

MESURE STATISTIQUE AUTOMATISEE DU VOLUME DES SPORES DES CHAMPIGNONS SUPERIEURS

P.BAUMGART * A. LAURENT ** JP MAURICE ***

* 9 Chemin des Echalandes 88160 LE THILLOT

** 65 Bd. Valonnière 54600 VILLERS - LES - NANCY

*** 45 rue de France 88300 NEUFCHATEAU

BAUMGART P., LAURENT A. & MAURICE JP. - 1995-Automated statistical measurement of the sporal volume in higher fungi - *Doc. Myc.* n° 96 p. 51 à 72

Key-words : Spores-resistivity-statistic-volum

Summary : An experimental method is proposed to determine directly the volume of the spores released by mushrooms. The principle of the method is founded on the electrical resistivity of an aqueous slurry containing the dispersed spores. Its application and its statistical analysis are illustrated with some examples.

Résumé : Nous proposons une méthode nouvelle pour déterminer le volume des spores des champignons supérieurs. C'est une mesure directe par variation de résistivité en milieu liquide. Les résultats obtenus sont illustrés par quelques exemples avec des diagrammes de fréquence et les paramètres statistiques habituels.

Introduction

Dans notre quête de progrès dans la connaissance des taxons (genre, espèce, espèce collective), nous avons observé une nouvelle approche dans la connaissance de la spore. Les sporographes ayant largement débattu des dimensions sporiques (longueur, largeur et épaisseur) : "Tous les mycologues contemporains sont convaincus de la grande valeur spécifique des dimensions sporiques" (HEINEMANN et RAMMELOO 1985). Ils ont fait apparaître les grandes difficultés rencontrées depuis toujours au microscope optique pour standardiser une méthode applicable d'un mycologue à l'autre.

Cette connaissance des mesures sporiques paraît essentielle en taxonomie et le retentissement des différents paramètres considérés transparaît évidemment en

systématique. BREITENBACH J. et KRÄNZLIN F. (1991 :15) abordent la notion de volume sporique de façon théorique, ceci à la suite des travaux de GROSS (1973-1976), de PARMASSTO et PARMASSTO (1987) ainsi que MÖLS (1987) et enfin de KRÜGER H. (1987).

Les deux auteurs suisses calculent le volume sporique moyen qu'ils appellent V_m en utilisant la formule $V_m = 4/3 \cdot \pi \cdot a^2 \cdot b$. Ainsi pour les 450 espèces qu'ils présentent, ils indiquent le volume noté V qui est donc calculé de façon théorique, ce qui à nos yeux ne fait que déplacer et amplifier les différences constatées au microscope optique et qui sont source d'erreurs.

C'est la raison pour laquelle il nous semble préférable d'utiliser une mesure directe du volume de ces "microparticules" par variation de résistivité en milieu liquide. De nombreuses techniques automatisables basées sur ce principe, fonctionnent depuis longtemps dans l'industrie et dans la biologie. Nous l'avons simplement adaptée aux spores des champignons supérieurs.

DESCRIPTION DE LA METHODE

1°) RECOLTE DE LA SPOREE

Comme dans tous les ouvrages qui y sont consacrés, la récolte des spores est une phase délicate. Il faut récolter les spores qui tombent naturellement du sporophore, ce qui impose quelques précautions :

- Ne travailler que sur des espèces fraîches et en bon état. Nous verrons plus loin comment conserver les spores dans de bonnes conditions.

- Conditions de température et d'hygrométrie satisfaisantes, pour une sporulation constante et abondante. Il existe de nombreuses méthodes :

 Plaqué de carton percée pour laisser tremper le pied dans de l'eau.

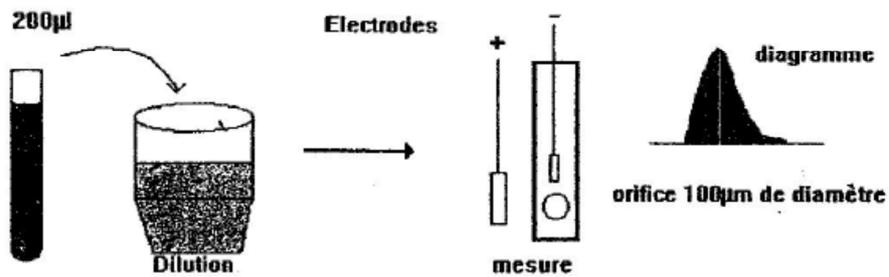
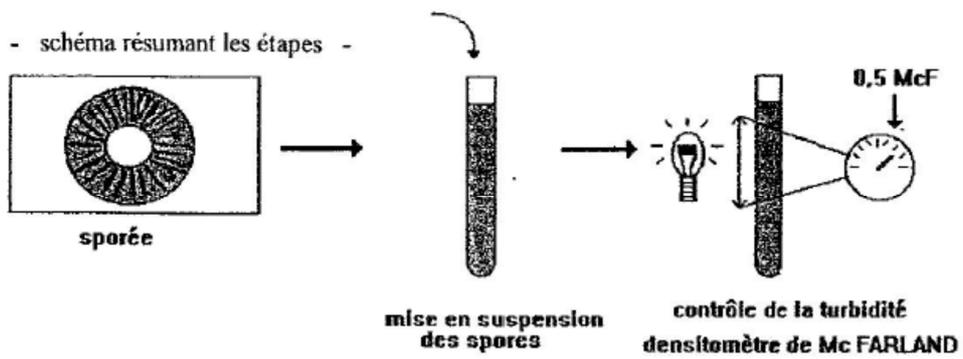
 Chapeau séparé du pied pour les petites espèces, etc.

- Conditions particulières liées, pour nos mesures, à la pureté de la sporée, c'est à dire absence de particules étrangères, poussières, spores d'autres champignons, champignons microscopiques, micro-organismes etc.

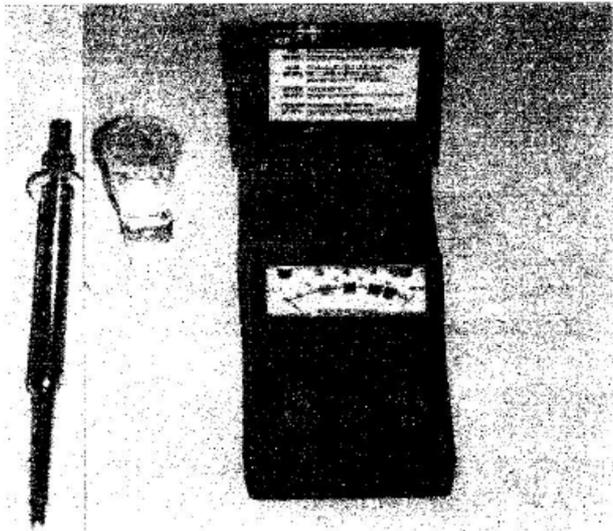
*Remarque : Actuellement il est possible de supprimer en enceintes closes les pollutions extérieures, mais il est difficile d'évaluer la chute de basides, cystides ou autres éléments cellulaires de l'hyménium.

- Une fois la sporée déposée sur une lame de verre par exemple, il faut la stocker à l'abri de la poussière et éviter toute contamination extérieure pendant la mesure.

- L'utilisation de matériel stérile, à usage unique, est impératif.



