

# La mesure des spores

V2307

Note: écrit principalement à propos des *Russula* et des *Lactarius*, mais utile sans doute pour l'ensemble des champignons.

- **Les indispensables mesures sporales**

Très vite la nécessité d'une mesure correcte des spores s'impose au débutant mycologue qq temps après l'achat de son premier microscope. La consultation de n'importe quelle clé de détermination l'a convaincu: "  $> 8 \mu$  mais bien sûr c'est *R.sp1* !,  $< 8 \mu$  c'est *R.sp2* ". Quelques récoltes plus tard, pour peu que qq doutes aient envahi son esprit, le poussant à faire de nouvelles mesures, c'est moins clair... et cela ne va s'arranger avec le temps.

La prise de conscience de la grande variabilité des mesures sporales sera plus ou moins longue. Pour moi cela c'est passé par la mise en place d'un **protocole** de plus en plus en plus stricte. Avec la vague idée que les mycologues, de toutes façons faisaient des mesures un peu en amateur, avec de relatives notions de statistiques, idée favorisée sans doute par un parcours professionnel entièrement passé aux sein des sciences "dures", mais la suite me prouva que je n'avais pas tout à fait raison.

J'ai donc multiplié les mesures, des mêmes récoltes, des mêmes stations, des mêmes espèces. Travailler sur des stations bien identifiées, les suivre au cours des années est potentiellement plein d'enseignement. C'est ce que j'ai fait, en particulier pour mes champis favoris, *Lactarius* et *Russula*, mais je ne doute pas que cela s'applique à l'ensemble des champignons. La seule conclusion valide, 25 ans plus tard, est que les mesures sporales sont de fait ...**très variables** et donc, au premier abord décevantes.

Variables certes, mais certainement pas inutiles comme on le verra. Cette variabilité en rejoint bien d'autres, formes et dimensions des éléments du contenu du piléipellis ou de l'ornementation des spores si on en reste par exemple aux *Lactaires* ou *Russules*. Mais qq escapades sur d'autres genres me conduisent aux mêmes résultats, voir par exemple la forme et les dimensions des cystides sur les lamelles d'*Agrocybe praecox*.

- **Protocole**

- **Sporée**

Les sporées sont faites directement sur lamelle de verre. La quantité optimum de spores à obtenir sur la lamelle dépend du but recherché. Elle n'est pas la même si l'on veut évaluer la couleur de la sporée ou faire une mesure des dimensions sporales à l'aide du microscope. Une saturation de la lame dans le premier cas n'est pas un problème. Pour une bonne mesure, la "charge" sporale (pas virale!) ne doit être ni trop faible, ni trop élevée. Sur des champignons venant d'être récoltés, 2 à 3 heures de sporulation sont, en général suffisantes.

- **Réactifs**

Le choix du réactif dépend du champignon. Concernant les *Russulales*, le **Meltzer** est de rigueur. L'amyloïdie des spores permet une meilleure observation de l'ornementation et de la paroi. Pour le reste le **Rouge Congo** est l'autre réactif privilégié. Il permet en général une meilleure visibilité des parois. La couleur des spores s'apprécie dans l'eau, mais des spores hyalines peuvent manquer de contraste.

Il est important de faire des comparaisons de dimensions sporales à **réactif identique**. En effet, la mesure dépend de celui ci de façon significative, point souvent négligé des mycologues. Autre point perturbant les mesures, certaines spores se gonflent en absorbant le réactif, des spores cylindriques ressemblent plus à des outres au bout de quelque temps (voir par exemple les spores des *Trametes*). La précision sur certaines spores s'en ressent inévitablement. Donc faire vite et mesurer des spores qui ont conservé leur forme initiale.

- **Profils**

Une spore est un objet à 3 dimensions et s'observe en projection au microscope. La plupart du temps une symétrie axiale réduit les caractéristiques à 2 valeurs appelées longueur (L) et largeur (l ou e). Choisir un profil bien définie est nécessaire pour faire des comparaisons. Sauf mention contraire, nos mesures ont été réalisées avec 2 types de profils **costal** ou (et) **circulaire** (en plongée). Ils peuvent être en proportion variable dans la préparation. Il faut exclure les spores en position mal définie, en choisissant des spores "**à plat**", ceci se fait en exigeant une mise au point correcte sur les parois pour l'ensemble du pourtour. Si un profil circulaire se détermine facilement, ce peut être plus difficile dans le cas "costal" en particulier si l'apicule est peu visible, on cherchera le coté adaxial qui présente souvent une partie linéaire correspondant à la plage supra-apiculaire et ceci facilitera le choix. [Spores 1](#)

- **Nombre de spores mesurées**

Le nombre de spores mesurées est un paramètre important pour définir la précision sur la mesure des dimensions. Dans notre cas il est de l'ordre de **n= 20 à 25 (30)**. Nous verrons que c'est bien suffisant.

