

Laboratoire de Biométrie (associé auf CNRS), Villeurbanne, France

Estimation d'un Volume a Partir de Coupes Sériées: Sous-Echantillonnage, Covariogramme Transitif et Calcul de Précision

(Estimation of Volume by Systematic Sections: Subsampling, Transitive Covariogram and Calculation of Accuracy)

(Bestimmung des Volumens durch systematisches Schneiden: Sub-Sampling, Transitive Covariogrammierung und Genauigkeitsbestimmung)

Par Jean THIOULOUSE¹⁾), Bernard MATHY et Henri PLOYE

Avec 3 figures

(Manuskript eingelangt am 5. November 1984, angenommen am 3. April 1985)

Summary

A particular method to estimate the volume of a solid by systematic sections is presented. In order to reduce the cost of measurements and experimentation the whole series of sections is subsampled.

Accuracy of final estimations depends on measurement errors and sampling ratio. The paper describes the calculation procedures of accuracy according to the theory of regionalized variables (MATHERON, 1965, 1970).

A practical application to the imaginal wing disc of *Bombyx mori* is proposed. The findings show that the choice of an optimal sampling interval can be deduced from study of preliminary series of sections. Our results compare very well with those of CRUZ-ORIVE and MYKING (1981), obtained by means of a Monte Carlo method.

Zusammenfassung

Es wird eine spezielle Methode vorgestellt, die es gestattet, das Volumen fester Körper durch systematisches Schneiden zu erfassen. Um die Kosten der Messungen und der Experimente zu mindern, wird die gesamte Serie in Unter-Stichproben zerteilt.

Die Genauigkeit der endgültigen Bestimmungen hängt vom Meßfehler und von der Probenahme ab. In der Arbeit wird ein Verfahren beschrieben, mit dem eine hohe Genauigkeit erreicht werden kann und bei dem die Theorie der regionalen Variablen angewandt wird (MATHERON, 1965, 1970). Es wird eine praktische Anwendung am Beispiel der imaginalen Flügel von *Bombyx mori* vorgestellt. Die Befunde zeigen, daß die Auswahl und eine optimale Form der Probenentnahme erreicht werden kann, wenn vorher die Schnitte untersucht und die Entnahmeintervalle bestimmt werden. Die Ergebnisse der Arbeit sind gut vergleichbar mit den Resultaten, die CRUZ-ORIVE und MYKING (1981) mit der Monte-Carlo-Methode erreichen konnten.

¹⁾ Remerciements: Les auteurs remercient vivement le Dr. L. M. CRUZ-ORIVE pour leur avoir signalé une erreur dans la première rédaction du manuscrit, ainsi que pour les critiques constructives dont il leur a fait part.

²⁾ Dr. Jean THIOULOUSE, Université Claude Bernard Lyon I, U.E.R.S.N., Département de Biologie Générale et Appliquée, Laboratoire de Biométrie, 43 Bd. du 11 Nov. 1918, F-69622 Villeurbanne Cedex, France.

Résumé

La méthode exposée est l'une de celles qui permettent l'estimation du volume d'un solide au moyen de coupes sériées. La réduction du coût des mesures et par conséquent de l'expérimentation impose un sous-échantillonnage de la série complète de coupes. Toutefois la précision du résultat obtenu dépend des erreurs de mesure et de l'intensité de l'échantillonnage.

Nous décrivons ici les procédures de calcul de cette précision dans le cadre de la théorie des variables régionalisées (MATHERON, 1965, 1970). L'application proposée concerne le disque imaginal alaire de *Bombyx mori*. Elle montre que le choix d'une maille d'échantillonnage optimum est possible à partir de séries de coupes préliminaires. Nos résultats sont cohérents avec ceux qu'obtiennent CRUZ-ORIVE et MYKING (1981) par la méthode de Monte Carlo.

