

KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN  
COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES  
COMMISSIONE DELLE COMUNITÀ EUROPEE  
COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN  
COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES

**EURATOM**

## **JAHRESBERICHT 1971**

Programm Biologie - Gesundheitsschutz

## **RAPPORT ANNUEL 1971**

Programme Biologie - Protection Sanitaire

## **RELAZIONE ANNUALE 1971**

Programma Biologia - Protezione Sanitaria

## **JAARVERSLAG 1971**

Programma Biologie - Gezondheidsbescherming

## **ANNUAL REPORT 1971**

Programme Biology - Health Protection

Vol. I - 71

EUR 4830 d-f-i-n-e

The annual reports in this volume were prepared under the responsibility of the heads of the research teams, set up under the various contracts, and were submitted in this form to the Commission and its contractual partners.

#### LEGAL NOTICE

The Commission of the European Communities is not responsible for the use which could be made of the following information.

INHALTSVERZEICHNIS  
TABLE DES MATIERES  
INDICE DELLE MATERIE  
INHOUDSOPGAVE  
TABLE OF CONTENTS



I. Einleitung/Introduction

7/11

II. Strahlenschutz/Radioprotection/Radiation Protection

II.1. Verträge/contrats/contracts

|          |   |     |
|----------|---|-----|
| 1.       | Dosimetrie/dosimetry  | 27  |
| 082-BIOC | TNO, Rijswijk (Broerse/Barendsen)   | 29  |
| "        | Univ. Toulouse (Blanc)  | 35  |
| 087-BIOC | GSF, Frankfurt (Pohlit)   | 75  |
| "        | GSF, Neuherberg (Burger)  | 85  |
| "        | Univ. Strasbourg (Rechenmann)   | 89  |
| "        | Univ. Homburg (Muth/Grillmaier)   | 115 |
| 068-BIOI | CNEN, CSN Casaccia (Casnati)  | 119 |
| 053-PSTC | CEA, CEN Fontenay-aux-Roses (Soudain)   | 125 |
| "        | CNEN, Bologna (Busuoli)   | 159 |
| "        | Univ. Toulouse (Blanc)  | 165 |
| "        | CEA, CEN Cadarache (Bricka)   | 191 |
| "        | KFA Jülich (Heinzelmann)  | 199 |
| "        | GSF, Neuherberg (Wachsmann/Burger)  | 245 |
| 047-PSTC | Bundesforschungsanstalt für<br>Lebensmittelfrischhaltung,<br>Karlsruhe (Diehl)          | 249 |
| "        | Instituut voor de Volksge-<br>zondheid, Bilthoven (Spaander)                            | 259 |
| "        | Institut d'Hygiène et<br>d'Epidémiologie, Bruxelles (Lafontaine)                        | 261 |
| 2.       | Transport von Radionukliden/cheminement des<br>radionuclides/transport of radionuclides | 265 |
| 003-PSAF | CEA, CEN Fontenay-aux-Roses (Lacourly)  | 267 |
| 074-BIAI | CNEN, Fiascherino (Bernhard)*   | -   |
| 076-BIAN | ITAL, Wageningen (De Zeeuw)   | 275 |
| s/c      | Univ. Louvain (Laudelout)*  | -   |
| 086-BIOB | Univ. Louvain (Goffeau)   | 311 |
| 3.       | Genetische Wirkungen/effets héréditaires/<br>hereditary effects                         | 323 |
| 052-BIAN | Univ. Leiden (Sobels/Rörsch)  | 325 |
| s/c      | Univ. Leiden (Möller/De Waard)  | 383 |
| 007-BIAB | ULB Bruxelles (Brachet)   | 393 |
| 067-BIOF | INRA, Dijon (Dalebroux)   | 453 |
| 084-BIOI | Univ. Pavia (Fraccaro)  | 477 |

|       |  |     |
|-------|--|-----|
| 4.    | Kurzzeitwirkungen/effets à court terme/<br>short-term effects                      | 481 |
|       | 079-BIAC Univ. Ulm (Fliedner)  | 491 |
|       | " Association Claude Bernard,<br>Villejuif (Mathé)                                 | 509 |
|       | " Istituto Mario Negri, Milano (Garattini)   | 545 |
|       | " TNO, Rijswijk (Van Bekkum)   | 581 |
|       | " Inst. J.Bordet, Bruxelles (Tagnon)   | 591 |
|       | 031-BIAD GSF, München (Stich/Thierfelder)  | 595 |
|       | 078-BIAC CNEN, CSN Casaccia (Doria)  | 627 |
|       | 026-BIAC ULB Bruxelles (Dumont)  | 633 |
|       | " Univ.Pisa (Donato)   | 651 |
| 5.    | Langzeitwirkungen/effets à long terme/<br>long-term effects                        | 667 |
|       | 078-BIAC CEN Mol (Maisin)  | 669 |
|       | 045-BIAD GSF, Neuherberg (Gössner/Hug)   | 697 |
|       | 049-PSTD DKFZ, Heidelberg (Scheer)   | 719 |
|       | 049-BIAF CEA, CEN Fontenay-aux-Roses (Lafuma)                                      | 735 |
|       | 077-BIOC CNRS, Collège de France,<br>Nogent-sur-Marne (Wolff)                      | 747 |
|       | " Univ. Freiburg (Langendorff)*  | -   |
|       | 048-PSTI ENEL, Torino (Farulla)  | 757 |
| II.2. | Gruppe Biologie Ispra/groupe de biologie Ispra/<br>biology group Ispra             | 763 |
| III.  | Anpassungen Landwirtschaft/Adaptations agronomiques/<br>Adaptations in Agriculture | 783 |
|       | Verträge/contrats/contracts  |     |
|       | 076-BIAN ITAL, Wageningen (De Zeeuw)   | 785 |
|       | s/c 1 Univ.Pisa (D'Amato)  | 891 |
|       | s/c 6 GSF, Köln (Gaul)   | 897 |
|       | s/c 4 Univ.Bonn (Gottschalk)*  | -   |
|       | s/c 3 CNEN, CSN Casaccia (Bozzini)   | 903 |
|       | s/c Inst. Pflanzenz. Onder.,<br>Wageningen (Ticheler)                              | 915 |
|       | s/c 5 GSF, Hannover (Glubrecht)  | 921 |
|       | 083-BIOI CNEN, CSN Casaccia (Bozzini)  | 931 |

---

\* Der Jahresbericht 1971 war noch nicht verfügbar.  
Le rapport annuel 1971 n'estait pas encore disponible.  
Il relazione annuale 1971 non era ancora disponibile.  
Het jaarverslag 1971 was nog niet beschikbaar.  
The annual report 1971 was not yet available.

## E I N L E I T U N G

Das Programm der Kommission der Europäischen Gemeinschaften auf dem Gebiet "Biologie - Gesundheitsschutz" umfaßt eine Reihe von Forschungsverträgen und Assoziationen, mit denen die folgenden beiden Hauptziele verfolgt werden:

- Untersuchung der Strahlengefahren (Strahlenschutz) und
- Anpassung der kerntechnischen Verfahren im Hinblick auf ihre Anwendung in der landwirtschaftlichen Forschung (Anpassungen).

Der Programmteil "Strahlenschutz" (gemeinsames Programm) umfaßt Strahlenmessungen und ihre Interpretation (Dosimetrie), die Untersuchung des Transports von Radionukliden in den Komponenten der Umwelt, die Untersuchung der genetischen Strahlenwirkung, der Kurzzeitwirkungen (akutes Strahlensyndrom und seine Behandlung) und der Spätwirkungen einschließlich der Toxikologie der radioaktiven Elemente.

- Die Tätigkeiten auf dem Gebiet der Dosimetrie weisen zwei Aspekte auf. Der erste Aspekt betrifft die Probleme biologischer Art, die für die Abschätzung des Strahlenrisikos der Gesamtbevölkerung und des Einzelnen wesentlich sind. Diese Forschungsarbeiten erstrecken sich auf die Ermittlung der biologischen Wirksamkeit verschiedener Strahlenarten, die Energieübertragung in der biologischen Materie und in Modell-Substanzen sowie die Untersuchung der Wirkungen von Strahlen in kondensierter Materie und ihrer Anwendung. Der zweite Aspekt betrifft die Personen- und Umgebungsdosismessung, die für den Schutz der Arbeitskräfte in der Kernindustrie und beim Umgang mit Strahlen notwendig ist. Diese Arbeiten erstrecken sich auf die Planung und Weiterentwicklung von Vorrichtungen und neuen Methoden zur Verbesserung der Präzision und des Wirkungsgrads von Dosimetern und Meßgeräten.

- Die Untersuchungen des Transports von Radionukliden in den Komponenten der Umwelt (Boden und Wasser) sollen zur Bestimmung der Bestrahlungsdosen für jedes Objekt (Mensch, Tier, Pflanze) führen, das im biologischen Gleichgewicht eine Rolle spielt. Von der Kenntnis der verabfolgten Dosen und ihrer Wirkungen hängt es ab, welche Höchstwerte an Radioaktivität in den Komponenten der Umwelt akzeptabel sind. Diese Untersuchungen beziehen sich auf den Boden (Ablagerung kontaminierender radioaktiver Stoffe in Abhängigkeit von atmosphärischen Parametern, Vorhersage ihrer Verlagerung in den Böden in Abhängigkeit von physikalischen und chemischen Parametern, Absorptionskinetik mineralischer Ionen), die Binnengewässer (Transport und Konzentration in Seen und Flüssen) und das Meer (ökologische Daten, Ableitungen in den Golf von Tarent).
  
- Was den Strahlenschutz mit Bezug auf die Gefährdung des Erbguts durch die Einwirkung ionisierender Strahlungen betrifft, so sind die Grundlagen für eine Beurteilung dieses Risikos noch keineswegs zuverlässig. Insbesondere stellen sich Fragen nach dem Spektrum der strahleninduzierten Mutationen im Vergleich zu Spontanmutationen, nach der Gültigkeit der Extrapolation von Ergebnissen, die mit einer Spezies und unter bestimmten Bedingungen gewonnen wurden, auf andere Spezies und andere Bedingungen sowie nach dem Einfluß von Repair-Vorgängen auf die Strahlenempfindlichkeit des genetischen Materials. Um diese Fragen beantworten zu können, sollen die Primärwirkungen der Strahlen, der Repair-Mechanismus und die Strahlenempfindlichkeit, die Wechselwirkung zwischen Strahlung, Genom und virusinduziertem Krebs sowie die Strahlenwirkungen auf die genetischen Merkmale untersucht werden.
  
- Prognose, Diagnose und Behandlung von Veränderungen des blutbildenden Systems sind nach wie vor eines der Hauptziele des Programms, das Untersuchungen über Spätschäden des Systems sowie von Veränderungen der immunologischen Funktionen infolge Schädigung des Lymphozytensystems erfordert. Die strahleninduzierten biochemischen Veränderungen sollen wegen ihrer Bedeutung als Indikatoren für Bestrahlungen und Strahlenschäden untersucht werden.
  
- Bei den Untersuchungen der Spätwirkungen beteiligt sich die Kommission im Rahmen der für diese Aktion vorbehaltenen Mittel an der Standardisierung im Bereich der Dosimetrie, der Bedingungen für Tierversuche, der Auswertung histopathologischer Schnitte und der Methoden der klinischen Biologie. Die Spätwirkungen von Strahlen sollen auch unter den Gesichtspunkten des Einflusses von Strahlenschutzmitteln auf die Überlebensdauer, des Auftretens von strahleninduziertem Krebs und Leukämie sowie der Toxikologie der peroral aufgenommenen Radionuklide untersucht werden.



Der Programmteil "Anpassungen", finanziert von der Bundesrepublik Deutschland, Italien und den Niederlanden, behandelt die Anpassung der auf dem Gebiete des Strahlenschutzes und der Strahlenbiologie sowie der Kerntechnik im allgemeinen erworbenen Kenntnisse an die Bedürfnisse der landwirtschaftlichen Forschung.

Die Themen der wichtigsten Aktion lassen sich schematisch wie folgt zusammenfassen:

- Entwicklung von Verfahren zur Untersuchung von Absorption, Transport und Lokalisierung von Ionen im Pflanzenreich.
- Untersuchung des Verhaltens konventioneller Schadstoffe und des Entwicklungsprozesses von Nährstoffen in Böden und Pflanzen.
- Zellkulturen in vitro und ihre Strahlengenetische Auswertung.
- Einzelne spezifische Aspekte der experimentellen Mutagenese, z.B. Methode "adventitious buds" und Inkompatibilitätsprobleme.
- Einzelne spezifische Aspekte der Bestrahlung von Lebensmitteln.
- Verbesserung für die landwirtschaftliche Forschung geeigneter nuklearer Instrumente und Methoden.
- Schließlich die Probleme der Strahlenentomologie.

xx

xx

xx

In dieser Publikation sind die Jahresberichte zusammengestellt, die aus Forschungsverträgen des Programms "Biologie - Gesundheitsschutz" im Jahre 1971 hervorgingen. Bis zum Jahre 1970 wurden diese Berichte jeweils einzeln in unterschiedlicher Darstellungsart in Form von Euratom-Berichten veröffentlicht. Von 1972 ab wird eine neue vereinheitlichte Form für die Herausgabe der Tätigkeitsberichte eingeführt. Diese werden zusammen in einem handlichen Dokument veröffentlicht, um somit alljährlich einen vollständigen Überblick über die Gesamtergebnisse des Programms zu vermitteln. In der vorliegenden ersten Fassung konnte die Vereinheitlichung noch nicht vollständig durchgeführt werden, da einige Vertragspartner die neue Darstellungsart angewandt haben, während andere ihren Bericht für 1971 bereits

in der bisher üblichen Form redigiert hatten. Trotz dieser Ungleichheit schien es uns zweckmäßig, diese Berichte zusammen zu veröffentlichen, um die neue Darstellungsart für 1972 und die folgenden Jahre vorzustellen.

Die Reihenfolge der wiedergegebenen Berichte entspricht den oben aufgeführten Programmthemen: Falls sich ein Bericht auf mehrere Forschungsgebiete erstreckt, ist er unter dem Hauptthema des Vertrages eingeordnet, mit Hinweisen in den anderen Themen. Zur Vereinfachung der Referenzen sind die Vertragsnummern angegeben. Verträge, die von der Direktion Gesundheitsschutz, Luxemburg, verwaltet werden, enthalten in der Vertragsnummer die Bezeichnung PS. Die übrigen Verträge, die ebenso wie die Abteilung Biologie in Ispra von der Direktion Biologie in Brüssel verwaltet werden, tragen die Bezeichnung BI.

Wir hoffen, daß dieser erste Schritt zu einer zusammenhängenderen Darstellung der in einem kommunitären Forschungsprogramm erzielten Ergebnisse dem Leser die Beurteilung der durchgeführten Arbeiten und die Formulierung der noch zu bewältigenden Aufgaben erleichtert.

Raymond K. APPLEYARD

P. RECHT

## I N T R O D U C T I O N

Le programme de la Commission des Communautés européennes en matière de Biologie - Protection sanitaire comporte une série de contrats de recherches et des associations qui ont les deux objectifs principaux suivants:

- l'étude des risques liés aux rayonnements (radioprotection) et
- l'adaptation des techniques nucléaires en vue de leur application à des recherches agronomiques (adaptations).

La Radioprotection (programme commun) comprend la mesure des rayonnements et leur interprétation (dosimétrie), l'étude du cheminement et du transfert des radionuclides dans les composants du milieu ambiant, l'étude des effets héréditaires des rayonnements, de leurs effets à court terme (syndrome aigu d'irradiation et son traitement) ainsi que de leurs effets à long terme et de la toxicologie des éléments radioactifs.

- Les activités en matière de dosimétrie présentent deux aspects. Le premier concerne les problèmes de nature biologique, essentiels pour l'estimation du risque nucléaire pour la population dans son ensemble, et pour l'individu. Ces recherches portent sur l'évaluation de l'efficacité biologique de divers types de rayonnements, le transfert d'énergie dans la matière biologique et dans des substances-modèles, et l'étude des effets des rayonnements dans la matière condensée et leur application. Le deuxième aspect est celui de la dosimétrie individuelle et des mesures d'ambiance, nécessaires pour la protection des travailleurs de l'industrie nucléaire et les manipulateurs de rayonnements. Ces travaux portent sur l'étude et la mise au point de dispositifs et de méthodes nouvelles améliorant la précision et le rendement des dosimètres et des appareils de mesure.

- L'étude du cheminement et du transfert des radionuclides dans les composants du milieu ambiant, terrestre et aquatique, doit conduire à la détermination des doses d'irradiation délivrées à chaque cible, humaine ou autre, qui joue un rôle dans l'équilibre biologique. De la connaissance des doses délivrées, et de celle des effets de ces doses, dépendent les limites de radioactivité acceptables dans les composants du milieu. Ces études concernent le milieu terrestre (dépôts de contaminants radioactifs en fonction de paramètres atmosphériques, prédiction du déplacement dans les sols en fonction de paramètres physiques et chimiques, cinétique d'absorption des ions minéraux), les eaux douces (cheminements et concentration dans les lacs et les rivières) et la mer (données écologiques, rejets dans le golfe de Tarente).
- En ce qui concerne l'aspect radioprotection du risque occasionné par l'action des rayonnements ionisants sur le matériel héréditaire, ni son estimation ni ses bases n'apparaissent comme solidement fondées. Des questions se posent notamment à propos du spectre des mutations radio-induites comparé à celui des mutations spontanées, la validité d'application des résultats obtenus avec une espèce et dans des conditions déterminées à d'autres espèces et d'autres conditions, l'influence de phénomènes de réparation sur la radiosensibilité du matériel génétique. Afin d'y répondre, les travaux portent sur les effets primaires des rayonnements, la réparation et la radiosensibilité, l'interaction entre les radiations, les génomes et les cancers provoqués par les virus et l'effet des rayonnements sur les caractères quantitatifs.
- Le pronostic, le diagnostic et le traitement des altérations du système hémopoïétique restent l'un des objectifs majeurs du programme, qui implique l'étude des altérations tardives de ce système ainsi que des altérations des fonctions immunologiques résultant de l'atteinte de l'appareil lymphocytaire. Les altérations biochimiques induites par les rayonnements sont étudiées en raison de leur intérêt en tant qu'indicateur d'irradiation et de dommage.
- Dans le domaine de l'étude des effets à long terme, la Commission collabore à des activités de standardisation portant sur la dosimétrie, les conditions d'expérimentation animale, l'interprétation des coupes histopathologiques et des méthodes de biologie clinique. Ces effets à long terme sont également étudiés sous l'angle de l'action des radioprotecteurs sur le raccourcissement de la durée de vie, de l'incidence des cancers et des leucémies induits par les rayonnements, et de la toxicologie des radionuclides ingérés.

Les Adaptations, financées par l'Allemagne, l'Italie et les Pays Bas (programme complémentaire) visent à adapter les connaissances acquises en radioprotection et en radiobiologie et celles qui procèdent de la technologie nucléaire en général, aux besoins de la recherche agronomique.

Les sujets de l'action principale peuvent être schématisés de la façon suivante:

- Le développement de techniques visant à étudier l'absorption, le transfert et la localisation d'ions dans le végétal.
- L'étude du comportement de polluants conventionnels et de processus évolutifs d'éléments nutritifs dans les sols et les plantes.
- Culture de cellules in vitro et leur exploitation radio-génétique.
- Certains aspects particuliers de la mutagénèse expérimentale, tels que la méthode des "bourgeons adventifs" et les problèmes d'incompatibilité.
- Certains aspects particuliers de l'irradiation des denrées alimentaires.
- Le perfectionnement d'instruments et de méthodes nucléaires adaptés à la recherche agronomique.
- Et enfin, des problèmes de radioentomologie.

xx

xx

xx

Le présent volume groupe les rapports annuels issus des contrats de recherches du programme "Biologie - Protection sanitaire" en 1971. Jusqu'à l'année 1970 ces rapports étaient, pour la plupart, publiés sous forme de rapports Euratom ayant chacun un volume et une forme de présentation propres. A partir de 1972 un nouveau mode standardisé de présentation a été adopté de manière à grouper les rapports d'activité en un seul document maniable qui donnera chaque année une vue complète des résultats de l'ensemble du programme. Dans ce premier volume l'uniformisation n'est pas encore complète étant donné que certains contractants ont eu la possibilité d'adopter la nouvelle forme de présentation, d'autres avaient déjà rédigé leur

rapport 1971 comme ils le faisaient antérieurement. Malgré cette disparité, nous avons jugé utile de publier ensemble ces rapports afin de préfigurer la présentation qui sera celle de 1972 et des années suivantes.

L'ordre de présentation des rapports suit celui des sujets d'études susmentionnés: Dans le cas où un contrat porte sur plusieurs domaines de recherche, il est classé au sujet principal du contrat; une référence y est néanmoins faite dans les autres sujets. Pour la clarté des références, les numéros des contrats sont indiqués. Les contrats gérés par la Direction "Protection sanitaire" à Luxembourg portent le sigle PS. Les autres contrats (portant le sigle BI) et la division Biologie à Ispra sont gérés par la Direction "Biologie" à Bruxelles.

Nous espérons que ce document, qui représente en fait un premier pas vers une présentation plus cohérente des résultats acquis dans un programme communautaire de recherches, permettra au lecteur à la fois d'évaluer la validité des travaux exécutés en 1971 et de préciser les tâches qui restent à accomplir.

