Zeitschrift: Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles

Herausgeber: Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles

Band: 127 (2004)

Artikel: Utilisation de l'Analyse par Faisceau ionique en mycologie : présentation du cafi et application de la méthode à la mesure des concentrations de métaux lourds et de métalloïdes dans les fructifications d'un champignon supérieur (Agaricus blazei)

Autor: Gonin, Yvan / Munnik, Frans / Farron, Gilles

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-89620

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 14.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

UTILISATION DE L'ANALYSE PAR FAISCEAU IONIQUE EN MYCOLOGIE.
PRÉSENTATION DU CAFI ET APPLICATION DE LA MÉTHODE À LA MESURE DES CONCENTRATIONS DE MÉTAUX LOURDS ET DE MÉTALLOÏDES DANS LES FRUCTIFICATIONS D'UN CHAMPIGNON SUPÉRIEUR (*AGARICUS BLAZEI*)

YVAN GONIN[1], FRANS MUNNIK[1], GILLES FARRON[2], DANIEL JOB[2], PASCAL BOSCHI[1], JEAN-LOUIS MORATEL[1] & SERGUEI MIKHAILOV[1]

[1] CAFI - Centre d'Analyses par Faisceau Ionique, Jambe-Ducommun 8a, CH-2400 le Locle, Suisse. E-mail: yvan.gonin@eiaj.ch

[2] Laboratoire de Microbiologie, Université de Neuchâtel, Emile-Argand 11, CH-2007 Neuchâtel, Suisse

Mots-clés: analyse élémentaire, sélénium, *Agaricus blazei,* micro-analyse, technique PIXE, accélérateur Van de Graaff, faisceau ionique

Keywords: elemental analysis, selenium, *Agaricus blazei*, micro-analysis, PIXE technics, Van de Graaff accelerator, ion beam

Résumé
Les champignons sont connus pour être de bons accumulateurs de métaux, mais la localisation directe non-destructive de ces éléments dans les tissus fongiques requiert des méthodes particulières. Le Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Neuchâtel s'intéresse depuis longtemps à la culture des champignons et plus récemment à l'accumulation de métaux et de métalloïdes dans les fructifications. Afin de quantifier et de localiser les concentrations ainsi obtenues, il s'est approché du Centre d'Analyses par Faisceau Ionique (CAFI) au Locle, équipé d'un accélérateur de particules et d'une méthode de détection appropriée. Cet article décrit la méthode de mesure et les premiers résultats obtenus sur une espèce particulière de champignon, l'*Agaricus blazei*.

Summary: *Use of ion beam analysis for mycology*
Mushrooms are known to be good metal accumulators, but the nondestructive direct localization of these elements in fungal tissues requires appropriate analyses methods. The Microbiology Laboratory of the University of Neuchâtel has long been interested in the culture of mushrooms and more recently in accumulation of metals and metalloids in fructifications. In order to quantify and to locate the concentrations obtained with this technique, the laboratory collaborated with the Ion Beam Analysis Center (CAFI) in Le Locle, equipped with a particle accelerator and a suitable detection instrument. This article describes the method of measurement and the first results obtained on a specific mushroom species, *Agaricus blazei*.

Zusammenfassung: *Benützung der Ionenstrahl Analyse in Mykologie*
Pilze sind bekannt als gute Metallspeicher; die zerstörungsfreie direkte Lokalisierung dieser Elemente in dem Pilzgewebe erfordert jedoch besondere Methoden. Das Mikrobiologielaboratorium der Universität Neuchâtel erforscht seit langer Zeit den Anbau von Pilzen und interessiert sich seit kurzem für die Metallanhäufung in dem Fruchtstadium von Pilzen. Um diese Konzentrationen zu quantifizieren und zu orten, hat es sich dem Zentrum für Analyse mit Ionenstrahlen (CAFI) in Le Locle zusammengetan, da dieses Zentrum über einen Teilchenbeschleuniger mit einer für diese Fragestellung passenden Analytikmethode verfügt. Diese Publikation beschreibt das Messverfahren und die ersten Ergebnisse für die Pilzart *Agaricus blazei*.

INTRODUCTION

Le Centre d'Analyses par Faisceau Ionique (CAFI)[1] est situé au Locle (NE, Suisse). Utilisant l'ancien accélérateur de particules de l'Institut de Physique de l'Université de Neuchâtel, le CAFI est actif dans trois domaines principaux:

- la micro-analyse ;
- la microstructuration et l'implantation ;
- le dépôt de couches minces.