Densitomètre permettant de mesurer et d'ajuster les suspensions de spores afin d'en standardiser la quantité dans la prise d'essai.



Les mesures sont faites en unités Mc FARLAND
zone entre le rouge et le bleu => 0,5 à 1 Mc.F

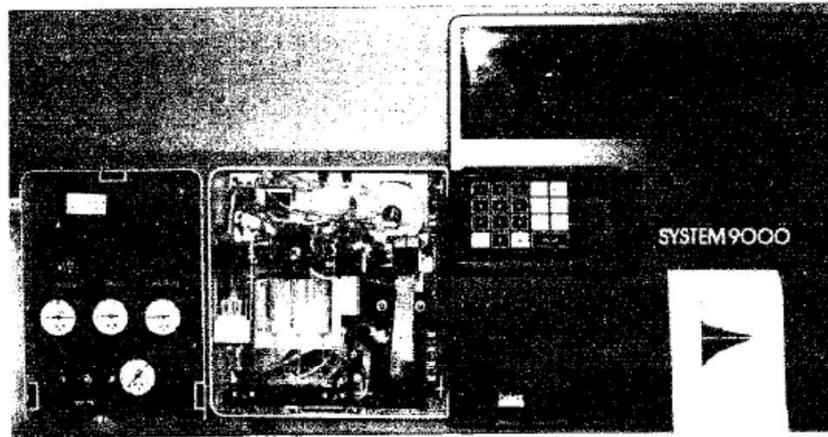
2°) STANDARDISATION DE LA PRISE D'ESSAI (quantité de spores)

Une fois la sporée déposée, il faut en préparer une suspension homogène dans le liquide de mesure : cette opération se fait en trois étapes :

- Mise en suspension dans la solution mère.
- Calibration de cette suspension à l'aide d'un densitomètre (Mc Farland).
- Dilution de la solution mère pour la mesure.

3°) PRESENTATION DU SYSTEME DE MESURE

Automate système 9000 SERONO



Possibilités de mesure des volumes entre 0 et 400 μm^3

a) Introduction de l'échantillon dilué dans le système de mesure :

Après dilution automatique (5ml), la solution est placée au niveau de la sonde de prélèvement, et est aspirée automatiquement par la machine dans la chambre de mesure.

b) Mesure proprement dite :

Le principe de la mesure et du comptage électronique des spores repose sur la différence de conductivité entre elles et le diluant dans lequel elles sont mises en suspension. C'est le principe d'impédance. Les spores sont comptées et mesurées à partir d'une série d'impulsions électroniques. Toutes les phases de la mesure sont contrôlées sur un écran et les résultats sont imprimés sur une imprimante thermique, (cf Histogramme des fréquences).

Après être passé dans le bol de dilution, l'échantillon est aspiré à travers un orifice calibré (100 μm de diamètre) avec un débit régulier, grâce à des tubes volumétriques et deux photodétecteurs qui indiquent précisément le début et la fin du cycle.

c) Décontamination :

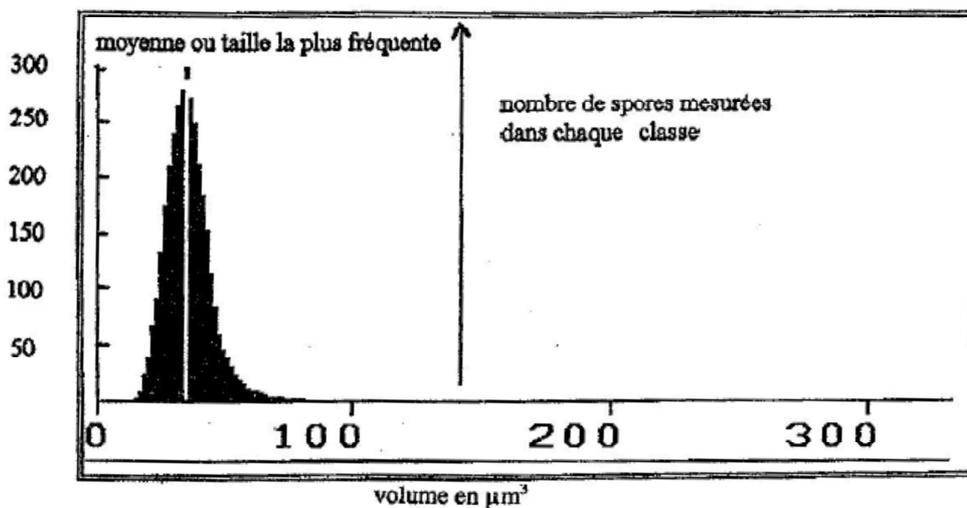
Une fois la mesure terminée, les bols de comptage et de mesure sont soigneusement nettoyés grâce à un double rinçage. Une solution de rinçage passe dans la cellule d'amorçage, dans l'orifice de comptage et le tube volumétrique afin de nettoyer et d'éliminer tous les déchets ou résidus après chaque mesure.

d) Exploitation numérique des résultats :

Un système de seuil de détection prédéfini dans le logiciel permet à l'automate de détecter les impulsions électroniques, de les trier et de conserver les données qui seront ensuite imprimées et affichées sur l'écran de visualisation. Ceci formera les résultats de la numération et du volume des spores étudiées (cf. histogramme des fréquences.).

4°) INTERPRETATION ET CONTROLE DES RESULTATS

a) Exemple d'histogramme (*Lycoperdon perlatum*)



Le nombre de spores mesurées est variable en général entre 3000 et 10000.
Ce modèle de présentation sera utilisé pour toutes les mesures.

Cet exemple montre bien le profil de la population des spores et toutes les informations utiles que nous pouvons en tirer.

b) Diagrammes de contrôle à l'écran

En plus du résultat imprimé, un diagramme de contrôle indique sur l'écran pendant la mesure les variations de débit au cours du comptage. Des limites de précisions acceptables sont constamment affichées pour le manipulateur. Si un problème est détecté, la machine entreprend d'elle-même, une nouvelle mesure et en informe l'utilisateur. Bien évidemment, l'instrument est calibré avant chaque série de mesure avec des particules de latex dont la taille est connue et les fourchettes d'acceptabilité données par les fabricants sont à respecter.

Note : Toutes les mesures sont obligatoirement accompagnées d'une observation minutieuse au microscope de la suspension de spores afin de contrôler l'aspect et surtout la répartition homogène des spores dans le diluant.

5°) ETUDE DETAILLEE D'UNE ESPECE : *Lycoperdon perlatum*.

Cette espèce a été choisie pour des raisons de simplicité du recueil des spores, pour la forme arrondie de sa spore et aussi pour sa capacité à en produire une grande quantité.

a) Etude statistique détaillée du diagramme des fréquences :

Nous avons utilisé les paramètres classiques.

- Groupement des données en : Classes = volume en $\mu\text{m}^3 = x_i$
- Choix des points médians.
- Nombre par classe = n_i
- Fréquences = F
- Calcul de la moyenne, variance et écart type. (cf. tableau p. 58).
- Quelques données complémentaires, comme la variable réduite, la probabilité théorique des écarts.

L'observation du tableau récapitulatif des 3291 mesures nous donne tout de suite une bonne idée de la distribution à laquelle nous avons affaire.