Raymond K. APPLEYARD

P. RECHT

## INTRODUZIONE

Il programma della Commissione delle Comunità europee in materia di Biologia - Protezione sanitaria, comprende una serie di contratti di ricerca e di associazione con cui ci si prefiggono i due seguenti principali obiettivi:

- studio dei rischi connessi con le radiazioni (radioprotezione) e
- adattamento delle tecniche nucleari per la loro applicazione a ricerche agronomiche (adattamenti).

La Radioprotezione (programma comune) comprende la misurazione delle radiazioni e la loro interpretazione (dosimetria), lo studio della migrazione e del trasferimento dei radionuclidi nei componenti dell'ambiente naturale, lo studio degli effetti ereditari delle radiazioni, i loro effetti a breve scadenza (sindrome acuta da irradiazione e suo trattamento), nonché dei loro effetti a lunga scadenza e della tossicologia degli elementi radioattivi.

- Le attività in materia di dosimetria presentano due aspetti. Il primo riguarda i problemi di natura biologica, che sono essenziali per la valutazione del rischio nucleare per la popolazione nel suo complesso e per l'individuo. Queste ricerche sono intese a valutare l'efficacia biologica dei vari tipi di radiazione, il trasferimento dell'energia nella materia biologica e nelle sostanze modello, lo studio degli effetti delle radiazioni nella materia condensata, nonché la loro applicazione. Il secondo aspetto è quello della dosimetria individuale e delle misurazioni di ambiente, necessarie per la protezione dei lavoratori dell'industria nucleare e per coloro che impiegano direttamente le radiazioni. Tali lavori sono volti allo studio ed alla messa a punto di dispositivi e di metodi nuovi per migliorare la precisione ed il rendimento dei dosimetri e degli apparecchi di misurazione.

- Lo studio della migrazione e del trasferimento dei radionuclidi nei componenti dell'ambiente, terrestre ed acquatico, deve condurre alla determinazione delle dosi di irradiazione che abbiano colpito un qualsiasi bersaglio, umano o non umano, avente una funzione nell'equilibrio biologico. Dalla conoscenza delle dosi assorbite, nonché degli effetti di dette dosi, dipendono i limiti di radioattività accettabili nei componenti dell'ambiente. Detti studi riguardano l'ambiente terrestre (depositi di contaminanti radioattivi in funzione di parametri atmosferici, previsione dello spostamento nel suolo in funzione di parametri fisici e chimici, cinetica di assorbimento degli ioni minerali), le acque dolci (migrazione e concentrazione nei laghi e nei fiumi), ed il mare (dati ecologici, scarichi nel golfo di Taranto).
  
- Per quanto riguarda l'aspetto radioprotezione del rischio causato dall'azione delle radiazioni ionizzanti sulla sostanza ereditaria, non sembrano solidamente fondate né la sua valutazione né le sue basi. Esistono dei problemi in particolare per quanto riguarda lo spettro delle mutazioni radioindotte paragonato a quello delle mutazioni spontanee, la validità dell'applicazione dei risultati ottenuti con una specie ed in condizioni determinate ad altre specie e condizioni, l'influsso dei fenomeni di riparazione sulla radiosensibilità del materiale genetico. Per risolvere detti problemi, i lavori prendono in considerazione gli effetti primari delle radiazioni, la riparazione e la radiosensibilità, l'azione interdipendente radiazione-malattie virali e l'effetto delle radiazioni sui caratteri quantitativi.
  
- La prognosi, la diagnosi ed il trattamento delle alterazioni del sistema emopoietico costituiscono gli obiettivi più importanti del programma, che implica lo studio delle alterazioni tardive di tale sistema, nonché delle alterazioni delle funzioni immunologiche derivanti dall'alterazione dell'apparato linfocitario. Le alterazioni biochimiche indotte dalle radiazioni vengono studiate per il loro interesse quali indicatori dell'irradiazione e del danno.
  
- Nel campo dello studio degli effetti a lunga scadenza, la Commissione collabora ad attività di standardizzazione riguardanti la dosimetria, le condizioni di sperimentazione animale, l'interpretazione delle sezioni istopatologiche e dei metodi di biologia clinica. Detti effetti a lunga scadenza sono studiati anche dal punto di vista dell'azione dei radioprotettori sul raccorciamento della durata della vita, dell'incidenza dei tumori e delle leucemie provocati dalle radiazioni e della tossicologia dei radionuclidi ingeriti.



Gli adattamenti, finanziati dalla Germania, dall'Italia e dai Paesi Bassi (programma complementare) mirano ad adottare le conoscenze acquisite in materia di radioprotezione di radiobiologia, e quelle derivanti dalla tecnologia nucleare in generale, alle esigenze della ricerca agronomica.

I campi dell'azione principale possono essere schematizzati come segue:

- Sviluppo di tecniche per lo studio dell'assorbimento, del trasferimento e della localizzazione degli ioni nei vegetali.
- Studio del comportamento degli inquinanti tradizionali e del processo evolutivo di elementi nutritivi nel terreno e nelle piante.
- Coltura di cellule in vitro e loro sfruttamento radiogenetico.
- Taluni aspetti particolari della mutagenesi sperimentale, quali il metodo delle "gemme avventizie" ed i problemi di incompatibilità.
- Taluni aspetti particolari dell'irradiazione dei prodotti alimentari.
- Il perfezionamento di metodi e di strumenti nucleari adattati alla ricerca agronomica.
- E, infine, i problemi di radioecologia.

XX            XX

XX

Il presente volume raccoglie le relazioni annuali redatte nel 1971 a seguito dei contratti di ricerche del programma "Biologia-Protezione sanitaria". Fino al 1970 tali relazioni erano in massima parte pubblicate sotto forma di relazioni Euratom e ciascuna di essa aveva un volume ed una forma di presentazione propri. Dal 1972 è stato adottato un nuovo tipo di presentazione unificata per raggruppare le relazioni sulle attività in un solo documento maneggevole, che darà ogni anno una visione completa dei risultati di tutto il programma. In questo primo volume l'uniformazione non è ancora completa in quanto taluni contraenti hanno avuto la possibilità di adottare la nuova forma di presentazione quando altri avevano già redatto la loro relazione 1971

come negli anni precedenti. Malgrado questa disparità, abbiamo ritenuto utile pubblicare assieme queste relazioni per dare un'idea di quale sarà la presentazione nel 1972 e negli anni successivi.

L'ordine di presentazione delle relazioni segue quello dei campi di studio menzionati precedentemente: qualora un contratto riguardi differenti campi di ricerca, esso è classificato in base al soggetto principale del contratto; senza tuttavia trascurare un riferimento ad esse negli altri soggetti. Per rendere più chiari i riferimenti sono indicati i numeri dei contratti. I contratti gestiti dalla Direzione "Protezione sanitaria" a Lussemburgo recano la sigla PS. Gli altri contratti (che portano la sigla BI) e la Divisione "Biologia" di Ispra sono gestiti dalla Direzione "Biologia" di Bruxelles.

Ci auguriamo che questo documento, che in realtà costituisce un primo passo verso una presentazione più coerente dei risultati raggiunti in un programma comunitario di ricerche, permetta ai lettori di valutare la validità dei lavori eseguiti nel 1971 e, nel contempo, di definire i compiti che ancora rimangono da svolgere.

Raymond K. APPLEYARD

P. RECHT

## I N L E I D I N G

Het programma van de Commissie van de Europese Gemeenschappen inzake biologie - bescherming van gezondheid, omvat een reeks onderzoek- en associatiecontracten, met de volgende twee hoofddoelstellingen :

- studie van de gevaren verbonden aan stralingen (stralingsbescherming) en
- wijziging van de nucleaire technieken met het oog op hun toepassing bij landbouwkundig onderzoek (wijzigingen).

De stralingsbescherming (gemeenschappelijk programma) omvat de meting van stralingen en de interpretatie daarvan (dosimetrie), de studie van verplaatsing en overdracht van radionucliden in de milieufactoren, de studie van erfelijke effecten van stralingen, van effecten van stralingen op korte termijn (acuut bestralingssyndroom en behandeling), alsmede van de effecten van stralingen op lange termijn en van de toxicologie van radioactieve elementen.

- De werkzaamheden op het gebied van de dosimetrie vertonen twee aspecten. Het eerste aspect betreft vraagstukken van biologische aard, die van essentieel belang zijn voor de raming van het nucleaire gevaar voor de bevolking in haar geheel en voor het individu. Deze onderzoeken omvatten de bestudering van de biologische werkzaamheid van verschillende types stralingen, de overdracht van energie in biologische materie en in modelstoffen, alsmede de studie van de effecten van stralingen in gecondenseerde materie en de toepassing daarvan. Het tweede aspect betreft de individuele dosimetrie en de metingen in het milieu, die vereist zijn voor de bescherming van de werknemers in de kernindustrie en van de werknemers die met stralingen in contact komen. Deze werkzaamheden omvatten het bestuderen en ontwikkelen van inrichtingen en nieuwe methodes ter verbetering van de nauwkeurigheid en het rendement van dosimeters en meetinstrumenten.

- De bestudering van de verplaatsing en de overdracht van radionucliden in de milieufactoren (bodem en water) moet leiden tot de bepaling van de bestralingsdoses waaraan iedere al dan niet menselijke trefplaats die een rol in het biologische evenwicht speelt, wordt blootgesteld. De bepaling van de uitgezonden doses en van de effecten van deze doses is noodzakelijk voor het vaststellen van de limieten voor de in de milieufactoren toelaatbare radioactiviteit. Deze studies betreffen de bodem (neerslag van radioactieve verontreinigingen als functie van atmosferische parameters, voorspelling van de verplaatsing in de bodem als functie van fysische en chemische parameters, absorptiekinetica van minerale ionen), zoetwatergebieden (verplaatsing en concentratie in meren en rivieren) en de zee (ecologische gegevens, lozingen in de Golf van Tarente).
  
- Voor wat betreft het aspect stralingsbescherming tegen het gevaar verbonden aan de werking van ioniserende stralen op erfelijk materiaal, schijnen noch de ramingen noch de basisprincipes reeds te zijn vastgelegd. Met name rijzen vragen in verband met het spectrum van door stralingen geïnduceerde mutaties, vergeleken met dat van spontane mutaties, de geldigheid van resultaten, behaald met één soort en onder bepaalde omstandigheden, vergeleken met die behaald met andere soorten en onder andere omstandigheden en de invloed van herstelverschijnselen op de stralingsgevoeligheid van het genetisch materiaal. Met het doel deze vraagstukken op te lossen zijn werkzaamheden vastgesteld in verband met de primaire effecten van stralingen, het herstel en de stralingsgevoeligheid, de interactie van straling, het genoom en virusverwekkende kankers en het effect van stralingen op de kwantitatieve kenmerken.
  
- De prognose, de diagnose en de behandeling van wijzigingen in de bloedvormende organen blijft één van de hoofddoelstellingen van het programma, in het kader waarvan ook de later voorkomende wijzigingen in deze organen, alsmede de wijzigingen van de immunologische functies ten gevolge van een aandoening van het lymfevatensstelsel worden bestudeerd. De biochemische wijzigingen ten gevolge van stralingen worden bestudeerd met het oog op hun belang als stralings- en schade-indicator.
  
- Op het gebied van de studie van effecten op lange termijn neemt de Commissie deel aan normalisatiewerkzaamheden op de volgende gebieden : dosimetrie, omstandigheden voor dierproeven, interpretatie van histopathologische coupes en methodes van klinische biologie. Deze effecten op lange termijn worden voorts bestudeerd in het licht van de invloed van stralingsbeschermers op de verkorting van de levensduur, het voorkomen van door stralingen geïnduceerde kankers en leukemieën en de toxicologie van in de maag opgenomen radionucliden.

De wijzigingen, die worden gefinancierd door Duitsland, Italië en Nederland (aanvullend programma), hebben tot doel de inzake stralingsbescherming en stralingsbiologie verworven kennis, alsmede de kennis die voortvloeit uit de nucleaire technologie in het algemeen, aan te passen aan de behoeften van het landbouwkundig onderzoek.

Hieronder volgt een schematisch overzicht van de belangrijkste onderwerpen die worden bestudeerd :

- de ontwikkeling van technieken ter bestudering van de absorptie, de overdracht en de lokalisering van ionen in planten en gewassen;
- studie van het gedrag van conventionele verontreinigingen en van ontwikkelingsprocessen van voedingselementen in bodem en plant;
- celculturen in vitro en radiogenetische toepassing daarvan;
- bepaalde bijzondere aspecten van de experimentele mutagenese, zoals de methode van de "bijscheuten" en de problemen inzake incompatibiliteit;
- bepaalde bijzondere aspecten van de bestraling van voedingsmiddelen;
- het verbeteren van instrumenten en van nucleaire methodes aangepast aan landbouwkundig onderzoek;
- problemen inzake radio-entomologie.

o

o

o

In dit deel zijn de jaarrapporten verzameld die zijn opgesteld in het kader van de onderzoekcontracten van het programma "Biologie - Bescherming van de gezondheid" in 1971. Tot 1970 werden deze rapporten in hoofdzaak gepubliceerd als Euratom-rapporten van verschillende omvang en presentatie. Vanaf 1972 werd een nieuwe gestandaardiseerde wijze van presentatie vastgesteld, waarbij de rapporten over de werkzaamheden worden gegroepeerd in één enkel gemakkelijk te hanteren document, dat ieder jaar een volledig overzicht zal bevatten van de resultaten van het gehele programma. De uniformiteit van dit eerste deel laat nog enigszins te wensen over, aangezien bepaalde contractanten in staat waren de nieuwe presentatie over te nemen, terwijl andere reeds

hun rapport voor 1971 hadden opgesteld op dezelfde wijze als de vorige jaren. Ondanks deze verschillen hebben wij het wenselijk geacht de rapporten samen te publiceren, ten einde een idee te geven van de presentatie voor 1972 en de volgende jaren.

De volgorde van de rapporten komt overeen met die van de onderwerpen in bovenvermelde studies. Indien een contract betrekking heeft op verschillende onderzoekgebieden, wordt het ingedeeld bij het belangrijkste onderwerp in dat contract, met een verwijzing naar de andere onderwerpen. Met het oog op de duidelijkheid van de verwijzingen zijn de nummers van de contracten aangegeven. De contracten onder beheer van het directoraat "Bescherming van de gezondheid" te Luxemburg zijn gekenmerkt met de initialen PS. De andere contracten (met de initialen BI) en de afdeling Biologie te Ispra worden beheerd door het directoraat "Biologie" te Brussel.

Wij hopen dat dit document, dat in feite een stap betekent in de richting van een beter sluitende presentatie van de resultaten, behaald in het kader van een communautair onderzoekprogramma, de lezer in staat zal stellen terzelfder tijd de waarde van de werkzaamheden in 1971 te beoordelen en de taken die ons nog wachten, te preciseren.

Raymond K. APPLEYARD

P. RECHT

## Introduction

The Commission of the European Communities' programme for Biology and Health Protection includes a number of research contracts and associations, the two principal aims of which are as follows:

- a) to study the risks connected with radiation (radiation protection);
- b) to adapt nuclear techniques with a view to their application in agricultural research (adaptation).

Radiation protection (Common programme) includes the measurement and interpretation of radiation (dosimetry), the study of the passage and transfer of radioactive nuclides in the constituents of the environment, the study of the hereditary effects of radiation, of the short-term effects (acute irradiation syndrome and its treatment), of the long-term effects, and of the toxicology of radioactive elements.

- a) The activities with regard to dosimetry come under two separate heads. The first concerns the problems of a biological nature which are essential to the assessment of the nuclear risk to the population as a whole and to the individual. This research bears upon the evaluation of the biological efficiency of various types of radiation, the transfer of energy in biological matter and model substances, the study of the effects of radiation in condensed matter, and their application. The second is that of the individual dosimetry and ambient readings necessary for the protection of workers who are employed in the nuclear industry or have to handle radioactive substances. This work involves the study and development of new methods and equipment to improve the **precision and performance** of dosimeters and measuring equipment.

- b) The study of the passage and transfer of radioactive nuclides in the constituents of the environment, both terrestrial and aquatic, must lead to the determination of the radiation doses delivered to each target, human or otherwise, which plays a part in the biological balance. The limits to acceptable levels of radioactivity in the constituents of the environment are contingent on knowledge of the doses delivered and of their effects. These studies concern the terrestrial environment (deposition of radioactive contaminants as a function of atmospheric parameters, forecasting of transport in the ground as a function of physical and chemical parameters, absorption kinetics of mineral ions), fresh water (passage and concentration in lakes and rivers) and the sea (ecological data, pollution in the Gulf of Taranto).
- c) As regards the radiation protection aspect of the risk caused by the action of ionizing radiation on hereditary matter, neither the estimates made nor the principle on which they are based seem to be well founded. Questions arise concerning the spectrum of radiation-induced as opposed to spontaneous mutations, the validity of applying results obtained with one species and under one set of conditions to other species and conditions, and the influence of repair phenomena on the sensitivity to radiation of the genetic material. In order to reply to these the work concerns the primary effects of radiation, repair and radiation sensitivity, the interaction between radiation, the genome and virus initiated cancers, and the effect of radiation on quantitative characteristics.
- d) The prognosis, diagnosis and treatment of changes in the hemopoietic system remain one of the main objectives of the programme, thus implying the study of delayed changes in this system and alterations in the immunological functions resulting from damage to the lymphocytic mechanism. The biological changes induced by the radiation are studied because of their possible interest as radiation and damage indicators.



- e) In the field of the study of the long term effects, the Commission is collaborating in the standardization of dosimetric techniques, conditions for animal experiments, the interpretation of histopathological sections and methods employed in clinical biology. These long term effects are also being studied from the point of view of the part played by radiation protectors in the shortening of the life span, the incidence of cancer and leukemia induced by radiation, and the toxicology of ingested radionuclides.

The Programme of Adaptation funded by Germany, Italy and the Netherlands (complementary programme) is aimed at adapting the knowledge gained in the fields of radiation protection, radiation biology and nuclear technology in general to the needs of agricultural research.

The subjects covered by the principal project can be tabulated as follows:

- a) the development of techniques aimed at studies of the absorption, transfer and location of ions in plants;
- b) the study of the behaviour of conventional pollutants and evolutive transformation processes in nutritive elements in the soil and plants;
- c) culture of cells in vitro and their radiogenetic use;
- d) certain special aspects of experimental mutagenesis, such as the "adventitious bud" method and incompatibility problems;
- e) certain special aspects of the irradiation of foodstuffs;
- f) the improvement of nuclear instruments and methods adapted to agricultural research;
- g) finally, problems of radioentomology.

xx

xx

xx

The present volume groups together the annual reports arising from the research contracts under the "Biology/Health Protection" programme in 1971. Until 1970 these reports were published for the most part in the form of Euratom reports of one volume each and in their own format. As of 1972 a new standard layout has been adopted in order to group project reports together in a single manageable document providing each year a comprehensive view of the programme as a whole. In this first volume the uniformity is not yet complete; certain contractors were able to use the new layout but others had already compiled their 1971 report as before. In spite of the discrepancies we considered it worthwhile to publish these reports as a whole in order to give a preview of the format to be used from 1972 onwards.

The reports will be presented in the order of the study themes mentioned above. Where a contract covers several fields of research it is classified under the main subject of the contract; nevertheless it is referred to under the other headings. For the sake of clarity the contract numbers are stated. The contracts managed by the Directorate for "Health Protection" in Luxembourg bear the motif PS. The other contracts (bearing the letters BI) and the Biology Division, Ispra, are managed by the Directorate for Biology in Brussels.

We hope that this document which constitutes a first step towards a more coherent method of presenting the results obtained under a Community research programme, will enable the reader to assess the validity of the work performed in 1971 and at the same time to pinpoint the tasks remaining to be accomplished.

Raymond K. APPLEYARD

P. RECHT

STRAHLENMESSUNGEN UND IHRE INTERPRETATION (DOSIMETRIE)

MESURE DES RAYONNEMENTS ET LEUR INTERPRETATION (DOSIMETRIE)

MISURA DELLA RADIAZIONI E LORO INTERPRETAZIONE (DOSIMETRIA)

METING VAN STRALINGEN EN INTERPRETATIE (DOSIMETRIE)

MEASUREMENT AND INTERPRETATION OF RADIATION (DOSIMETRY)

Weitere Forschungsarbeiten zu diesem Thema werden auch in folgenden Jahresberichten beschrieben:

D'autres travaux sur ce thème de recherche sont également décrits dans les rapports annuels suivants:

Altri lavori di ricerca al riguardo vengono descritti anche nelle seguenti relazioni annuali:

Verdere publikaties over dit thema zijn ook in de volgende jaarverslagen opgenomen:

Further research work on these subjects will also be described in the following annual reports:

076-BIAN            ITAL, Wageningen (De Zeeuw)

Biology group Ispra

A Contract No. 082-70-1 BIOC

Radiobiological Institute TNO, Rijswijk (ZH), The Netherlands

J.J. Broerse and G.W. Barendsen

Energy deposition by secondary particles from neutrons and X-rays and the implication for survival of intestinal crypt cells after single and fractionated exposures.

In order to analyze the relative influence of disturbances in secondary particle equilibrium at interfaces of tissues, in comparison with the influence of differences in intrinsic radiosensitivity between stem cells in different organs of mammals, the relative biological effectiveness (RBE) of 15 MeV neutrons compared to 300 kV X-rays was measured for mouse bone marrow stem cells and stem cells of the intestinal crypts of mice respectively.