L'équipement central du CAFI est l'accélérateur de Van de Graaff qui produit un faisceau d'ions utilisé pour l'analyse et la microstructuration. Le Centre dispose également d'équipements modernes en plus de l'accélérateur, à savoir un microscope électronique à balayage, un spectromètre à rayons X et trois stations de déposition de couches minces.

L'étude décrite ci-après a été réalisée à l'aide du faisceau ionique et du détecteur de type PIXE[2] sur des échantillons de champignons fournis par l'Université de Neuchâtel. En effet, l'utilisation d'appareils micro-analytiques commence à être appliquée en physiologie cellulaire végétale particulièrement, car il est possible de localiser et de quantifier directement les éléments minéraux présents sur quelques cellules ou à l'intérieur de celles-ci (Kraemer *et al.*, 1997 ; Przybylowicz *et al.*, 1997). De telles techniques sont encore très peu utilisées pour les analyses de champignons.

Le premier chapitre de cet article décrit le laboratoire de manière exhaustive, le deuxième chapitre traitant quant à lui de la méthode d'analyse utilisée pour cette étude. Les résultats sont présentés en troisième partie.

1. DESCRIPTION DU LABORATOIRE

Le CAFI est actif dans les trois domaines mentionnés dans l'introduction:

- **la micro-analyse**: composition chimique, profil en hydrogène, traces d'éléments, etc. Cette analyse est possible sur plusieurs types de matériaux et organismes divers, tant en surface qu'en profondeur jusqu'à quelques microns.

- **la microstructuration et l'implantation**: le faisceau est utilisé pour réaliser des microgravures dans des polymères (lithographie ionique) pour des applications en microfluidique, micro-optique et microélectronique. Des structures en trois dimensions réelles, avec une excellente qualité de surface et de verticalité, peuvent être réalisées et ceci sans masque (Gonin *et al.*, 2003; Gonin *et al.*, 2004; Munnik *et al.*, 2003). L'implantation d'ions est aussi en cours de développement.

- **le dépôt de couches minces**: grâce aux techniques de dépôt par arc filtré pulsé et chimique en phase vapeur assisté plasma, de très fines couches de carbone amorphe (quelques centaines de nanomètres) peuvent être déposées. Les applications servent essentiellement à des fins tribologiques pour les industries horlogère et médicale.

[1] Site internet : http://www.cafi.ch

[2] PIXE : Particle-Induced X-ray Emission : méthode et détecteur y relatif destinés à analyser la composition en surface d'un échantillon (voir plus loin dans le texte pour des détails complémentaires).

L'instrument principal du CAFI, l'accélérateur et tout ce qui lui est attaché, est décrit ci-après.

1.1. L'accélérateur de Van de Graaff

L'accélérateur de type Van de Graaff produit et accélère des protons (H^+), des ions d'hélium (He^+) ou d'azote (N^+) avec des énergies allant de 0.8 jusqu'à 3.5 MeV[3]. Le principe d'accélération est obtenu en accumulant des charges négatives sur une coupole à l'aide d'une courroie isolante. Le gaz (hydrogène, hélium ou azote) est ensuite ionisé et les particules ainsi chargées sont accélérées à travers le tube. Le faisceau traverse ensuite un aimant dit d'analyse qui le défléchit de 90° sélectionnant ainsi les particules qui ont la bonne vitesse et donc la bonne énergie, ce qui augmente la résolution, atteignant alors 0.01%. Puis les ions sont dirigés sur une des trois lignes de travail par un aimant de déflection. Enfin, une paire de quadrupôles focalise le faisceau le long de chaque ligne (fig. 1).

1.2. Les trois lignes de faisceau

L'aimant de déflection (point 3 de la figure 1) permet de dévier le faisceau sur une des trois lignes. Ces dernières sont composées de tubes, maintenus sous vide par une série de pompes, qui guident les particules jusqu'à la chambre de destination.

La première ligne aboutit dans la chambre d'analyses où se trouvent trois types de détecteurs: RBS (Rutherford Backscattering Spectrometry) qui permet de mesurer la composition chimique en profondeur de l'échantillon, PIXE (Particle-Induced X-ray Emission) qui détecte les rayons X émis par les atomes ionisés par les particules heurtant l'échantillon afin d'analyser précisément la composition chimique en surface, et enfin ERDA (Elastic Recoil Detection Analysis) qui nous permet de déduire le profil en hydrogène de l'échantillon.