- **Autres**

- N'inclure **ni** l'ornementation, **ni** l'apicule dans la mesure de la spore. [Spores 3](#)
- S'efforcer d'être impartial dans le choix des spores (en excluant les éléments manifestement hors norme). Changer de temps en temps la localisation sur la lamelle.

- **Présentation de la mesure**

On trouvera le résultat généralement sous cette forme:

–  $L=7.8 \pm 0.4 \mu$ ,  $e=6.0 \pm 0.2 \mu$ ,  $Q=1.29 \pm 0.06$ ,  $n=20$ .(Meltzer),  $\Phi= 6.1 \pm 0.2 \mu$ ,  $n=23$  –

- **L**- longueur de la spore
- **e**- largeur de la spore
- **Q**- rapport L/e : spores globuleuses, subglobuleuses, subcylindriques, elliptiques...

Les spores sont mesurées, sauf mention du contraire, en profil costal.

Attention: distinguer l'aspect dans la préparation de la forme réelle de la spore. Des spores à Q élevé peuvent apparaître subglobuleuses ! Nécessité de bien sélectionner les spores mesurées (mise au point).

- **Φ**- diamètre des spores à profil circulaire.

Pour chaque mesure, on donne la valeur moyenne, et le "rms" (déviations standard) de la distribution

- **Mesurer une spore**

- **Mesurer** est qq chose de fondamental dans toute science, en mycologie, mesurer les dimensions sporales de chaque espèce semble aller de soit et en effet dans toute la littérature mycologique un peu sérieuse, on peut trouver des données sur, par exemple, la longueur des spores. Noter qu'il est souvent difficile, sinon impossible de connaître exactement la signification des nombres fournis. Mais faire une mesure n'est pas suffisant, le résultat est il assez bon pour ce que l'on veut en faire ?, quelle est la meilleur façon de le présenter ?

Le moins que l'on puisse dire c'est que l'unanimité ne règne pas sur ce point chez les mycologues anciens ou contemporains. Prenons la longueur de la spore par exemple:

- **Chez les classiques,**

*R.integra*: 8.2-10.7  $\mu$  (Kuh-Rom.), 8-11  $\mu$  (Bon), 8.8-11.2  $\mu$  (Sar), (7.7)-8.2-10-11  $\mu$  (Rom), soit 2 à 4 nombres (parfois plus: (7.5)-8-10.7-(13-15) *R.adulterina*, Rom.) avec un nombre de chiffres significatifs variable, sans indication de précision et sans que soit précisé nulle part dans l'ouvrage leur signification exacte.

Sans doute évidente pour leur auteur ou au moment de leur publication et reflet du peu d'importance attaché à la mesure.

- **Chez les modernes** (publications anglophones)

Le nombre de chiffres est toujours là (4 à 5) et un effort est fait pour leur définition, mais il n'y a aucun consensus. Exemples:

- *R.blumiana* [Plant Systematics and evolution, 2018]: (7.6)8.3-8.8-9.3(9.9)  $\mu$ , correspondant aux limites 5%, moy.-rms, moy., moy.+rms, 95%.
- *R.vinosoflavescens* [Mycotaxon 2017]: 6.4-7.2-8.1-9.0  $\mu$ .  
Significations ? Mieux vaut donner la parole aux auteurs! [Voir](#)
- *Boletus roseogriseus* [Czech Mycology, 2014]: (11.0)-12.0-14.5-(16.7)  $\mu$ .  
Ici, les nombres centraux correspondent aux limites 90% et les nombres entre parenthèses à des minimum et maximum de mesures individuelles.
- PAM et al., [Voir](#) ("Amanita Section Phalloideae...", in Biology mai-2022).

On trouve souvent des chiffres représentant des déciles (en particulier chez les mycologues francophones), notions qui, pour moi, relève des données (à hautes statistiques) des sciences économiques ou des sciences des populations mais qui ne devraient pas s'appliquer à la mycologie.