The RBE value for bone marrow death of the mice was in good agreement with the RBE derived from survival curves for spleen colony assay. The RBE value for intestinal death was in good agreement with the RBE derived from the micro-colony assay for stem cells in the crypts

It can be concluded that

- a) both syndromes are due to depopulation of the relevant stem cell populations,
- b) perturbations of secondary particle equilibrium at bone-soft tissue interfaces do not play a significant part for 15 MeV neutrons, and
- c) Intrinsic differences exist between the radiosensitivities of respectively bone marrow stem cells and intestinal crypt stem cells both for 300 kV X-rays and for 15 MeV neutrons, while these differences also cause differences in RBE values for the bone marrow syndrome and the intestinal syndrome.

B Contract No. 082-70-1 BIOC

Radiobiological Institute TNO, Rijswijk (ZH), The Netherlands

J.J. Broerse and G.W. Barendsen

Energy deposition by secondary particles from neutrons and X-rays and the implication for survival of intestinal crypt cells after single and fractionated exposures.

In whole-body exposures of mammals to ionizing radiation discontinuities in the structure of the body may produce considerable inhomogeneities in the dose distribution in soft tissue. These variations in absorbed energy are dependent on the type of radiation employed and the type of material adjacent to the various tissues. The energy dissipation in soft tissue remote from bone will be different from that in soft tissue adjacent to bone for exposure to fast neutrons and X-rays. It has been suggested (Bond, 1969) that the differences in absorbed dose at the bone-soft tissue interface might be related to differences in the pattern of mortality of mice due to the bone-marrow syndrome and the intestinal syndrome after exposure to fast neutrons and X-rays.

In previous studies (Broerse and Barendsen, 1970) the variations in absorbed dose at an interface have been investigated with an ionization chamber and with cell cultures. It has been concluded that dosimetric factors are not the major cause for the differences between the ratio of doses at which the bone-marrow syndrome and the intestinal syndrome occur after neutron and X-irradiation, respectively. In subsequent experiments values of the relative biological effectiveness (RBE) of 15 MeV neutrons measured for the bone-marrow syndrome have been compared with RBE values for survival of haemopoietic stem cells. The RBE values of 1.04 for in vivo conditions and 1.14 for in vitro conditions obtained at 0.1% survival are in good agreement with the value of 1.12 found for the  $LD_{50/30\text{ d}}$  (Broerse, van Putten and Barendsen, 1970). It is gratifying that the very complex reactions leading to the death of an animal can be related directly to the response of a single type of cells, i.e. the haemopoietic stem cell.

The deviating value of the intestinal syndrome in comparison with that for the bone-marrow syndrome might indicate that the radiosensitivity of the

intestinal crypt cells is different from that of the haemopoietic stem cell. In the present study the survival characteristics of the cells of the jejunal crypts are studied with the micro-colony assay introduced by Withers and Elkind (1970). This technique has been used to study the effects of single and fractionated exposures of mouse intestinal crypt cells to X-rays and 15 MeV neutrons.

A description of the materials and methods employed can be found elsewhere (Broerse and Roelse, 1971). The survival curves for the crypt stem cells after single dose irradiation with 15 MeV neutrons and 300 kV X-rays which are presented in figure 1, can be characterized by  $D_0$  values of 140 rads and 167 rads and extrapolation numbers of 2.6 and 7.6 respectively. At radiation doses which produce 50% mortality due to the intestinal syndrome, an RBE of 1.4 can be calculated for the survival of the jejunal crypt stem cells.

The results for the irradiation with five daily fractions of neutrons and X-rays are presented in figure 2. The RBE values for the fractionated irradiations are higher than that for the single irradiation, notably 2.1, 1.95 and 1.85 respectively for neutron doses of 220, 280 and 340 rads per fraction. This increase in RBE with decreasing dose is of high importance for the evaluation of the effects of fractionated or low dose rate exposures, relevant to radiation protection considerations.

The present studies have clearly shown that there are intrinsic differences between the radiosensitivities of the bone-marrow cells and the intestinal cells, which are related to differences between the shapes of the survival curves for intestinal cells and haemopoietic cells irradiated with fast neutrons and X-rays.

#### References

- Bond, V.P., Comparative Cellular and Species Radiosensitivity (Ed. by V.P. Bond and T.Sugahara). Igaku Shoin Ltd., Tokyo, p. 235 (1969).
- Broerse, J.J. and Barendsen, G.W., Euratom report EUR 4465 e (1970).
- Broerse, J.J., van Putten, L.M. and Barendsen, G.W., Proc.2nd Symp. on Microdosimetry, Stresa, Italy, p. 761 (1970).
- Broerse, J.J. and Roelse, H., Int.J.Radiat.Biol., 20, 391 (1971).
- Withers, H.R. and Elkind, M.M., Int.J.Radiat.Biol., 17, 261 (1970).

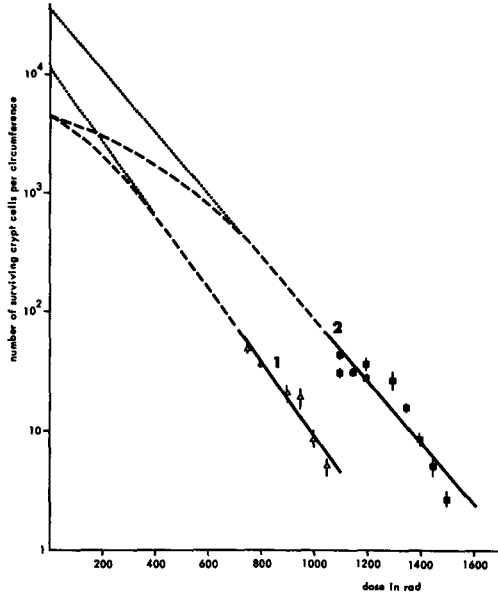


Figure 1. Survival of jejunal crypt stem cells in mice after single dose irradiation with 15 MeV neutrons (curve 1) and 300 kV X-rays (curve 2).

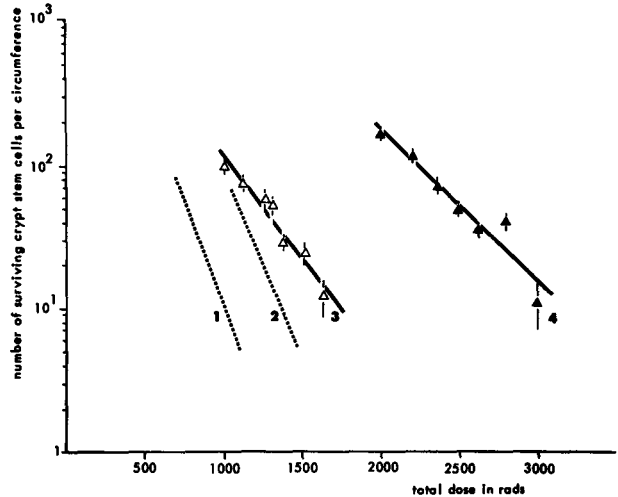


Figure 2. Survival of jejunal crypt stem cells after fractionated irradiation with 15 MeV neutrons (curve 3) and 300 kV X-rays (curve 4). The results for the single dose irradiations with neutrons (curve 1) and X-rays (curve 2) are included for comparison.



LIST OF PUBLICATIONS CONTRACT No. 082-70-1 BIOC

- Broerse, J.J., Barendsen, G.W., Freriks, G., and van Putten, L.M., RBE values of 15 MeV neutrons for effects on normal tissues. *Europ.J.Cancer* 7, 171-177 (1971).
- Broerse, J.J., Engels, A.C., Lelieveld, P., van Putten, L.M, Duncan, W., Greene, D., Massey, J.B., Gilbert, C.W., Hendry, J.H., and Howard, A., The survival of colony-forming units in mouse bone-marrow after in vivo irradiation with D-T neutrons, X- and gamma-radiation. *Int.J.Radiat.Biol.*, 19, 101-110 (1971).
- Broerse, J.J., and Roelse, H., Survival of intestinal crypt cells after fractionated exposure to X-rays and 15 MeV neutrons. *Int.J.Radiat.Biol.*, 20, 391-395 (1971).



Contrat EURATOM N° 082-71-1 BIOC

Centre de Physique Atomique  
Université Paul Sabatier  
TOULOUSE

---

SIMULATION DU TRANSPORT DES ELECTRONS ET DES PHOTONS  
DANS LA MATIERE. RESULTATS D'UNE IRRADIATION DE  
SYSTEMES BILAMINAIRES PAR UNE SOURCE DE  $^{60}\text{Co}$ .

---

Rapport global concernant l'année 1971

•

•

Ces recherches ont été effectuées par :

Messieurs J. P. PATAU, Docteur de spécialité, Maître-Assistant,  
M. TERRISSOL, Docteur de spécialité, Assistant.  
A. SAINT-PAUL, Docteur de spécialité,  
C. SAVY, Docteur de spécialité.

Sous la direction de :

Messieurs D. BLANC, Directeur du Centre de Physique Atomique,  
L. COMMANAY, Professeur à l'Université Paul Sabatier.

avec le concours de :

Monsieur A. GASTELU pour la gestion administrative.

Les calculs ont été effectués sur les ordinateurs :

- IBM 7044 et CII 10070 de l'Institut de Calcul Numérique de TOULOUSE,
- CII 10070 de l'Ecole Supérieure de l'Aéronautique et de l'Espace de TOULOUSE-LESPINET,
- CDC 6600 de la S. N. I. A. S. à TOULOUSE-BLAGNAC.

## INTRODUCTION.

---

Au moyen de la méthode de Monte-Carlo, nous simulons les diverses interactions des faisceaux d'électrons et de photons au cours de leur ralentissement dans la matière. Nous déterminons ainsi l'histoire des particules depuis leur point d'entrée dans un système considéré jusqu'à leur point de sortie ou leur fin à l'intérieur de la configuration étudiée et en tirons tous les renseignements dosimétriques utiles.

Au titre du contrat n° 08270-1-BIOC (2), nous avons mis au point diverses techniques de simulation des interactions des photons et nous avons commencé de les appliquer à l'irradiation des systèmes bi-laminaires inertes.

En 1971, nous avons complété cette application en simulant le ralentissement des électrons secondaires créés par les photons primaires ou secondaires en mouvement dans les systèmes. Nous avons notamment étudié un système bilaminaire composé de tissu biologique mou et de tissu osseux.

Nous avons mis, en outre, au point une technique de simulation fidèle de l'émission des photons de freinage lors des interactions des électrons avec les noyaux atomiques.

# I - SIMULATION DE L'EMISSION DE RAYONNEMENT DE FREINAGE.

Tous les problèmes posés par le ralentissement des électrons d'énergie inférieure à 2 MeV ont été résolus et ont donné lieu à diverses applications.

Nous nous sommes attachés à l'étude du ralentissement des électrons d'énergie supérieure à 2 MeV en adaptant à ce domaine d'énergie les techniques mises au point pour les cas précédents et en élaborant une méthode de simulation du Bremsstrahlung.

Connaissant l'énergie d'un électron incident, la simulation du rayonnement de freinage nécessite l'échantillonnage de l'énergie du photon émis, l'angle de la direction prise par le photon par rapport à la direction incidente de l'électron. Les paramètres caractéristiques de l'électron dévié sont calculés à partir de ceux du photon émis et des lois de conservation de la quantité de mouvement et de l'énergie.

L'échantillonnage de l'énergie  $k$  du photon et de son angle  $\theta_0$  d'émission se fait à partir de la section efficace différentielle de SCHIFF (1) :

$$d\sigma_{k, \theta_0} = \frac{4Z^2 r_0^2}{137} \frac{dk}{k} y dy \left[ \frac{16y^2 E}{(y^2+1)^4 E_0} - \frac{(E_0+E)^2}{(y^2+1)^2 E_0^2} + \left[ \frac{E_0^2 + E^2}{(y^2+1)^2 E_0^2} - \frac{4y^2 E}{(y^2+1)^4 E_0} \right] \text{Ln } M(y) \right]$$

$$\text{avec } \left[ M(y) \right]^{-1} = \left[ \frac{k}{2E_0 E} \right]^2 + \left[ \frac{Z^{1/3}}{111(y^2+1)} \right]^2$$

$$\text{et } y = E_0 \theta_0.$$

Les courbes donnant les valeurs de cette expression en fonction de l'angle d'émission du photon et pour diverses énergies de photons présentent un pic prononcé et prennent des valeurs assez faibles en dehors de ce pic.

Afin d'avoir une bonne précision dans la région intéressante de la distribution, nous avons limité l'intervalle de variation des deux variables. Ainsi l'angle d'émission du photon varie de zéro à une valeur  $\theta_{oc}$  variable avec l'énergie des électrons et l'énergie du photon entre les bornes  $k_o$  et  $k_c$ . Les limites  $\theta_{oc}$  et  $k_c$  ont été choisies de telle sorte que, pour ces valeurs, la distribution ait une valeur inférieure ou égale au centième du maximum de la section efficace.

Le domaine d'échantillonnage est divisé en dix strates comme le montre la figure 1.

La strate 1 contient le maximum de la distribution. Les maxima des autres strates sont obtenus pour les valeurs  $k_o$  et  $\theta_{j-1}$ . Les parties a et b de la strate j sont définies par les inégalités :

$$\left. \begin{array}{l} 0 \leq \theta_o \leq \theta_j \\ k_{j-1} \leq k \leq k_j \end{array} \right\} \text{ pour la partie a}$$

$$\left. \begin{array}{l} \theta_{j-1} \leq \theta_o \leq \theta_j \\ k_o \leq k \leq k_j \end{array} \right\} \text{ pour la partie b}$$

L'angle limite de la strate j se déduit de l'angle  $\theta_{oc}$  par la relation :

$$\theta_{oj} = \frac{\theta_{oc}}{10} \times j$$

tandis que la valeur limite de l'énergie du photon pour cette même strate s'exprime par :

$$k_j = k_o + j \left( \frac{k_c - k_o}{10} \right)$$

La figure 2 donne l'organigramme de l'échantillonnage de la distribution  $d\sigma_{k, \theta_o}$ .

Nous avons établi un sous-programme échantillonnant la section efficace différentielle de SCHIFF. Ce sous-programme est appelé au cours d'une étape



de l'histoire d'un électron autant de fois qu'il y a de photons de freinage émis sauf si l'énergie d'un des photons est telle que l'électron incident se retrouve avec une énergie comprise entre deux étapes. Dans ce cas, le sous-programme n'est plus appelé et l'histoire de l'électron continue, celui-ci prenant l'énergie de l'étape la plus proche mais ses dépôts d'énergie sont pondérés de façon que leur somme soit égale à l'énergie de l'électron avant Bremsstrahlung.

La fiche d'appel du sous-programme BREMSS s'établit ainsi :

- UTILISATION : CALL BREMSS (IE, ET, TO, HNU, TLFOT, CDEL, SDEL, N1)

- NOTATIONS : IE : Indice de l'étape en cours

ET : Energie totale de l'électron en unités de  $m_0 c^2$

TO : Energie cinétique de l'électron en unités de  $m_0 c^2$

HNU : Energie du photon en MeV

TLFOT : angle d'émission  $\theta_0$  du photon en radians

CDEL :  $\cos(\theta - \theta_0)$  : cosinus de l'angle de l'électron dévié,  
angle par rapport à la direction du photon émis

SDEL : sinus du même angle

N1 : nombre courant du sous-programme SHASAR générant  
les nombres au hasard.

Pour déterminer le nombre de photons de freinage créés au cours d'une étape de l'histoire d'un électron, on doit déterminer le nombre moyen de photons de freinage créés lors de cette même étape.

Pour chaque étape de l'histoire d'un électron nous avons déterminé statistiquement le nombre moyen  $\bar{n}_i$  de photons de freinage qui doivent être émis pour que la perte moyenne d'énergie  $\overline{\Delta E}_{r_i}$  par rayonnement soit proportionnelle à la composante du pouvoir d'arrêt due au rayonnement de freinage :

$$\bar{n}_i = \frac{\overline{\Delta E}_{r_i}}{k_i}$$

L'énergie moyenne des photons de freinage  $\bar{k}_i$  est obtenue à partir de méchantillonnages de la section efficace différentielle de SCHIFF.

$$\bar{k}_i = \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m k_j$$

$$\overline{\Delta E_{r_i}} = \overline{\Delta E_i} \times \frac{\left( \frac{dT_o}{dx} \right)_{ir}}{\left( \frac{dT_o}{dx} \right)_{ic} + \left( \frac{dT_o}{dx} \right)_{ir}}$$

$\overline{\Delta E_i}$  = perte d'énergie d'une étape

$\left( \frac{dT_o}{dx} \right)_{ic}$  = perte d'énergie par collision coulombienne

$\left( \frac{dT_o}{dx} \right)_{ir}$  = perte d'énergie par émission de rayonnement.

Le tableau 1 donne pour quelques énergies étapes la perte d'énergie de l'étape  $\overline{\Delta E_i}$ , la perte moyenne d'énergie par rayonnement  $\overline{\Delta E_{r_i}}$ , le pourcentage d'énergie rayonnée  $P_r$  ( $P_r = 100 \cdot \overline{\Delta E_{r_i}} / \overline{\Delta E_i}$ ), l'énergie moyenne  $\bar{k}_i$  des photons de freinage et le nombre moyen  $\bar{n}_i$  de photons créés dans le cas de l'aluminium et de l'altuglas.

Le nombre moyen  $\bar{n}_i$  de photons créés étant relativement faible, nous avons supposé que le nombre effectif  $\nu$  de photons émis au cours de l'histoire d'un électron se distribue suivant une loi de Poisson de moyenne  $\bar{n}_i$  :

$$P(\nu) = \frac{e^{-\bar{n}_i} \bar{n}_i^\nu}{\nu!}$$

La simulation du ralentissement des électrons dans la matière par suite des interactions coulombiennes et des interactions inélastiques sur les atomes est basée sur les théories de diffusion multiple de GOUDSMIT et SAUNDERSON pour le calcul des distributions de déviation angulaire, de LANDAU, modifiée par BLUNCK et LEISEGANG pour déterminer les distributions de longueurs de trajet.

Les techniques de simulation mettant en oeuvre ces deux théories ont été publiées (4).

**TABEAU 1** : Pour une étape d'énergie initiale  $E_i$  au cours de laquelle la perte d'énergie est  $\Delta_i$ , ce tableau donne pour l'aluminium et l'altuglas la perte moyenne d'énergie par Bremsstrahlung  $\overline{\Delta r_i}$ , le pourcentage d'énergie perdue par Bremsstrahlung, l'énergie moyenne  $\overline{k_i}$  des photons émis par un électron se ralentissant depuis l'énergie  $E_i$ , et le nombre moyen  $n_i$  de photons émis dans l'étape i.

| $E_i$<br>(MeV) | $\Delta_i$<br>(MeV) | Aluminium                        |           |                           |           | Altuglas                         |           |                           |          |
|----------------|---------------------|----------------------------------|-----------|---------------------------|-----------|----------------------------------|-----------|---------------------------|----------|
|                |                     | $\overline{\Delta r_i}$<br>(MeV) | Pr<br>(%) | $\overline{k_i}$<br>(MeV) | $n_i$     | $\overline{\Delta r_i}$<br>(MeV) | Pr<br>(%) | $\overline{k_i}$<br>(MeV) | $n_i$    |
| 98,7           | 0,418(1)            | 0,281(1)                         | 67,2      | 0,244                     | 0,115(2)  | 0,211(1)                         | 50,5      | 0,188                     | 0,112(2) |
| 90,5           | 0,384(1)            | 0,250(1)                         | 65,1      | 0,236                     | 0,106(2)  | 0,185(1)                         | 48,2      | 0,190                     | 0,974(1) |
| 79,5           | 0,337(1)            | 0,210(1)                         | 62,3      | 0,223                     | 0,939(1)  | 0,152(1)                         | 45,1      | 0,187                     | 0,813(1) |
| 69,8           | 0,295(1)            | 0,175(1)                         | 59,3      | 0,218                     | 0,804(1)  | 0,124(1)                         | 42,0      | 0,157                     | 0,793(1) |
| 58,7           | 0,248(1)            | 0,136(1)                         | 54,8      | 0,242                     | 0,563(1)  | 0,938                            | 37,8      | 0,176                     | 0,532(1) |
| 49,4           | 0,209(1)            | 0,102(1)                         | 48,8      | 0,227                     | 0,450(1)  | 0,610                            | 29,2      | 0,182                     | 0,336(1) |
| 39,7           | 0,168(1)            | 0,727                            | 43,3      | 0,226                     | 0,320(1)  | 0,459                            | 27,3      | 0,191                     | 0,240(1) |
| 29,3           | 0,124(1)            | 0,441                            | 35,6      | 0,215                     | 0,205(1)  | 0,264                            | 21,3      | 0,176                     | 0,150(1) |
| 24,7           | 0,105(1)            | 0,329                            | 31,3      | 0,241                     | 0,137(1)  | 0,191                            | 18,2      | 0,187                     | 0,102(1) |
| 20,7           | 0,890               | 0,242                            | 27,5      | 0,218                     | 0,111(1)  | 0,137                            | 15,6      | 0,166                     | 0,827    |
| 17,4           | 0,740               | 0,178                            | 24,1      | 0,228                     | 0,78      | 0,98 (-1)                        | 13,2      | 0,167                     | 0,59     |
| 14,7           | 0,622               | 0,130                            | 20,9      | 0,228                     | 0,57      | 0,70 (-1)                        | 11,3      | 0,172                     | 0,41     |
| 11,8           | 0,501               | 0,86 (-1)                        | 17,2      | 0,217                     | 0,40      | 0,45 (-1)                        | 9,0       | 0,175                     | 0,26     |
| 9,93           | 0,421               | 0,62 (-1)                        | 14,7      | 0,221                     | 0,28      | 0,32 (-1)                        | 7,6       | 0,158                     | 0,20     |
| 7,34           | 0,311               | 0,34 (-1)                        | 10,9      | 0,191                     | 0,18      | 0,17 (-1)                        | 5,5       | 0,166                     | 0,10     |
| 5,19           | 0,220               | 0,17 (-1)                        | 7,7       | 0,188                     | 0,92 (-1) | 0,85 (-2)                        | 3,9       | 0,152                     | 0,56(-1) |
| 4,00           | 0,170               | 0,10 (-1)                        | 5,9       | 0,179                     | 0,58 (-1) | 0,49 (-2)                        | 2,9       | 0,144                     | 0,34(-1) |
| 3,08           | 0,131               | 0,63 (-2)                        | 4,8       | 0,165                     | 0,38 (-1) | 0,29 (-2)                        | 2,2       | 0,148                     | 0,20(-1) |
| 2,09           | 0,89 (-1)           | 0,32 (-2)                        | 3,6       | 0,148                     | 0,22 (-1) | 0,12 (-2)                        | 1,3       | 0,111                     | 0,11(-1) |

(Les chiffres entre parenthèses indiquent les puissances de 10).