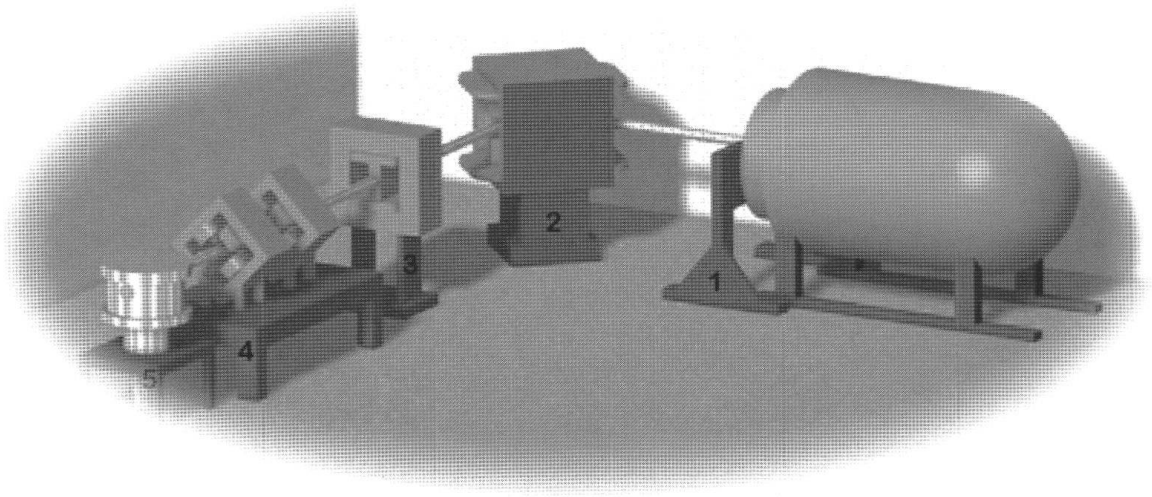


Figure 1: dessin schématique de l'accélérateur: **1)** l'accélérateur à proprement parler où les ions sont produits et accélérés; **2)** l'aimant d'analyse qui augmente la résolution en énergie du faisceau; **3)** l'aimant de déflection qui dirige les particules sur une des trois lignes (seule une ligne est ici représentée); **4)** les quadrupôles ; **5)** la chambre de mesure ou d'irradiation.

[3] 1 MeV = 10^3 keV = 10^6 eV : 1 eV = $1.602 \cdot 10^{-19}$ J

La deuxième ligne aboutit dans le microfaisceau, instrument qui permet de réduire la taille du faisceau jusqu'à un diamètre d'environ 1 micron. Les mesures de champignons ayant été effectuées avec cette ligne, elle est décrite de manière détaillée au point suivant.

Quant à la troisième ligne, elle est connectée à une chambre dévolue à la microstructuration et à l'implantation de polymères et aboutit finalement dans le spectromètre RBS à haute résolution.

1.3. Le microfaisceau

La ligne 2 conduit les particules vers le microfaisceau. Cet instrument est destiné à focaliser les ions afin d'avoir une taille de faisceau très petite (de l'ordre du micron). Ce faisceau peut ensuite balayer une large surface (2 x 2 mm^2) afin de réaliser des cartes de la surfaces en deux, voire trois dimensions (à l'aide des détecteurs mentionnés précédemment) ou de graver de très petites structures compliquées dans du polymère. L'échantillon est monté sur un manipulateur piloté par un ordinateur qui permet des déplacements de 100 mm en vertical et 25 mm sur les deux autres axes.

Un jeu de deux diaphragmes et une lentille permettent, comme en optique, de jouer avec l'image de l'objet afin d'en diminuer la taille. La lentille est une série de trois bobines magnétiques qui focalise le faisceau, puis une bobine de balayage le dévie sur la surface désirée. La figure 2 présente l'installation.

1.4. Les autres instruments

Le CAFI possède encore plusieurs autres instruments:

Le spectromètre magnétique: récemment acheté au Japon et installé sur la ligne trois, cet instrument est destiné à réaliser des spectres RBS à haute résolution en profondeur.