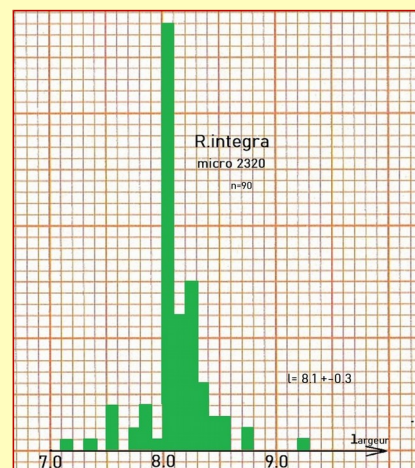
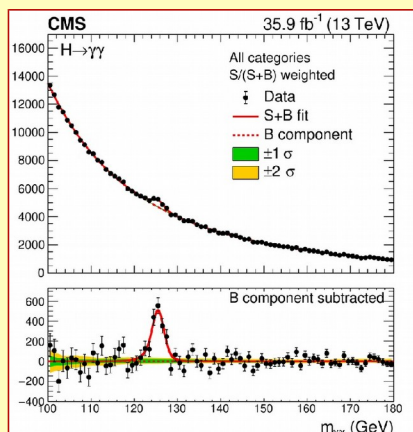
Outre une utilisation, pour le moins parcimonieuse, par les mycologues ou mycophiles, déciles ou pas, personne ne semble s'être préoccupé véritablement de la précision sur les valeurs limites fournies.

Nous croyons que, pour le mycologue basique, 2 nombres, utiles et contrôlables, suffisent pour qualifier une mesure sporale, la **valeur moyenne** et la **déviati on standard** (rms en anglais), cette dernière reliée à la largeur de la distribution et à la précision sur la mesure.

La situation est la même en physique : donner la longueur d'une spore n'est pas différent du point de vue statistique de donner la masse du boson de Higgs, l'expérience CMS au Cern à Genève donne ainsi en 2020:  $m_H = 125,35 \pm 0.15$  GeV . A noter que le nombre de chiffres significatifs est le même pour la moyenne et la déviati on standard.

- **Mesures sporales pour une sporée...**

Un histogramme est sans doute la meilleure façon de présenter le résultat des mesures, que ce soit pour obtenir la masse du boson de Higgs ... ou la largeur des spores d'une récolte de *R.integra*.



La **distribution** présente un pic et peut être ajustée par une fonction gaussienne dont les paramètres peuvent être pris, en première approximation pour la moyenne  $X$  et la déviati on standard  $S$  mesurées. Alternativement, de façon plus artisanale, on peut calculer la moyenne arithmétique et la déviati on standard correspondant aux  $n$  spores mesurées,  $X_n$  et  $S_n$ , valeurs approchées de  $X$  et  $S$ .

Pas question de s'encombrer de formules mathématiques, une petite calculatrice nous donnera les résultats. La mienne (Casio fx-82MS) est en fonction depuis 2005, apparemment sans problème énergétique depuis ce temps. La mesure sera donc réduite à ces 2 nombres: dans le cas de la largeur de la spore de la récolte de *R.integra* par exemple,  $X_n = 8.1$ ,  $S_n = 0.3$  que l'on écrira  $l = 8.1 \pm 0.3 \mu$ .

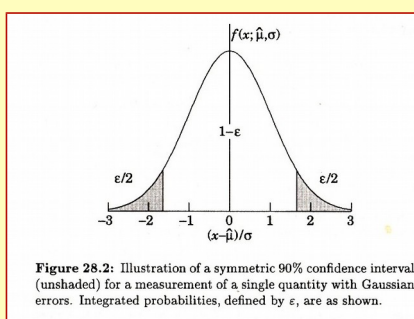
Rappelons l'interprétation statistique d'un tel résultat:

la probabilité qu'une spore soit mesurée dans l'intervalle,  $8.1-0.3 < l < 8.1+0.3$  soit  $7.8 < l < 8.4$  est de 68.3 % .

La relation entre intervalle et probabilité est indiquée dans le tableau suivant :

Intervalle (en unités standard)	probabilité
1	68.3 %
2	95.5 %
3	99.7 %
3.89	99.99 %

Figure et tableau ci-dessous seront très utiles pour juger du résultat de la mesure d'une récolte par rapport à une récolte référence.



242 28. Statistics

Table 28.1: Area of the tails  $\epsilon$  outside  $\pm\delta$  from the mean of a Gaussian distribution.