La figure 3 montre l'organigramme général du programme simulant le transport d'électrons d'énergie supérieure à 2 MeV en tenant compte du Bremsstrahlung et pour un milieu semi-infini irradié perpendiculairement à la face d'entrée.

L'organigramme de la figure 4 donne l'enchaînement de la simulation du rayonnement de freinage dénommé BREMSSTRAHLUNG dans la précédente.

La figure 20 montre l'organigramme du programme traitant du transport des photons de freinage créés par les électrons incidents.

L'exploitation du Bremsstrahlung des électrons d'énergie supérieure à 2 MeV n'est pas encore terminée. Le modèle numérique simulant cette interaction a été soumis à divers tests dont les résultats sont très satisfaisants (voir tableau 2).

Nous comptons l'utiliser dans un premier temps pour obtenir l'énergie déposée dans des milieux semi-infinis d'aluminium et d'altuglas ( $C_5H_8O_2$ ,  $\rho = 1,182 \text{ g/cm}^3$ ) irradiés par un faisceau parallèle d'électrons monoénergétiques en incidence normale, pour l'étendre ensuite au cas de systèmes plurilaminaires composés de tissu mou et de tissu osseux en particulier.

**TABEAU 2** : Spectre de 10 000 valeurs de  $k$  et de  $\theta_0$ , échantillonnés dans le cas de l'aluminium dans le domaine ( $0 < \theta_0 < \theta_{ci}$ ,  $k_0 < k < k_{ci}$ ) quadrillé en 100 rectangles de dimensions :  $\theta_{ci}/10$  sur  $(k_{ci} - k_0)/10$ . L'énergie des électrons incidents correspond aux énergies étapes suivantes :  
a) 49,35 MeV, b) 12,33 MeV, c) 3,08 MeV.

a)

|              |       |     |     |    |    |    |    |    |    |    |
|--------------|-------|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|
|              | ← k → |     |     |    |    |    |    |    |    |    |
| } $\theta_0$ | 6901  | 595 | 152 | 94 | 49 | 35 | 26 | 18 | 13 | 4  |
|              | 926   | 254 | 83  | 48 | 26 | 23 | 14 | 9  | 9  | 9  |
|              | 249   | 56  | 25  | 23 | 14 | 4  | 5  | 2  | 5  | 11 |
|              | 92    | 25  | 13  | 7  | 9  | 7  | 5  | 1  | 0  | 1  |
|              | 47    | 8   | 7   | 5  | 4  | 1  | 3  | 2  | 0  | 0  |
|              | 29    | 3   | 0   | 2  | 2  | 0  | 3  | 0  | 1  | 2  |
|              | 11    | 2   | 3   | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  |
|              | 8     | 2   | 0   | 2  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
|              | 2     | 2   | 1   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
|              | 2     | 0   | 1   | 0  | 0  | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  |

b)

|              |       |     |     |     |    |    |    |    |    |    |
|--------------|-------|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|
|              | ← k → |     |     |     |    |    |    |    |    |    |
| } $\theta_0$ | 6995  | 564 | 154 | 102 | 49 | 43 | 19 | 25 | 16 | 14 |
|              | 896   | 222 | 88  | 47  | 21 | 21 | 14 | 10 | 10 | 5  |
|              | 264   | 65  | 28  | 18  | 12 | 5  | 6  | 2  | 2  | 1  |
|              | 91    | 27  | 13  | 4   | 5  | 5  | 3  | 0  | 2  | 0  |
|              | 33    | 7   | 7   | 5   | 1  | 0  | 1  | 1  | 0  | 0  |
|              | 23    | 6   | 4   | 0   | 2  | 2  | 0  | 1  | 0  | 0  |
|              | 10    | 5   | 1   | 0   | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
|              | 4     | 2   | 0   | 3   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
|              | 10    | 0   | 1   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
|              | 2     | 0   | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |

c)

|              |       |     |     |    |    |    |    |   |   |   |
|--------------|-------|-----|-----|----|----|----|----|---|---|---|
|              | ← k → |     |     |    |    |    |    |   |   |   |
| } $\theta_0$ | 7700  | 583 | 143 | 61 | 27 | 20 | 11 | 8 | 7 | 2 |
|              | 791   | 154 | 45  | 26 | 14 | 5  | 7  | 1 | 1 | 0 |
|              | 190   | 41  | 10  | 6  | 4  | 2  | 0  | 0 | 0 | 0 |
|              | 63    | 12  | 2   | 2  | 0  | 0  | 0  | 1 | 0 | 1 |
|              | 27    | 5   | 2   | 0  | 2  | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 |
|              | 7     | 1   | 2   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 |
|              | 3     | 1   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 |
|              | 1     | 2   | 0   | 0  | 0  | 1  | 0  | 0 | 0 | 0 |
|              | 4     | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 |
|              | 2     | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 |

## II - SIMULATION DE L'IRRADIATION DE MILIEUX BILAMINAIRES PAR UNE SOURCE DE $^{60}\text{Co}$ .

### 1 - Introduction.

Pour calculer la distribution macroscopique de l'énergie déposée par un faisceau de photons dans un milieu homogène et infini on peut supposer que les électrons secondaires déposent toute leur énergie au point où ils prennent naissance. Cette hypothèse n'est plus valable dans les régions voisines d'interfaces où l'équilibre électronique n'est plus réalisé, de même les spectres des photons et de leurs électrons secondaires au voisinage d'une interface sont fortement influencés par la nature du matériau situé au-delà de cette interface.

Pour évaluer ces phénomènes, nous avons choisi d'étudier un système composé de deux matériaux différents constituant un empilement bilaminaire à faces parallèles ; ces deux matériaux sont donc séparés par une interface plane au voisinage de laquelle le transport des particules libres est malaisé à étudier par les diverses méthodes analytiques ou numériques. La source d'irradiation est externe, elle est constituée par un faisceau large, parallèle, homogène, monocinétique, en incidence normale sur la face d'entrée du système et supposé provenir d'une source de  $^{60}\text{Co}$  pour les calculs actuels, mais ceux-ci peuvent s'adapter sans difficulté à n'importe quelle distribution spectrale et directionnelle du faisceau, ainsi qu'à des sources internes. Les deux systèmes étudiés sont constitués par les juxtapositions cuivre-graphite et tissu biologique mou-tissu osseux dans les deux sens d'irradiation possibles en incidence normale. Dans chaque cas, on fait varier l'épaisseur des deux milieux en conservant pour chacun d'eux la même masse superficielle.

La première phase des calculs est constituée par la simulation du transport des photons, la deuxième par la simulation du cheminement de tous les électrons susceptibles de se mouvoir dans la zone de non-équilibre électronique, photons et électrons sont suivis jusqu'à 10 keV, énergie en dessous de laquelle les photons ont un effet photoélectrique imposé et les électrons sont supposés perdre toute leur énergie au point atteint. Cette énergie est donc

l'énergie seuil inférieure de tous les spectres calculés.

## 2 - Caractéristiques des configurations géométriques étudiées.

L'épaisseur de la région de non-équilibre électronique est évaluée à 80 % de la longueur du parcours curviligne effectif des électrons secondaires les plus énergétiques ; l'étude des phénomènes produits dans cette région nécessite de suivre les histoires de tous les électrons susceptibles d'y pénétrer, donc tous les électrons rapides créés dans une zone voisine de l'interface et d'épaisseur égale à deux fois l'épaisseur de la région de non-équilibre électronique devront être suivis.

Cette épaisseur, exprimée en masse superficielle, varie d'un matériau à l'autre ; pour simplifier les calculs sans restreindre leur validité nous prendrons cette épaisseur égale dans les deux milieux voisins de l'interface à l'épaisseur trouvée dans le milieu où le parcours est le plus grand. Les systèmes seront donc partagés en quatre zones (figure 6), dans les zones 1 et 4, seul le transport des photons est simulé, dans les zones 2 et 3 les électrons secondaires de plus de 10 keV sont suivis.

Le tableau 3 montre l'épaisseur des zones 2 et 3 et le tableau 4 l'épaisseur des diverses configurations étudiées avec leur désignation.

Les compositions du tissu mou et du tissu osseux sont celles qui ont été définies par l'I. C. R. U. (tableau 5).

Divers sous-programmes en FORTRAN IV ont été établis pour la simulation des effets THOMSON, COMPTON, Photoélectrique, matérialisation que peut subir un photon à la traversée de la matière (2).

TABLEAU 3 : Epaisseur des zones 2 et 3.

| Corps        | Nombre atomique Z (ou Z) | Masse volumique (g/cm <sup>3</sup> ) | Parcours maximal des électrons de 1,115 MeV (g/cm <sup>2</sup> ) | Epaisseur des zones 2 et 3 |       |
|--------------|--------------------------|--------------------------------------|--|----------------------------|-------|
|              |                          |                                      |  | g/cm <sup>2</sup>          | cm    |
| Cuivre       | 29                       | 8,92                                 | 0,700  | 2 × 0,560 = 1,120          | 0,126 |
| Graphite     | 8                        | 2,25                                 | 0,570  | 2 × 0,580 = 1,160          | 0,498 |
| Tissu osseux | 9,251                    | 1,85                                 | 0,525  | 2 × 0,420 = 0,840          | 0,454 |
| Tissu mou    | 7,005                    | 1,0                                  | 0,500  | 2 × 0,420 = 0,840          | 0,840 |



TABLEAU 4 : Configurations géométriques étudiées.

| Configuration |              | Épaisseur du milieu 1<br>ou 2 (en g/cm <sup>2</sup> ) | Désignation | Épaisseur du<br>milieu 1 (cm) | Épaisseur du<br>milieu 2 (cm) |
|---------------|--------------|---|-------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 1er milieu    | 2ème milieu  |   |             |                               |                               |
| Graphite      | Cuivre       | 2 × 0,560 = 1,120                                     | G1          | 0,498                         | 0,126                         |
|               |              | 4 × 0,560 = 2,240                                     | G2          | 0,996                         | 0,251                         |
|               |              | 7 × 0,560 = 3,920                                     | G3          | 1,742                         | 0,431                         |
|               |              | 21 × 0,560 = 11,760                                   | G4          | 5,227                         | 1,318                         |
| Cuivre        | Graphite     | 2 × 0,560 = 1,120                                     | C1          | 0,126                         | 0,498                         |
|               |              | 4 × 0,560 = 2,240                                     | C2          | 0,251                         | 0,996                         |
|               |              | 7 × 0,560 = 3,920                                     | C3          | 0,439                         | 1,742                         |
|               |              | 21 × 0,560 = 11,760                                   | C4          | 1,318                         | 5,227                         |
| Tissu osseux  | Tissu mou    | 2 × 0,420 = 0,840                                     | O1          | 0,454                         | 0,840                         |
|               |              | 4 × 0,420 = 1,680                                     | O2          | 0,908                         | 1,680                         |
|               |              | 7 × 0,420 = 2,940                                     | O3          | 1,590                         | 2,940                         |
|               |              | 21 × 0,420 = 8,820                                    | O4          | 4,767                         | 8,820                         |
| Tissu mou     | Tissu osseux | 2 × 0,420 = 0,840                                     | M1          | 0,840                         | 0,454                         |
|               |              | 4 × 0,420 = 1,680                                     | M2          | 1,680                         | 0,908                         |
|               |              | 7 × 0,420 = 2,940                                     | M3          | 2,940                         | 1,590                         |
|               |              | 21 × 0,420 = 8,820                                    | M4          | 8,820                         | 4,767                         |

TABLEAU 5 : Composition du tissu mou et du tissu osseux.

| Tissu mou |                      | Tissu osseux |                      |
|-----------|----------------------|--------------|----------------------|
| Elément   | Pourcentage en masse | Elément      | Pourcentage en masse |
| H         | 10,20                | H            | 6,4                  |
| C         | 12,30                | C            | 27,8                 |
| N         | 3,50                 | N            | 2,7                  |
| O         | 72,90                | O            | 41,0                 |
| Na        | 0,08                 | Mg           | 0,2                  |
| Mg        | 0,02                 | P            | 7,0                  |
| P         | 0,20                 | S            | 0,2                  |
| S         | 0,50                 | Ca           | 14,7                 |
| K         | 0,30                 |              |                      |

### III - RESULTATS.

#### a - Spectres énergétiques des photons.

Les programmes fournissent les spectres de photons traversant la face antérieure du système, l'interface, la face postérieure, ainsi que divers plans dans les deux matériaux (3).

Les figures 7 à 9 montrent respectivement l'évolution des spectres de photons antédifusés et rétrodifusés par les systèmes  $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$  et  $M_4$ , 01, 02, 03, et 04. Ces spectres présentent divers seuils désignés par des lettres sur l'axe des énergies. Leur signification est donnée sur le tableau 6. Ils sont évidemment d'autant plus marqués que l'épaisseur des systèmes est faible. On les observe également sur l'interface (figures 11 et 12) où leur évolution est analogue.

#### b - Spectres caractéristiques des électrons stockés.

Les figures 13 et 14 représentent les distributions spatiales des électrons stockés (destinés à être suivis), leurs spectres énergétiques et leurs spectres directionnels pour les systèmes 01 et 04 respectivement. Sur les spectres énergétiques sont marqués l'énergie maximale des électrons Compton relatifs aux photons de 1,33 MeV (lettre A) et celle relative aux photons de 1,17 MeV (lettre B). Les spectres directionnels sont tracés pour l'ensemble des électrons stockés soit dans le milieu 1, soit dans le milieu 2 en fonction de l'angle  $\theta$  d'émission par rapport à l'axe Oy (figure 1) ; ils tendent à s'uniformiser lorsque l'épaisseur des systèmes augmente.

#### c - Energie déposée et transférée.

Ces quantités ont été calculées dans les zones 2 et 3 de chacun des systèmes considérés ; les figures 15 et 16 montrent ces résultats dans les systèmes  $G_1$  et  $G_4$  ; on peut observer que ces zones ont une épaisseur bien plus grande que celle de la zone de non-équilibre électronique effective ; d'autre part,

TABLEAU 6 : Seuils observés sur les spectres de photons.

| Désignation | Signification   |
|-------------|---|
| A           | 1,33 MeV. Energie de photons incidents.   |
| B           | 1,17 MeV. Energie de photons incidents.   |
| C           | 0,369 MeV, énergie minimale des photons antédifusés par un seul effet Compton, relative à des photons source de 1,33 MeV.   |
| D           | 0,356 MeV, même signification que C pour les photons de 1,17 MeV.   |
| E           | 0,1165 MeV, énergie minimale des photons antédifusés après deux effets Compton (moyenne de 0,118 MeV et 0,115 MeV, valeurs de cette quantité pour les photons de 1,33 MeV et 1,17 MeV respectivement).  |
| F           | 0,2115 MeV, énergie minimale des photons rétrodifusés par un seul effet Compton (moyenne de 0,214 MeV et 0,209 MeV, valeurs de cette quantité pour les photons de 1,33 MeV et 1,17 MeV respectivement). |
| G           | 0,1495 MeV, énergie minimale des photons rétrodifusés après deux effets Compton (moyenne de 0,150 MeV et 0,149 MeV, valeurs de cette quantité pour les photons de 1,33 MeV et 1,17 MeV respectivement). |

la forme de la courbe d'énergie déposée au voisinage de l'interface dépend beaucoup de la composition spectrale du faisceau à cet endroit là et donc de l'épaisseur des milieux diffusants ; dans le cas des systèmes les plus épais nos résultats sont comparables aux résultats expérimentaux de BERNARD (Be-1).

Les figures 17 et 18 représentent ces mêmes quantités pour les systèmes  $M_1$  et  $M_4$ , les figures 19 et 20 pour les configurations 01 et 04.

#### d - Spectres énergétiques des électrons.

Les figures 21 et 22 montrent les spectres énergétiques des électrons traversant l'interface et les deux plans situés au début et à la fin de la zone de non-équilibre électronique dans les systèmes  $M_1$  et  $M_4$  respectivement.

### CONCLUSION

Le problème de transport des photons traité ici montre qu'il est possible de déterminer par le calcul les spectres des photons et d'électrons mis en mouvement dans un milieu hétérogène irradié par une source de photons ainsi que les distributions spatiales d'énergie déposée.

Nous avons mis en évidence l'influence de l'épaisseur de milieu diffusant situé de part et d'autre de l'interface et montré l'importance de la composition spectrale du faisceau de photons sur la distribution spatiale de l'énergie déposée. Nous avons également déterminé les spectres particuliers dont la connaissance s'avère indispensable pour déterminer la nature et la fréquence des transformations d'un type donné, induits par les rayonnements à l'échelle moléculaire.

Nous comptons en 1972 continuer nos recherches sur les points suivants :

1 - Application de la simulation du Bremsstrahlung aux cas de l'irradiation de milieux semi-infinis et laminaires pour des électrons d'énergie supérieure à 2 MeV.

2 - Mise au point des techniques de simulation du transport des positrons : production, ralentissement et annihilation.

3 - Etude de méthodes de simulation applicables à basse énergie en vue des applications à la microdosimétrie, selon le programme défini par l'Euratom à l'issue du 3<sup>e</sup> symposium de STRESA (1971).

## BIBLIOGRAPHIE

---

- (1) - SCHIFF (L. I.) : Phys. Rev., 83, 2, 1951.
- (2) - Rapport EURATOM, EUR-4666 f, 1971.
- (3) - PATAU (J. P. ), SAINT-PAUL (A. ), BLANC (D. ) : Third Symposium on microdosimetry, STRESA (Italy), (1971).
- (4) - PATAU (J. P. ), BLANC (D. ), MATHIEU (J. ), MASON (G. A. ) : Second Symposium on microdosimetry, STRESA (Italy), 1969.

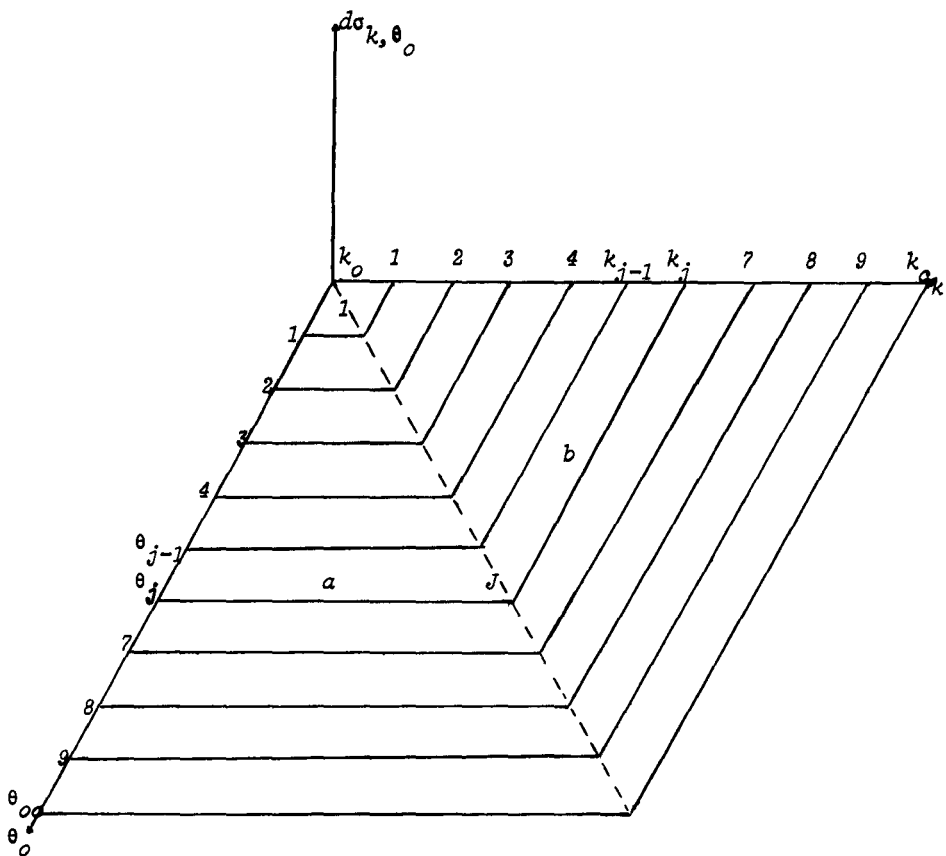


Figure 1 - Découpage du domaine de variation de la section efficace de SCHIFF.