Introduction

Dans le domaine de la Stéréologie appliquée à la Biologie, les problèmes d'échantillonnage sont parmi ceux qui depuis une vingtaine d'années suscitent la publication d'un grand nombre de travaux comme en témoigne l'ouvrage de WEIBEL (1979, 1980). Les études récentes ne font que confirmer cette tendance (CRUZ-ORIVE, 1982; CRUZ-ORIVE et MYKING, 1981; CRUZ-ORIVE et WEIBEL, 1981; GUNDERSEN et JENSEN, 1983; GUNDERSEN et ØSTERBY, 1981; KROUSTRUP et GUNDERSEN, 1983; MATHIEU et al., 1981). Dans une situation déterminée, le choix d'une méthode d'échantillonnage est largement conditionné par le coût de l'expérimentation et de la mesure. Toutefois, une optimisation présente bien des difficultés d'appréciation.

Nous avons voulu montrer ici que ce coût pouvait être sensiblement réduit en abordant les problèmes d'échantillonnage au moyen de la théorie des variables régionalisées (MATHERON, 1965, 1970). L'application que nous proposons concerne l'estimation du volume d'un objet particulier: le disque imaginal alaire de *Bombyx mori*. Notre méthode permet de réduire le nombre de coupes utilisées sans altérer beaucoup la précision qui d'ailleurs est très voisine de celle qu'obtiennent CRUZ-ORIVE et MYKING (1981) par la méthode de Monte-Carlo.

I. Position du problème

Soit un objet E défini par une surface enveloppante enfermant un volume V. L'appareillage technique permet de découper E en tranches fines d'épaisseur t (technique dite des coupes sériées) et de mesurer sur chaque coupe la surface σ de l'intersection. On désire estimer, au moindre coût expérimental, la quantité V par un ensemble limité de mesures de σ , ainsi que la précision de cette estimation. La question est posée concrètement à propos d'une étude du disque imaginal alaire chez *Bombyx mori* (MATHY, 1979).

On trouvera ici quelques indications pour la mise en œuvre de la théorie des représentations transitives de MATHERON (1965, 1970) sur un matériel précis. Les mesures de V par la technique des coupes sériées implique trois niveaux d'examen:

a) **Modèle théorique:** Supposons Δ la direction de coupe choisie arbitrairement et fixée. Un plan P perpendiculaire à l'axe Δ coupe effectivement l'objet E si l'intersection de P et Δ a une abscisse x sur Δ comprise entre 0 et L (Fig. 1).

L'intersection de P et de E a une surface σ , fonction de x, nulle à l'extérieur de [0, L]. La quantité V est définie par:

$$(1) \quad V = \int_{\mathbb{R}} \sigma(x) dx = \int_0^L \sigma(x) dx$$

b) **Série de coupes complète:** Pratiquer des coupes sériées, c'est choisir un nombre fini de plans de coupe parallèles équidistants d'une épaisseur t. Supposons que n de ces plans coupent