Les lignes plus foncées, pour plus de clarté, représentent les limites des écarts types répartis de chaque côté de la moyenne, entre 32 et 51 μm^3 un écart type entre 23,25 et 59,5 μm^3 deux écarts types .

Nous pouvons donc dire que la distribution du volume des spores de *Lycoperdon perlatum* est gaussienne ,un écart type représente 70,6 % de la population et deux écarts 95,8 %. (voir les lignes sombres sur le tableau)

ETUDE STATISTIQUE *Lycopodium perlatum*

	intervalle de classe Volume μm^3	Points médiants	NOMBR	F R E Q	M O Y E	(x-X) ²	VARIABLE FREQUENCES REDUITES CUMULEES			
							ni	F	xi ni	ni(x-X) ²
1	18-20	19	7	0.0021	133	492.396	3446.773	-2.4084	0.002	0
2	20-22	21	9	0.0027	189	407.636	3668.725	-2.1913	0.005	0
3	23-23,5	23,25	19	0.0058	441,75	321,844	6115,028	-1,9471	0,011	0
4	23,5-24,5	24	30	0.0091	720	295,496	8864,883	-1,8657	0,02	0
5	24,5-26	25,25	52	0.0158	1313	254,084	13212,35	-1,73	0,036	0
6	26-28	27	74	0.0225	1998	201,356	14900,35	-1,5401	0,058	0
7	28-30	29	100	0.0304	2900	148,596	14859,61	-1,323	0,088	0
8	30-31,5	30,75	130	0.0395	3997,5	108,994	14169,17	-1,1331	0,128	0
9	31,5-32,5	32	170	0.0517	5440	84,4561	14357,54	-0,9974	0,18	0
10	32,5-34	33,25	217	0.0659	7215,3	63,0436	13680,46	-0,8618	0,246	0
11	34-36	35	256	0.0778	8960	38,3161	9808,922	-0,6718	0,323	0
12	36-38	37	276	0.0839	10212	17,5561	4845,484	-0,4548	0,407	0
13	38-41	39,5	285	0.0866	11258	2,8561	813,9885	-0,1834	0,494	0
14	41-43	42	278	0.0845	11676	0,6561	182,3958	0,0879	0,578	0,2
15	43-44	43,5	256	0.0778	11136	5,3361	1366,042	0,2507	0,656	0,4
16	44-46	45	215	0.0653	9675	14,5161	3120,962	0,4135	0,721	0,59
17	46-48	47	178	0.0541	8366	33,7561	6008,586	0,6306	0,775	0,76
18	48-49	48,5	143	0.0435	6935,5	53,4361	7641,362	0,7934	0,819	0,91
19	49-50	49,5	120	0.0365	5940	69,0561	8286,732	0,9019	0,855	1,06
20	50-52	51	98	0.0298	4998	96,2361	9431,138	1,0647	0,885	1,2
21	52-54	53	78	0.0237	4134	139,476	10879,14	1,2818	0,909	1,33
22	54-56	55	65	0.0198	3575	190,716	12396,55	1,4988	0,929	1,46
23	56-57	56,5	56	0.017	3164	234,396	13126,18	1,6616	0,946	1,6
24	57-59	58	43	0.0131	2494	282,576	12150,77	1,8244	0,959	1,73
25	59-60	59,5	32	0.0097	1904	335,256	10728,2	1,9872	0,968	1,85
26	60-63	61,5	28	0.0085	1722	412,496	11549,89	2,2043	0,977	1,97
27	63-66	64,5	24	0.0073	1548	543,356	13040,55	2,5299	0,984	2,15
28	66-67	66,5	22	0.0067	1463	640,596	14093,11	2,747	0,991	2,34
29	67-69	68	17	0.0052	1156	718,776	12219,19	2,9098	0,996	0
30	69-70	69,5	13	0.004	903,5	801,456	10418,93	3,0726	1	0
	TOTAL	MESURE	3291			7008,72	279383			
MOYENNE 41,193 VARIANCE 84,893 ECART TYPE 9,2137										

Ces résultats sont confirmés par le calcul à partir des données d'une courbe par un ordinateur (cf. courbe) et par la réalisation d'une droite de Henry par la même méthode. Nous verrons que, dans la plupart des cas, nous obtenons une distribution normale du volume des spores d'un champignon, mais dans certains cas il est probable que nous obtenions d'autres formes de distribution.

b) Expression des résultats :

Le profil de population pour notre exemple donne une moyenne de $41\mu\text{m}^3$; ce chiffre correspond donc au volume le plus fréquent, mais les valeurs limites seront désignées par v pour le plus petit volume à 2 écarts types et par V pour le plus grand volume à 2 écarts types.

Les valeurs " exceptionnelles " les plus extrêmes seront mises entre parenthèses.

Les pourcentages de population correspondent à une distribution normale.

Pour chaque exemple, la quantité de spores mesurées sera indiquée ainsi que la date de la récolte et la station. Les volumes indiqués en bas de page sont calculés à partir des valeurs L et l trouvées dans certains ouvrages courants .

La formule utilisée est $V_m = 4/3 \pi a^2 b$ (cf. J. Breitenbach / F. Kranzlin, 1991). Cette formule n'est applicable que si l'on considère la forme de la spore comme un ellipsoïde de révolution, et que par conséquent on néglige l'influence de l'épaisseur « e » (=spore comprimée), ou que l'on assimile sa section à un cercle.

6°) DISCUSSION PAR RAPPORT AUX MESURES THEORIQUES DU VOLUME

Notre méthode de mesure statistique automatisée du volume des spores est rigoureusement standardisée et donne des résultats très reproductibles avec une bonne précision, par comparaison à celle des estimations théoriques du volume calculé à partir des dimensions des spores déterminées plus ou moins manuellement jusqu'à présent. C'est pourquoi nous avons été motivés pour poursuivre nos mesures sur d'autres espèces.

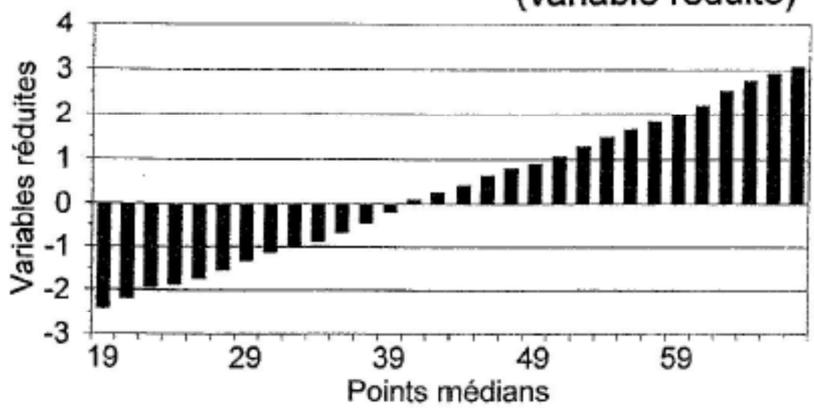
Nous savons bien que les spores que nous observons ne sont en effet jamais des ellipsoïdes parfaits, car les formes géométriques des spores sont variées. Ceci permet de formuler deux remarques.

- Le calcul du volume des spores par la formule théorique de l'ellipsoïde de révolution à l'aide des mesures des dimensions au microscope, s'applique de manière satisfaisante aux spores arrondies, mais dès que les formes s'allongent et se compliquent, cette méthode devient inadaptée.