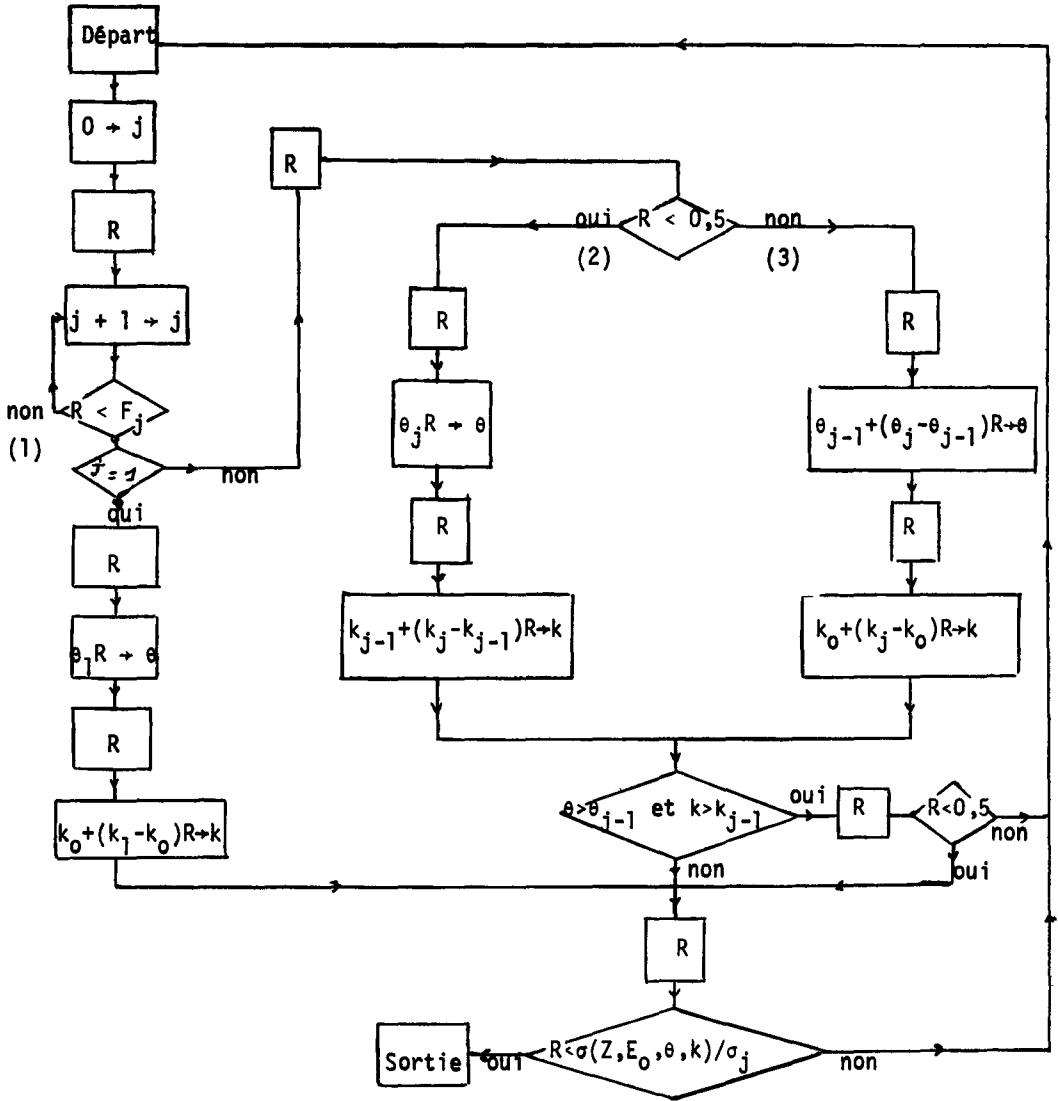


Figure 2 - Organigramme d'échantillonnage de la distribution de SCHIFF.



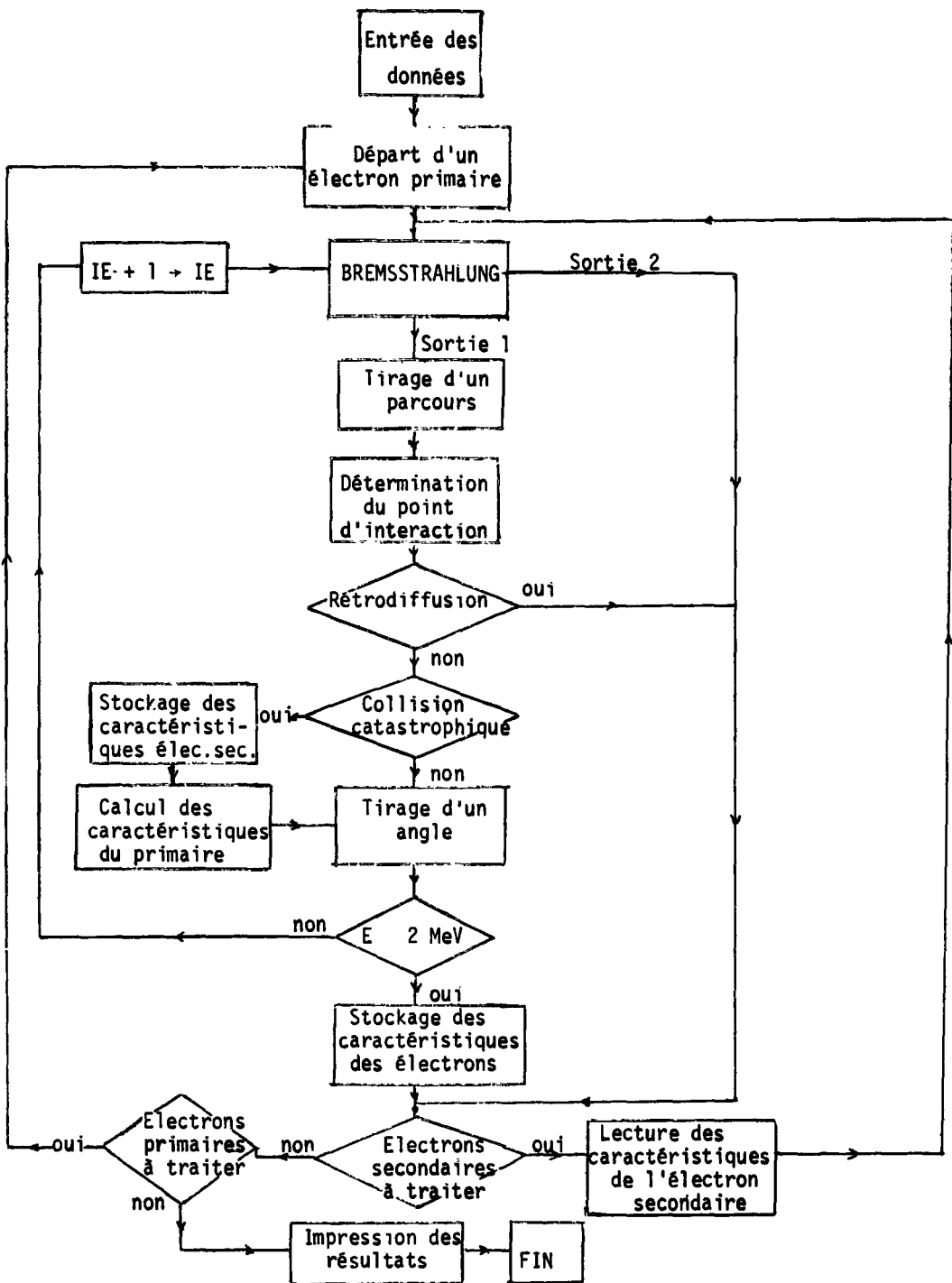
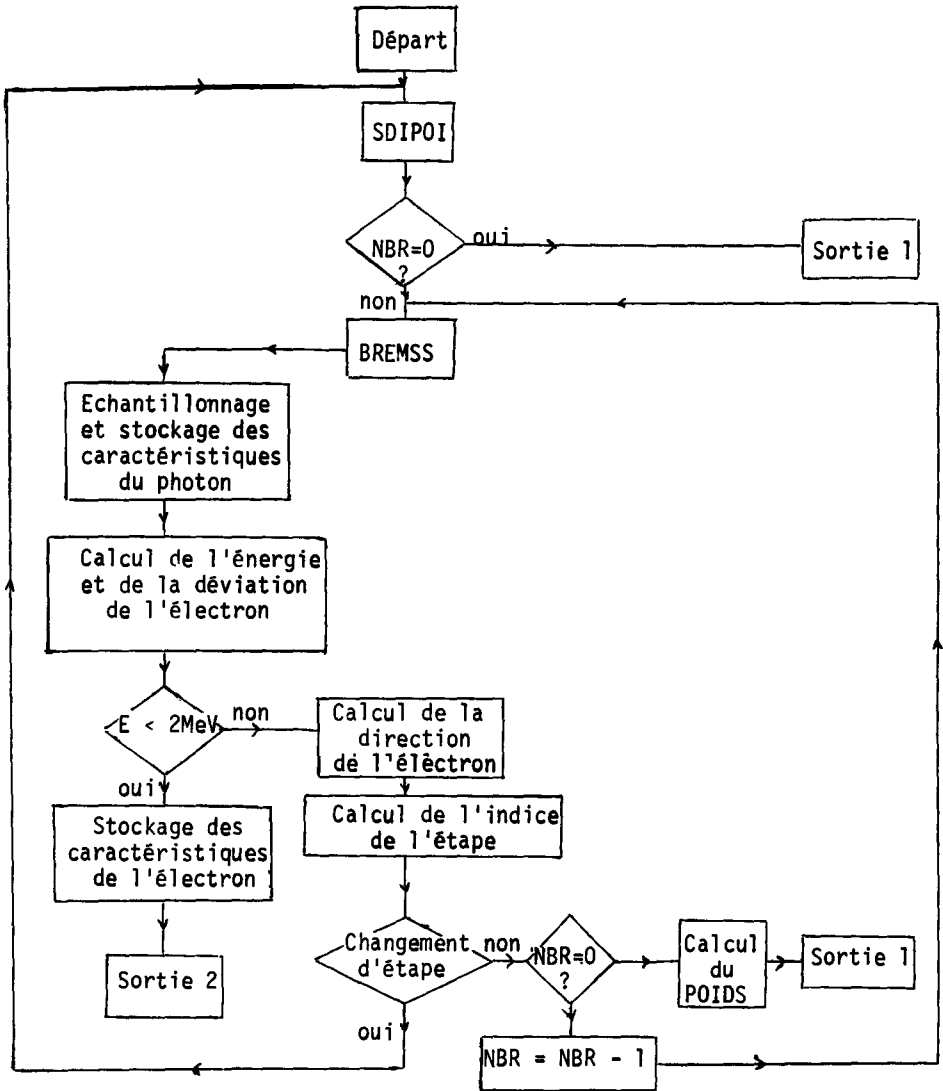


Figure 3 - Organigramme du programme DATEX (cas des électrons d'énergie supérieure à 2 MeV).



*Notations* : SDIPOI : sous-programme échantillonnant la loi de POISSON pour la détermination du nombre de photons de freinage émis.

NBR : compte le nombre de photons de freinage émis.

BREMSS : sous-programme échantillonnant par la méthode précédemment décrite les valeurs de l'énergie des photons et de leur angle d'émission par rapport à la direction incidente des électrons.

POIDS : pondération de la perte d'énergie des électrons.

Figure 4 - Organigramme de la simulation de production de photons de freinage.

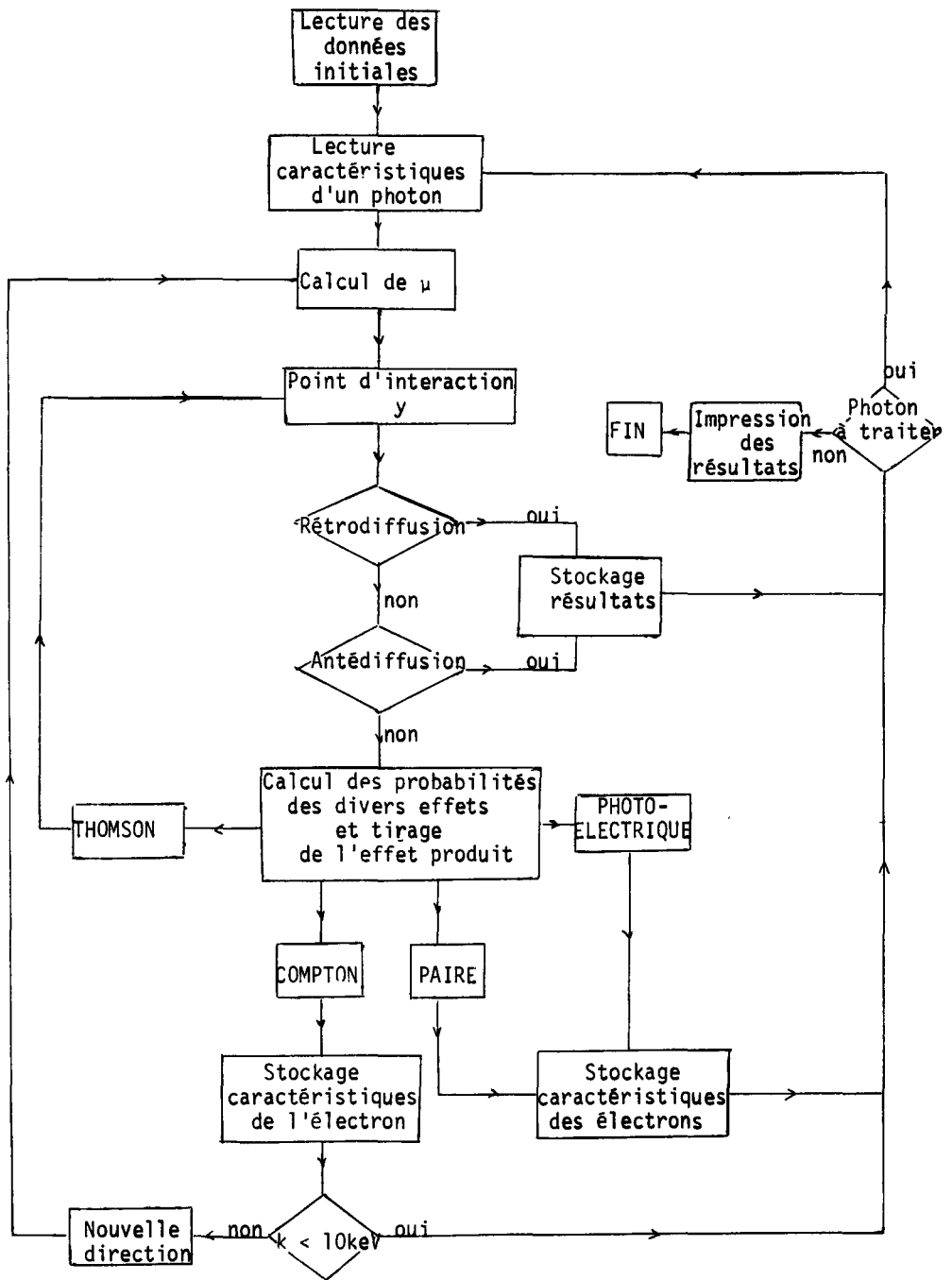


Figure 5 - Organigramme de la simulation du transport des photons de freinage.

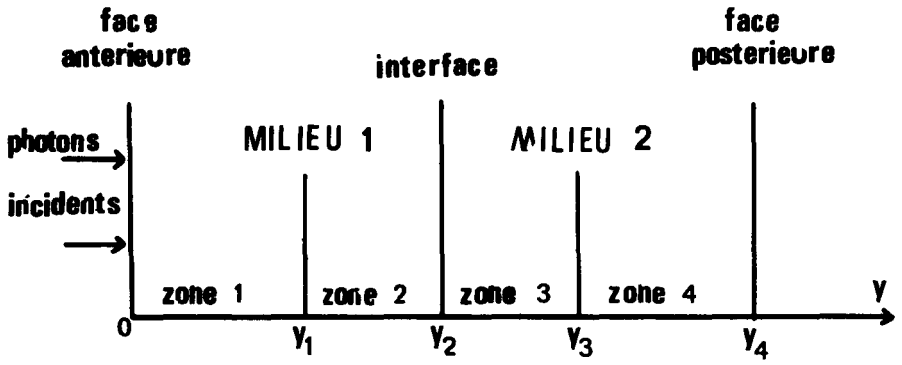


Figure 6 - Découpage du système irradié par la source de  $^{60}\text{Co}$ .

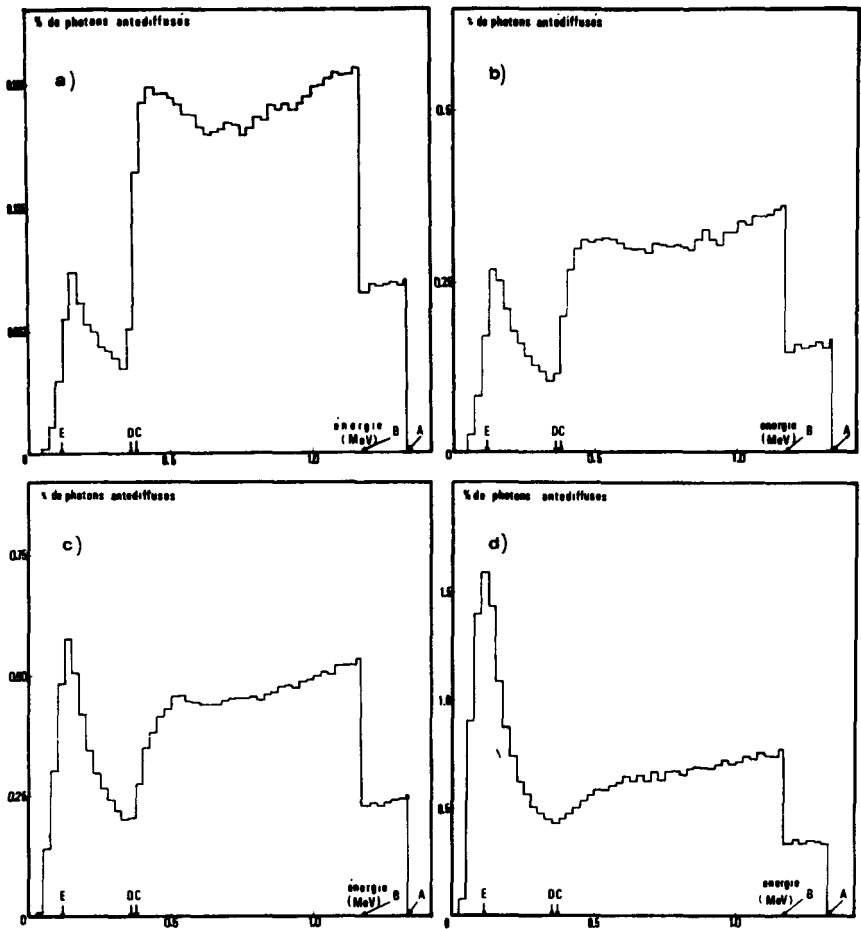


Figure 7 - Spectres énergétiques des photons antédifffusés par les systèmes  
 a)  $M_1$ , b)  $M_2$ , c)  $M_3$ , d)  $M_4$ .