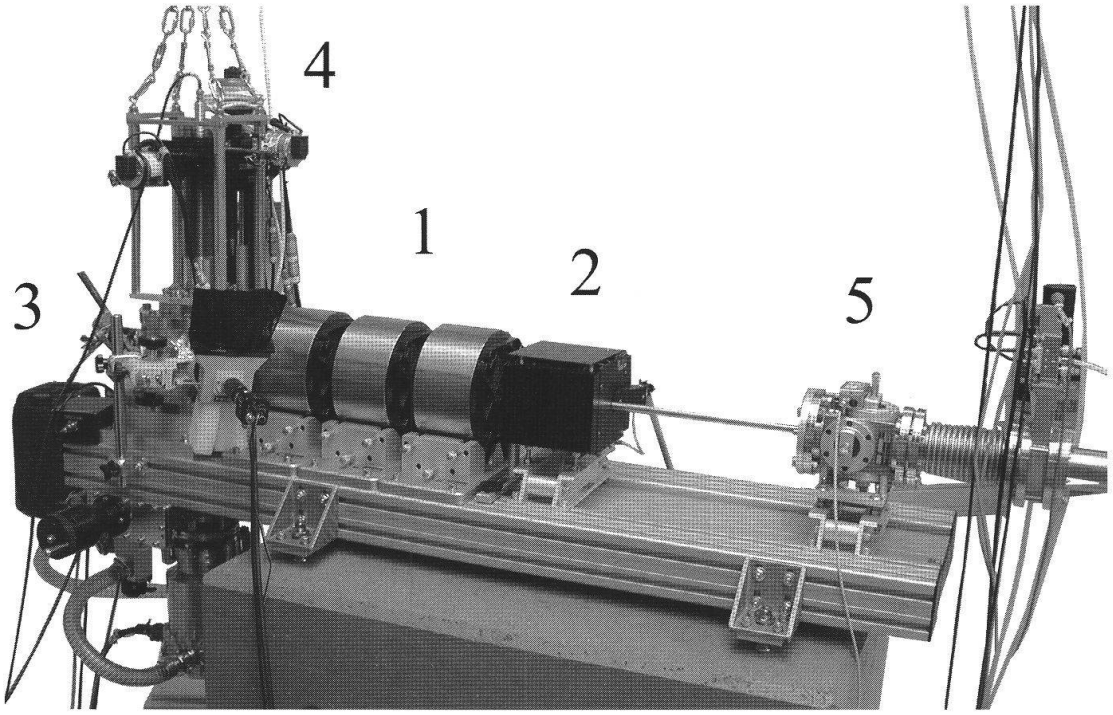


Figure 2: vue de notre microfaisceau: **1)** bobines de focalisation; **2)** bobine de balayage; **3)** chambre destinée à recevoir l'échantillon; **4)** manipulateur de précision; **5)** diaphragme. Cet instrument est destiné tant à l'analyse qu'à la microstructuration.

Les machines de dépositions: actuellement trois types sont utilisés:

1. une machine PE-CVD (Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition): un gaz précurseur est décomposé à l'intérieur de la chambre par un plasma et les produits de décomposition se déposent sur la surface de l'échantillon. Cette machine est utilisée pour des dépôts de carbone amorphe.

2. une machine FCVAD (Filtered Cathodic Vacuum Arc Deposition): un arc électrique est créé entre une électrode et le matériel à évaporer, ce qui a pour effet de localement chauffer et fondre ce dernier qui passe en phase vapeur et se dépose sur l'échantillon.

3. une machine PVD (Physical Vapor Deposition): le métal est évaporé sous vide depuis un creuset et se dépose sur l'échantillon. Il y a la possibilité d'introduire du gaz afin de réaliser un nettoyage ou un dépôt.

Le XPS: le XPS (X-ray Photoemission Spectroscopy) est destiné à analyser de manière très précise la surface des échantillons. Cette surface est bombardée par des rayons X qui arrachent des électrons dont l'énergie est mesurée.

Le SEM: le SEM (Scanning Electron Microscope) permet de visualiser de très petites structures avec un grossissement de l'ordre de 100'000 fois. Les échantillons non-conducteurs doivent être rendus conducteurs par le dépôt d'une couche d'or d'environ 100 nm.

La sonde EDX: EDX signifie «Energy-Dispersive X-ray spectroscopy». Cet instrument fonctionne presque de la même manière que le détecteur PIXE, mais ce sont des électrons qui sont émis en lieu et place d'ions. La sonde se trouve sur la même chambre que le SEM.

2. MÉTHODE ET TECHNIQUE DE MESURE

Le but de ces mesures était de chercher et de quantifier les éléments présents dans les cellules des fructifications d'un champignon supérieur, ainsi que de déceler dans celles-ci la présence de sélénium consécutive à un enrichissement du substrat de culture.

2.1. Champignons et préparation

Les champignons sont des organismes eucaryotes hétérotrophes constituant un règne : celui des Fungi. Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un thalle filamenteux végétatif appelé mycélium et par l'apparition, lorsque les conditions le permettent, de fructifications. Etant donné que la phase végétative croît en contact étroit avec les composants du sol, principalement dans le cas des saprophytes secondaires et des mycorhiziens, ils sont confrontés aux éléments minéraux et à leurs concentrations. En général, ils ont plutôt une tendance à l'accumulation, phénomène connu depuis longtemps et encore étudié aujourd'hui (FALANDYSZ *et al.*, 2002 ; QUINCHE, 1987 ; STIJVE, 1977, STIJVE *et al.*, 1990).

