèbe (Parguey-Leduc *et al.*, 1988 et 1991). Cette évolution aboutit à la réalisation d'un hyménium atypique.

Dans les veines fertiles jeunes (Fig. 20), l'appareil sporophytique commence à produire des asques (les premiers lorsque l'ascocarpe atteint un poids d'environ 30 mg). Par la suite, à mesure que les asques deviennent plus nombreux, la structure des veines aérifères se modifie : le réseau arachnoïde (Fig. 20), puis les paraphyses elles-mêmes (Fig. 21), sont progressivement comprimés ; ainsi les veines stériles s'amenuisent notablement.

Il est à remarquer que les asques ne s'associent pas aux paraphyses, disposées en bordure des veines stériles aérifères ; ils se forment et demeurent à distance, à l'intérieur des veines fertiles. Ainsi, ce n'est pas un hyménium typique, constitué par une palissade de paraphyses et d'asques, qui est réalisé, mais un hyménium « dissocié ».

#### *L'ascocarpe adulte*

L'ascocarpe est adulte lorsque le périidium est entièrement noir et que les asques sont formés dans la glèbe. La structure caractéristique de celle-ci est visible à l'œil nu lorsqu'on coupe simplement une truffe en deux avec un couteau

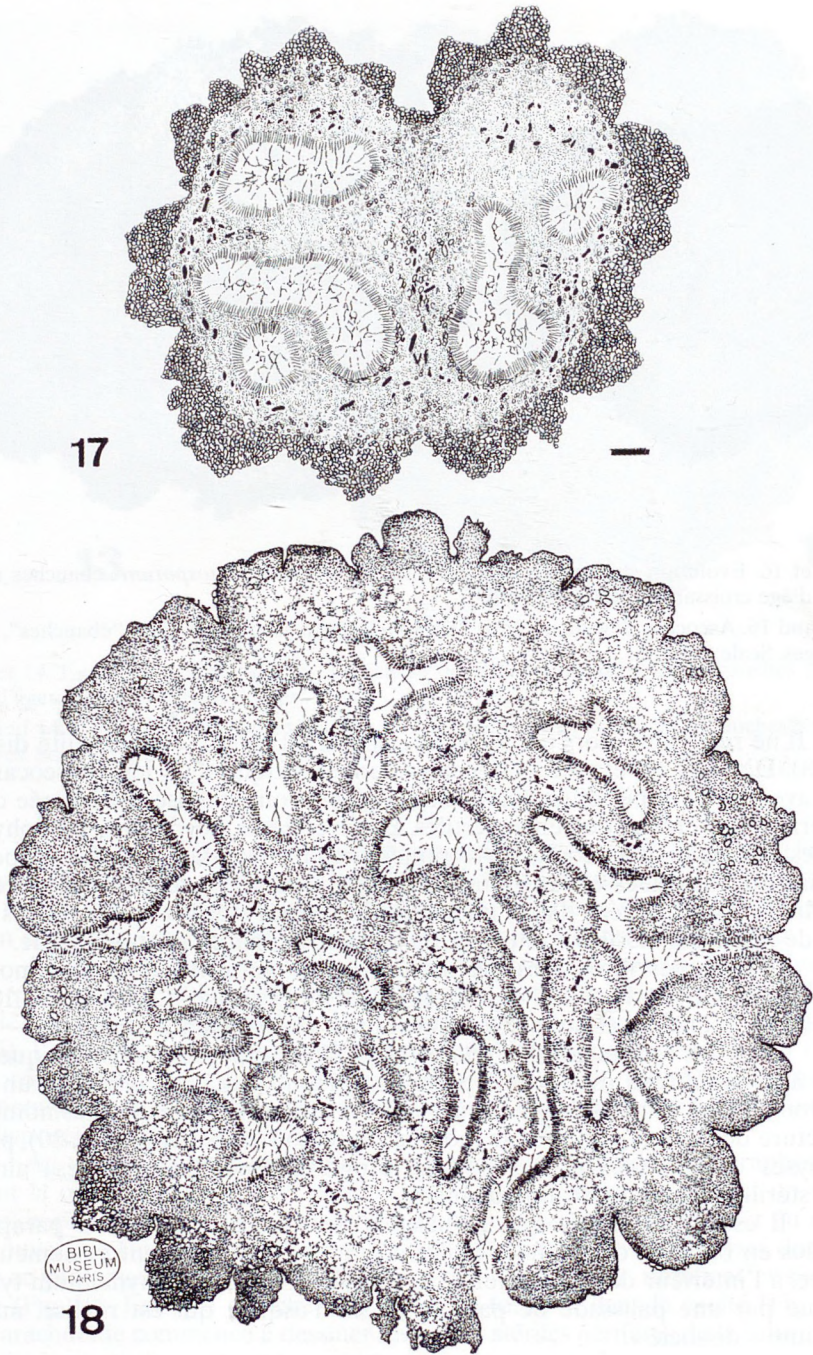


Fig. 17 et 18. Evolution structurale de l'ascocarpe de *Tuber melanosporum*. 17 : ébauche à cratère sommital ; 18 : ébauche montrant des veines aérifères ouvertes à l'extérieur. Echelle : 50  $\mu$ m.

Fig. 17 and 18. Ascocarp development in *Tuber melanosporum*. 17: stage with an apical crater; 18: stage with veins opened to the exterior. Scale: 50  $\mu$ m.

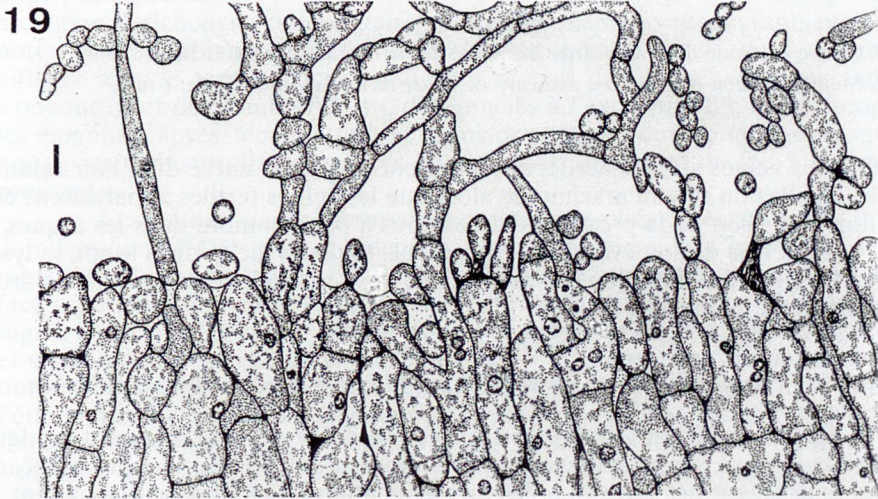
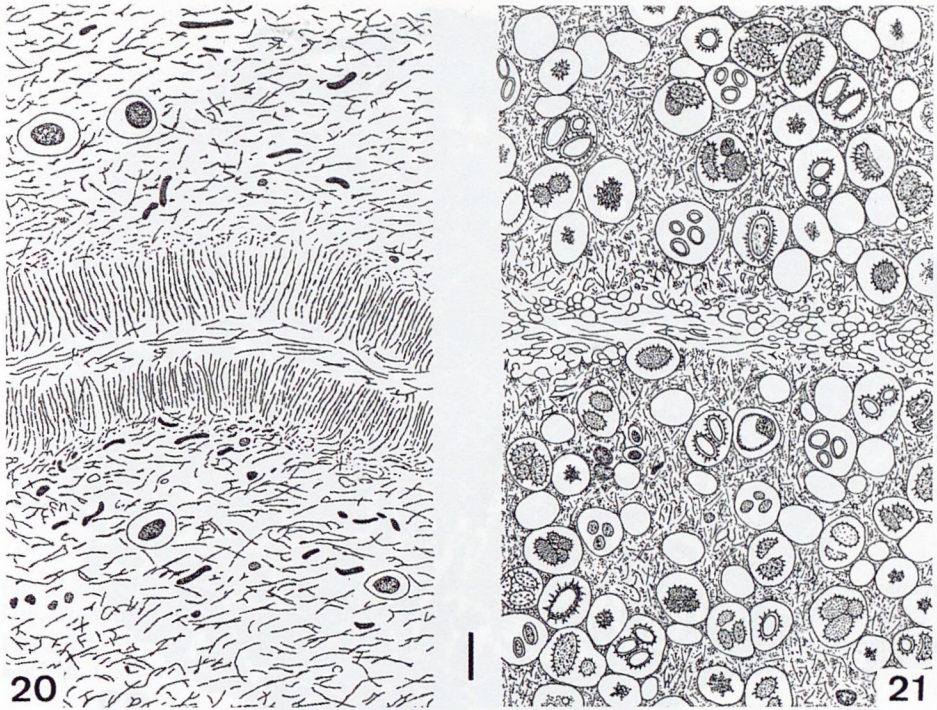