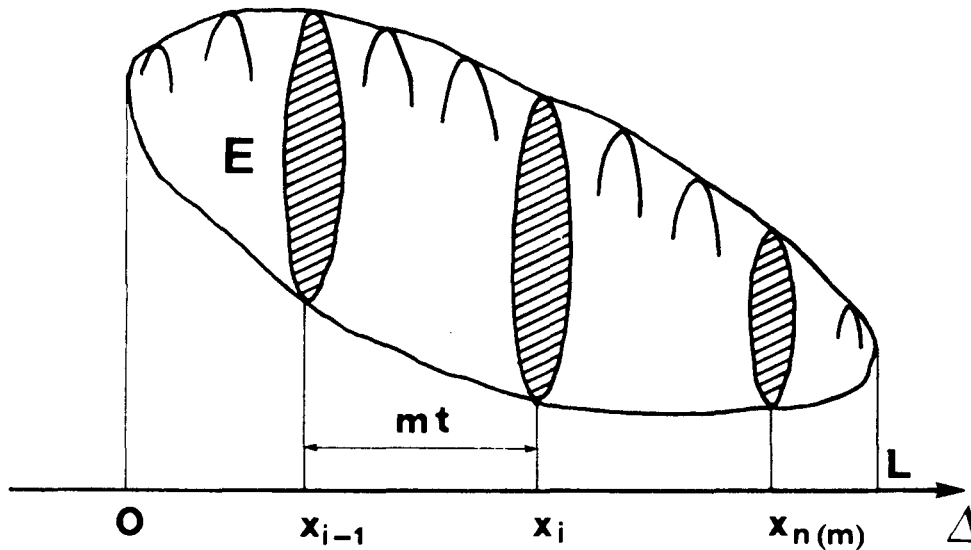


Figure 1: Coupes s eries dans l'objet E. – Sous-échantillonnage d'une s erie de coupes d'épaisseur t; mt est la maille d'échantillonnage.

effectivement l'objet E. La coupe débutant à un endroit arbitraire par rapport à E, le premier plan coupant E a une abscisse sur Δ aléatoire uniformément répartie sur $[0, t]$. Notons P_1, \dots, P_n les plans de coupe, et $\sigma_1, \dots, \sigma_n$ les mesures de surface correspondantes. On peut estimer sans biais la quantité V par la quantité:

$$(2) \quad \hat{V} = t \sum_{k=1}^n \sigma_k$$

c) **Sous-échantillonnage d'une s erie de coupes:** La s erie complète de mesures est, par elle-même, un échantillon extrait d'une population par le choix aléatoire de la position de la première coupe. La quantité de travail nécessaire au dépouillement demande un sous-échantillonnage, c'est-à-dire le choix dans la s erie complète d'un nombre limité de coupes effectivement étudiées. Une méthode d'échantillonnage acceptable est l'échantillonnage systématique à pas constant m (bibliographie dans CRUZ-ORIVE et MYKING, 1981).

On choisit au hasard une coupe initiale parmi les m premières, puis on extrait systématiquement une coupe sur m. On obtient ainsi une série de $n(m)$ coupes de maille mt et le nouvel estimateur:

$$(3) \quad \hat{V}_m = mt \sum_{k=1}^{n(m)} \sigma_k$$

d) **Matériel expérimental:** Une larve de *Bombyx mori* possède deux disques imaginaux alaires m sothoraciques, ensembles cellulaires formant l'ébauche des ailes de l'insecte adulte. Un tel disque prélevé chez une larve du premier jour du troisième stade est découpé en tranches d'épaisseur $t = 3 \mu\text{m}$. Sur chaque coupe, fixée et colorée, le QUANTIMET 720 permet de mesurer σ , la surface totale de l'intersection des cellules avec le plan de coupe.

Ces mesures doivent servir à l'estimation du volume total du disque. L'expérimentateur cherchera donc à estimer V au moindre coût pour une précision donnée, son objectif étant d'étudier la croissance du disque au cours du développement larvaire.

Les données numériques sont consignées dans le tableau 1.

Tableau 1: Surfaces (μm^2) de la section du disque imaginal mesurées sur une série complète de coupes.

867-1139-1665-2134-2234-2532-2541-2905-2684-3134-2785-3096-3388-3393-3258-3594-3766-3846-3985-3984-4376-4176-4090-4121-3971-4318-4042-4069-3966-4247-4157-3924-3684-3771-3575-3639-3324-3305-2408-2074-1730-1511-1547-1243-751-369

II. Méthods

a) **Notations:** Une variable régionalisée définie sur un intervalle $[0, L]$ est donnée par sa valeur f_i en n points d'abscisses:

$$(4) \quad x_i = (i-1) t \quad 1 \leq i \leq n$$

Le premier sert arbitrairement d'origine. Ces points sont régulièrement espacés de la maille d'échantillonnage t .

La quantité:

$$(5) \quad Q = \int_0^L f(x) dx$$

doit être estimée. Si on utilise toutes les coupes, l'estimateur est:

$$(6) \quad \hat{Q}(t) = t \sum_{k=1}^n f_k$$

$$(7) \quad E(\hat{Q}(t)) = Q$$

Si on utilise seulement une coupe sur m (soit n/m coupes), l'estimateur est:

$$(8) \quad \hat{Q}(mt) = t \sum_{j=0}^{n/m} f_{x_1+jmt}$$

$$(9) \quad E(\hat{Q}(mt)) = Q$$

où x_1 est l'abscisse de la première coupe sélectionnée ($1 \leq x_1 \leq mt$).