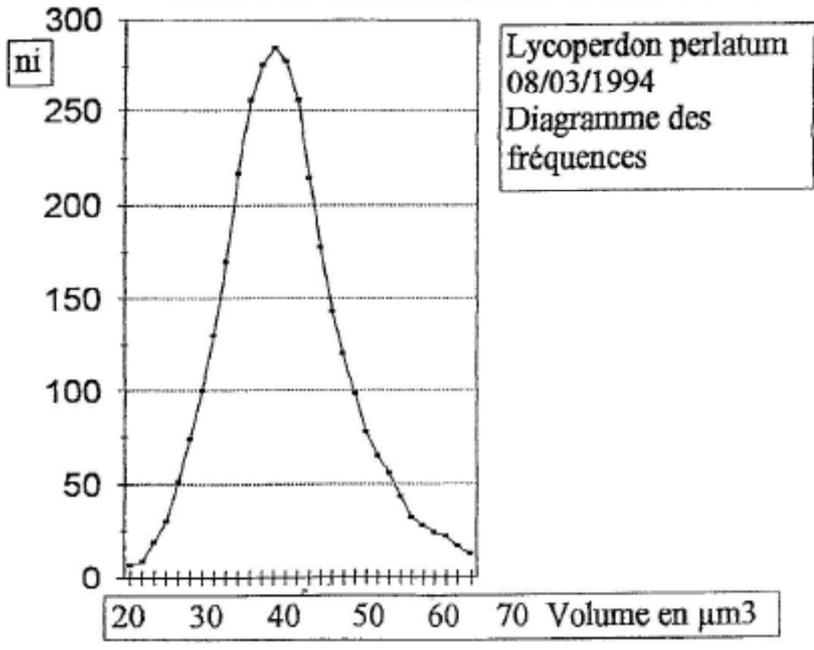
- Plus les spores sont petites, plus les erreurs absolues de mesure des dimensions entraînent de grosses variations relatives sur le calcul du volume.

Méthode d'ajustement basée sur la relation linéaire entre la variable x et son écart réduit t

Droite de HENRY (variable réduite)



COURBE REALISEE AVEC DES CHIFFRES EXPERIMENTAUX



Nous allons tenter d'illustrer l'intérêt de la méthode directe de mesure du volume des spores à l'aide d'un calcul d'erreur par la méthode des encadrements.

Supposons que les dimensions sporiques soient :

$L = 7 \mu\text{m}$ longueur

$l = 6 \mu\text{m}$ largeur

$e = 5,6 \mu\text{m}$ épaisseur

Admettons que la précision des mesures soit de $\pm 0,5 \mu\text{m}$. Les dimensions sporiques sont alors :

$6,5 < L < 7,5 \mu\text{m}$

$5,5 < l < 6,5 \mu\text{m}$

$5,1 < e < 6,1 \mu\text{m}$

En appliquant la formule d'un ellipsoïde de révolution :

$V = \frac{4}{3} \pi \times L/2 \times l/2 \times e/2 = \pi/6 \times L \times l \times e$ nous obtenons les valeurs minimale, moyenne, et maximale du volume sporique suivantes :

$95,46 < 123,15 < 155,70 \mu\text{m}^3$

nous observons qu'une précision de $\pm 0,5 \mu\text{m}$ sur la mesure de la longueur, de la largeur et de l'épaisseur des spores entraîne par rapport à la valeur moyenne du volume une erreur de $27,7 \mu\text{m}^3$ sur le calcul approché des petits volumes, et une erreur de $32,5 \mu\text{m}^3$ sur celui des plus grands volumes.

D'après le constructeur, la précision de la mesure directe du volume des spores par la mesure de la résistivité est inférieure à $1 \mu\text{m}^3$.

Pour exploiter de façon sévère nos expériences, admettons une erreur maximale de $3 \mu\text{m}^3$ sur le volume mesuré de $123,15 \mu\text{m}^3$. Les valeurs minimale, moyenne et maximale du volume sporique sont alors :

$120,15 < 123,15 < 126,15 \mu\text{m}^3$

L'incidence de cette erreur volontairement amplifiée sur l'estimation de la précision des dimensions sporiques se traduit par une erreur 10 fois moins grande sur les valeurs de L , l et e , puisque la valeur recalculée est de l'ordre de $\pm 0,05 \mu\text{m}$ pour les spores extrêmes, alors que la précision habituellement admise est de $\pm 0,5 \mu\text{m}$.

CRITIQUES DE LA METHODE.

a) Inconvénients.

- Méthode inapplicable en routine de détermination, à cause du coût du matériel utilisé (prix du compteur élevé et "consommable" cher : c'est à dire, récipients à usage unique et stériles, papier thermique de l'imprimante, liquides de mesure ultrafiltrés, etc.).

- Mesures obligatoires sur des sporées fraîchement prélevées et sur des carpophores en bon état

- Difficultés d'obtenir une sporée abondante en chambre close à l'abri de toutes contaminations extérieures.
- Récolte de cette sporée avec des solutions salines spécialement étudiées pour la mesure.

b) Avantages.

- Rapidité de la mesure, environ 1 minute pour mesurer jusqu'à 1 million de spores après la récolte de la sporée.
- Détection rapide des doubles populations ou des anomalies : détermination de l'hétérosporie.
- Vérification rapide (études futures) entre la taille moyenne de spores de car-pophores différents ou venant de stations différentes.
- Meilleure précision comparée aux résultats des méthodes actuelles.
- Travail rigoureusement standardisé, sans intervention humaine pendant la lecture.
- Toutes les spores sont mesurées, il n'y a pas de choix même subjectif sur des éléments malformés trop grands ou trop petits.
- Accès rapide à une moyenne arithmétique. Important dans un travail de description des espèces, moins en routine de détermination.
- Possibilité de faire des études de corrélation avec d'autres méthodes de mesure.
- Correction automatique de l'aplatissement dorsi-ventral, qu'il est difficile d'évaluer à 0,5 mm près.
- Etudes plus faciles de la taille en fonction de l'âge du carpophore, des conditions climatiques de pousse etc.