Fig. 19-21. Evolution des veines aérifères de *Tuber melanosporum*. 19: détail d'une jeune veine aérifère montrant la relation entre les paraphyses et le réseau arachnoïde (dessin d'après micrographie électronique); 20: stade intermédiaire et 21: stade adulte. Echelle: 2  $\mu\text{m}$  (19), 50  $\mu\text{m}$  (20 et 21).

Fig. 19-21. Structural evolution of sterile veins in *Tuber melanosporum*. 19: detail of a young sterile vein showing the interrelation between the arachnoid network and paraphyses (from an electronmicrograph); 20: intermediate and 21: adult stages. Scale: 2  $\mu\text{m}$  (19), 50  $\mu\text{m}$  (20 and 21).

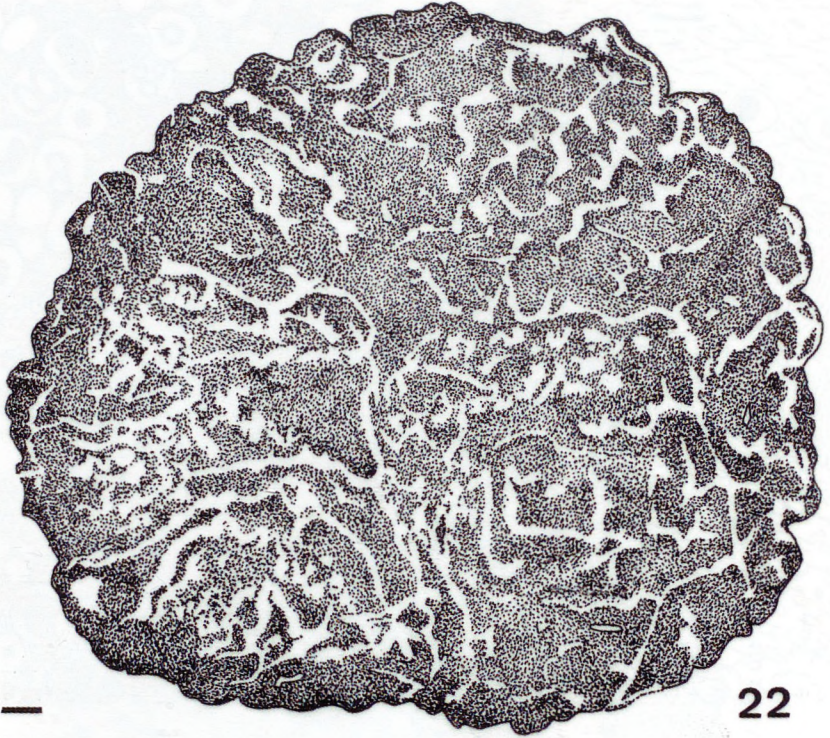


Fig. 22. Coupe médiane d'un ascocarpe adulte de *Tuber melanosporum*. Echelle : 1 mm.

Fig. 22. Median section of a mature ascocarp of *Tuber melanosporum*. Scale: 1 mm.

(Fig. 22) : les veines stériles aérifères présentent un aspect nacré dû à l'air retenu dans les mailles du réseau arachnoïde alors que les veines fertiles apparaissent en brun noir en raison de la présence d'ascospores à paroi sombre dans les asques.

Au terme de son évolution, l'ascocarpe, toujours inclus dans le sol, se lyse progressivement, à l'exception des ascospores, très résistantes du fait de leur paroi épaisse, dure et mélanisée.

#### **Données comparatives sur les ascocarpes d'autres espèces du genre *Tuber***

La distinction des différentes espèces de *Tuber* est classiquement fondée, en partie au moins, sur les caractères morphologiques et structuraux des ascocarpes, qui constituent des critères utiles en systématique. Nos observations visent à approfondir la comparaison entre les espèces et à déterminer dans quelle mesure les caractères originaux observés chez *T. melanosporum* concernent l'ensemble du genre *Tuber*.

#### **Développement des ascocarpes**

En ce qui concerne le primordium, les seules figures, à notre connaissance, qui en aient été données sont celles de Chaze (1950) et Marchisio (1964),

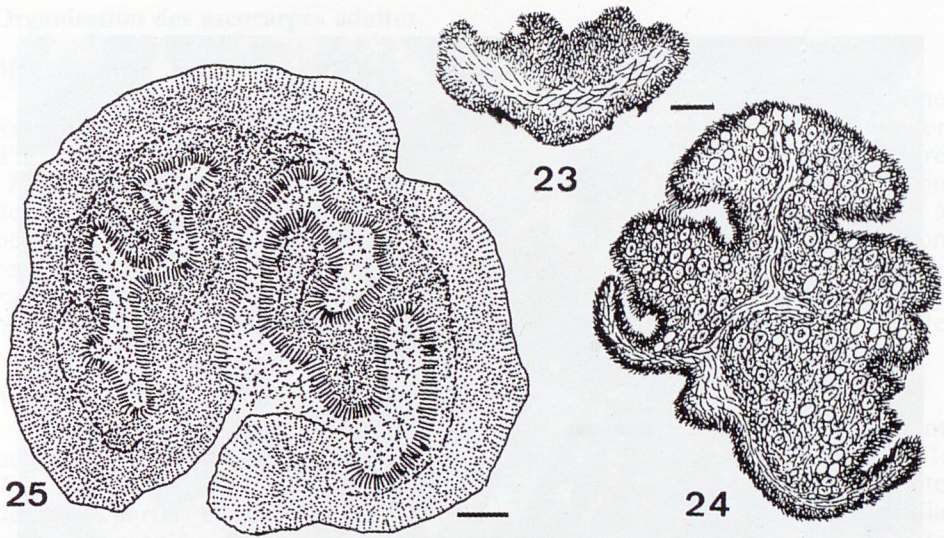
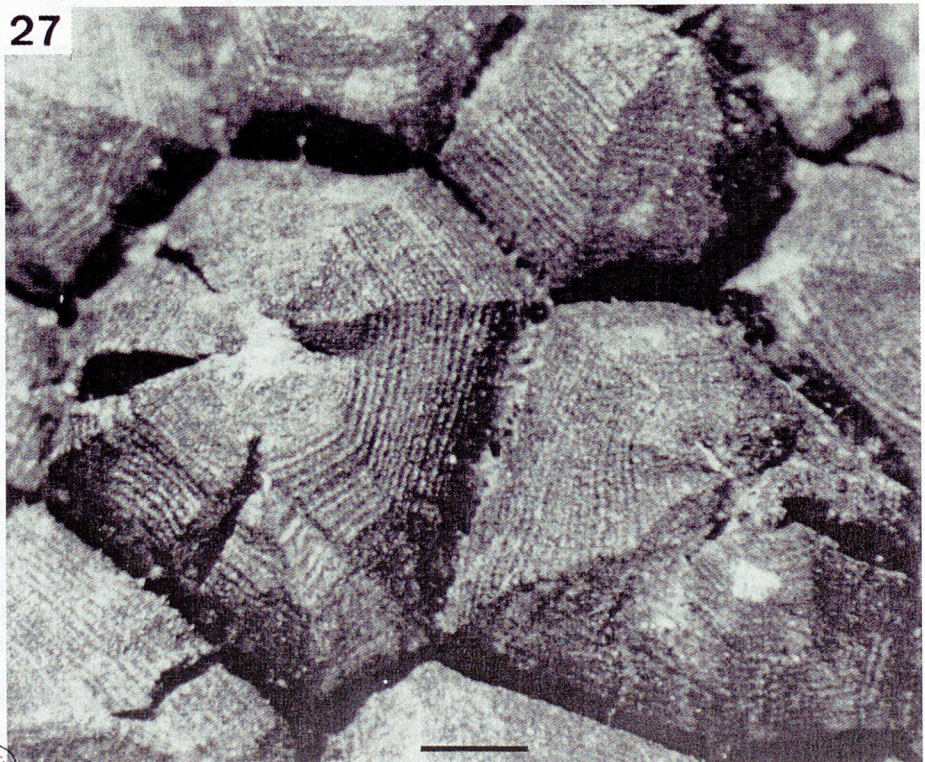


Fig. 23-25. Structure d'ébauches d'ascocarpes de deux espèces de *Tuber*. 23 et 24: *Tuber puberulum*, d'après Bucholtz (1903), 25: *Tuber excavatum*. Echelle: 250  $\mu$ m (23 et 24), 20  $\mu$ m (25).

