

up to 75% it must be a much smaller molecule than that of an ordinary nucleic acid.

Purified preparations gave a positive sugar reaction after Molisch, negative reactions after Fehling and Feulgen, but a red colour with HCl and phloroglucine and a blue-violet colour with HCl and diphenylamine (aldopentoses). No positive pentose reaction was obtained with non-toxic fractions. The toxic fractions therefore contain at least one aldopentose (possibly ribose).

From the absorption spectra and the chemical reactions of the toxic fractions, we infer that the toxin is likely to be a nucleoside or a nucleotide of adenine or of uracile. The

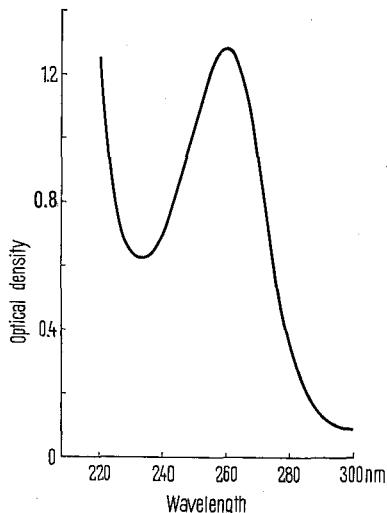
chemical analysis will follow as soon as the preparations are completely purified.

We may suppose that a toxin of this constitution acts as an antimetabolite in the nucleic acid metabolism. We would therefore expect it to act in the same way in all animals. However, this substance seems to be toxic for insects only. Preliminary experiments have shown that the toxin is practically non-toxic for fish, *Tubifex*, and aquarium plants. Fish will live unharmed for at least one month in water containing toxin in a concentration that kills larvae of *Drosophila* within 24 h. In addition it has been demonstrated by KRIEG and HERFS³ that the toxic culture filtrate of *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* had no adverse effects on young and adult mice when injected intraperitoneally or administered with the drinking water. Thus the metabolic step with which the toxin interferes must be specific for insects. This knowledge could incite the development of a new class of specific chemical insecticides which might be entirely harmless for vertebrates and most animals other than insects.

Zusammenfassung. Das hitzestabile Exotoxin von *Bacillus thuringiensis* – auf Insekten spezifisch toxisch wirkend – wurde aus dem Kulturmödium angereichert und stark gereinigt. Sämtliche toxischen Fraktionen zeigen ein Absorptionsmaximum bei 258–260 nm, ein Absorptionsminimum bei 232–234 nm und eine positive Aldopentosreaktion. Bei der toxischen Substanz scheint es sich um ein Nucleosid oder Nucleotid des Adenins oder Uracils zu handeln.

G. BENZ

Entomologisches Institut, Eidg. Technische Hochschule, Zürich (Switzerland), November 2, 1965.



Absorption spectrum of a purified preparation of the heat-stable exotoxin of *Bacillus thuringiensis*.

³ A. KRIEG und W. HERFS, Z. PflKrankh. 70, 11 (1963).

Effet du pH sur la radioprotection des grains d'orge par les sels minéraux

Le traitement des grains d'orge par des solutions de chlorures alcalin et alcalino-terreux avant l'irradiation, détermine une radioprotection de la croissance des plantules. Cet effet n'est pas spécifique d'un cation déterminé. Il augmente avec la concentration saline jusqu'à un potentiel osmotique de -14 joules/cm³ environ¹. Mais il ne se manifeste que si, pendant la durée du traitement, la germination des grains n'a pas dépassé la phase précoce d'activation enzymatique². Il semble que cette propriété des solutions salines soit due pour une large part à leur action physico-chimique sur la structure de certains gels polyélectrolytes de la graine. En vue d'étayer cette hypothèse, nous nous sommes demandé si le pH des solutions testées pouvait avoir une influence sur cette radioprotection.

Matériel et méthodes. Les essais ont porté sur des grains d'orge (*Hordeum sativum* Jess. var. Pioline; Institut Agronomique de Gembloux), trempés avant l'irradiation, pendant 12 h, dans des solutions tampons 1,5 M de phosphates ($\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{HPO}_4$) et de carbonates ($\text{K}_2\text{CO}_3 - \text{KHCO}_3$). Les grains ont reçu 4, 8, 12 kR provenant d'un

générateur de rayons X, travaillant avec filtre de 2 mm d'aluminium sous une tension de 140 kV et une intensité de 20 mA. Le débit est d'environ 1000 R/min.

Après l'irradiation, les grains sont repiqués sur de l'ouate imbibée d'eau distillée et cultivés pendant 6 jours en conditions normalisées. Après ce laps de temps, les hauteurs du coléoptile et de la première feuille sont mesurées et exprimées en % des témoins non irradiés mais trempés dans les mêmes solutions. Pour chaque essai nous avons testé 3 lots de 50 grains.

Résultats. Quel que soit le pH des solutions de phosphates, le contenu en eau des grains est de 20–22% du poids frais. Il ne varie donc pas au cours des différents essais et correspond approximativement à celui des grains trempés dans une solution 1,5 M de CaCl_2 .

Les hauteurs du coléoptile et de la première feuille issus de grains irradiés après avoir été traités par les différentes solutions tampons sont plus grandes que celles des plantules provenant des grains simplement trempés dans l'eau distillée. Il suffit de comparer les résultats des Figures 1

¹ C. GILLET, Nature, 207, 99 (1965).

² C. GILLET, Bull. Classe Sci. Acad. Roy. Belg., 1069 (1965).

et 2 avec ceux notés dans le Tableau pour le prétraitemen t par l'eau distillée. Les solutions tampons de phosphates ont donc une action radioprotectrice remarquable. Elle n'est toutefois pas significativement supérieure, malgré le potentiel osmotique plus élevé, à celle d'une solution 1,5 M de CaCl_2 . Ce fait confirme la limite du rôle du potentiel osmotique dans le phénomène de radioprotection par les solutions salines.