Le groupe de Mycologie du Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Neuchâtel[4] s'intéresse à ce phénomène depuis quelques années. Nous travaillons essentiellement *in vitro*, en raison des bonnes connaissances du groupe de recherche sur le développement des fructifications. Le but est ici d'analyser un ensemble d'éléments contenus dans différentes parties des fructifications d'un champignon supérieur ayant poussé sur un substrat additionné de traces de sélénium (5 $mg \cdot kg^{-1}$).

Les espèces utilisables dans la concentration des métaux lourds ou des métalloïdes (bore, silicium, germanium, arsenic, sélénium, etc) doivent réunir un certain nombre de caractéristiques. La première d'entre elles est la cultivabilité. Il est en effet important de pouvoir obtenir *in vitro* des fructifications issues d'un substrat où un maximum de paramètres sont maîtrisés et reproductibles (par exemple facteurs trophiques, concentration de l'élément dans le substrat), afin d'optimiser l'accumulation.

[4] Site internet : http://www.unine.ch/bota/lamun

La deuxième est la capacité d'accumulation par une espèce choisie. Les champignons supérieurs de la famille des Agaricacées et particulièrement du genre *Agaricus* (par exemple les psalliotes ou les champignons de Paris) sont connus comme étant de bons accumulateurs d'éléments en milieu naturel. Nous avons donc choisi une espèce de ce genre, *Agaricus blazei* Murrill (MURRILL, 1945) présenté dans la figure 3. La culture de ce champignon est assez nouvelle, et des expériences préliminaires ont démontré ses bonnes capacités d'accumulation. La troisième est l'intérêt scientifique de la démarche: dans notre cas l'accumulation et surtout la localisation de métalloïdes comme le sélénium dans les champignons sont encore peu étudiés et constituent donc une nouvelle voie de recherche.

Agaricus blazei a donc été cultivé en pot japonais (fig. 3) en laboratoire, sur un substrat enrichi en sélénium ajouté sous forme de sélénate de sodium (5 mg de sélénate par kg de substrat). Les fructifications ont été collectées et congelées. Des coupes fines (20-40 µm d'épaisseur) ont été effectuées en utilisant un cryomicrotome, à -25°C. Les coupes ont été faites sur différentes parties du carpophore (pied et chapeau). Celles-ci ont ensuite été déposées sur une matrice en Mylar®.

2.2. Méthode de mesure

Les échantillons de champignons ont été bombardés avec un faisceau de protons de 2 MeV produit par notre accélérateur. Les rayons X produits par l'ionisation des atomes, dont l'énergie est propre à chaque type d'atome de l'échantillon, sont ensuite captés par un détecteur semi-conducteur de 80 mm^2 en silicium dopé avec du lithium, refroidi à l'azote liquide (-196° C) afin de minimiser le bruit thermique. Ce type d'analyse s'appelle «PIXE» (voir page 133). Une membrane en béryllium de 12 µm assure l'interface entre le vide de la chambre et le détecteur, tandis qu'une fenêtre en Mylar® de 50 µm d'épaisseur avec un trou au centre assure une bonne sélection entre les X de basse énergie et les autres. Les différentes