CONCLUSION

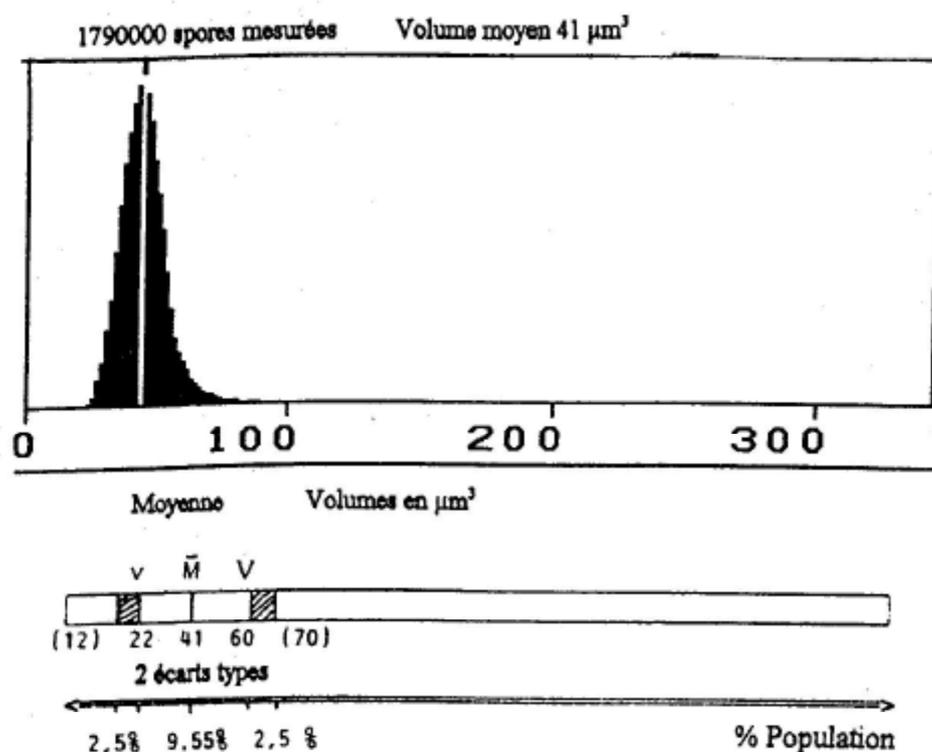
Nous pouvons, à partir des espèces étudiées percevoir tous les avantages de la méthode. Bien sûr, ceci n'est qu'un travail préliminaire. Encouragés par les résultats très cohérents obtenus sur un petit nombre d'espèces, nous souhaitons vivement les confirmer par une étude sur un plus grand échantillon et valider par la même plus solidement notre travail.

DIAGRAMMES DES ESPECES ETUDIEES

Mesure statistique automatisée du volume des spores des champignons supérieurs

Lycoperdon perlatum Pers.:Pers.

Date:300494
Station: LeThillot 88



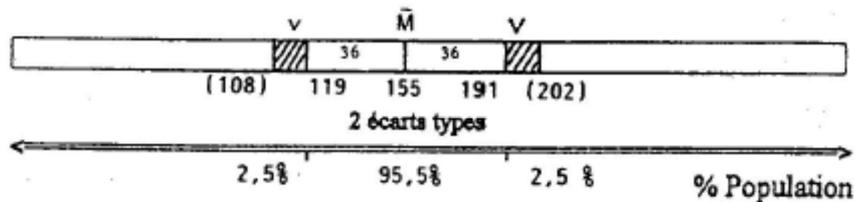
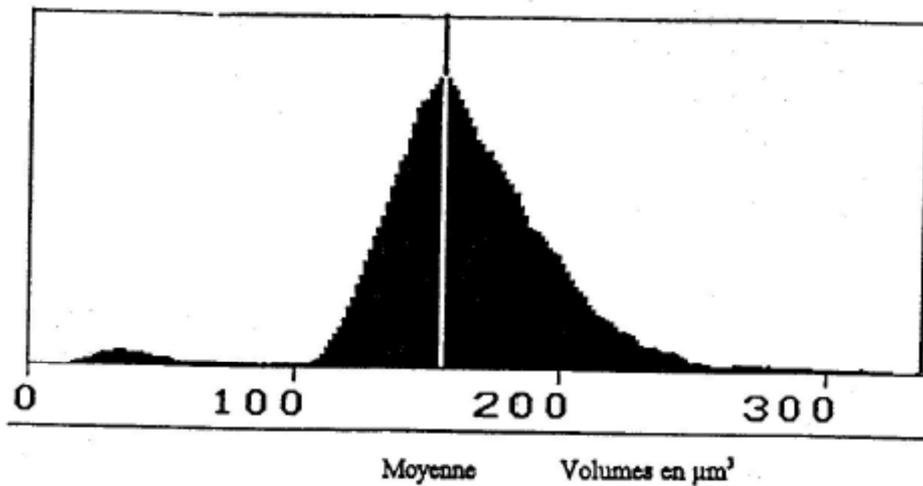
Quelques valeurs calculées du volume des spores à partir des tailles L et l trouvées dans la littérature. (sans correction de l'épaisseur).

Bon M.	$22 \mu\text{m}^3$
Romagnesi H.	$22 \text{ à } 48 \mu\text{m}^3$
Jülich W.	$13 \text{ à } 45 \mu\text{m}^3$
Breitenbach J./Kranzlin F.	$22 \text{ à } 48 \mu\text{m}^3$

Russula nigricans Fr.

Date: 230894
Station: Le Thillot 88

4600 spores mesurées Volume moyen $155 \mu\text{m}^3$



Quelques valeurs calculées du volume des spores à partir des tailles L et l trouvées dans la littérature. (sans correction de l'épaisseur).

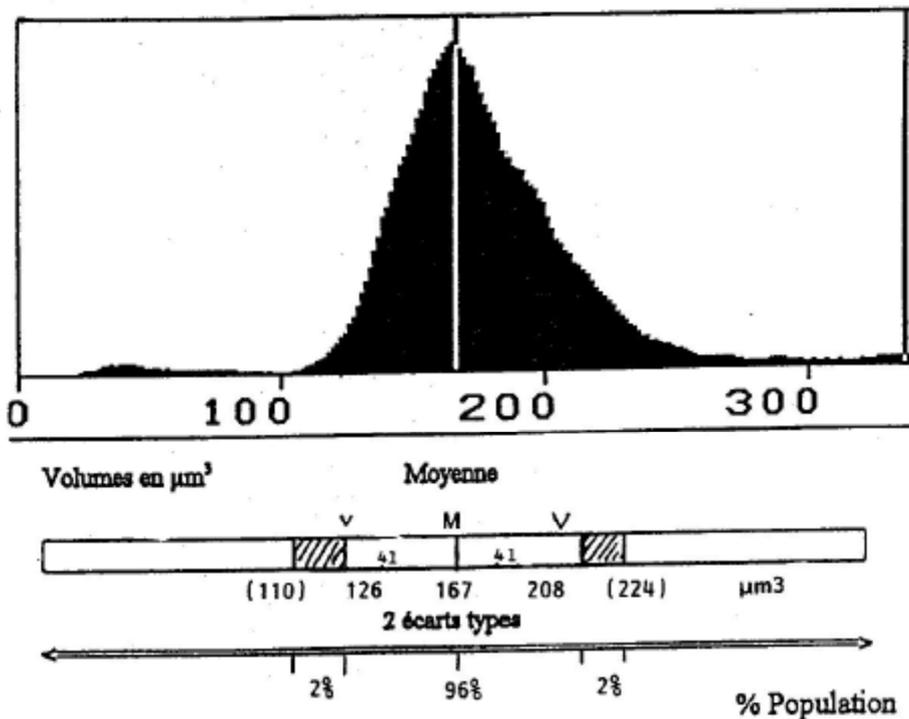
Bon M.	$176 \mu\text{m}^3$
Romagnesi H.	$132 \mu\text{m}^3$
Moser M.	$154 \mu\text{m}^3$
Marchand A.	μm^3
Breitenbach J./Kranzlin F.	μm^3

Russula foetens Per.:Fr.

Date: 230794
Station: Le Thillot

Spore subglobuleuse à ovoïde.

5200 spores mesurées Volume moyen 167 μm^3



Quelques valeurs calculées du volume des spores à partir des tailles L et l trouvées dans la littérature. (sans correction de l'épaisseur).