Fig. 23-25. Structure of ascocarp "ébauches" in *Tuber* spp. 23 and 24: *Tuber puberulum*, after Bucholz, (1903), 25: *Tuber excavatum*. Scale: 250  $\mu$ m (23 and 24), 20  $\mu$ m (25).

dont l'interprétation est difficile. Le premier figure chez *T. melanosporum* un ascogone à trichogyne rudimentaire entouré de filaments recouvrants mais il faut noter la ressemblance troublante de cet ascogone avec ce qu'il désigne par ailleurs sous le terme macroconidie. Le second décrit chez *T. maculatum* des « oogones » et des « anthéridies », différenciés à l'extrémité d'hyphes ascogènes; les oogones, après fécondation, se transformeraient directement en asques. Il nous paraît plus probable que ces oogones correspondent en fait à des cellules proascales.

Les jeunes stades observés par Bucholtz chez *T. excavatum* (1897) et *T. puberulum* (1903) correspondent au stade apothécioïde. Chez cette dernière espèce, le plus jeune stade (Fig. 23) est représenté par une cupule évasée dont la face supérieure forme des saillies et des vallécules tapissées de paraphyses. Le passage à la forme globuleuse résulte de ce que les replis de la cupule se multiplient et s'accroissent; les vallécules se remplissent d'hyphes et restent en communication avec l'extérieur en divers points (Fig. 24). Chez *T. excavatum* on retrouve à l'état jeune une cupule tapissée de paraphyses, mais celle-ci est plate; au cours de son développement elle se referme sur elle-même sans former de replis, déterminant ainsi une cavité à large ouverture unique. A un stade un peu plus avancé, tel celui que nous avons pu observer (Fig. 25), l'ouverture est fortement réduite. Dans la cavité se sont développées des excroissances radiaires tapissées par les paraphyses. Ainsi se trouve délimité un système de « veines externes » (*sensu* Bucholtz), remplies d'hyphes entrelacées qui, selon nos observations, correspondent au réseau aérifère produit par les paraphyses. L'appareil sporophytique est repérable sous la palissade de paraphyses; il n'a pas encore produit d'asques. Dans le péridium, autour de l'ouverture, des hyphes rayonnantes font suite aux paraphyses.



## Organisation des ascocarpes adultes

### Morphologie

Les ascocarpes adultes des différentes espèces de *Tuber* présentent une forme souvent irrégulière mais dans l'ensemble globuleuse. Le péridium peut aller d'un noir intense (*T. melanosporum* par exemple) à une couleur très claire (*T. magnatum*, truffe blanche du Piémont, par exemple). Il peut demeurer lisse ou devenir écaillé avec de nombreuses formes intermédiaires. Chez les espèces à péridium écaillé (Fig. 26, *T. indicum* et fig. 27, *T. uncinatum*, par exemple) on retrouve les caractères des écailles décrits chez *T. melanosporum* : base polygonale, proéminence plus ou moins marquée et sillons plus ou moins accusés, fentes profondes sur les pans d'écailles en division, stries d'accroissement, cuvette sommitale occupée par une houpe mycélienne.

### Structure

L'observation de diverses truffes, coupées en deux longitudinalement montre leur forme irrégulière, subsphérique (Fig. 28, *T. uncinatum* et fig. 31, *T. excavatum*) ou fortement bosselée (Fig. 29, *T. indicum*) et la présence constante des deux parties constitutives : péridium et glèbe. Au cours de la maturation, la glèbe devient de plus en plus volumineuse par rapport au péridium. Elle présente un aspect cérébriforme, avec les veines stériles aérifères claires tranchant sur les zones fertiles sombres, bourrées d'asques, d'aspect granuleux (Fig. 30). Les veines claires peuvent présenter une disposition anarchique et déboucher directement à travers le péridium (*T. uncinatum*, fig. 28 et *T. indicum*, fig. 29 et 30), comme c'est le cas également chez *T. melanosporum*. Par contre, lorsque la cavité persiste, les veines claires convergent vers celle-ci et s'y ouvrent (cas de *T. excavatum*, fig. 31).

L'étude microscopique que nous avons effectuée illustre et précise la variabilité structurale du péridium et de la glèbe de truffes du genre *Tuber*.

### Variantes structurales du péridium

L'étude comparée de la structure du péridium, sur coupes observées en microscopie photonique, fait apparaître diverses variantes. Le péridium lisse, faiblement sinueux, peut être constitué par un prosenchyme dense dont les parois cellulaires sont de plus en plus épaisses vers l'extérieur (*T. dryophilum*, fig. 32 et 39) ou par un paraplectenchyme (*T. asa*, fig. 33). Chez *T. excavatum* le péridium, très faiblement verruculeux, présente une structure hétérogène (Fig. 34 et 40), avec une partie interne, au contact de la glèbe, formée d'hyphes très densément entrelacées, dont les parois sont progressivement épaissies vers l'extérieur, et au-dessus, en continuité, une partie superficielle paraplectenchymateuse, à cellules beaucoup plus grandes et orientées en files perpendiculaires à la surface. Une plus grande hétérogénéité structurale est réalisée chez *T. nitidum* (Fig. 35) où le péridium, parcouru de petites indentations, peu profondes, dans la couche supérieure, comporte à sa base, au contact de la glèbe, une couche supplémentaire, formée d'hyphes concentriques.

Dans les péridiums à écailles, celles-ci, délimitées par des sillons plus ou moins profonds, ont une forme et des dimensions très variables (Fig. 36, 37, 38 et 41) et une structure paraplectenchymateuse avec une disposition régulière des cellules en files radiaires, les cellules des couches supérieures présentant, sur une

◀ Fig. 26 et 27. Ecailles du péridium de *Tuber indicum* (26) et *Tuber uncinatum* (27). Echelle : 0,5 mm.

Fig. 26 and 27. Peridial scales in *Tuber indicum* (26) and *Tuber uncinatum* (27). Scale: 0,5 mm.