Nous noterons les variances d'échantillonnage par:

$$(10) \quad \text{Var}(\hat{Q}(mt)) = E[(Q - \hat{Q}(mt))^2]$$

et la précision sera exprimée par:

$$(11) \quad A(\hat{Q}(mt)) = \frac{2 \sqrt{\text{Var}(\hat{Q}(mt))}}{\hat{Q}(mt)}$$

b) Utilisation du covariogramme: Le calcul de la précision s'appuie sur la notion de covariogramme transitif (MATHERON, op. cit.).

C'est une fonction de IR dans IR définie par:

$$(12) \quad g(h) = \int_{\mathbb{R}} f(x) \cdot f(x+h) dx$$

Cette fonction est estimée aux points $\dots, -nt, \dots, -2t, -t, 0, t, 2t, \dots, nt, \dots$ par les quantités:

$$(13) \quad \hat{g}(kt) = \left(\sum_{i=1}^{n-k} f_i \cdot f_{i+k} \right) t \quad \text{avec } \hat{g}(-kt) = \hat{g}(kt)$$

Elle est inconnue ailleurs.

Le point essentiel de la mise en œuvre est le choix d'une fonction g_1 , connue en tout point, appelée covariogramme modélisé, qui approche au mieux l'ensemble des points $(kt, \hat{g}(kt))$. Aucun critère d'ajustement n'est imposé par la théorie. Seules sont connues des propriétés très générales du covariogramme n'induisant aucune famille de courbes particulière. La variance d'échantillonnage sera calculée à partir de ce modèle, lequel est déterminant.

Chaque matériel devra donc faire l'objet d'un investissement méthodologique approfondi où les critères de jugement numérique seront alliés aux critères de cohérence interne des résultats obtenus (reproductibilité, stabilité, vraisemblance, non contradiction expérimentale).

c) Calcul de la variance d'échantillonnage: La variance d'échantillonnage théorique pour une variable régionalisée f , définie par son covariogramme g , est donnée, pour une maille d'échantillonnage t , par:

$$(14) \quad \text{Var}(\hat{Q}(t)) = t \sum_{k=-\infty}^{+\infty} g(kt) - \int_{-\infty}^{+\infty} g(h) dh$$

Elle sera estimée par:

$$(15) \quad \text{Vâr}(\hat{Q}(t)) = t \sum_{k=-\infty}^{+\infty} g_i(kt) - \int_{-\infty}^{+\infty} g_i(h) dh$$

Notons ici que les points $x_i = (i-1)t$ peuvent constituer:

- soit un échantillon d'avertissement, à maille serrée, utilisé pour prévoir ce que la variable permet comme allègement des mesures: dans ce cas, la maille d'échantillonnage sert à construire g_1 , lequel est utilisé pour prédire la précision pour un sous-échantillon.

- soit un échantillon définitif, à maille arbitraire t : dans ce cas, on cherchera en même temps à estimer g_1 et prédire $\text{Var}(\hat{Q}(t))$, pour la seule valeur de la maille utilisé effectivement.

d) Règles de correspondance: Lorsque la régionalisation (propriétés de f) induit un covariogramme ne présentant des irrégularités analytiques qu'aux seuls voisinages de 0 et de L , on peut passer du modèle g_1 à l'estimation de la variance d'échantillonnage par une règle de correspondance.