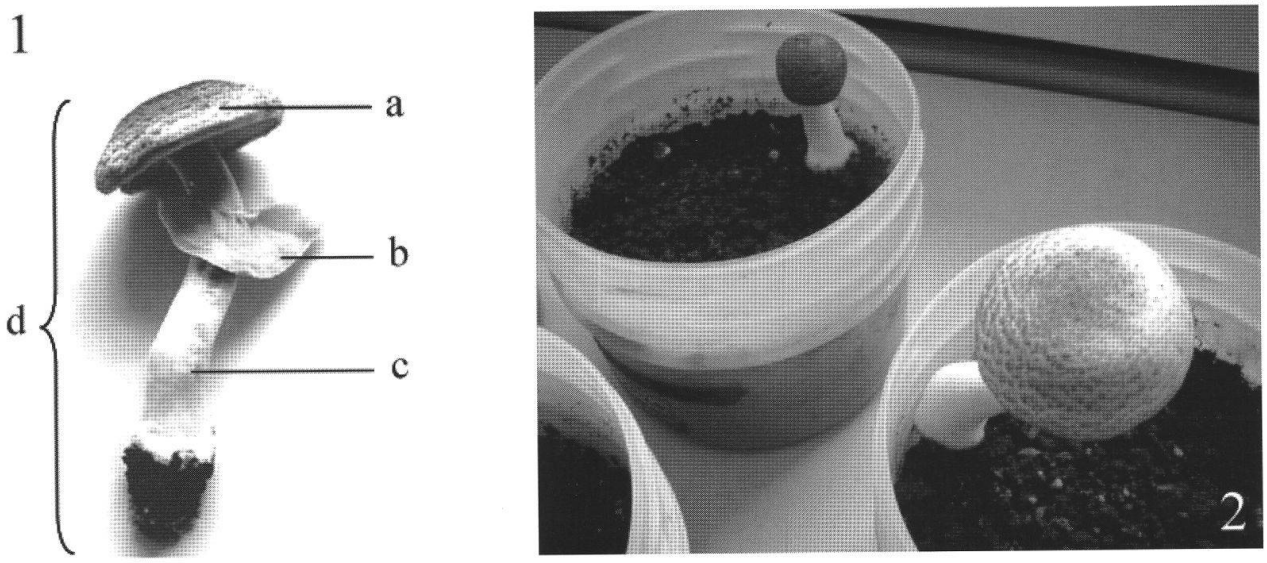


Figure 3 : *Agaricus blazei* : **1)** chapeau ou pileus (a), volve ou voile partiel (b), pied ou stipe (c). Le tout constitue la fructification ou carpophore (d) ; **2)** culture d'*Agaricus blazei* en pot japonais au Laboratoire de microbiologie.

énergies ainsi détectées sont transmises à un analyseur multi-canal qui les classe en 1024 «intervalles» dans chacun desquels le nombre de X de cette énergie est compté (axe y des spectres de la figure 4). Une analyse poussée permet alors de retrouver les éléments contenus dans le champignon ainsi que les concentrations y relatives.

3. MESURES EFFECTUÉES SUR LES CHAMPIGNONS

Comme cela a déjà été mentionné précédemment, des coupes fines ont été faites dans le pied, longitudinalement (épaisseur de la coupe 40 µm) et dans le chapeau (épaisseur de la coupe 20 µm), transversalement. Les résultats de l'analyse sont présentés pour quelques éléments dans le tableau 1 et donnés en nanogrammes par centimètre carré, après déduction de la référence (Mylar® seul).

Elément	Pied	Chapeau
Mg	238	491
P	2066	3377
S	215	518
Cl	3962	2169
K	9963	10690
Mn	3.4	3.6
Cu	12	9
Zn	38.9	41.9
Se	7.3	-

Tableau 1: résultats en $ng \cdot cm^{-2}$ des analyses des coupes issues du pied et du chapeau.

4. DISCUSSION

4.1. Eléments présents

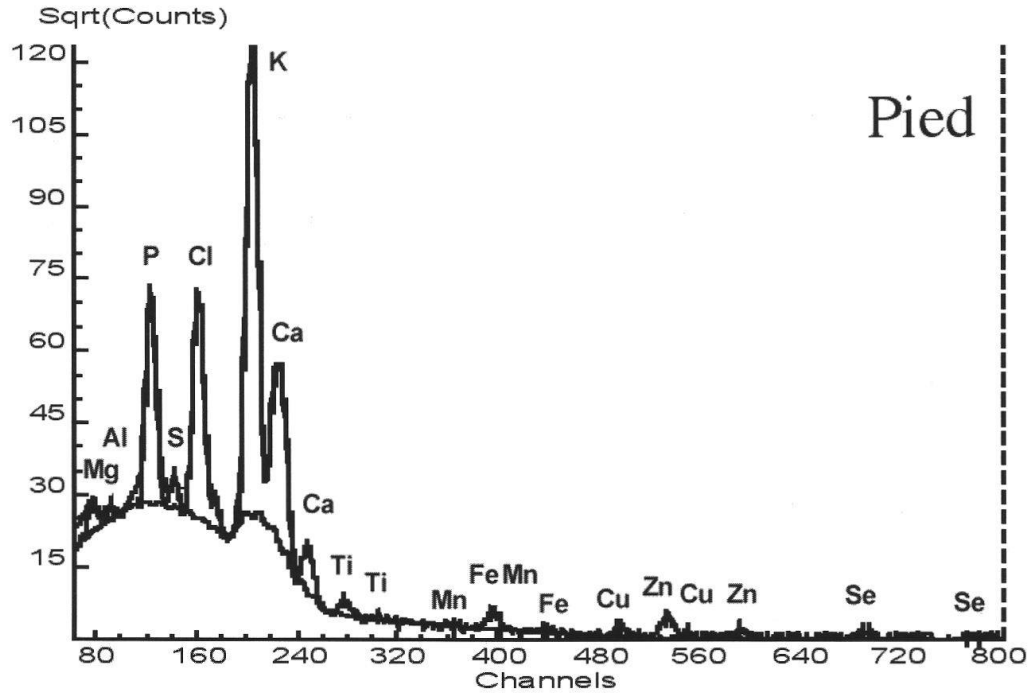
Les spectres PIXE (fig. 4) permettent de mettre en évidence quelques pics importants : le phosphore, le chlore, le potassium et le calcium. Le phosphore est un constituant très important des cellules vivantes. Il est donc normal de le retrouver ici en quantité, dans le pied et dans le chapeau. Le chlore et le potassium participent à la turgescence cellulaire et à la polarité de la membrane entre autres. Ils sont donc primordiaux et il est également normal de les retrouver en quantité. Le pic du calcium est représenté en majorité par les constituants de la matrice Mylar® (référence) et n'est donc pas discuté ici en tant que constituant minéral cellulaire. Parmi les pics plus discrets (moins visibles sur les spectres PIXE), nous nous référons au tableau 1.