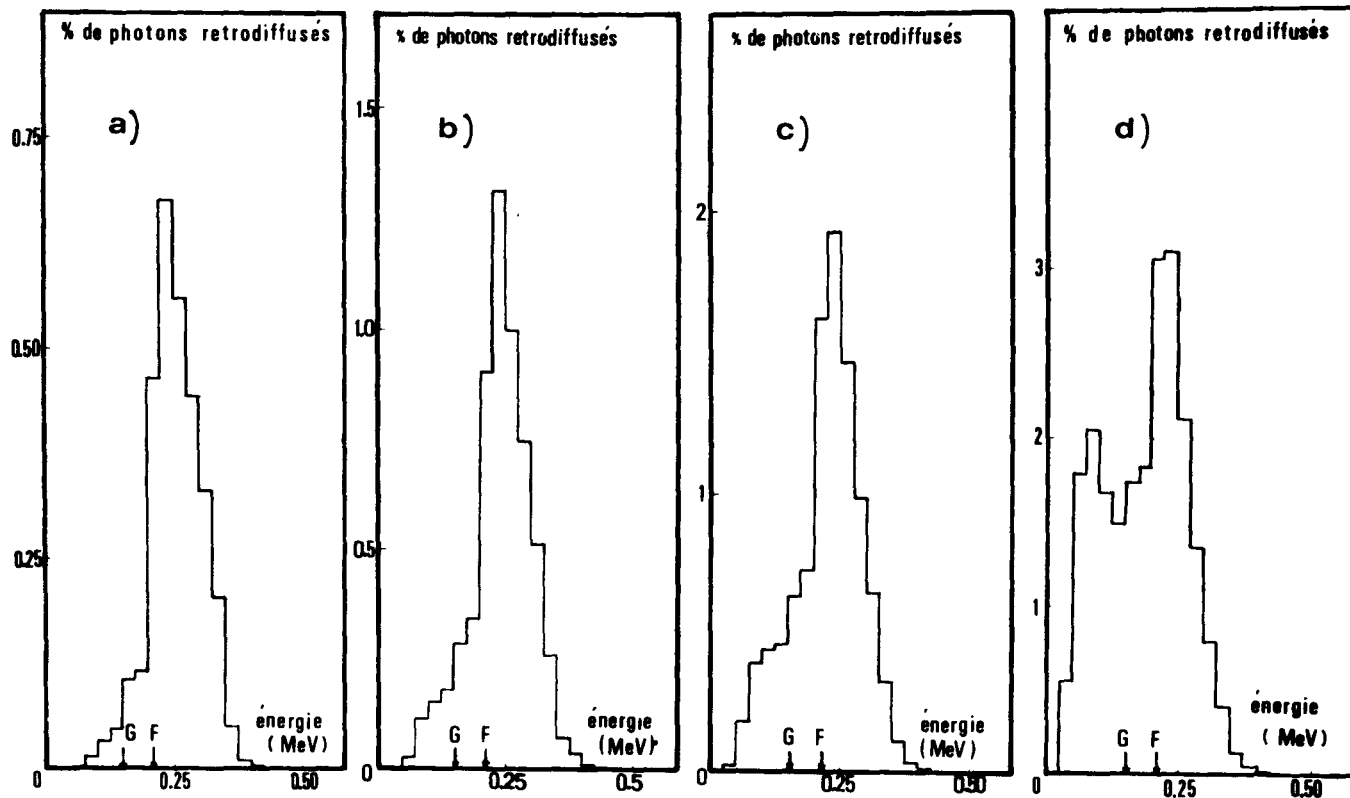


Figure 8 - Spectres énergétiques des photons rétrodiffusés par les systèmes  
 a)  $M_1$ , b)  $M_2$ , c)  $M_3$ , d)  $M_4$ .

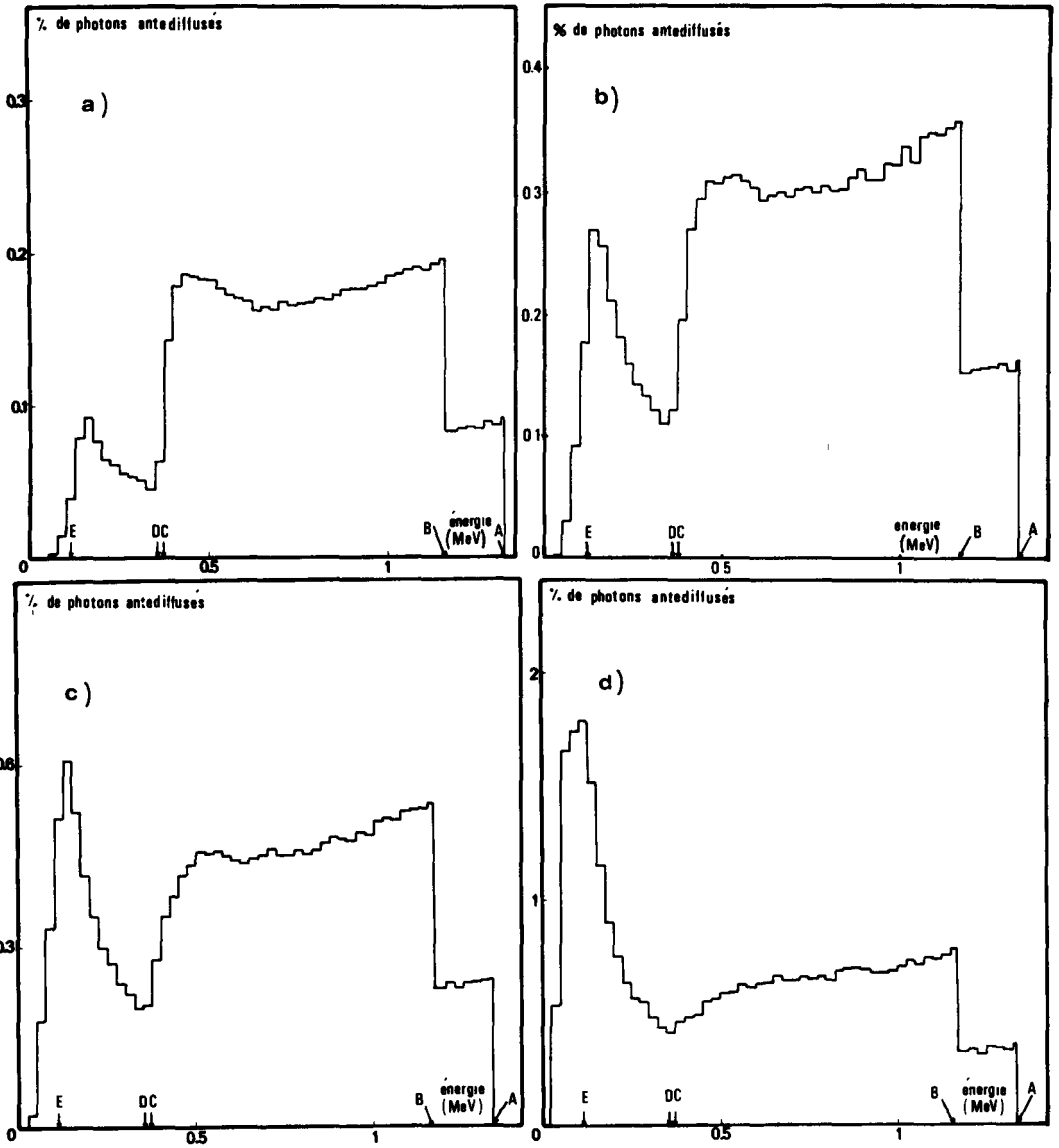


Figure 9 - Spectres énergétiques des photons antédifflusés par les systèmes  
a)  $O_1$ , b)  $O_2$ , c)  $O_3$ , d)  $O_4$ .

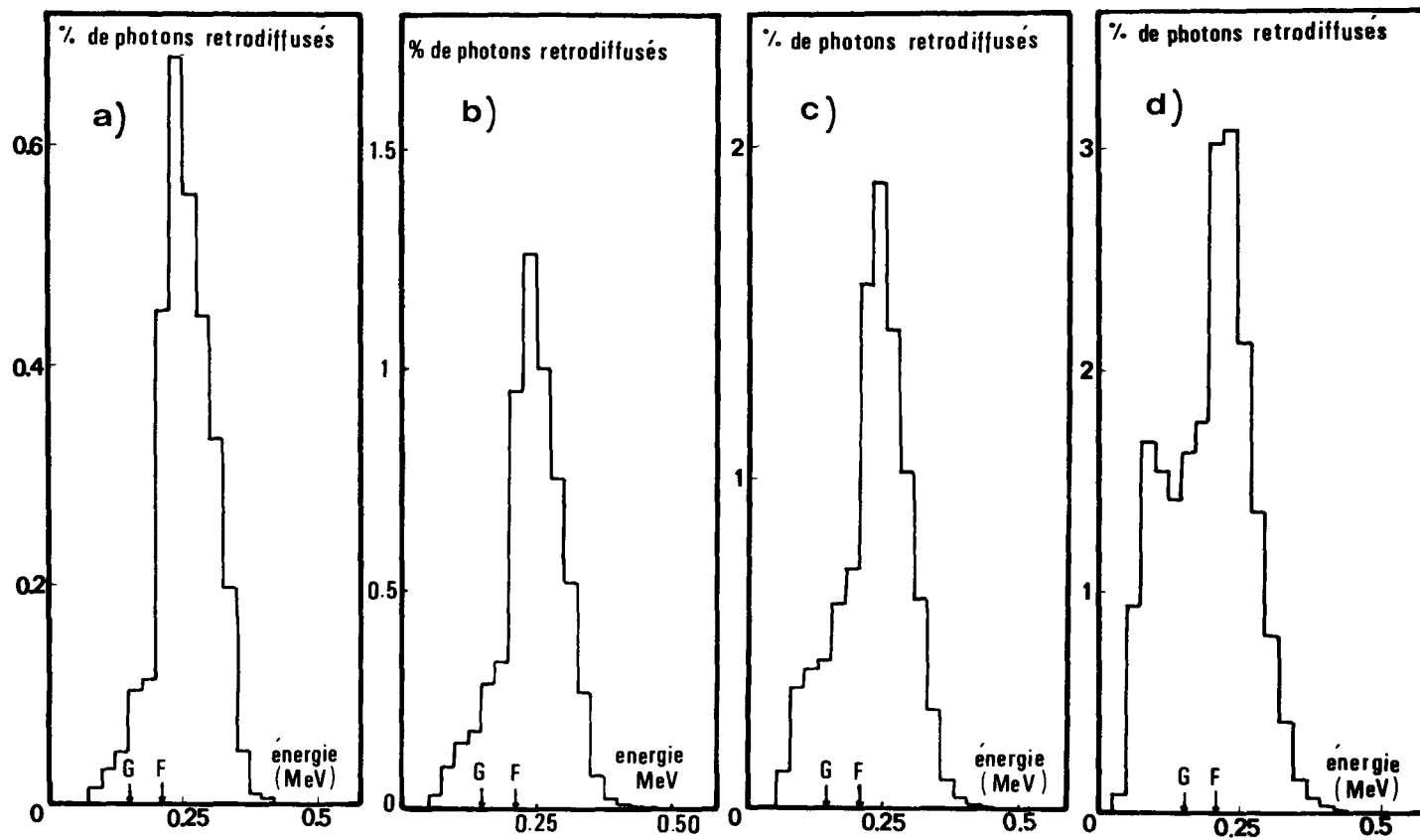


Figure 10 - Spectres énergétiques des photons rétrodiffusés par les systèmes  
 a)  $0_1$ , b)  $0_2$ , c)  $0_3$ , d)  $0_4$ .



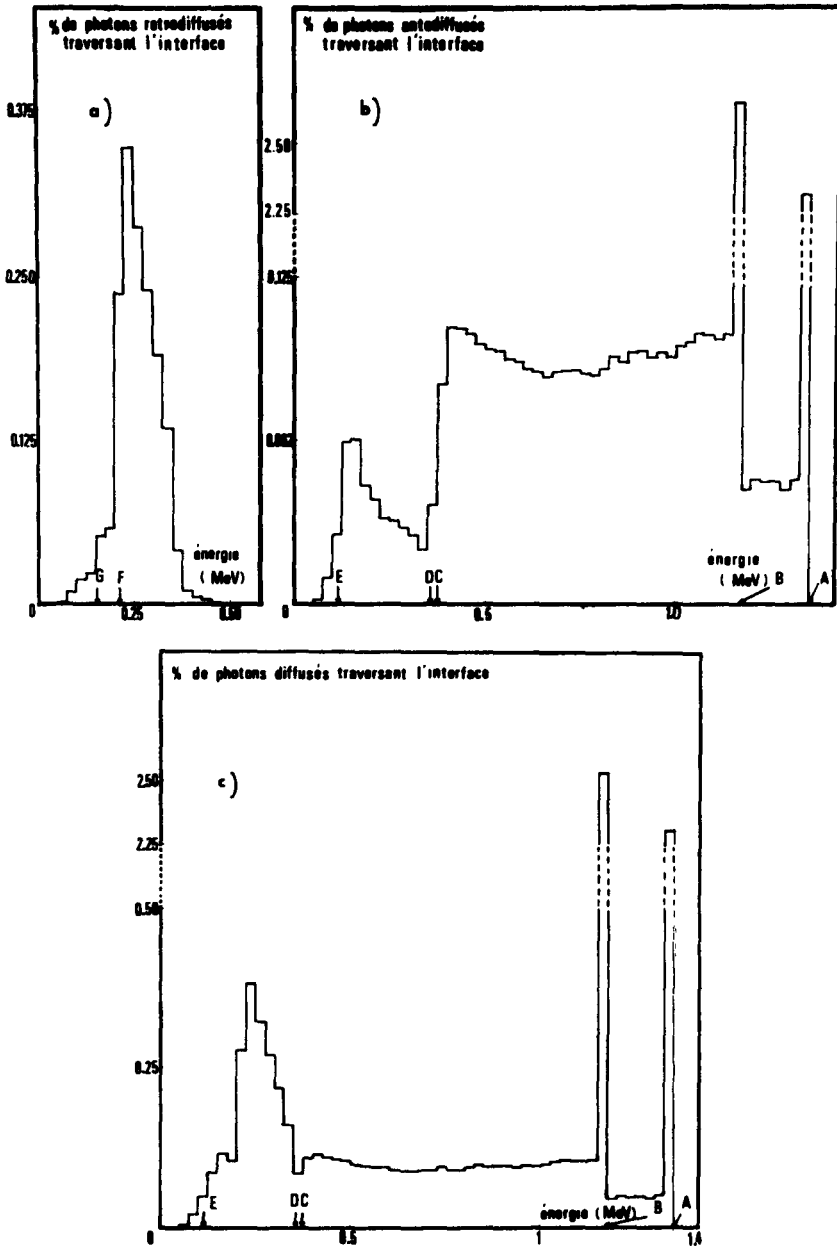


Figure 11 - Système  $M_1$  : Spectres énergétiques des photons traversant l'interface ; a) rétrodiffusés, b) antédifusés, c) total.

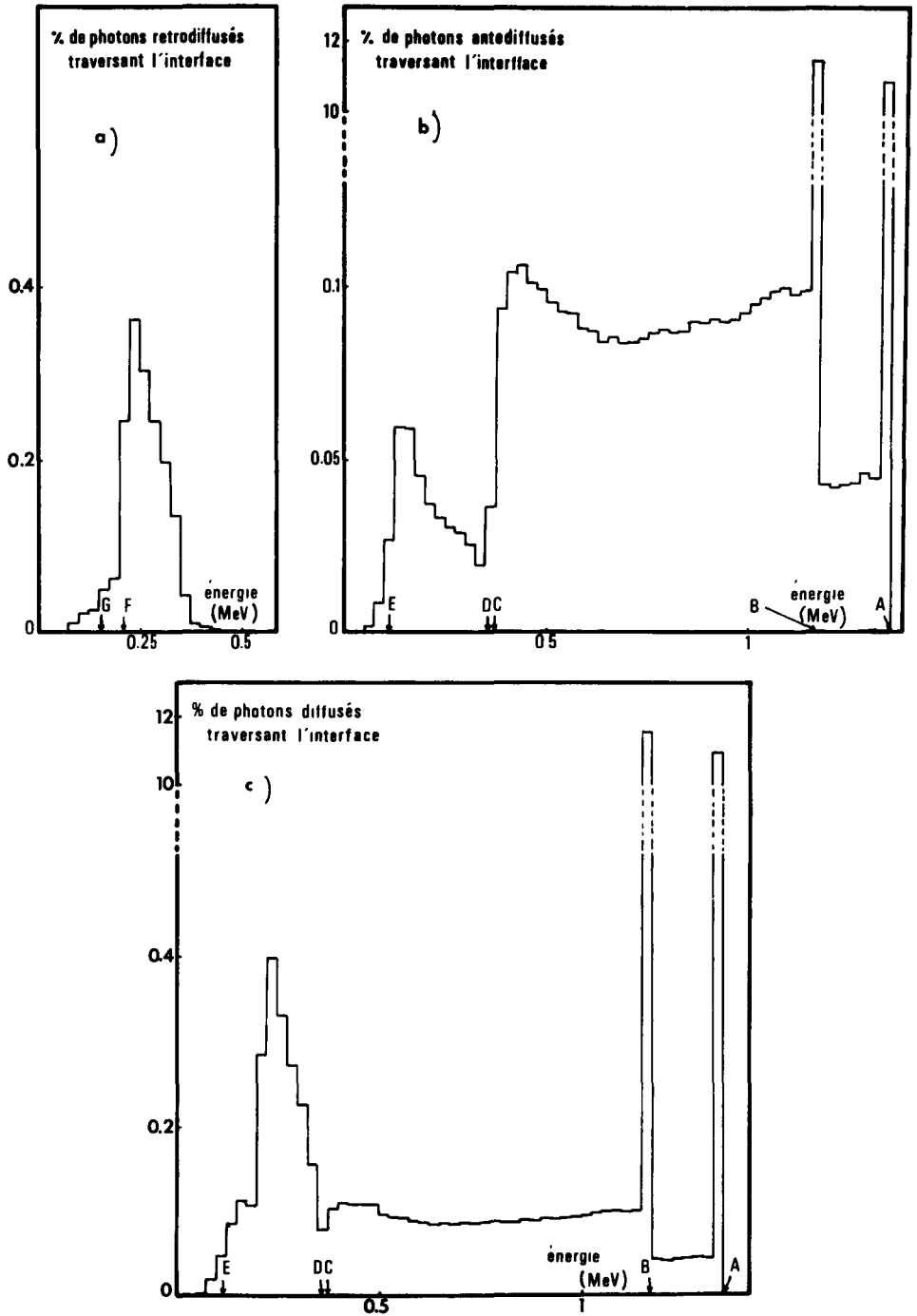


Figure 12 - Système  $0_1$  : Spectres énergétiques des photons traversant l'interface ; a) rétrodiffusés, b) antédifusés, c) total.

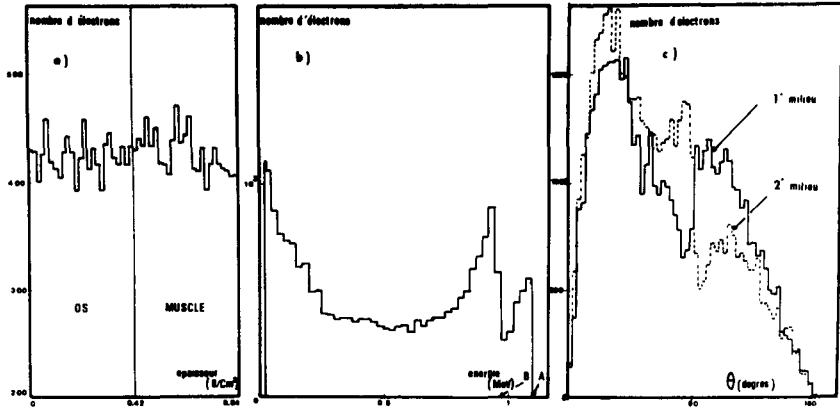


Figure 13 - Spectres caractéristiques des électrons stockés dans le système  $0_1$  ; a) distributions spatiales, b) spectres énergétiques, c) spectres directionnels.

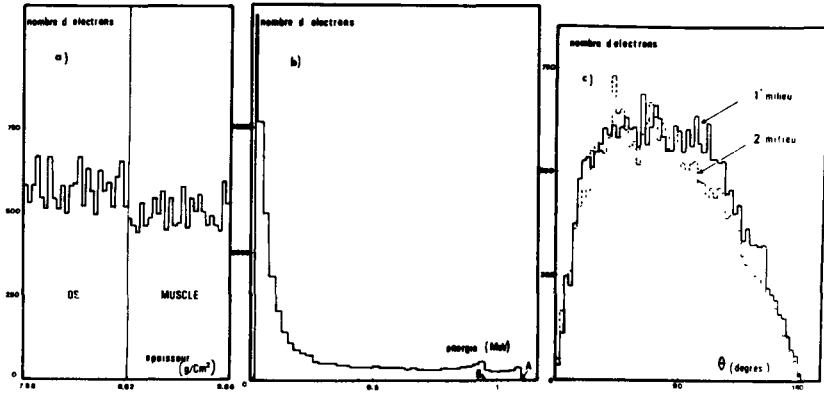


Figure 14 - Spectres caractéristiques des électrons stockés dans le système  $0_4$  ; a) distributions spatiales, b) spectres énergétiques, c) spectres directionnels.

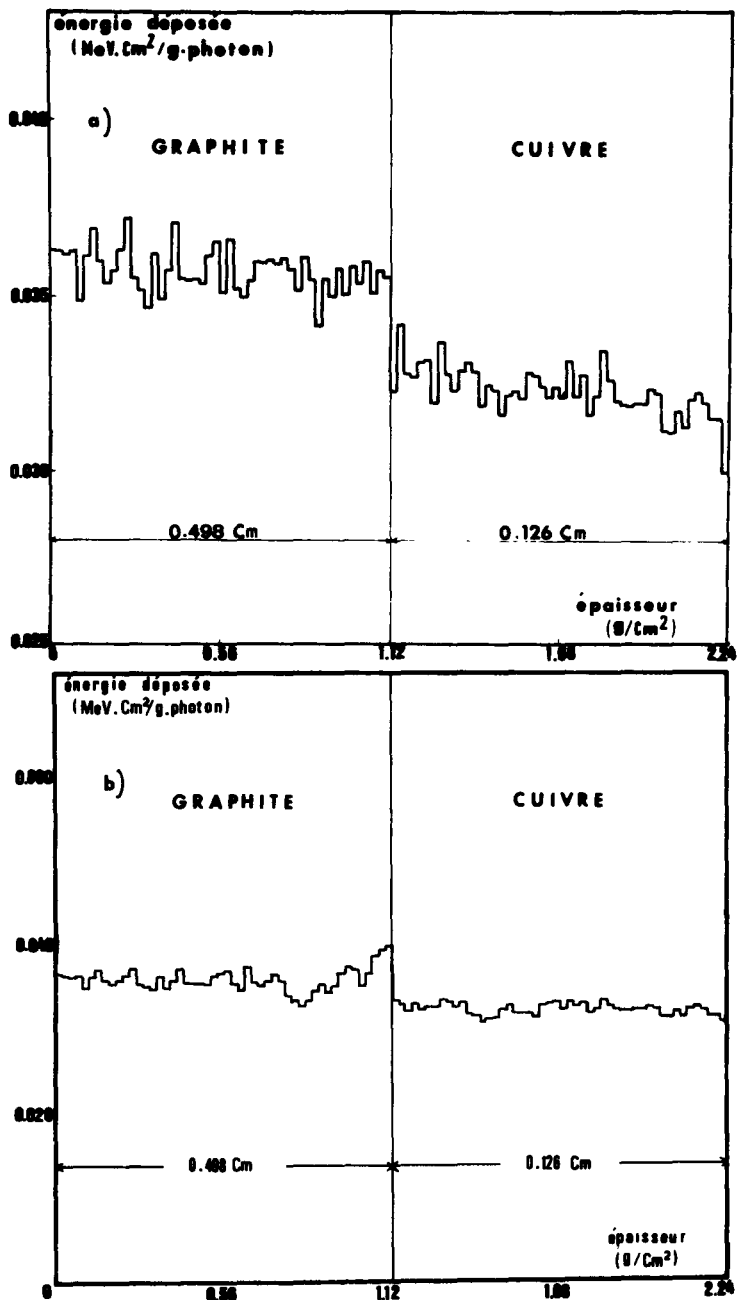


Figure 15 - Système G<sub>1</sub> : distribution spatiale de l'énergie déposée :  
 a) sans suivre les électrons, b) en les suivant.