Ainsi si g_1 n'est pas dérivable à l'origine mais admet un développement limité à droite de la forme:

$$(16) \quad g_1(h) = \sum_{j=0}^s c_j h^j$$

alors on obtient directement $\text{Vâr}(Q(t))$ par la relation:

$$(17) \quad \text{Vâr}(Q(t)) = \sum_{j=0}^s C_j t^{j+1} \left[-2 \sin \left(j \frac{\pi}{2} \right) \frac{B_{j+1}}{j+1} \right]$$

où les B_j sont les nombres de BERNOULLI.

$$(18) \quad B_2 = \frac{1}{6} \quad B_4 = -\frac{1}{30} \quad B_6 = \frac{1}{42} \quad B_8 = -\frac{1}{30}$$

si de plus g_1 n'est pas continu à l'origine ce qui implique

$$(19) \quad g_1(0) > \lim_{x \rightarrow 0^+} g_1(x) = \lim_{x \rightarrow 0^-} g_1(x)$$

alors $\text{Vâr}(\hat{Q}(t))$ doit être augmentée de la quantité:

$$(20) \quad t(g_1(0) - \lim_{x \rightarrow 0^+} g_1(x))$$

Les démonstrations sont dans le livre de MATHERON (*op. cit.*). Nous montrons ici qu'elles sont d'emploi accessible pour l'expérimentateur, une bonne compréhension de la théorie n'étant possible que par la consultation de cet ouvrage.

Ces indications d'emploi très simple correspondent théoriquement à une variable régionalisée présentant les propriétés résumées par le schéma de la Fig. 2.

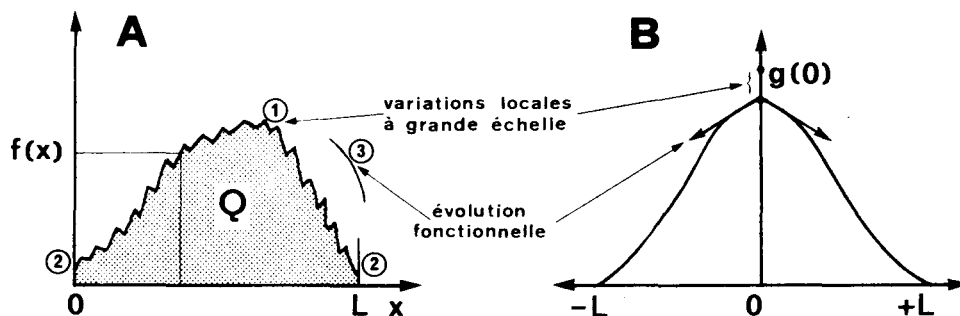


Figure 2: Relations entre variable régionalisée et covariogramme transitif:

A: Représentation graphique de la variable régionalisée. L'erreur commise sur l'estimation de Q provient soit des variations à grande échelle ①, soit de l'erreur de mesure du champ ②, soit de l'évolution de la variable ③.

B: Le covariogramme intègre les éléments ① et ③, mais néglige ② qui doit donc rester peu important.