$\epsilon$ (%)	$\delta$	$\epsilon$ (%)	$\delta$
31.73	$1\sigma$	20	$1.28\sigma$
4.55	$2\sigma$	10	$1.64\sigma$
0.27	$3\sigma$	5	$1.96\sigma$
$6.3 \times 10^{-3}$	$4\sigma$	1	$2.58\sigma$
$5.7 \times 10^{-5}$	$5\sigma$	0.1	$3.29\sigma$
$2.0 \times 10^{-7}$	$6\sigma$	0.01	$3.89\sigma$

- **Largeur de la distribution.**

Dans le cas du boson de Higgs, la largeur du pic dû au signal est principalement un effet de la faible statistique, de la présence d'un bruit de fond important et des erreurs dues à l'appareillage. Il en va autrement pour notre mesure de sporée. Dans la majorité des cas elle est de l'ordre  $S = 0.3-0.4 \mu$ . La contribution essentielle provient de la variation intrinsèque des dimensions sporales, une spore est, comme le genre humain, plus ou moins grande. L'erreur (statistique) sur la mesure est faible, une spore seule se mesure à  $0.2-0.3 \mu$  près. Avec l'accroissement du nb de spores mesurées, la contribution devient rapidement de l'ordre de  $0.1 \mu$ .

Il arrive que  $S = 0.5-0.6 \mu$ , voir plus. La raison en est l'apparition de **spores bisporiques** dans la sporée. Les spores sont plus grandes et de plus leur nombre est en proportion variable dans les mesures. A noter que dans le cas des Russula cela reste un phénomène minoritaire. Les queues des distributions peuvent être supprimées. Sinon il est difficile de tirer une valeur utilisable de la moyenne sans un véritable traitement mathématique. La taille des spores peut varier de façon significative localement sur la sporée d'où la nécessité de quelques changements de position lors de la mesure.

- **Nombre de spores mesurées.**

Distinguer la largeur de la distribution, représentée par  $S$  (déviations standard) et l'**erreur sur la moyenne**. Cette dernière diminue comme la racine carrée,  $\sqrt{n}$ ,  $n$  le nombre de spores mesurées et peut donc être rendue aussi petite que nécessaire ( au détriment du temps passé à la mesure). Avec  $n=20$ , l'erreur sur la moyenne (erreur statistique),  $S / \sqrt{n}$ , est déjà  $\sim 0.1 \mu$  ( $S = 0.3-0.4 \mu$ ). Suffisant au vue des erreurs (erreurs systématiques) bien supérieures observées lorsque l'on multiplie les mesures sur sporée pour une même espèce.

La mesure de 2 profils sur la même sporée (costal et circulaire) nous permet d'ailleurs une vérification de l'ordre de grandeur,  $\sim 0.1 \mu$ , de la précision de la mesure sur la moyenne.



- **Nb de chiffres significatifs..**

Ecrire, par exemple,  $Q = 1.28$ , comme on peut le voir un peu partout, est une erreur, toute mesure doit s'accompagner de la mention de sa précision.  $Q = 1.28 \pm 0.09$  est correcte,  $Q = 1.3 \pm 0.1$  est mieux pour un résultat final. La première est à conserver si elle doit être utilisée, par la suite, en combinaison avec d'autres du même type.

- **Mesures sporales pour une espèce...**

La mesure des dimensions sporales relative à une sporée peut se faire avec une précision sur les valeurs moyennes de l'ordre de  $0.1-0.2 \mu$ , même avec une statistique limitée.

Qu'en est il lorsque l'on multiplie les mesures ? On peut améliorer notre connaissance sur une espèce en accroissant le nombre de mesures sporales, considérant:

- plusieurs individus d'une même récolte,
- plusieurs récoltes d'une même station,
- plusieurs stations d'une même espèce (éloignées ou pas).

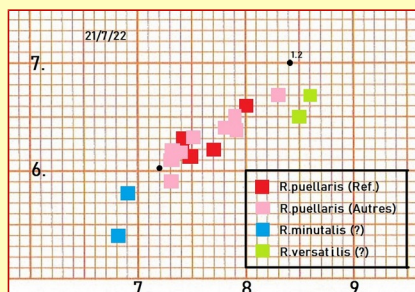
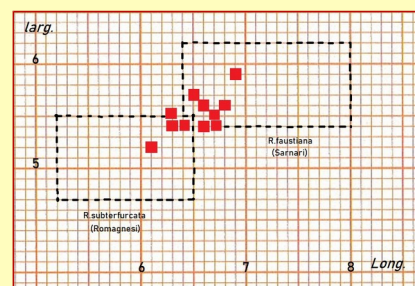
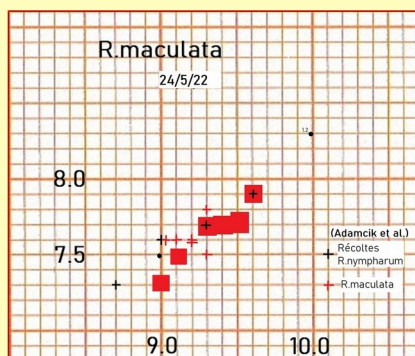
Le but n'est pas la détermination de dimensions absolues, qui seraient peu utiles, mais l'obtention de mesures pouvant aider à la séparation d'espèces proches.