Les éléments magnésium, manganèse, cuivre et zinc sont également importants au niveau cellulaire (par exemple cofacteurs enzymatiques) et il est normal de les retrouver ici.

Par contre le sélénium est très peu présent au niveau des coupes que nous avons effectuées, malgré l'enrichissement du substrat. Cela peut être expliqué par la très forte toxicité de cet élément. Les moyens mis en œuvre par l'organisme pour s'autodétoxiquer sont multiples. Parmi eux, nous pouvons citer le confinement, qui consiste à immobiliser les éléments dans certaines parties de l'organisme (par exemple parties végétatives mortes), par liaison, par exemple à des protéines (sélénoprotéines), ou au contraire à exclure l'élément de l'environnement cellulaire (par des transporteurs ou autres molécules sécrétées). Un élément peut également être peu mobile au niveau intracellulaire dans la phase végétative, ce qui expliquerait que celui-ci soit faiblement transloqué du mycélium souterrain à la fructification. Une autre explication peut encore venir du fait que le sélénium a été ajouté dans le substrat sous forme de traces et que la quantité transloquée se trouve en deçà ou aux limites (tableau 1) de détection du PIXE.

4.2. Localisation relative

Lorsque l'on compare la concentration des différents éléments entre le pied et le chapeau, on remarque que le magnésium, le phosphore et le soufre sont plus concentrés dans le chapeau. Cela est probablement dû