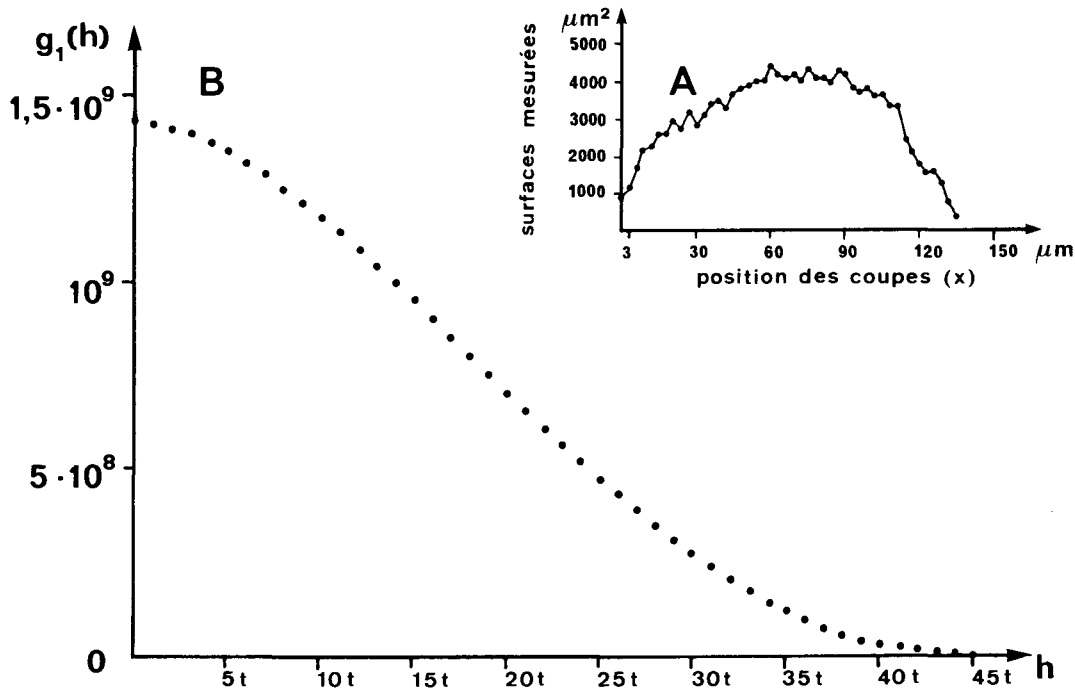


Figure 3: A: Représentation graphique des surfaces mesurées sur la série complète de coupes.
B: Représentation graphique du covariogramme transitif.

III. Analyse locale des covariogrammes

La Fig. 3 fournit une représentation graphique de la variable et de son covariogramme.

L'observation de covariogrammes de ce type est tout à fait essentielle: les seules irrégularités éventuelles se trouvent bien, sur ce matériel expérimental, au voisinage de 0 (validité intrinsèque des mesures, régionalisation fonctionnelle) et au voisinage de L (erreur d'appréciation du champ). Cette dernière est inaccessible par la théorie: il convient donc d'étudier l'estimateur du covariogramme au voisinage de 0.

Si la variabilité des mesures, dite ici variation intrinsèque, appelée par MATHERON effet de pépite est négligeable, il s'agit d'obtenir tout simplement la pente de la tangente à l'origine: les deux premiers points ($h = 0$ et $h = t$) peuvent suffire.

Ceci conduit au modèle le plus simple de la variance d'échantillonnage:

$$(21) \quad \text{Vâr}(\hat{Q}(mt)) = \frac{\hat{g}(t) - \hat{g}(0)}{t} \frac{(mt)^2}{6}$$

où t est la maille d'échantillonnage théorique et mt la maille d'échantillonnage des mesures utilisée pour l'estimation. D'où le modèle 1, simplement déduit de (21) avec les deux premières valeurs du covariogramme.

$$(22) \quad \text{Vâr}(\hat{Q}(mt)) = 3,98 \cdot 10^5 (mt)^2$$

qui conduisent, pour $m = 1$ et $t = 3 \mu\text{m}$, à:

$$(23) \quad \begin{aligned} \text{Vâr}(\hat{Q}(mt)) &= 3,58 \cdot 10^6 \mu\text{m}^6 \\ A(\hat{Q}(mt)) &= 1,4 \% \end{aligned}$$

Si la variabilité des mesures n'est pas négligeable, ce qui a priori est le cas tant les sources d'erreur sont nombreuses dans la manipulation complexe qui produit les mesures, il y a bien lieu, au contraire, d'exclure l'observation $g(0)$ des ajustements et d'examiner si le polynôme ajusté sur les premiers points d'échantillonnage fournit une valeur en 0 sensiblement inférieure à $g(0)$. Nous appellerons g_2 ce deuxième modèle de covariogramme.