Là aussi, calme plat dans la littérature. Les mesures sporales fournies proviennent elles de l'étude d'un seul individu, d'une moyenne sur plusieurs champignons, sur plusieurs récoltes ? We don't know...

Las, quelques milliers sporées plus tard, le résultat, en ce qui nous concerne, se montre assez décevant, chaque nouvelle mesure apparaît souvent comme microsporée ou macrosporée !, doute sur la détermination ... ou tentation de définir des formes, variétés ou nouvelles espèces.

La valeur moyenne (définie à  $0.1-0.2 \mu$ ) atteint des variations jusqu'à 10 fois supérieures et ceci concerne pratiquement l'ensemble des espèces. La mesure sporale est entièrement dominée par les **erreurs systématiques**.

Voir ci-dessous des exemples concernant "R.nympharum" (récoltes sur une unique station), R.subterfucata (même lieu) et R.puellaris (stations multiples).



On peut observer une caractéristique qui affecte toutes les espèces de Russula: une corrélation entre longueur et largeur de la spore qui, au moins en partie tend à conserver peu ou prou, la forme de la spore (définie par le Q sporale) grâce à l'élasticité des parois sporales. Les raisons de cette variabilité sont sans doute multiples: maturation du spécimen (doit on s'attendre à des dimensions sporales identiques pour R.romellii  $\Phi 160$  mm ou  $\Phi 60$  mm ?), conditions de réalisation de la sporée, conditions de croissance et conditions édaphiques sont certainement conséquentes. Il y a là tout un champ d'études...

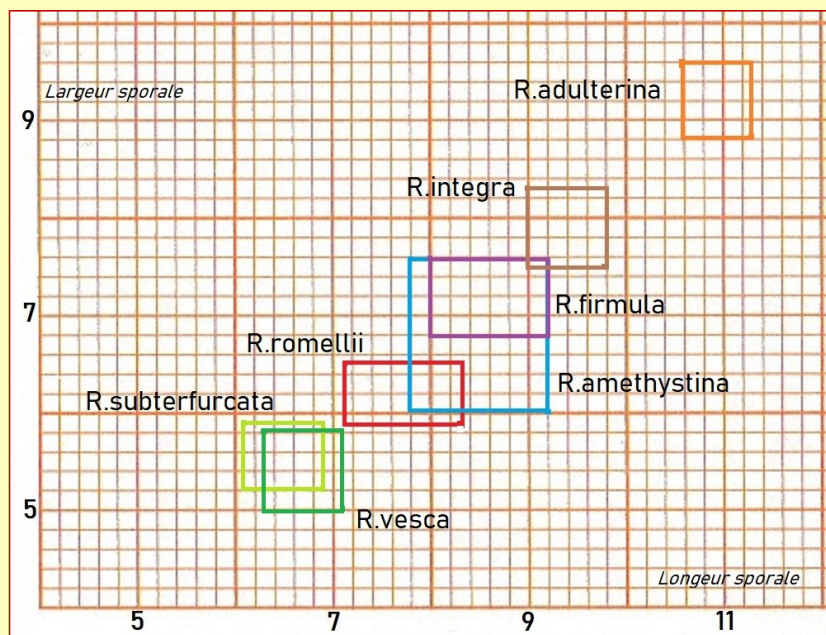
Il est donc vain de rechercher une grande précision sur la mesure d'une sporée, il est mieux de multiplier les mesures sur différentes récoltes afin d'en contrôler la variabilité.