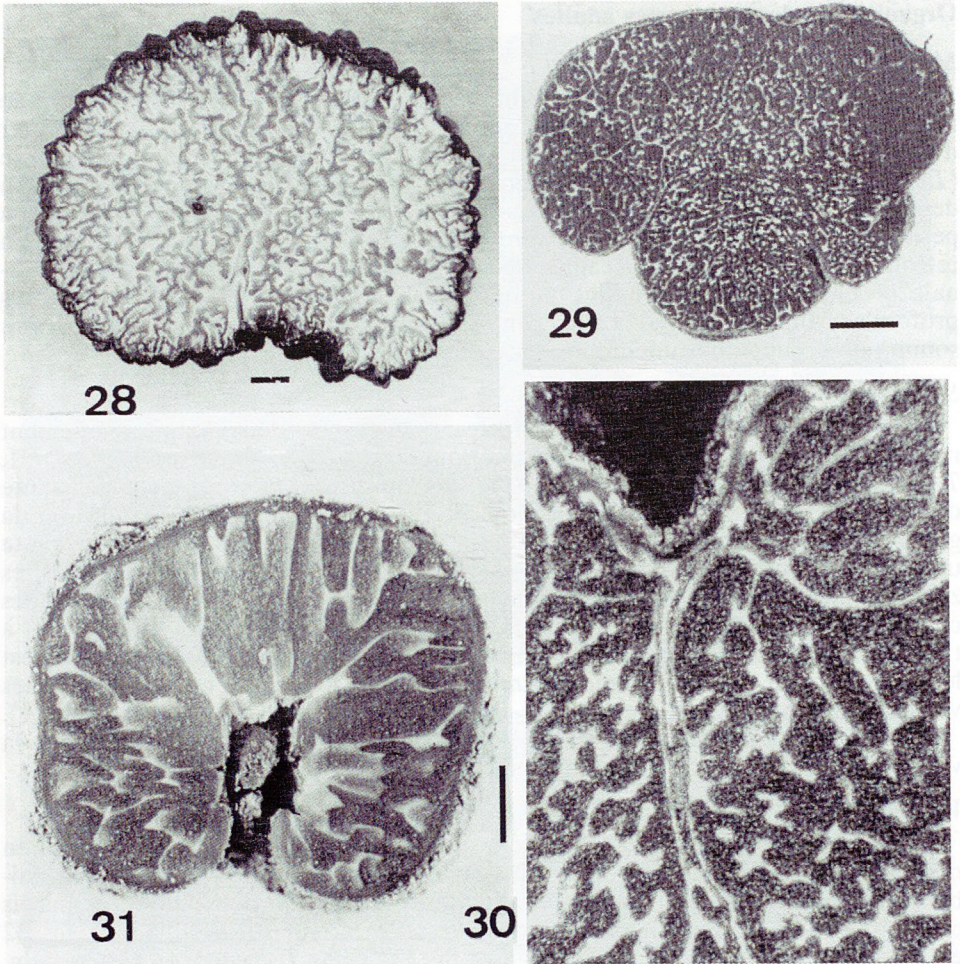


Fig. 28-31. Coupes médianes d'ascocarps adultes de *Tuber uncinatum* (28), *T. indicum* (29 et 30) et *T. excavatum* (31). Echelle : 1 cm (28 et 29), 2 mm (30 et 31).

Fig. 28-31. Median sections of mature ascocarps in *Tuber uncinatum* (28), *T. indicum* (29 and 30) and *T. excavatum* (31). Scale: 1 cm (28 and 29), 2 mm (30 and 31).

épaisseur variable, des parois épaisses et pigmentées de brun. Comme chez *T. melanosporum*, cette structure peut toutefois être interrompue par le passage et l'émergence de veines stériles aérifères.

#### *Variantes structurales de la glèbe*

La variabilité structurale de la glèbe sera détaillée dans la deuxième partie de ce travail, consacrée plus spécialement à l'hyménium. Globalement il apparaît que, si la présence d'une palissade de paraphyses et d'un réseau arachnoïde issu de celle-ci dans les veines aérifères est un caractère constant, ces éléments peuvent, ou non, être conservés dans leur forme originelle dans l'ascocarpe adulte. D'autres variations concernent la trame des veines fertiles.



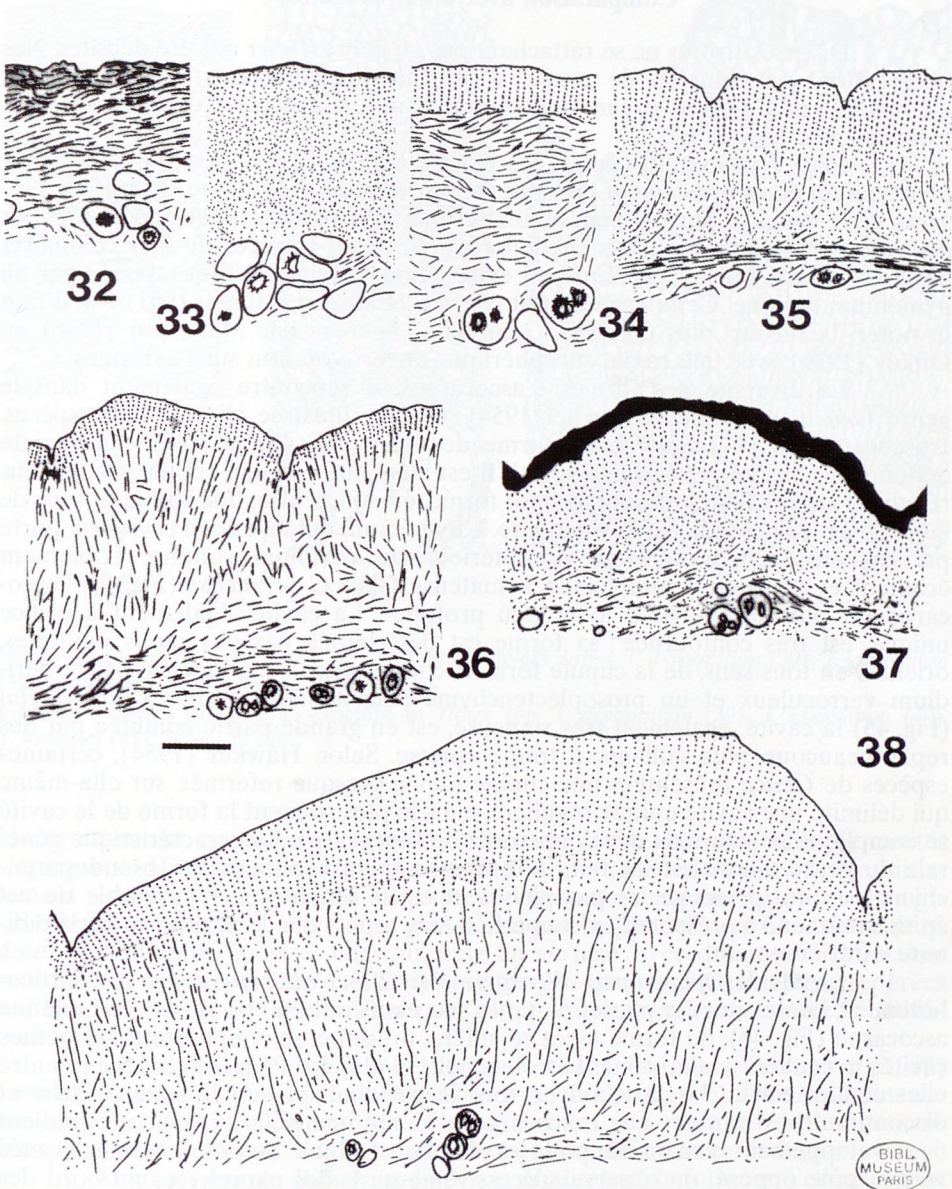


Fig. 32-38. Variantes structurales du péricidium de divers *Tuber* (dessins semi-schématiques). Péricidium lisse : *T. dryophilum* (32), *T. asa* (33), *T. excavatum* (34) ; péricidium à écailles de dimensions croissantes : *T. nitidum* (35), *T. rufum* (36), *T. moschatum* (37), *T. indicum* (38). Echelle : 100  $\mu$ m.

Fig. 32-38. Structural diversity of peridium in *Tuber* spp. (semi-diagrammatic). Even peridium: *T. dryophilum* (32), *T. asa* (33), *T. excavatum* (34); peridium with scales, in order of increasing measurements: *T. nitidum* (35), *T. rufum* (36), *T. moschatum* (37), *T. indicum* (38). Scale: 100  $\mu$ m.

### Comparaison avec d'autres truffes

Diverses truffes ne se rattachant pas au genre *Tuber* ont été décrites. Nos observations personnelles de coupes d'ascocarpes nous permettent de préciser quelques points de leur organisation et, par suite, d'envisager certains rapports formels entre les genres.