Ainsi, si $g_2(0) < \hat{g}(0)$ et si, conformément à l'équation (16):

$$g_2(h) = c_0 + c_1 h + c_2 h^2 + c_3 h^3,$$

nous opterons pour:

$$(24) \quad \text{Vâr}(\hat{Q}(mt)) = mt(\hat{g}(0) - g_2(0)) + \frac{c_1}{6} (mt)^2 + \frac{c_3}{60} (mt)^4$$

Avec 5 points du début du covariogramme associé, nous avons trouvé, en utilisant des polynômes orthogonaux de FISHER:

$$(25) \quad g_2(h) = 1,42955 \cdot 10^9 - 6,4313 \cdot 10^5 h + 3,6886 \cdot 10^3 h^2 + 4,156 \cdot 10^3 h^3$$

On observe que:

$$g_2(0) = 1,42955 \cdot 10^9 \quad \hat{g}(0) = 1,43143 \cdot 10^9$$

Le terme du troisième degré a un coefficient sans influence numérique notable pour des mailles raisonnables (soit $3 \mu\text{m}$, c'est-à-dire 1 coupe sur 10). C'est pourquoi nous retiendrons le modèle:

$$(26) \quad \text{Vâr}(\hat{Q}(mt)) = 1,88 \cdot 10^6 (mt) + 1,072 \cdot 10^5 (mt)^2$$

qui conduit, pour $m = 1$ et $t = 3 \mu\text{m}$, à:

$$A(\hat{Q}(mt)) = 1,2 \%$$

IV. Discussion

Nous ferons simplement quelques observations qui convergent vers une même conséquence: la théorie des variables régionalisées, qui n'a reçu jusqu'à ce jour aucune attention particulière des biométriciens, semble être un remarquable outil d'approche de l'échantillonnage systématique.

Nous noterons d'abord qu'aucune procédure alternative n'existe dans la bibliographie pour ce genre d'étude puisque nous n'avons pas affaire à un processus stationnaire. Le cadre théorique (précision d'estimation d'une intégrale) est par contre parfaitement adapté au problème expérimental.

Cependant, notre objectif est de prévoir la diminution de travail par sous-échantillonnage de la série complète de coupes, c'est-à-dire par l'augmentation de la maille. Le tableau 2 rassemble les résultats obtenus par les deux modèles:

Tableau 2: Précision de l'échantillonnage du volume pour les mailles 15 μm et 24 μm , et pour les 2 modèles.

Modèle	15 μm	24 μm
1	4,50 %	4,5 %
2	3,46 %	4,9 %

Le modèle 2 a l'avantage de donner l'importance respective qui revient, dans l'erreur totale, d'une part aux erreurs de mesures (variabilité intrinsèque), d'autre part aux erreurs de régionalisation (interaction forme de l'objet – position des coupes). Le modèle lui-même sous la forme:

$$(27) \quad \text{Var}(\hat{Q}(mt)) = mt(g(0) - \hat{g}(0)) + \frac{(mt)^2}{6} g'(0)$$

est une véritable décomposition canonique de la variance où la notion de sous-population est remplacée par celle de relation fonctionnelle. Observons les résultats numériques (Tableau 3):

Tableau 3: Variance intrinsèque et variance de régionalisation en fonction de la maille.

Maille (μm)	Variance intrinsèque	Variance de régionalisation
3	5,46 10^6	9,63 10^5
6	1,13 10^7	3,85 10^6
9	1,69 10^7	8,67 10^6
12	2,26 10^7	1,54 10^7
15	2,82 10^7	2,41 10^7
18	3,38 10^7	3,47 10^7
21	3,95 10^7	4,72 10^7
24	4,51 10^7	6,16 10^7
27	5,08 10^7	7,80 10^7
30	5,64 10^7	9,63 10^7

En multipliant les coupes examinées, on tend vers la seule erreur de mesure et la variance diminue comme $1/\sqrt{n}$; en diminuant le nombre de coupes, la variance de sous-échantillonnage l'emporte et croît comme $-1/n$. Au voisinage de 1 coupe sur 6, les sources d'erreur sont équilibrées, la précision est bonne (5 à 10 %), compte tenu de la nature biologique du matériel.

V. Comparaison avec la méthode de CRUZ-ORIVE et MYKING (1981)

L'approche de CRUZ-ORIVE et MYKING (1981) consiste à déterminer une relation empirique liant le coefficient de variation (équation 11) et le nombre de coupes prises en compte pour le calcul du volume.