Bon M.	334 à 500 μm^3
Romagnesi H.	μm^3
Jülich W.	μm^3
Marchand A.	153 à 334 μm^3
Moser M.	μm^3

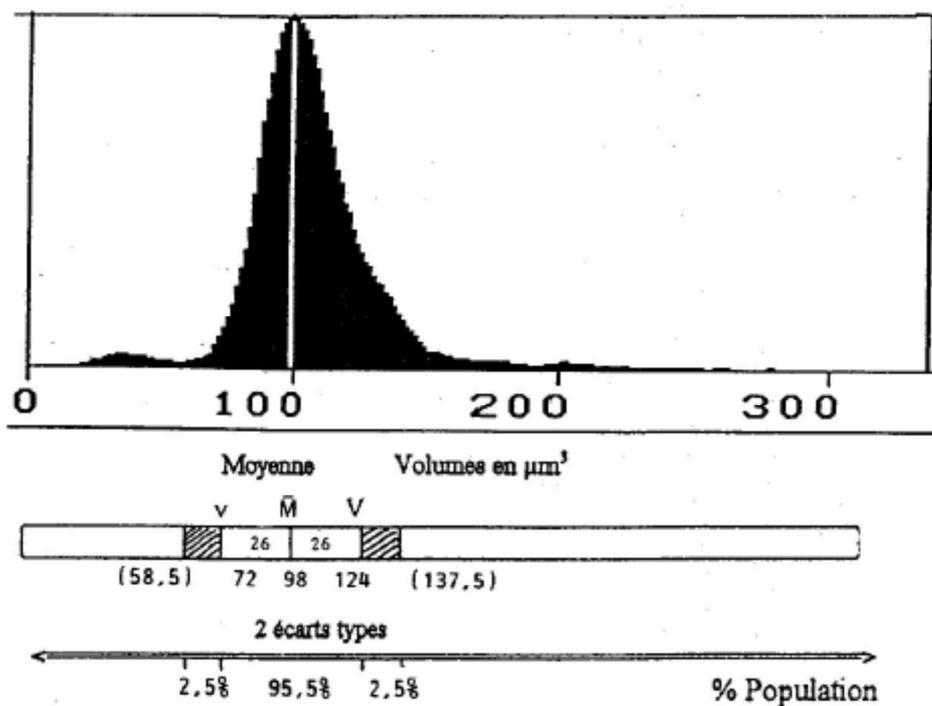
Mesure statistique automatisée du volume des spores des champignons supérieurs

Russula vesca Fr.

Date: 260894
Station: Le Thillot

Spore subglobuleuse

3800 spores mesurées Volume moyen $98 \mu\text{m}^3$



Quelques valeurs calculées du volume des spores à partir des tailles L et l trouvées dans la littérature. (sans correction de l'épaisseur).

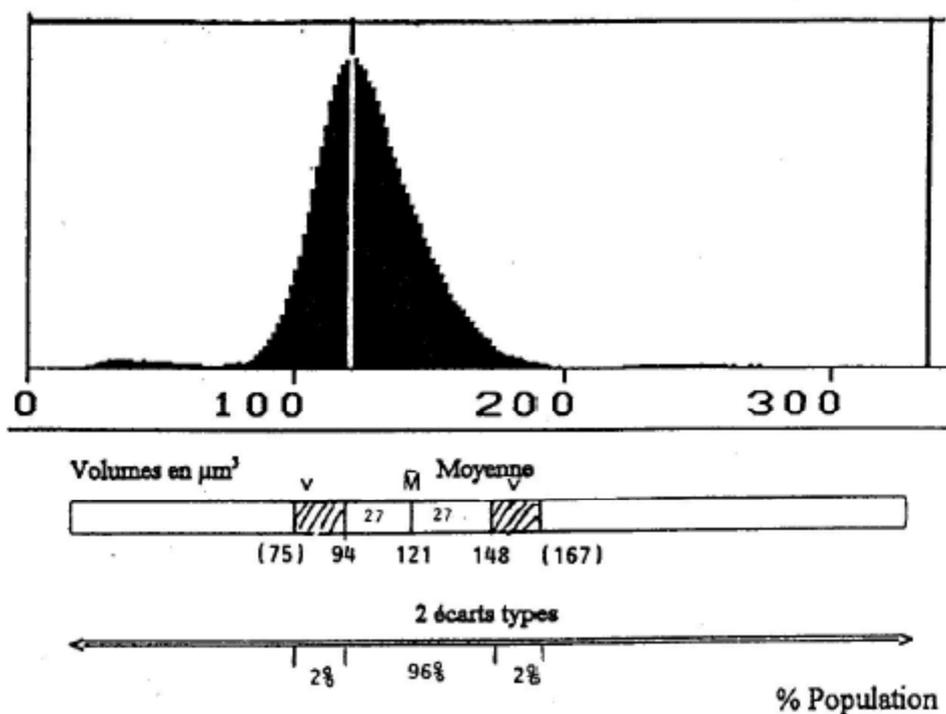
Bon M.	$104 \mu\text{m}^3$
Romagnesi H.	$91 \mu\text{m}^3$
Jülich W.	μm^3
Marchand A.	78 à $131 \mu\text{m}^3$
Moser M.	78 à $187 \mu\text{m}^3$

Russula anthracina Romagn.

Date: 230794
Station: Gray 70

Spore ellipsoïde

7300 spores mesurées Volume moyen 121 μm^3



Quelques valeurs calculées du volume des spores à partir des tailles L et l trouvées dans la littérature. (sans correction de l'épaisseur).

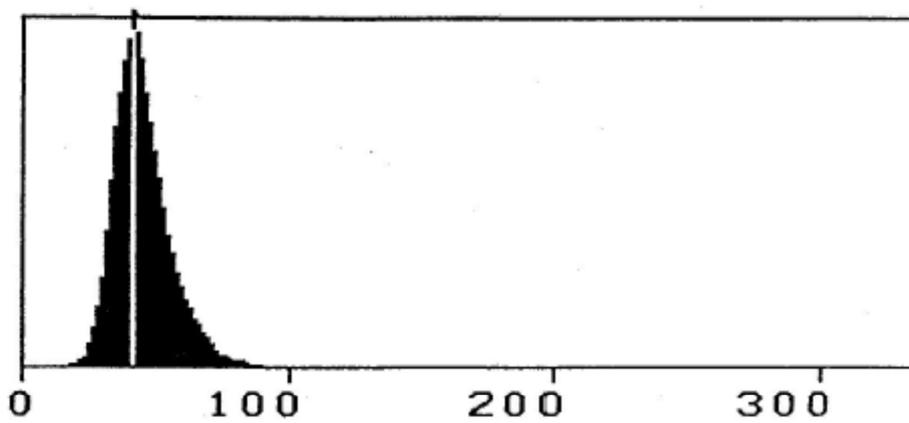
Bon M.	169 μm^3
Romagnesi H.	μm^3
Jülich W.	μm^3
Marchand A.	178 μm^3
Moser M.	μm^3

Heterobasidion annosum (Fr.:Fr.) Bref.