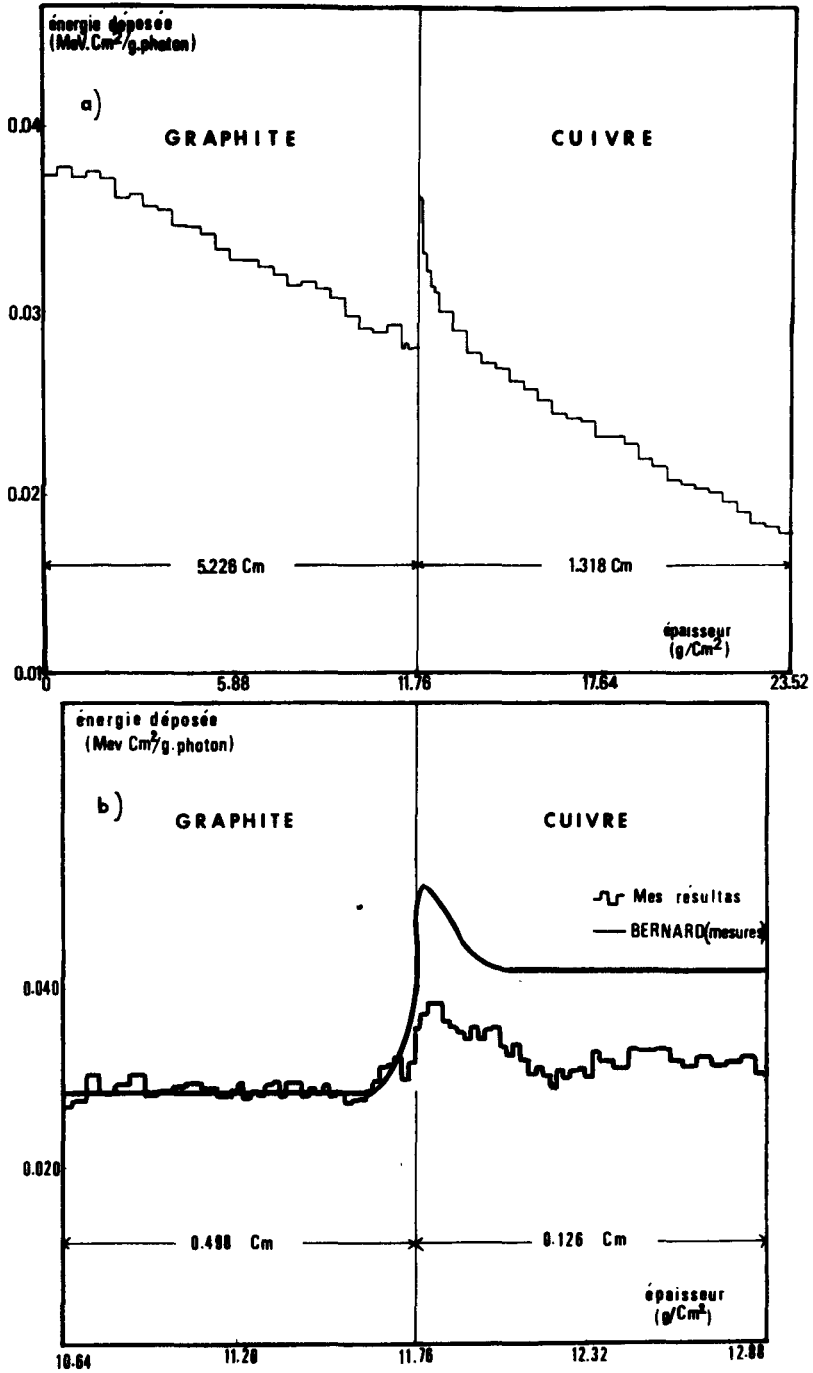


Figure 16 - Système G<sub>4</sub> : distribution spatiale de l'énergie déposée :  
 a) sans suivre les électrons, b) en les suivant.

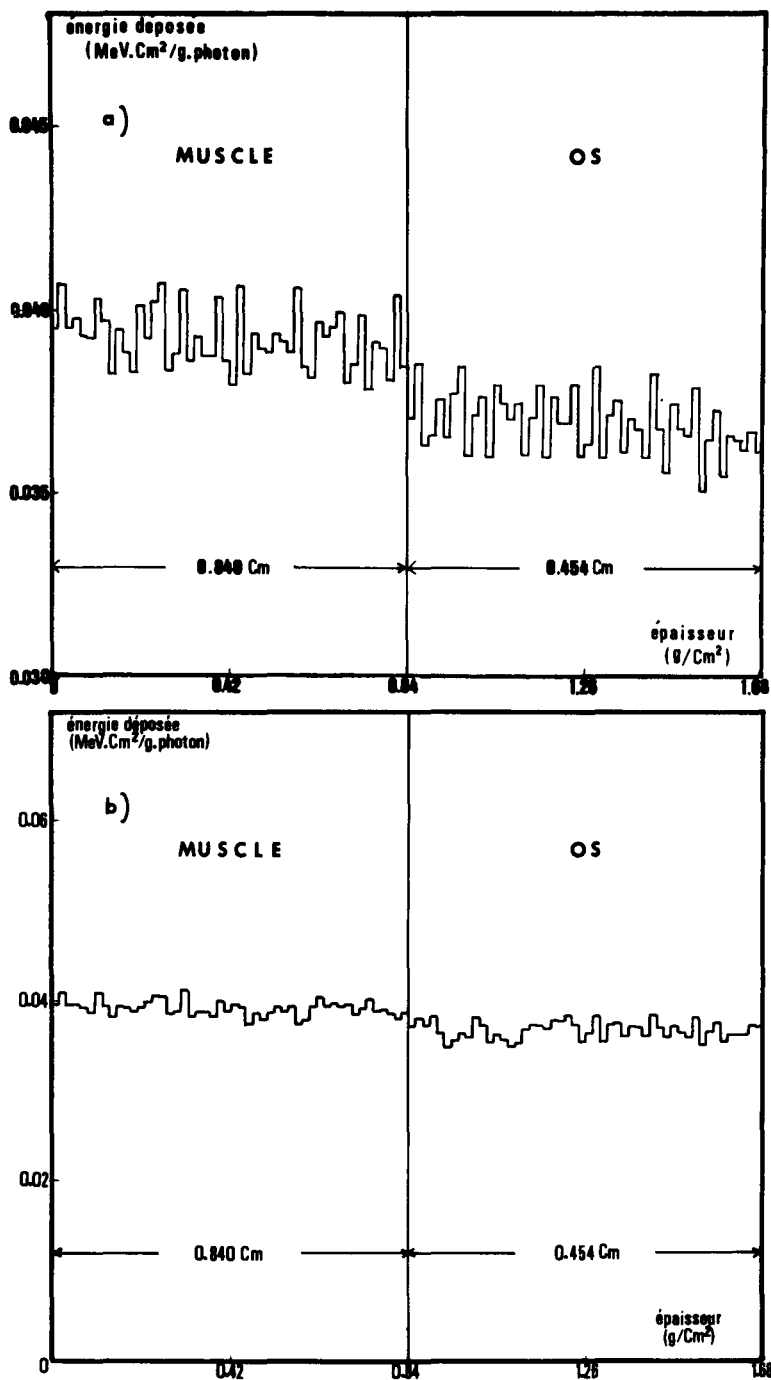


Figure 17 - Système  $M_1$  : distribution spatiale de l'énergie déposée :  
 a) sans suivre les électrons, b) en les suivant.

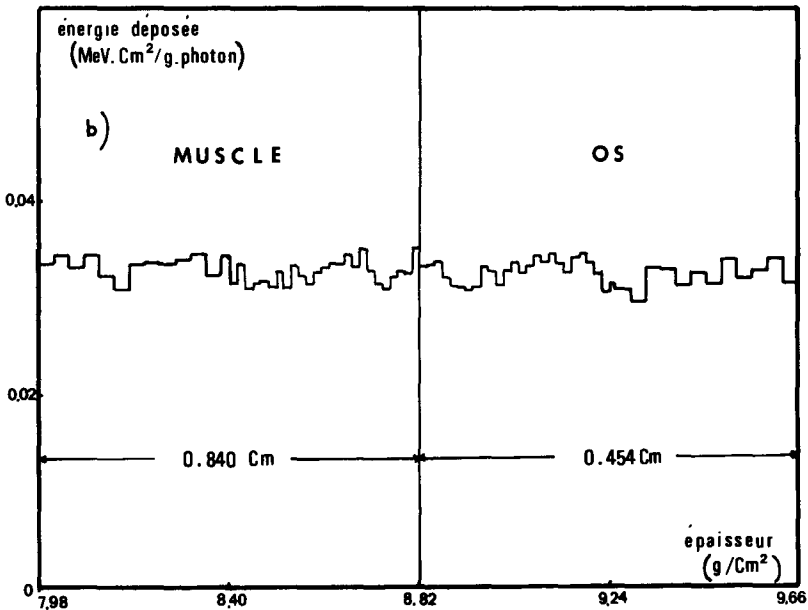
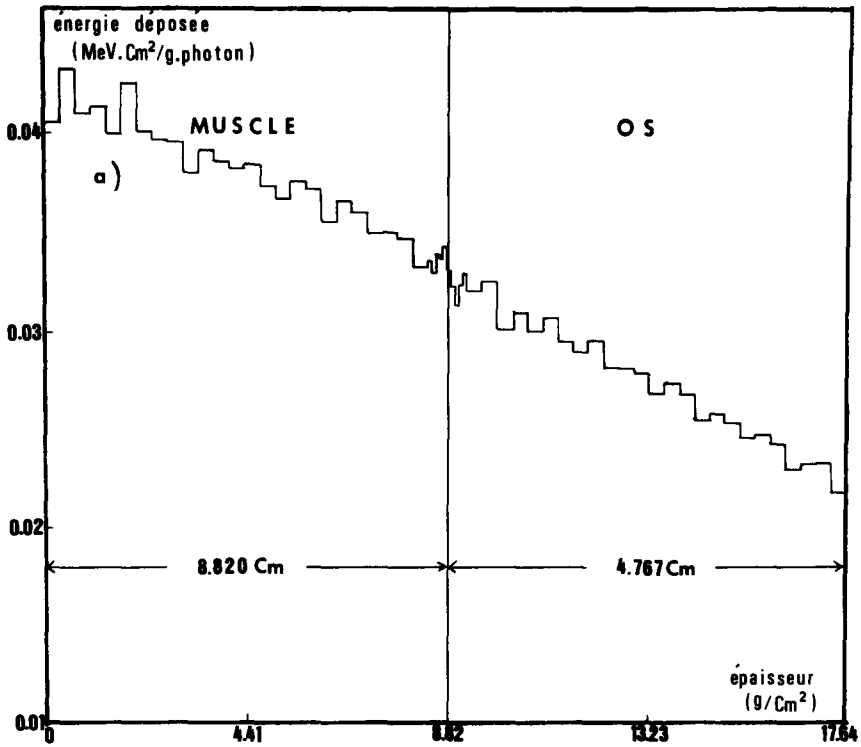


Figure 18 - Système M<sub>4</sub> : distribution spatiale de l'énergie déposée :  
 a) sans suivre les électrons, b) en les suivant.

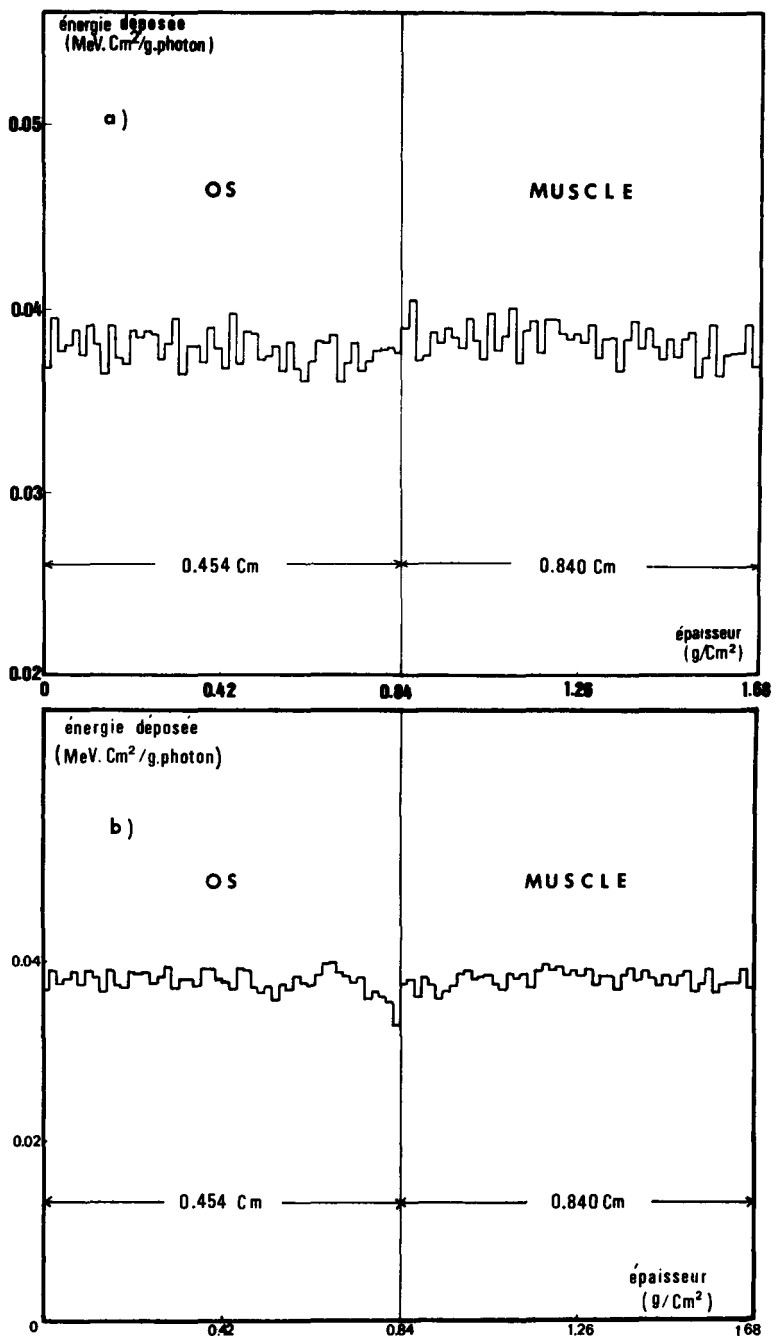


Figure 19 - Système  $O_1$  : distribution spatiale de l'énergie déposée :  
 a) sans suivre les électrons, b) en les suivant.



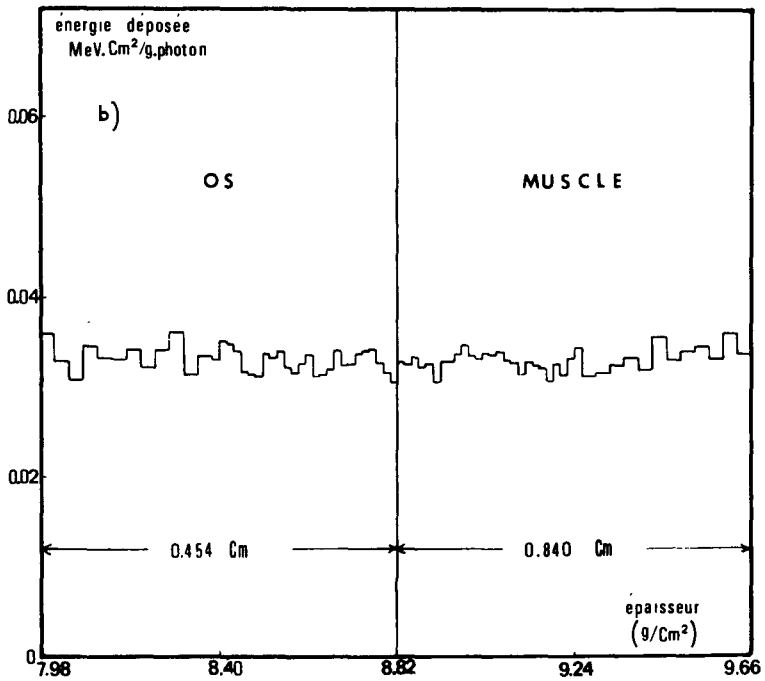
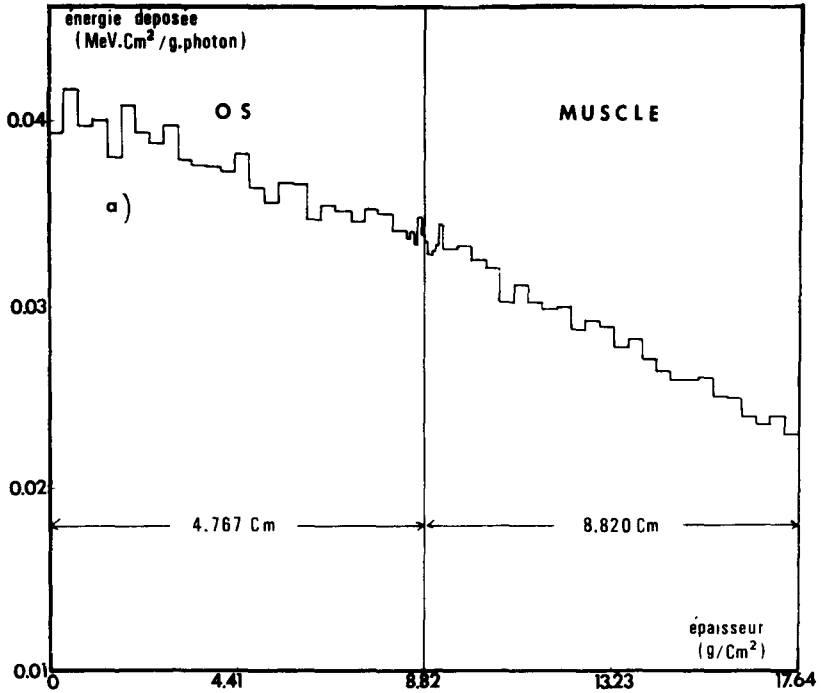


Figure 20 - Système  $O_4$  : distribution spatiale de l'énergie déposée :  
 a) sans suivre les électrons, b) en les suivant.

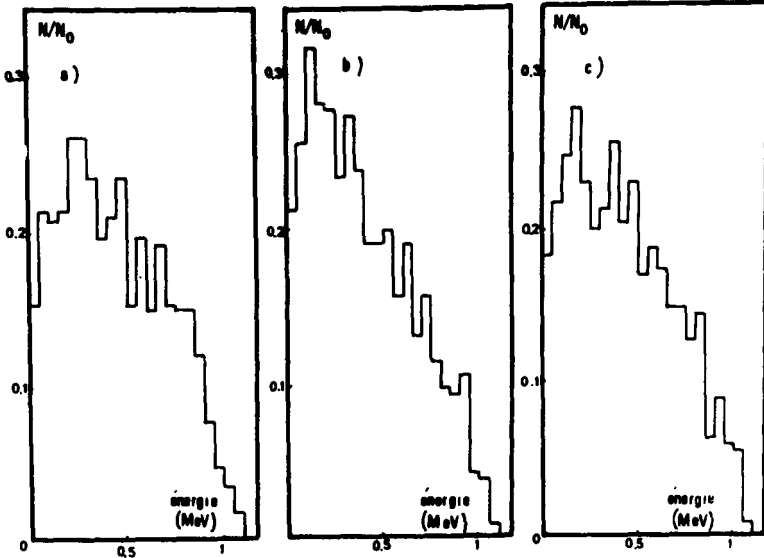


Figure 21 - Système  $M_1$  : Spectres énergétiques des électrons traversant les plans situés respectivement : a) dans le muscle à 0,484 cm de l'interface, b) sur l'interface, c) dans l'os à 0,262 cm de l'interface ( $N/N_0$  représente le rapport du nombre d'électrons stockés dans le système).