Pour cela, on simule un sous-échantillonnage de la série de coupes. Pour un nombre s de coupes, l'abscisse x_1 de la première est tirée de manière aléatoire entre 0 et L/s . Les abscisses des coupes suivantes sont obtenues en augmentant x_1 de la quantité L/s . La surface des coupes en chacune de ces abscisses est simplement obtenue par interpolation linéaire entre les deux coupes réelles les plus proches.

On peut ainsi simuler une infinité de sous-échantillons qui permettent, pour chaque valeur de s , d'estimer une série de volumes.

En considérant que le volume calculé avec l'ensemble des coupes est un bon estimateur du volume réel, on peut alors calculer un coefficient de variation entre ce volume réel et les différents volumes estimés par simulation, pour un nombre s de coupes.

L'allure des courbes du coefficient de variation en fonction du nombre de coupes suggère un ajustement à une droite, après linéarisation par calcul des logarithmes. L'équation de la droite de régression obtenue avec 25 simulations est:

$$(28) \quad -\ln[A(\hat{Q}(L/s))] = 1,3529 \ln(s) + 0,6678$$

Elle conduit aux valeurs consignées dans le tableau 4.

Tableau 4: Précision de l'estimation du volume calculée par la méthode de simulation de CRUZ-ORIVE et MYKING (1981) en fonction du nombre de coupes utilisées.

Précision:	Nombre de coupes: s
10 %	3
5 %	6
2,5 %	9
1 %	18

Pour $s = 6$ coupes, soit une intensité d'échantillonnage de $1/8$, la précision obtenue est de 5%. Cette valeur est identique à celle que nous avons obtenue avec le modèle 2 (Tableau 2). Les deux méthodes semblent donc conduire à des résultats très similaires, malgré une approche théorique totalement différente.

Références bibliographiques

- CRUZ-ORIVE L. M.: The use of quadrats and test systems in stereology including magnification corrections. *J. Microsc.* **125**, 89-102 (1982).
- CRUZ-ORIVE L. M. and A. O. MYKING: Stereological estimation of volume ratios by systematic sections. *J. Microsc.* **122**, 143-157 (1981).
- CRUZ-ORIVE L. M. and E. R. WEIBEL: Sampling designs for stereology. *J. Microsc.* **122**, 235-257 (1981).
- GUNDERSEN H. J. G. and E. B. JENSEN: Particle sizes and their distributions estimated from line and point-sampled intercepts. Including graphical unfolding. *J. Microsc.* **131**, 291-310 (1983).
- GUNDERSEN H. J. G. and R. ØSTERBY: Optimizing sampling efficiency of stereological studies in biology or "Do more less well". *J. Microsc.* **121**, 65-73 (1981).
- KROUSTRUP J. P. and H. J. G. GUNDERSEN: Sampling problems in a heterogeneous organ: quantitation of relative and total volume of pancreatic islets by light microscopy. *J. Microsc.* **132**, 43-45 (1983).
- MATHERON G.: Les variables régionalisées et leur estimation. Masson, Paris (1965).
- MATHERON G.: La théorie des variables régionalisées et ses applications. Cahiers du Centre de Morphologie Mathématique de Fontainebleau. Fascicule 5, Ecole des Mines de Paris (1970).
- MATHIEU O., L. M. CRUZ-ORIVE, H. HOPPELER and E. R. WEIBEL: Measuring error and sampling variation in stereology: comparison of the efficiency of various methods for planar image analysis. *J. Microsc.* **121**, 75-88 (1981).
- MATHY B.: Contribution à l'étude de la croissance d'une population cellulaire: le disque imaginal alaire chez *Bombyx mori* au cours des quatre premiers stades larvaires. Thèse de 3^e cycle. Université Claude Bernard Lyon I (1979).
- WEIBEL E. R.: Stereological methods Vol. 1. Academic Press, London (1979).
- WEIBEL E. R.: Stereological methods Vol. 2. Academic Press, London (1980).