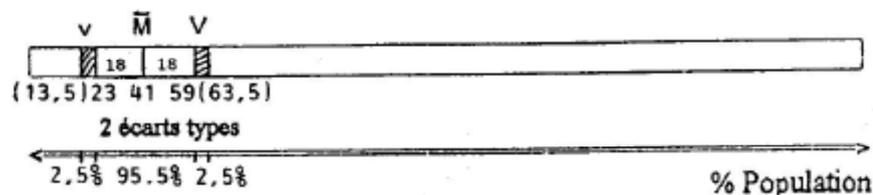
Date: 100894
 Station: Le Thillot
 Flaconnière

Spore largement ellipsoïde à profil dorsal aplati

3900 spores mesurées Volume moyen $41 \mu\text{m}^3$



Moyenne Volumes en μm^3



Quelques valeurs calculées du volume des spores à partir des tailles L et l trouvées dans la littérature. (sans correction de l'épaisseur).

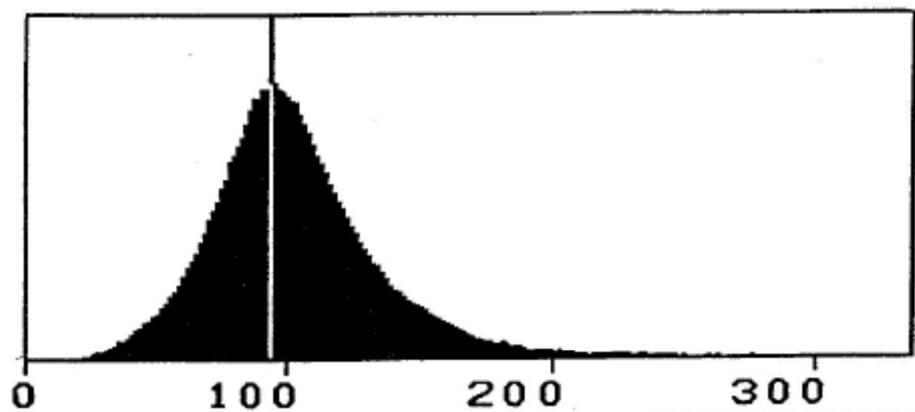
Bon M.	$41,8 \mu\text{m}^3$
Romagnesi H.	μm^3
Jülich W.	28 à $63 \mu\text{m}^3$
Marchand A.	62 à $76 \mu\text{m}^3$
Breitenbach J./Kranzlin F.	37,6 à $63 \mu\text{m}^3$

Gyroporus cyanescens (Bull.:Fr.) Quel.

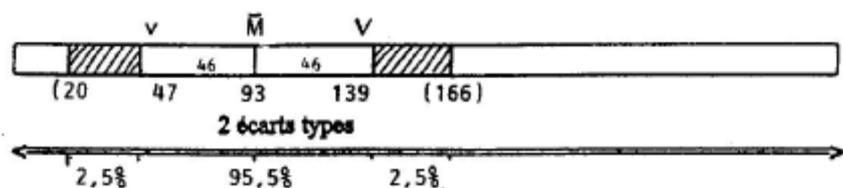
Date: 310794
Station: Le Thillot

Spore largement ellipsoïde

6900 spores mesurées Volume moyen $93 \mu\text{m}^3$



Volumes en μm^3 Moyenne



% Population

Quelques valeurs calculées du volume des spores à partir des tailles L et l trouvées dans la littérature. (sans correction de l'épaisseur).

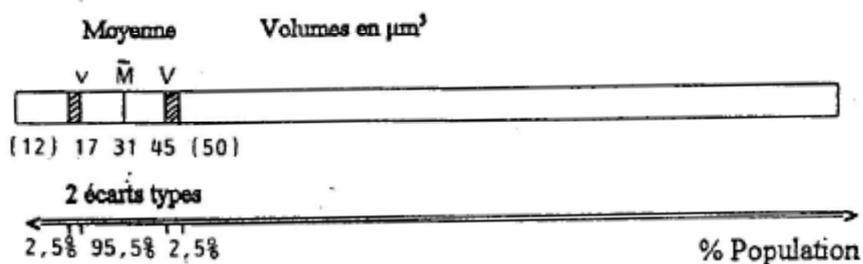
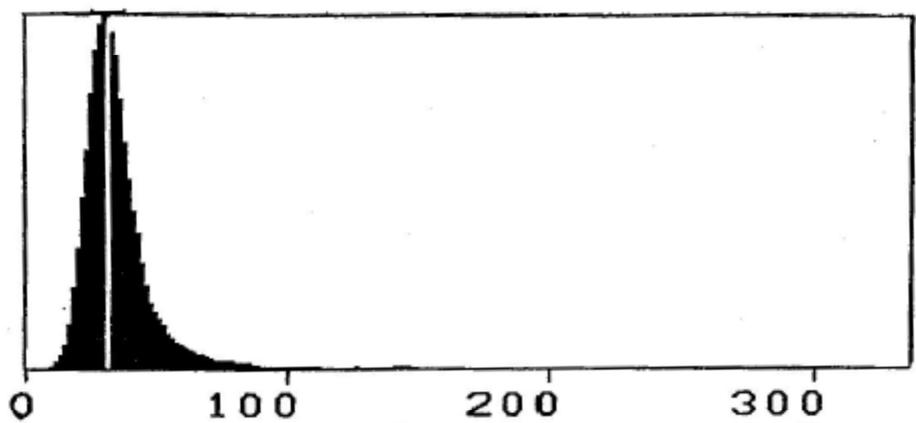
Bon M.	307 à 535 μm^3
Romagnesi H.	104 à 188 μm^3
Jilich W.	μm^3
Marchand A.	142 à 158 μm^3
Moser M.	67 à 535 μm^3

Mycena pura (Pers.:Fr.) Kumm.

Date: 040994
Station: Boulotte 70

Spore elliptique

1900 spores mesurées Volume moyen 31 μm^3



Quelques valeurs calculées du volume des spores à partir des tailles L et l trouvées dans la littérature. (sans correction de l'épaisseur).

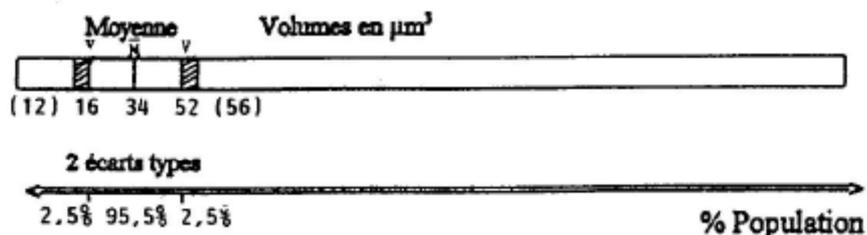
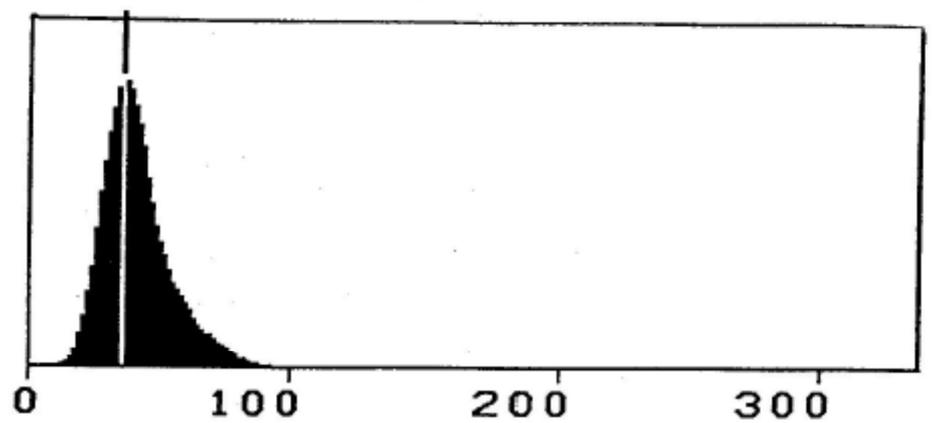
Bon M.	58 μm^3
Romagnesi H.	35 à 55 μm^3
Moser M.	32 à 71 μm^3
Marchand A.	μm^3
Breitenbach J./Kranzlin F.	55 μm^3

Collybia peronata (Bolt.:Fr.) Kumm.