Chez *Hydnocystis clausa*, l'ascocarpe adulte (Fig. 42) est plurilobé, avec un périidium épais brièvement invaginé autour d'un orifice unique. Sa surface présente des écailles, le plus souvent tabulaires mais parfois subconiques, séparées par des sillons réguliers et parfois subdivisées; elles sont formées de files cellulaires assez régulières. La cavité unique est extrêmement contournée et tapissée par un hyménium typique. Cette espèce, tout comme *H. singeri* (Gilkey 1961) est, il faut le noter, beaucoup plus complexe que celles figurées par Malençon (1938) ou Gilkey (1939) avec une cavité subsphérique, ouverte ou non sur l'extérieur.

La diversité des formes d'ascocarpes se rencontre également dans le genre *Genea* (notamment Hawker 1954); elle est illustrée ici par trois espèces. L'ascocarpe de *G. sphaerica*, en forme de figue (Fig. 43), présente une cavité débouchant par un petit orifice apical. Il est constitué par une cupule d'épaisseur régulière sur les flancs et dont la base forme, en son centre, une saillie autour de laquelle est disposée la cavité annulaire. L'hyménium qui tapisse la cavité est porté par un prosenchyme disposé à l'intérieur du périidium sombre, faiblement écailleux et à structure paraplectenchymateuse. Chez *G. verrucosa* (Fig. 44) l'ascocarpe est plurilobé, mais à lobes peu profonds. La cavité, également à orifice unique, est très contournée; sa forme est déterminée par des replis multiples, orientés en tous sens, de la cupule formée, comme chez *G. sphaerica*, par le périidium verruculeux et un prosoplectenchyme sous-hyménial. Chez *G. lespiaultii* (Fig. 45) la cavité, également très sinueuse, est en grande partie comblée par des replis beaucoup plus saillants, à trame épaisse. Selon Hawker (1954), certaines espèces de *Genea* présentent une cupule mince presque refermée sur elle-même qui délimite une cavité unique régulière, mais le plus souvent la forme de la cavité se complique au cours du développement de l'ascocarpe. La caractéristique générale du genre *Genea* est, en fait, la formation d'un « épithécium » pseudoparenchymateux qui prolonge les paraphyses et coiffe les asques. L'ensemble de cet épithécium tend à présenter, en coupe, le même aspect que le périidium, qui la délimite extérieurement.

Le cas de *Delastropsis oligosperma* (= *Tuber oligospermum*) est particulièrement intéressant car plusieurs stades successifs ont pu être observés. Le jeune ascocarpe (Fig. 46), de forme assez régulière, présente en coupe plusieurs petites cavités irrégulières, relativement étroites pour la plupart. Plusieurs confluent entre elles et forment un large débouché sous le périidium prosenchymateux lâche et discontinu. Il est à noter que l'ascocarpe présente une polarité, avec un gradient de développement bien visible pour les éléments fertiles: du pôle le moins avancé vers le pôle opposé, on observe successivement: 1. des paraphyses au bord des cavités et des éléments sporophytiques au-dessous, dans la trame qui constitue la future glèbe, 2. des asques localisés au voisinage des éléments sporophytiques puis 3. dans la glèbe bien constituée, des asques situés soit immédiatement sous les paraphyses, soit entre elles. Corrélativement le périidium s'épaissit progressivement. Il n'a pas été possible de mettre cette polarité structurale de l'ascocarpe en relation avec sa position dans le sol.

Dans des ascocarpes plus âgés et plus gros, le gradient de développement a été retrouvé. Le passage à la structure adulte est marqué notamment par l'augmentation du nombre des asques et leur maturation progressive.

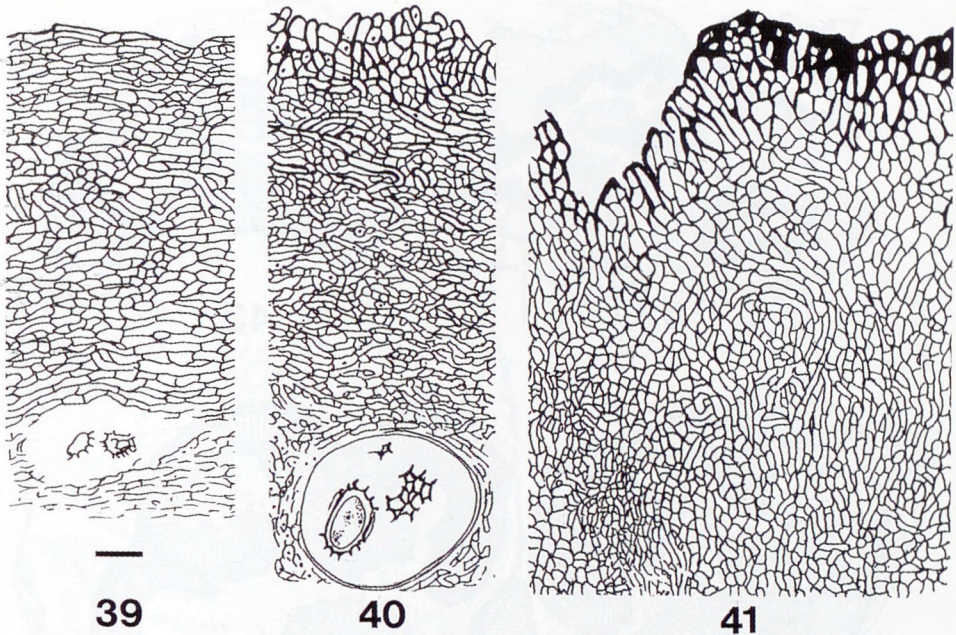


Fig. 39-41. Détail de la structure du périidium de divers *Tuber*. *T. dryophilum* (39), *T. excavatum* (40), *T. indicum* (41). Echelle : 50  $\mu$ m.

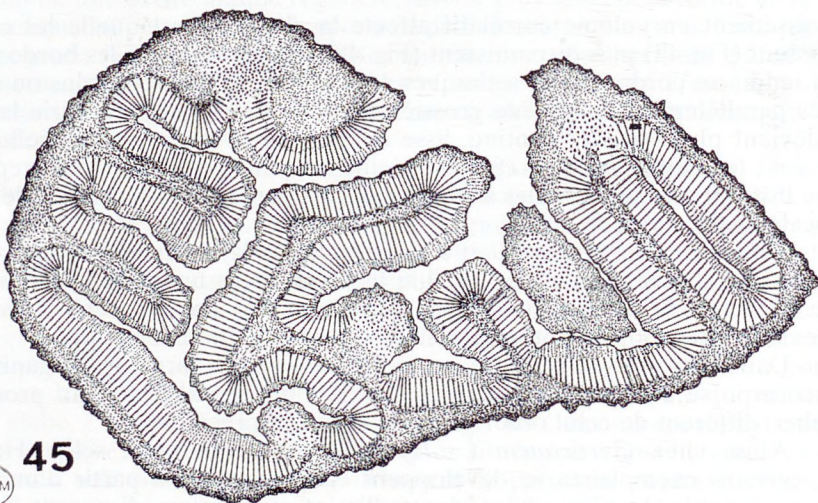
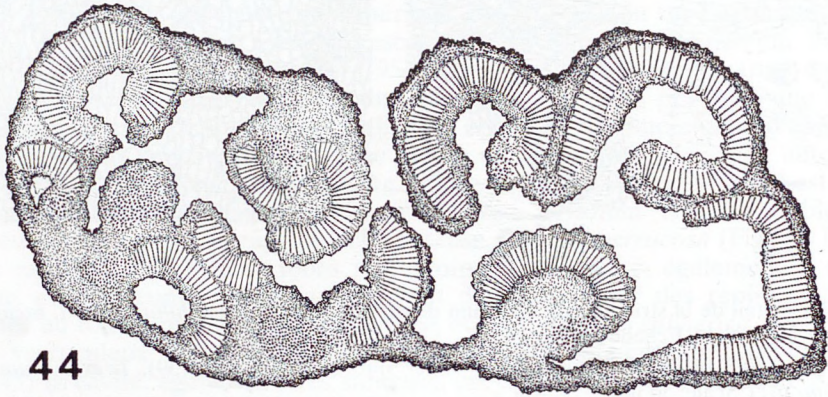
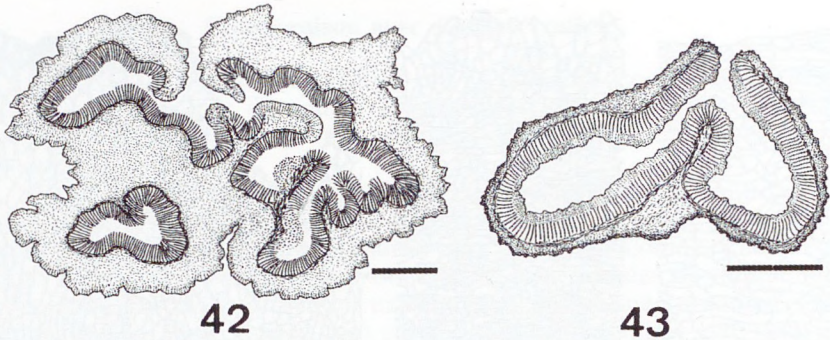
Fig. 39-41. Detail of peridial structure in *Tuber* spp. *T. dryophilum* (39), *T. excavatum* (40), *T. indicum* (41). Scale: 50  $\mu$ m.