- En ce qui nous concerne, pour chaque espèce, nous définirons:
  - des récoltes "**références**" où l'ensemble des données acquises (macro et micro) permettent une détermination avec un bon niveau de confiance.
  - des valeurs  $\Delta L$  et  $\Delta l$  définissant un rectangle (longueur vs largeur) dans lequel peuvent s'inscrire l'ensemble des récoltes référentes.
  - une notation, ex:  $\text{8-8.7} \times \text{6.7-7.2}$  (n), indiquant les dimensions minima et maxima des moyennes de longueur et largeur sporales (en  $\mu$ ) des n récoltes référentes. Le nombre de récoltes est évidemment une donnée importante.

Quelques résultats de mesures:

	Nb de récoltes	limites sporales ( $\mu$ )	$\Delta L$ ( $\mu$ )	$\Delta l$ ( $\mu$ )
<b>R.vesca</b>	13	$6.3-7.1 \times 5.0-5.8$	0.8	0.8
<b>R.integra</b>	7	$9-9.8 \times 7.5-8.3$	0.8	0.8
<b>R.adulterina</b>	6	$10.6-11.3 \times 8.8-9.6$	0.7	0.8
<b>R.firmula</b>	6	$8.0-9.2 \times 6.8-7.6$	1.2	0.8
<b>R.subterfurcata</b>	11	$6.1-6.9 \times 5.2-5.9$	0.8	0.7
<b>R.romellii</b>	29	$7.1-8.3 \times 5.9-6.5$	1.2	0.6
<b>R.amethystina</b>	38	$7.8-9.2 \times 6.0-7.6$	1.4	1.6

En mode visuel:



## Conclusions

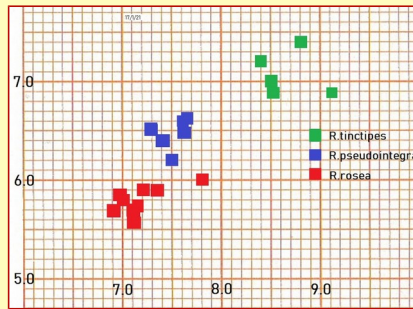
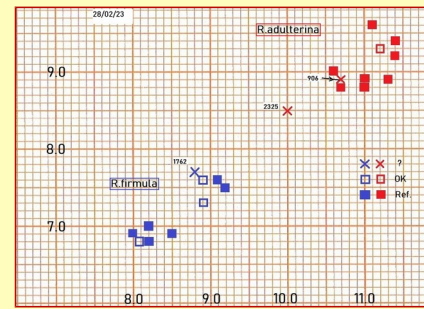
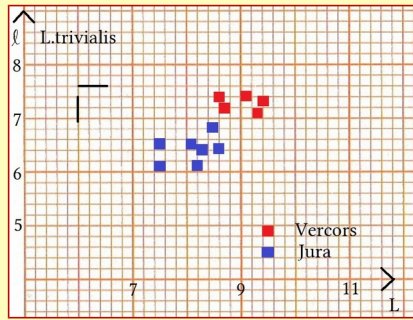
- Un dernier tableau pour tenter de résumer le tout:

Dimensions sporales	notations à utiliser (L x l)	précision mesure ( $\mu$ )
<b>pour 1 spore</b>	$8.1 \times 6.5 \mu$	$\sim 0.2-0.3$
<b>pour une sporée</b>	$7.9 \pm 0.4 \times 6.4 \pm 0.3 \mu$	$\sim 0.1$
<b>pour une espèce</b>	(n) $6.3 - 7.1 \times 5.0 - 5.8 \mu$	$\Delta L \sim 0.8-1.$

## A retenir

- Une bonne précision sur la valeur moyenne d'une sporée peut être obtenue avec un nombre limité de spores mesurées (n=20-25).
  - Les mesures sporales sont dominées par des erreurs systématiques qui limitent fortement leur utilisation dans les déterminations d'espèce.
  - Pour préciser un peu mieux leur origine et possiblement améliorer l'utilisation des mesures sporales, il faut faire des mesures comparatives impliquant une même station, même récolte, exemplaires même diamètre, plusieurs stations même espèce, plusieurs espèces au même moment...etc...etc.
- Beau programme pour les 10 prochaines années !

- Quelques exemples pour finir



Il y a t'il 2 espèces de *L. trivialis* ? C'est ce que suggère la première figure. En accord avec Kuhner (BSMF-91 1975) ... mais, bien sûr plus de statistique serait bienvenu.

Sur la figure centrale on voit que *R. adulterina* et *R. firmula* sont bien séparées par les mesures sporales... ce qui n'empêche pas les récoltes énigmatiques.

La dernière figure montre les résultats concernant 3 russules de début de saison, poussant souvent en mélange et que l'on peut assez facilement confondre sur le terrain.