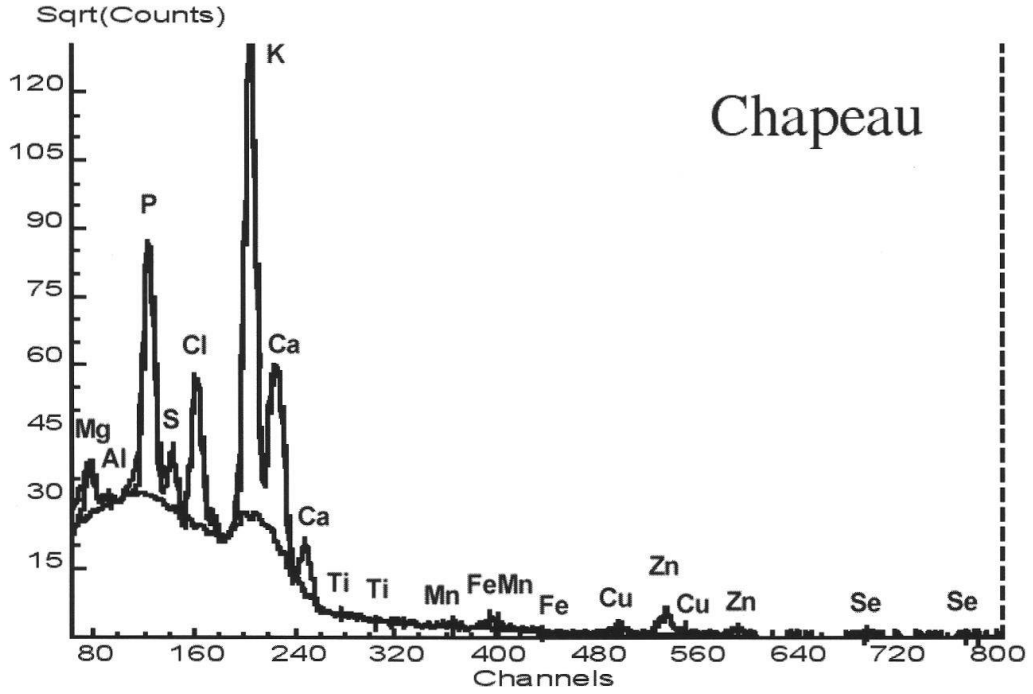


Figure 4 : spectres PIXE de coupes fines issues du pied et du chapeau d'une fructification d'*Agaricus blazei* s'étant développée sur un substrat enrichi en sélénium.

à l'évapotranspiration : en effet l'organisme fongique évapore de l'eau au niveau de la fructification et plus précisément au niveau de sa surface fertile, créant un appel d'eau qui permet de transloquer tout ce qui va contribuer à créer et maturer les spores. Etant donné que la plupart des ions sont mobiles en phase aqueuse, ils vont suivre le flux et se concentrer au niveau de la fructification. L'explication donnée pour les éléments cités plus haut est également valable pour beaucoup d'autres, tels que le cadmium, le plomb ou le césium souvent retrouvés en concentrations importantes dans les fructifications.

On retrouve également des éléments plutôt concentrés dans le pied. C'est particulièrement le cas du chlore et du sélénium. Ce dernier n'a pas été décelé dans la coupe du chapeau (tab. 1). L'explication peut être d'ordre physiologique ou due à un biais créé par les épaisseurs de coupe qui sont différentes d'un cas à un autre (pied: 40 μm et chapeau: 20 μm).

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les premiers résultats obtenus sont encourageants par le fait qu'ils représentent les premiers pas de l'étude directe de la localisation intracellulaire des éléments dans la fructification de champignons saprophytes en utilisant l'instrumentation proposée par le CAFI. Nous observons qu'il est possible d'identifier et de quantifier des éléments naturellement transloqués sur et dans les cellules fongiques (c'est-à-dire à très petite échelle) des fructifications d'*Agaricus blazei*. Nous avons enrichi le substrat de culture avec du sélénium avec l'idée de pouvoir le retrouver dans les cellules. Les résultats obtenus démontrent que pour rendre clairement mesurable cet élément, il s'agira de modifier certains paramètres physico-chimiques et trophiques de culture.

BIBLIOGRAPHIE

FALANDYSZ, J.; GUCIA, M.; SKWARZEC, B.; FRANKOWSKA, A. & KLAWIKOWSKA, K. 2002. Total mercury in mushrooms and underlying soil substrate from the Borecka forest, northeastern Poland. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 42: 145.

GONIN, Y.; MUNNIK, F.; BENNINGER, F. & MIKHAILOV, S. 2003. Creating sub-surface channels in PMMA with ion beam lithography in only one step. *Applied Surface Science* 217: 289.

GONIN, Y.; MUNNIK, F.; BENNINGER, F.; DIAS, F. & MIKHAILOV, S. 2004. Comparison of a new photoresist (Diaplate 133) with SU-8 using both X-ray and Ion Beam lithographies. *Journal of Vacuum Science and Technology B* 22 (4): 1982.

KRAEMER, U.; GRIME, G.W.; SMITH, J.A.C.; HAWES, C.R. & BAKER, A.J.M. 1997. Micro-PIXE as a technique for studying nickel localization in leaves of the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum*. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 130: 346.

MUNNIK, F.; BENNINGER, F.; MIKHAILOV, S.; BERTSCH, A.; RENAUD, P.; LORENZ, H. & GMUER, M. 2003. High aspect ratio, 3D structuring of photoresist materials by ion beam LIGA. *Microelectronic Engineering* 67-68: 96.

MURRILL, W.A. 1945. New Florida fungi. *Quarterly Journal of the Florida Academy of Sciences* 8 (2): 175.

PRZYBYLOWICZ, W.J.; MESJASZ-PRZYBYLOWICZ, J.; PROZESKY, V.M. & PINEDA, C.A. 1997. Botanical applications in nuclear microscopy. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 130: 335.

QUINCHE, J. P. 1987. Les teneurs en huit éléments traces de *Lepista nuda*. *Mycologia Helvetica* 2 (2): 173.

STIJVE, T. 1977. Selenium content of mushrooms. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung* 164 (3): 201.

STIJVE, T., VELLINGA, E.C. & HERRMANN, A. 1990. Arsenic accumulation in some higher fungi. *Persoonia* 14 (2): 161.