Le pH des solutions, dans lesquelles les grains ont trempé avant l'irradiation, a un effet analogue sur la croissance du coléoptile et de la première feuille (Figures 1 et 2). Ce résultat est mieux marqué pour les feuilles, organes à un stade embryonnaire au moment du traitement, et dans le lot traité par 8 kR. La radioprotection des plantules passe par un minimum vers un pH 6,5; elle est la plus forte aux pH basiques. Toutefois l'augmentation du pH des solutions tampons au delà de 8 n'entraîne pas une radioprotection plus élevée. On constate dans le Tableau qu'il n'y a pas de différence sensible entre l'effet déterminé

par deux solutions tampons de carbonates dont les pH sont supérieurs à cette valeur.

Conclusion et discussion. Pour une large gamme de valeurs, le pH joue un rôle important dans l'intensité de la radioprotection induite par les solutions salines. L'effet protecteur est plus marqué à pH alcalin.

Ce résultat est à rapprocher de celui obtenu chez le bactériophage par des solutions de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dont le pH avait été amené à des valeurs égales ou supérieures à 9³. La réduction du dommage biologique résultant du prétraitemen t par des solutions salines en milieu alcalin est peut-être due à la forte diminution pour ces pH, de la concentration en peroxydes formés par action indirecte sur l'eau⁴. Toutefois d'autres facteurs liés au matériel biologique utilisé doivent intervenir pour rendre compte des variations de la radioprotection en fonction du pH. Parmi ceux-ci, on peut citer la diminution de résistance, après traitement par des solutions basiques, de la couche membraneuse fortement cutinisée entourant le grain d'orge^{5,6}. Il en résulte des échanges ioniques plus intenses entre l'extérieur et l'embryon, et probablement une concentration cellulaire en sel telle que certains sites protéiniques sensibles pourraient être protégés des effets indirects, par un phénomène de «salting out»⁷. Par contre aux pH acides, la sélectivité de cette membrane semble peu affectée. De telles solutions influencerait toutefois favorablement la croissance des plantules en réduisant pendant le trempage avant l'irradiation, la perte de certaines substances organiques douées de propriétés radioprotectrices⁸.

L'un ou l'autre de ces mécanismes de protection peut donc jouer un rôle prédominant suivant la réponse de la gaine membraneuse du grain aux variations de pH des solutions salines étudiées⁹.

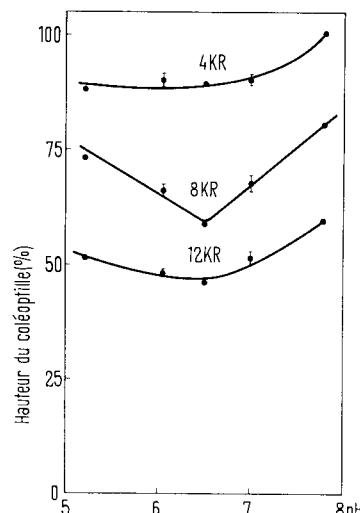


Fig. 1. Effet du pH sur la croissance du coléoptile issu de grains d'orge trempés, avant l'irradiation, dans différentes solutions tampons de phosphates.

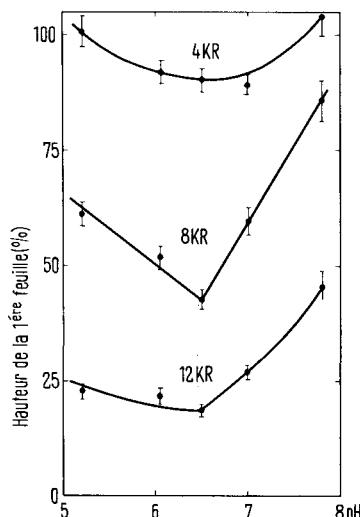


Fig. 2. Effet du pH sur la croissance de la première feuille issue de grains d'orge trempés, avant l'irradiation, dans différentes solutions tampons de phosphates.

Effet radioprotecteur de deux solutions tampons de carbonates

Doses	Hauteur du coléoptile (% temoin)			Hauteur de la 1 ^{re} feuille (% temoin)		
	4 kR	8 kR	12 kR	4 kR	8 kR	12 kR
pH 8,8	91,8	64,8	49,4	85,4	50,5	18,8
pH 9,5	86,9	65,3	50,5	79,8	48,1	21,2
H_2O	40,5	42,6	45,8	15,9	14,6	14,3

Summary. Radioprotection of barley seeds by mineral salts is minimal at pH 6-6.5. Below and above these values an augmentation of the protective effect, more rapid in basic solutions, is observed.

C. GILLET et J. ARCHAMBEAU

Institut de Morphologie Végétale et Laboratoire de Recherches pour la Protection des Populations Civiles, Université de Liège (Belgique), le 29 septembre 1965.

³ C. S. BACHOFFER et M. A. POTTINGER, *J. gen. Physiol.* **37**, 663 (1954).

⁴ P. BONET-MAURY et M. LEFORT, *Nature* **166**, 981 (1950).

⁵ E. J. COLLINS, *Ann. Bot.* **32**, 381 (1918).

⁶ W. H. THARP, *Bot. Gazette* **97**, 240 (1935).

⁷ C. S. BACHOFFER et M. A. POTTINGER, *J. gen. Physiol.* **36**, 345 (1953).

⁸ O. KAMRA, K. KAMRA, R. NILAN et C. F. KONZAK, *Hereditas* **1-2**, 261 (1960).

⁹ Ce travail a été réalisé en partie dans le cadre du Contrat Euratom 046-64-3-BIOB.