Date: 110894
Station: Le Thillot
Le Prey 88

Spore elliptique à fusiforme elliptique

2000 spores mesurées Volume moyen $34 \mu\text{m}^3$



Quelques valeurs calculées du volume des spores à partir des tailles L et l trouvées dans la littérature. (sans correction de l'épaisseur).

Bon M.	$67 \mu\text{m}^3$
Romagnesi H.	$28 \text{ à } 75 \mu\text{m}^3$
Moser M.	$28 \text{ à } 67 \mu\text{m}^3$
Marchand A.	μm^3
Breitenbach J./Kranzlin F.	$83 \mu\text{m}^3$

E) BIBLIOGRAPHIE

- BON M., 1988.- Champignons d'Europe occidentale. Arthaud Ed. Paris. 368 p.
- BREITENBACH J. et KRÄNZLING F., 1991- Champignons de Suisse : Tome 3-Bolets et Champignons à lames 1ère Partie. Editions Mykologia Lucerne. 364p.
- CLAVEAU J , SCRIBAN R., STROBBEL B. et CARPENTIER Y., 1968 - Etude biométrique des levures en brasserie. Biométrie et microbiologie de quelques levures d'infection. ENSAIA A. Brasserie, Douai 253 (p.73-89), 254 (p.141-150)
- COURTECUISSÉ R. et DUHEM B., 1994 - Guide des champignons de France et d'Europe. Delachaux et Niestlé Ed. Paris-Lausanne ,476 p.
- GROSS G., 1972 - Kernzahl und sporenvolumen bei einigen hymenogasterarten *Z.Pilzk.*38 p. 109-125.
- GROSS G., 1976 - Messen von Pilzsporen *.Z.Pilzk.*42, p.211-213.
- HEINEMANN P. et RAMMELOO J., 1985 - De la mesure des spores et de son expression *.AGARICA* 6 N°12 p.366-380.
- JAHN H., 1979 - Pilze die an Holz wachsen. Verlag Busse HERFORD. 268 p.
- JOSSERAND M., 1952 - La description des champignons supérieurs - Encyclopédie Mycol. 21, Le Chevalier Ed. Paris 338 p.
- JÜLICH W., 1984 - Die Nichtblätterpilze, Gallertpilze und Bauchpilze. Gustav Fischer Verlag - Stuttgart 626 p.
- KÜHNER R. et ROMAGNESI H., 1953 - Flore des Champignons Supérieurs. Masson Paris. 556p.
- KRÜGER H., 1987 - Die normierte sporenmessung - Diskussion von Voraussetzungen und Vorstellung eines Lösungsansatzes *Z.Mykol.*, Band 53(1) p. 99-118
- LAFON-LAFOURCADE S., 1968 - Utilisation d'un compteur de particules par la numération et l'étude de la levure de vin . *Ann. Techn. Agr.* 17 (3) - Faculté des Sciences de Bordeaux p.241-251.

E) BIBLIOGRAPHIE

- BON M., 1988.- Champignons d'Europe occidentale. Arthaud Ed. Paris. 368 p.
- BREITENBACH J. et KRÄNZLING F., 1991- Champignons de Suisse : Tome 3-Bolets et Champignons à lames 1ère Partie. Editions Mykologia Lucerne. 364p.
- CLAVEAU J , SCRIBAN R., STROBBEL B. et CARPENTIER Y., 1968 - Etude biométrique des levures en brasserie. Biométrie et microbiologie de quelques levures d'infection. ENSAIA A. Brasserie, Douai 253 (p.73-89), 254 (p.141-150)
- COURTECUISSÉ R. et DUHEM B., 1994 - Guide des champignons de France et d'Europe. Delachaux et Niestlé Ed. Paris-Lausanne ,476 p.
- GROSS G., 1972 - Kernzahl und sporenvolumen bei einigen hymenogasterarten *Z.Pilzk.*38 p. 109-125.
- GROSS G., 1976 - Messen von Pilzsporen *.Z.Pilzk.*42, p.211-213.
- HEINEMANN P. et RAMMELOO J., 1985 - De la mesure des spores et de son expression *.AGARICA* 6 N°12 p.366-380.
- JAHN H., 1979 - Pilze die an Holz wachsen. Verlag Busse HERFORD. 268 p.
- JOSSERAND M., 1952 - La description des champignons supérieurs - Encyclopédie Mycol. 21, Le Chevalier Ed. Paris 338 p.
- JÜLICH W., 1984 - Die Nichtblätterpilze, Gallertpilze und Bauchpilze. Gustav Fischer Verlag - Stuttgart 626 p.
- KÜHNER R. et ROMAGNESI H., 1953 - Flore des Champignons Supérieurs. Masson Paris. 556p.
- KRÜGER H., 1987 - Die normierte sporenmessung - Diskussion von Voraussetzungen und Vorstellung eines Lösungsansatzes *Z.Mykol.*, Band 53(1) p. 99-118
- LAFON-LAFOURCADE S., 1968 - Utilisation d'un compteur de particules par la numération et l'étude de la levure de vin . *Ann. Techn. Agr.* 17 (3) - Faculté des Sciences de Bordeaux p.241-251.

MARCHAND A., 1971-1986 - Champignons du Nord et du Midi Hachette Editions - France :Tome I , 264 p. et suivantes.

MOSER M., 1983 - Kleine Kryptogamenflora . Die Röhrlinge und Blätterpilze Gustav Fischer Verlag , Stuttgart - New York. 533p.

PARMASTO E. et PARMASTO I., 1987 - *Bibliotheca Mycol.* 115 - Variation of basidiospores in the Hyménomycètes and its significance to their taxonomy . Appendix 2 T.Möls Testing of the population homogeneity J.CRAMER Berlin - Stuttgart p.141-147

REHNBERG B.G., SCHULTZ D.A. and RASCHKE R.L., 1982 - Limitations of electronic particle counting in reference to algal assays. J.Walter Poll . Control Ass. 54 N°2 U.S Environmental Protection Agency - Ecology Branch Athens Ga., p.181-186

SHOAF W.T. et LIUM B.W., 1976 - An evaluation of methods for measuring algal growth. J.Res. U.S. Géol. Survey N°4, Doraville Ga., p. 497 - 504.

WALES M., 1962 - Particle size distribution in rubber latex J.Phys.Chem. 66 Shell development Co - Emeryville California .1768-1772.