L'accroissement en volume corrélatif affecte la glèbe, dans laquelle les cavités s'aplatissent (Fig. 47) puis disparaissent (Fig. 48) ; la palissade qui les borde initialement tend à se perdre parmi les asques. Une trame de filaments plus ou moins orientés parallèlement fragmente grossièrement la glèbe. En périphérie le périidium devient plus épais et continu, lisse en surface, avec des parois cellulaires renforcées ; les débouchés des cavités originelles peuvent parfois être repérés par une disposition régulière des asques et quelques paraphyses encore identifiables localement.

Chez les *Terfezia* (Fig. 49 et Khabar *et al.*, 1994, Janex-Favre *et al.*, 1988) l'ascocarpe adulte comprend un périidium lisse, mince, et une glèbe volumineuse formée d'un réseau d'éléments stériles délimitant des nodules fertiles bourrés d'asques ; la maturation se fait progressivement en direction centrifuge.

Dans les genres *Balsamia*, *Genea* et *Hydnотrya*, la forme et l'organisation de l'ascocarpe se compliquent au cours du développement, selon un processus particulier, différent de celui observé dans les genres précédents.

Ainsi, chez *Gyrocratera* (= *Hydnотrya*) *ploettneriana*, selon Hawker (1954), certains exemplaires se développent en produisant, à partir d'un jeune ascocarpe discoïde de type pézize, des replis internes qui se disposent dans la cavité de manière à la subdiviser en plusieurs cavités séparées ou confluentes (Fig. 50). Des replis seraient également à l'origine des nombreuses cavités, séparées par de profonds sillons, observables chez *Myrmecocystis* (= *Genea*) *cerebriformis* (Fig. 51, d'après Fischer, 1938).



45

Fig. 42-45. Coupes longitudinales médianes d'ascocarpes. *Hydnocystis clausa* (42), *Genea sphaerica* (43), *G. verrucosa* (44), *G. lespiaultii* (45). Echelle : 1 mm.

Fig. 42-45. Median longisections of ascocarps. *Hydnocystis clausa* (42), *Genea sphaerica* (43), *G. verrucosa* (44), *G. lespiaultii* (45). Scale: 1 mm.

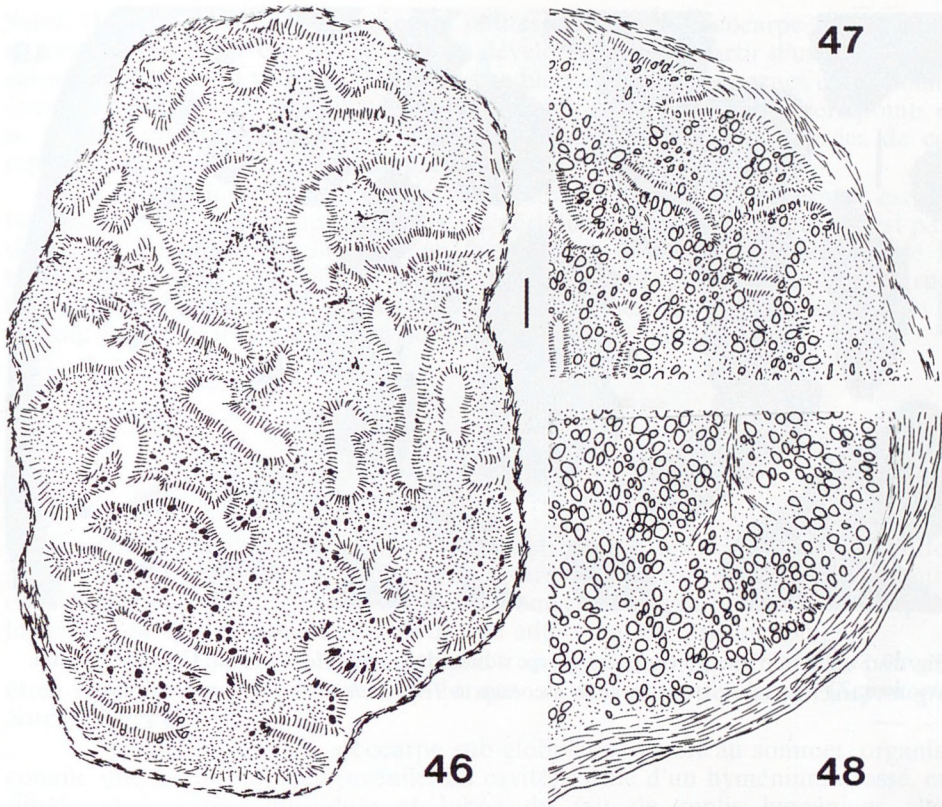


Fig. 46-48. Evolution structurale de l'ascocarpe de *Delastreopsis oligosperma*, stades successifs (coupes longitudinales médianes). Echelle : 200  $\mu$ m.

Fig. 46-48. Ascocarp development in *Delastreopsis oligosperma*, successive stages (median longitudinal sections). Scale: 200  $\mu$ m.

Chez *Hydnotrya tulasnei*, nos propres observations, en accord avec la représentation proposée par Fischer (Fig. 52, 1938), nous ont montré que l'ascocarpe adulte est constitué de feuillets superposés et anastomosés entre eux. Chaque feuillet présente une cavité, tapissée par l'hyménium, dont les paraphyses sont prolongées par un réseau arachnoïde peu développé. Des anastomoses peuvent se produire entre deux feuillets superposés, délimitant des cavités internes qui sont, elles aussi, tapissées d'hyménium. En périphérie les feuillets restent indépendants, ce qui donne des anfractuosités irrégulières. Le périidium est différencié sur les faces externes des feuillets en contact avec le sol ou – d'une manière moins complète – dans les anfractuosités internes.

On peut interpréter cette structure en considérant qu'elle dérive, comme chez l'espèce étudiée par Hawker, d'une cupule étalée, qui se plisse fortement ; ces replis s'appliquent les uns sur les autres comme un feuilleteage et peuvent s'anastomoser, mais ils restent libres en périphérie. Le même type de développement pourrait se produire chez *Balsamia vulgaris*. A l'état adulte (Fig. 53), l'ascocarpe comporte de multiples cavités étroites et irrégulières, bordées par l'hyménium ; la trame présente une structure dense ; le périidium est entièrement verruculeux.

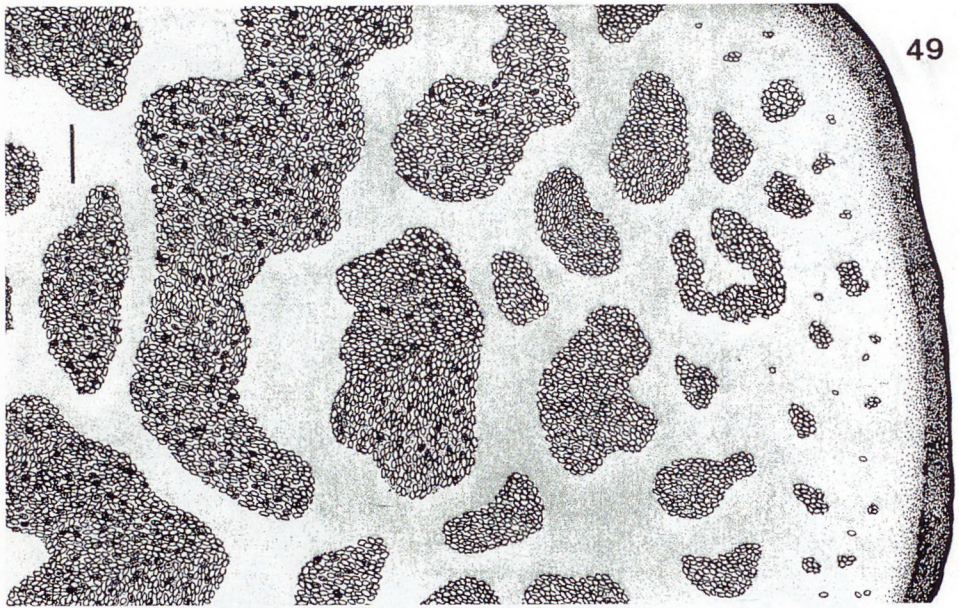


Fig. 49. Structure d'une portion d'ascocarpe adulte de *Terfezia leptoderma*. Echelle : 0,5 mm.  
 Fig. 49. Structure of a part of an adult ascocarp in *Terfezia leptoderma*. Scale: 0,5 mm.

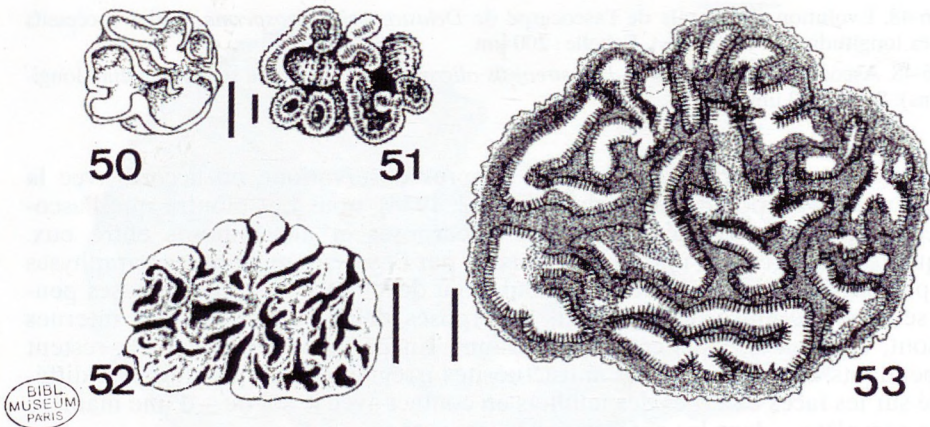


Fig. 50-53. Coupes longitudinales médianes d'ascocarpes. *Gyrocratera* (= *Hydnotrya*) *ploettneriana* (50) d'après Hawker (1954), *Myrmecocystis* (= *Genea*) *cerebriformis* (51) et *Hydnotrya tulasnei* (52) d'après Fischer (1938), *Balsamia vulgaris* (53). Echelle: 1 mm (50 et 51), 1 cm (52), 100  $\mu$ m (53).

Fig. 50-53. Median longisections of ascocarps. *Gyrocratera* (= *Hydnotrya*) *ploettneriana* (50) after Hawker (1954), *Myrmecocystis* (= *Genea*) *cerebriformis* (51) and *Hydnotrya tulasnei* (52) after Fischer (1938), *Balsamia vulgaris* (53). Scale: 1 mm (50 and 51), 1 cm (52), 100  $\mu$ m (53).

Selon Hawker (1954), les nombreuses petites cavités de l'ascocarpe de *Balsamia* se forment progressivement au cours du développement : à partir d'un jeune ascocarpe cupuliforme il y aurait, là encore, production de replis internes déterminant entre eux des « veines externes » qui débouchent à l'extérieur en divers points et se subdivisent en multiples cavités par coalescence des faces opposées de ces replis. Ce développement semble proche du cas d'*Hydnotrya*.

Ainsi, dans tous ces derniers cas, le développement de l'ascocarpe est différent de celui observé chez les *Tuber* : le périidium des jeunes ascocarpes est partiellement englobé dans la glèbe en formation, par suite du plissement de la totalité de la cupule, tandis que dans le cas des *Tuber* la complication de la structure de la glèbe résulte de plissements affectant seulement la partie interne de la cupule, alors que le périidium, en périphérie, demeure inchangé.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Caractérisés par leur développement hypogé, les ascocarpes des truffes présentent de nombreuses formes, que divers auteurs ont tenté de relier entre elles et de comparer aux apothécies de Discomycètes épigés. Pour cela, la morphologie et la structure globale de l'ascocarpe adulte ont été pris en compte.

Ainsi Malençon (1938) distingue trois lignées morphogénétiques pouvant être rapprochées de Pézizes à formes closes ou sub-closes (*Sepultaria*, *Sarcosphaera*) :

1. Les Superae, à ascocarpe sub-globuleux, ouvert au sommet, organisé comme une pézize cupulée juvénile. La cavité, garnie d'un hyménium dressé, est simple chez *Genea hispidula* et lobée du fait de replis hyméniens chez *Pseudobalsamia*, par exemple.

2. Les Inferae, à ascocarpe ouvert vers le bas, également comparables à une jeune pézize, mais renversée ; à un hyménium tapissant la cavité (chez *Hydnocystis*) se substitue une glèbe chez *Stephensia* et surtout *Tuber*, genre multiforme auprès duquel pourrait se situer le genre *Terfezia*. Dans le genre *Tuber* lui-même, Malençon distingue plusieurs types, issus d'une suite progressive de transformations. Le plus simple, correspondant à *T. excavatum* (et deux espèces voisines) a l'aspect d'une « pézize renversée » avec une cavité ouverte par un ostiole basal et occupée par des replis hyméniens d'origine périphérique. Ensuite, l'ostiole est remplacé par une faible dépression, les replis hyméniens deviennent plus nombreux et sinueux, et occupent toute la cavité en convergeant vers la partie inférieure (ex : *T. mesentericum*, *T. uncinatum*). Enfin, la dépression basilaire s'atténue tandis que des fissures apparaissent en différents points dans le périidium ; les veines s'orientent alors vers ces ouvertures en périphérie. Toute polarité tend à disparaître dans la glèbe (diverses espèces dont *T. melanosporum*).

3. Les Ubiquariae, à ascocarpe clos dès l'origine et contenant une cavité anfractueuse revêtue par l'hyménium (*Geopora*, *Balsamia*).

Nos observations sur l'ontogénie de *Tuber melanosporum* remettent en question le rattachement de l'ensemble des *Tuber* aux Inferae, puisque l'ébauche apothécioïde présente un orifice orienté vers le haut et qu'ensuite, au cours du développement celui-ci se referme par soudure de ses bords ; aucun retournement n'a été observé. Par contre, l'ascocarpe d'autres *Tuber*, tel *T. excavatum*, présente en effet à tous les stades observés, une ouverture basale.

Pour sa part, Gilkey (1939), tout en soulignant la nécessité d'observer de jeunes stades de développement des ascocarpes, tente d'établir des liens phylogénétiques entre les « Tubérales » nord-américaines. Plusieurs séries évolutives sont indiquées à partir des *Hydnocystis*, proches de certaines Pézizales :

1. Une série caractérisée par la formation d'un « cortex secondaire » par réunion des extrémités des paraphyses au-dessus des asques. Cette série comprend les genres *Petchiomyces*, *Genea* et *Genabea* (= *Geneaceae sensu* Fischer, 1938).

2. Une série marquée par la subdivision de la cavité, unique à l'origine (*Hydnocystis*, certains *Hydnotrya*) en petites chambres (*Hydnotrya ellipsospora*, *Piersonia*, *Delastreopsis*) puis en veines étroites (*Tuber*) ; chez les formes les plus évoluées de cette série, les veines ont disparu (*Terfezia*, *Delastria*, *Picoa*). Corrélativement une partie des paraphyses tend à se prolonger sous forme d'un réseau dans les cavités ou les veines. Par ailleurs, à l'ouverture unique des formes originelles succèdent tantôt plusieurs ouvertures en périphérie, tantôt la fermeture complète de l'ascocarpe.

3. Quelques genres sont placés en marge de cette évolution à laquelle ils se rattachent toutefois par l'une ou l'autre des caractéristiques présentées ci-dessus (*Pseudobalsamia*, *Balsamia*, *Daleomyces*, *Choiromyces* et *Hydnobolites*).

Par la suite, Hawker (1954), après examen des hypogés de Grande-Bretagne, souligne qu'il n'est pas possible de classer les espèces selon un ordre de complexité croissante cohérent. Plus récemment Korf (1973) affirme que le type « sparassoïde » caractéristique des truffes se retrouve chez des Pézizales épigées et n'a pas de signification phylogénétique.

Au terme de cette étude des ascocarpes des truffes plusieurs points originaux doivent être soulignés :

1. Ces ascocarpes, qui ont en commun un caractère hypogé, présentent de manière générale une forme globuleuse à maturité. Au plan structural ils sont constitués d'un périidium le plus souvent coriace, qui enferme la glèbe contenant les asques et ascospores.

2. La forme globuleuse est acquise progressivement au cours du développement, au moins chez les *Tuber*, par fermeture de l'ébauche apothécioïde, en forme de cupule généralement peu évasée.

3. Si dans certains cas le développement de l'ascocarpe peut être angio-carpe (espèces de la série des Ubiquariae de Malençon 1938, et *Stephensia shaneri*, selon Uecker, 1967), d'une manière beaucoup plus générale le périidium n'est pas totalement clos. Quatre dispositions ont été rencontrées :

– ouverture unique (orientée vers la surface de la terre ou à l'opposé) des *Genea*, de certains *Hydnocystis* ou de *Tuber excavatum*, par exemple ;

– plusieurs orifices correspondant au débouché de cavités indépendantes : *Delastreopsis* (= *Tuber*) *oligospermum* et probablement *Tuber dryophilum*, d'après des dessins de Hawker (1954) ;

– plusieurs orifices formés après superposition, puis soudure plus ou moins étendue de replis d'une cupule originelle : cas d'*Hydnotrya* et probablement de *Balsamia* (dessins de Hawker, 1954) ;

– multiples débouchés étroits, en divers points du périidium, de veines stériles aérifères dérivant de la cavité originelle de l'ébauche, après replis plus ou moins complexes de la trame à l'intérieur du périidium. C'est le cas de nombreuses espèces de *Tuber*, et notamment de *T. melanosporum*.

4. Le ou les orifices faisant communiquer la glèbe avec les microcavités du sol, d'une façon transitoire ou durable, permettent des échanges gazeux. L'ascocarpe, bien qu'hypogé, peut de ce fait se développer en aérobiose (Barry *et al.*, 1993).



Ainsi, en dépit de caractères communs les ascocarpes des truffes présentent une diversité certaine. Il est de ce fait indispensable, pour préciser la position des truffes au sein des Ascomycètes, de prendre en compte d'autres caractères, notamment ceux des asques. Leurs particularités, au plan morphologique et structural, ainsi que celles qui concernent, de façon plus large, l'hyménium, seront présentées dans la seconde partie de ce travail.

**Remerciements.** Cette étude a pu être réalisée grâce à l'aide précieuse des divers récolteurs cités au début de ce travail et au dévouement des techniciens M. Avnaim, C. Fournigault et N. Jampsin.

### RÉFÉRENCES

- BARRY D., CALLOT G., JANEX-FAVRE M.C., PARGUEY-LEDUC A. & PARGNEY J.C., 1993 – Morphologie et structure des hyphes externes observées sur le péri-dium des *Tuber* à écailles : évolution au cours du développement de l'ascocarpe. *Canadian Journal of Botany* 71 : 609-619.
- BUCHOLTZ F., 1897 – Zur Entwicklungsgeschichte der Tuberaeen. *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft* 15 : 211-226.
- BUCHOLTZ F., 1903 – Zur Morphologie und Systematik der Fungi hypogaei. *Annales Mycologici* 1 : 152-174.
- CALLOT G., 1999 – *La truffe, la terre, la vie*. Collection « Du labo au terrain », INRA éd., Paris, 210 p.
- CERUTI A., 1960 – *Elaphomycetales e Tuberales*. In : J. BRESADOLA, *Iconographia Mycologica* 28, suppl.2, Tridenti.
- CHAZE J., 1950 – Sur la formation du périthèce et d'un appareil conidien chez *Tuber melanosporum* en culture pure. *Comptes Rendus Académie des Sciences*, Paris 230 : 859-861.
- CHEVALIER G., RIOUSSET L. et G. & DUPRE C., 1988 - Taxonomie des Truffes européennes. *Atti del Secondo Congresso Internazionale sul Tartufo*, Spoleto 24-27 nov. 1988 : 37-44.
- FISCHER E., 1938 – *Tuberinae*. In : ENGLER A. & PRANTL K., *Die natürlichen Pflanzenfamilien* 5b (VIII) Verlag, Leipzig, 40 p.
- GILKEY H.M., 1939 – Tuberales of North America. *Oregon State Monographs, Studies in Botany* 1, 63 p.
- GILKEY H.M., 1961 – New species and revisions in the order Tuberales. *Mycologia* 53: 215-220.
- HAWKER L.E., 1954 – British hypogeous Fungi. *Transactions of the Royal Society, Series B* 237: 429-545.
- JANEX-FAVRE M.C., PARGUEY-LEDUC A. & RIOUSSET L., 1988 – L'ascocarpe hypogé d'une Terfez française (*Terfezia leptoderma* Tul., Tubérales, Discomycètes). *Bulletin de la Société mycologique de France* 104 : 145-178.
- KHABAR L., NAJIM L., JANEX-FAVRE M.C. & PARGUEY-LEDUC A., 1994 – L'ascocarpe de *Terfezia leonis* Tul. (Discomycètes, Tubérales). *Cryptogamie, Mycologie* 15 : 187-206.
- KORF R.P., 1973 – Sparassoid ascocarps in Pezizales and Tuberales. *Rep. Tottori Mycol. Inst.* 10 : 389-403.
- MALENCON G., 1938 – Les Truffes européennes ; historique, morphogénie, organogénie, classification, culture. *Revue de Mycologie* 3 (N.S. ), Mémoire hors série, 92 p.
- MARCHISIO V., 1964 – Sulla cariologia degli aschi e delle spore di *Tuber maculatum* Vitt. *Allionia* 10 : 105-113.

- PARGUEY-LEDUC A., MONTANT C. & KULIFAJ M., 1984 – Structure et évolution de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, Paris (sér. III) 299 : 315-320.
- PARGUEY-LEDUC A., MONTANT C. & KULIFAJ M., 1985 – Le stade apothécioïde de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, Paris (sér. III) 301 : 143-145.
- PARGUEY-LEDUC A., MONTANT C. & KULIFAJ M., 1987 – Morphologie et structure de l'ascocarpe adulte du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Cryptogamie, Mycologie* 8 : 173-202.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C. & MONTANT C., 1988 – L'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes) : structure de la glèbe. I. Les veines fertiles. *Atti del Secondo Congresso Internazionale sul Tartufo*, Spoleto 24-27 nov. 1988 : 101-109.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C., MONTANT C. & KULIFAJ M., 1989 – Ontogénie et structure de l'ascocarpe de *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Bulletin de la Société Mycologique de France* 105 : 227-246.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C. & MONTANT C., 1991 – L'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes) : structure de la glèbe. II. Les veines stériles. *Cryptogamie, Mycologie* 12 : 165-182.
- RIOUSSET L. & G., CHEVALIER G. & BARDET M.C., 2001 – *Truffes d'Europe et de Chine*, INRA éd., Paris, 181 p.
- UECKER F.A., 1967 – *Stephensia shanori*. I. Cytology of the ascus and other observations. *Mycologia* 59: 819-832.