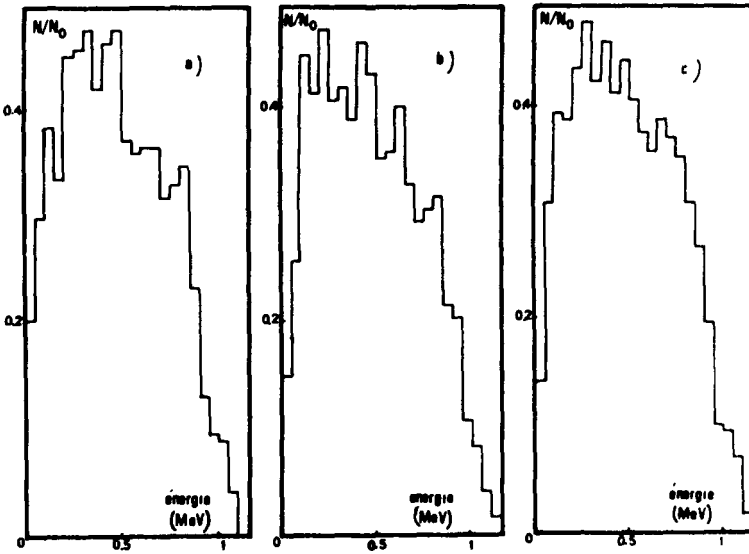


Figure 22 - Système  $M_4$ . Mêmes spectres que ceux représentés sur la figure 21.

A

Vertrag Nr. 087-71-1BIO C

Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung,  
Abteilung für Biophysikalische Strahlenforschung,  
D 6000 Frankfurt am Main  
BRD

Prof. Dr. W. POHLIT

Thema: Bestimmung des Energieaufwandes für  
Ionisation und Anregung in gasförmigen  
und flüssigen Substanzen

Untersuchungen über die Primärvorgänge der Energieübertragung sind notwendig, um die Wirkung ionisierender Strahlen auf biologische Makromoleküle zu erfassen. Die Bestimmung der spezifischen Ionisation in Gasen verschiedener Zusammensetzung und des mittleren Energieaufwandes zur Bildung eines Ionenpaares in der flüssigen Phase soll dazu beitragen, eine klarere Vorstellung über den Einfluß zwischenmolekularer Kräfte auf Ionisation und Anregung zu erhalten.



Projekt Nr. F 1

Titel: Messung der spezifischen Ionisation in Gasen

Name : Dr.O.Cloos

Die zur Durchführung der Experimente aufgebaute Apparatur wurde im Jahresbericht 1970 bereits ausführlich beschrieben. Es werden ausgewählte Gase mit Elektronen von 5 keV bis 10 keV Energie bestrahlt und die spezifische Ionisation  $dI/\rho \cdot dx$  gemessen. Da nur ein Teil der erforderlichen Korrekturen bekannt sind, werden die Meßwerte alsdann so korrigiert, daß sie bei der Energie von 10 keV mit den von Berger und Seltzer berechneten Werten des Massenbremsvermögens übereinstimmen, nachdem sie mit  $W$  multipliziert wurden. Die Meßwerte der spezifischen Ionisation für Luft, Stickstoff und Kohlendioxyd stimmen weitgehend überein, sie unterscheiden sich aber wesentlich von den an Argon und den untersuchten Kohlenwasserstoffen gemessenen Werten der spezifischen Ionisation.

Um verallgemeinerungsfähige Aussagen über die von Elektronen in Gasen erzeugte Ionisierung zu gewinnen, wird die Zahl der von einem primären Elektron auf einer bestimmten Wegstrecke gebildeten Ladungsträger nicht mehr auf die Masse des Gases im betrachteten Volumenelement sondern auf die Anzahl der vorhandenen Hüllenelektronen bezogen. Das so berechnete Elektronenionisierungsvermögen  $dI/n_e \cdot dx$  stimmt in seinen Werten für alle Gase, die keinen Wasserstoff enthalten, innerhalb von  $\pm 3\%$  überein im Energiebereich von 7 keV bis zu 10 keV. Erst bei kleineren Energien wirken sich die individuellen Eigenschaften der Moleküle stärker aus. Um den individuellen Bindungskräften bei den Wasserstoffverbindungen Rechnung zu tragen, wird das Elektronenionisierungsvermögen in zwei Komponenten aufgeteilt, eine für Wasserstoff und eine zweite für die untersuchten Substanzen, die keinen Wasserstoff enthalten. Multipliziert man jeden der beiden Werte mit der relativen Anzahl der beteiligten Hüllenelektronen, so er-

hält man durch Addition das vollständige Elektronenionisierungsvermögen einer vorwiegend aus Wasserstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Kohlenstoff aufgebauten beliebigen biologischen Substanz.

Als Beispiele für die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten dieser Methode zur Berechnung des Elektronenionisierungsvermögens und damit auch der spezifischen Ionisation durch einfache Multiplikation mit dem Faktor  $n_e/\rho$  werden die Elektronenionisierungsvermögen für die biologisch und strahlentherapeutisch besonders wichtigen Substanzen Wasser, Muskelgewebe und Knochen berechnet für den Energiebereich von 5 keV bis zu 100 keV.

#### Liste der Veröffentlichungen

1. O.CLOOS and G.HEIGWER : An Automatic Compensating Instrument for Measuring Low Electric Direct Currents;  
Nucl.Instr.Methods 91 (1971), 633

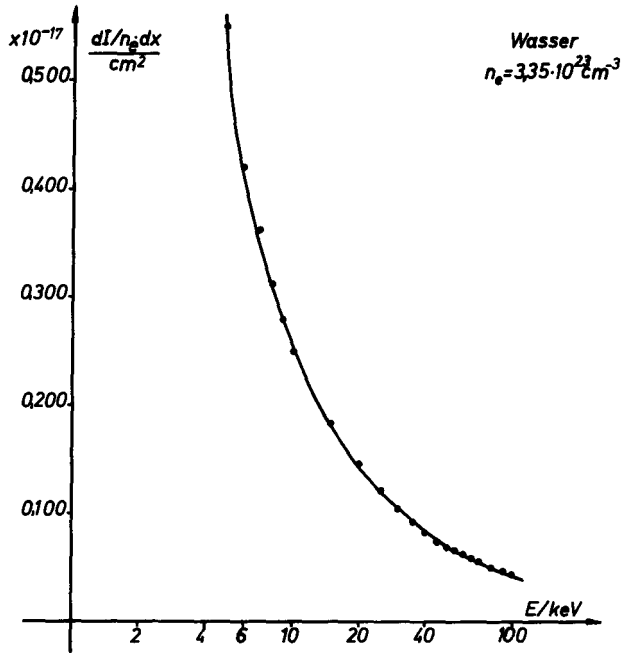


Abb. 1. Berechnete Werte des totalen Elektronenionisierungsvermögens für Wasser als Funktion der Elektronenenergie

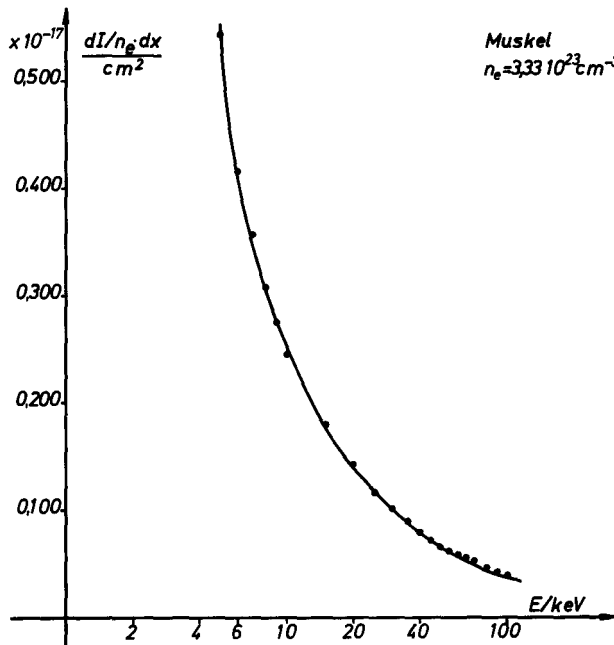


Abb. 2. Berechnete Werte des totalen Elektronenionisierungsvermögens für Muskelgewebe als Funktion der Elektronenenergie

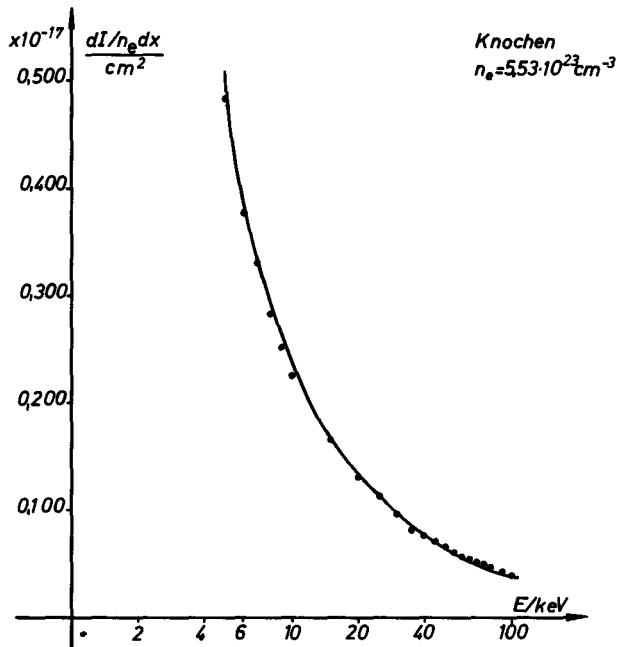


Abb. 3. Berechnete Werte des totalen Elektronenionisierungsvermögens für Knochen als Funktion der Elektronenenergie



B

Projekt Nr.: F 2

Titel: Untersuchungen zur Ionisation in dielektrischen Flüssigkeiten.

Name des Forschers: F. Horneck

Der mittlere Energieaufwand zur Bildung eines Ionenpaares in flüssigem n-Hexan ( $W_{Hex}$ ) bei kontinuierlicher Bestrahlung mit 13,5MeV Neutronen wurde nach folgender Beziehung berechnet

$$W_{Hex} = e(\rho V)_{Hex} \frac{(\mu_{en}/\rho)_{Hex}}{(\mu_{en}/\rho)_{PE}} \frac{\dot{D}_{PE}}{i_{s_{Hex}}} \quad (1)$$

e Elementarladung,  $\rho$  Dichte, V empfindliches Volumen,  $(\mu_{en}/\rho)$  Massen Energie Absorptionskoeff.,  $i_s$  Sättigungswert des Ionisationsstromes,  $\dot{D}$  absorbierte Dosisleistung, Index Hex n-Hexan, Index PE Polyäthylen.

In Gl.(1) ist zu bestimmen:

- Der Sättigungswert des Ionisationsstromes der Flüssigkeitskammer aus Strommessungen bei verschiedenen Kammeranspannungen,
- die absorbierte Energie in der Flüssigkeitskammer.

Der Ionisationsstrom wurde gemessen mit einer eigens konstruierten Extrapolations-Ionisationskammer gefüllt mit hochgereinigtem n-Hexan /1/ vom spezifischen Widerstand  $\leq 3 \times 10^{-18} \text{ Ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Der Sättigungswert  $i_s$  des Ionisationsstromes ist nach der Jaffé Theorie /2/ berechnet worden, die für Strahlung hoher LET ( $> 1 \text{ keV}/\mu\text{m}$ ) anwendbar ist. Die Theorie liefert:

$$i_s/i = 1 + a_1 S(z)/F \quad (2)$$

Es bedeutet:

$$a_1 = \alpha N_0 / 4b\mu\sqrt{2\pi} \quad , \quad S(z) = 1/\sqrt{\pi} \int_0^\infty e^{-s} ds / \sqrt{s(1+s/z)}$$

$$z = (b\mu F)^2 / 2D^2 \quad , \quad s = 2(\mu F t)^2 / (4Dt + b^2)$$

i gemessener Ionisationsstrom, F äußeres elektrisches Feld,  $i_s$  Strom bei Sättigung, b Kolonnenparameter,  $\mu$  Beweglichkeit,  $N_0$  Ionenanzahl pro Bahnlänge,  $\alpha$  Rekombinationskoeff., D Diffusionskoeff., t Zeit zwischen Ionenbildung und deren Messung.

Da die Funktion S(z) durch die Bessel Funktion J nullter Ordnung dargestellt werden kann, wurde für große aber endliche Werte von z eine Reihenentwicklung erhalten:

$$S(z) = 1 - 1/z + \dots \quad (3)$$

Es wurde hiermit eine Näherung der Jaffé Theorie eingeführt für hohe elektrische Feldstärken. Ein Vergleich der Messungen

und der Berechnung nach Gl.(2) und Gl.(3) ist in Abb.2 wiedergegeben. Die relative Genauigkeit des Sättigungswertes  $\Delta i_s / i_s$  betrug 10,2%. Ferner kann der Abb.2 entnommen werden, daß bei den benutzten Feldstärken der gemessene Ionisationsstrom ca. 10% des Sättigungswertes beträgt. Der Kolonnenparameter  $b = 1,7 \times 10^{-6}$  cm und die Ionenanzahl pro Bahnlänge  $N_0 = 2,5 \times 10^6$  cm wurden berechnet mit der Nernst-Einstein und der Langevin Beziehung für die Ionenbeweglichkeit und die Diffusions- bzw. die Rekombinations-Koeffizienten.

Die Messung der Neutronenfluenzrate erfolgte über die Kupferaktivierung  $^{63}\text{Cu}(n,2n)^{62}\text{Cu}$ . Aus der Neutronenfluenzrate wurde die Neutronendosisleistung berechnet nach Daten von Bach-Caswell /3/ unter Berücksichtigung des Sekundärteilchengewichtes. Der relative Fehler der Dosisleistung  $\Delta \dot{D} / \dot{D}$  war 8%. In diesen Berechnungen ist der Gamma-Strahlenanteil des Neutronenfeldes vernachlässigt worden, da dieser Anteil  $\leq 5\%$  war, wie Messungen mit Gasionisationskammern zeigten /4/.

Die mittlere Energie pro Ionenpaar in flüssigem n-Hexan bei Bestrahlung mit 13,5 MeV Neutronen betrug

$$W_{\text{Hex}} = 26 \text{ eV} \pm 14\%$$

Die Fehlerangabe wurde berechnet aus der Quadratwurzel der einzelnen Fehlerquadrate. Die angegebenen Werte für die Ionenanzahl pro Bahnlänge  $N_0$  sowie des W-Wertes führen zu einem mittleren LET von ca. 6 keV/ $\mu\text{m}$ . Protonen einer Energie von 5 MeV besitzen in flüssigem n-Hexan den gleichen LET-Wert /5/.

#### Literatur

- /1/ Horneck, F. Euratom Jahresbericht 1970 (64-66-12BIO D).
- /2/ Jaffé, G. Ann. Physik (IV) 42 (1913) 303, *ibid.* (V) 1 (1929) 977.
- /3/ Bach, R.L., Caswell, R.S. Radiation Res. 35 (1968) 1.
- /4/ Kühn, H. AEG Berichte E3-1705 (1970), E3-1830 (1971), E3-2008 (1971) und E3- Im Druck (1972).
- /5/ Mathieu, J. Thesis Nr. 0313, Toulouse 1968.

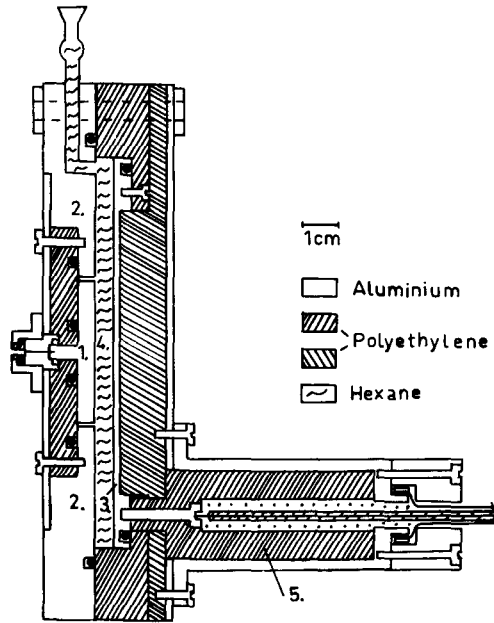


Abb.1 Ionisationskammer mit planparallelen Elektroden.

1. Sammelelektrode  $\varnothing$  3,90 cm
2. Schutzelektrode (Breite) 5,30 cm
3. Hochspannungselektrode  $\varnothing$  11,00cm
4. n-Hexan Volumen
5. Hochspannungsstecker

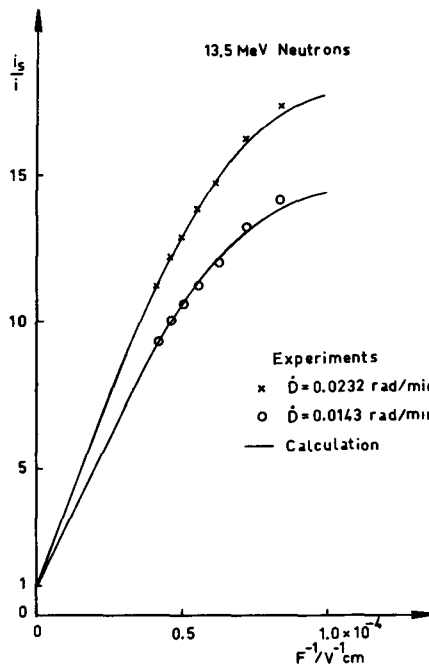


Abb.2 Vergleich zwischen der Berechnung mit der genäherten Jaffé Theorie und dem Experiment.



A.

Vertrag Nr. 087 - 71 - 1 BIO C

Institut für Strahlenschutz der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH., 8042 Neuherberg bei München, Deutschland

Georg Burger

Untersuchung der physikalischen Ereignisse in der Spur geladener Teilchen in gewebeäquivalenten festen Modellsubstanzen

Die Untersuchung der beim Durchgang schneller Ionen durch Kunststoffe ausgelösten physikalischen und chemischen Prozesse soll zur Aufklärung der strahlenbiologischen Wirkung von Teilchen hoher LET in biologischem Material beitragen. Das Ziel ist letztlich ein besseres Verständnis der physikalischen Aspekte der Strahlenqualität schneller Neutronen.

Im Berichtszeitraum wurden die theoretischen Untersuchungen und Modellrechnungen zur Bestimmung der lokalen Verteilung der deponierten Energie um die Ionenbahn auf der Grundlage verbesserter Deltastrahlenmodelle weitergeführt.

Die experimentellen Untersuchungen erstreckten sich auf die bevorzugte Ätzbarekeit der Spuren für eine Reihe von energiereichen Ionen, auf die Messung optischer Absorptionszentren und von Radikalen mittels optischer- und ESR-Spektrometrie, und auf die Entwicklung einer Apparatur zur Messung der thermisch stimulierten Elektronenemission aus Kunststoffen.

B.

Project 1: Exoelectrons

D. Peterson

At the present time, there are no reports in the literature concerning the investigation of electron emission from plastics. However, there is some evidence that electron trapping following irradiation will occur.

The electron affinities, in (eV), of some agents available to a large amount in plastics are: H(0.75), C(1.7), O(2.2), O<sub>2</sub>(0.87), OH(2.17), CH<sub>3</sub>(1.22), and CN(3.61). Further evidence comes from thermoluminescence studies by Partridge (1) and Mozisek (2). Partridge suggests that electrons are trapped between molecular chains, Mozisek supposes that the trap sites are the methyl groups of the main chain, O<sub>2</sub> molecules in the main chain, and alkyl radicals produced by the radiation. However in TSEE the electrons must escape the surface, and this is the heart of the investigation.

The experimental work started in May 1971. A study plan has been worked out and the required apparatus designed and completed. It has the following characteristics:

The sample to be investigated is irradiated and measured inside a vacuum chamber. Following irradiation at any temperature between -200 C and +400 C, various stimulations (e. g. heat or light) are used to release the trapped electrons. The energy and number of the exoelectrons are analysed by an ac-modulated retarding grid analyser and detected by a windowless electron multiplier tube. Modern pulse counting techniques are used to take the data.

In a preliminary study exoelectron emission from various plastics was investigated above room temperature using a gas flow proportional counter. The plastics were exposed to Co<sup>60</sup> gammas within a plexiglas sandwich for establishment of secondary electron equilibrium, and alpha particles (4 - 5 MeV) from an Am<sup>241</sup> source. The irradiations were carried out under normal room conditions. Thermal stimulation between room and the melting point temperature of the plastics was applied.

The samples had  $0,5 \text{ cm}^2$  area, and were from 1-10  $\mu\text{m}$  thick. In each read-out with the counter, the sample was rapidly heated ( $800^\circ\text{C}/\text{minute}$ ) to a maximum temperature, held there for 45 seconds, and then allowed to cool down.

The conclusion of these investigations was that for fourteen types of plastics, no exoelectrons were seen using either gamma or alpha particle radiations. Thus it appears that, at least when using conventional techniques, the use of plastics for exoelectron dosimetry at room temperature is not possible. This could be due to the fact, that either no trapped electrons occur at room temperature, or that the electrons can not be emitted from the samples under the applied conditions. The latter possibility will be investigated further.

#### Project 2: Ion track analysis

H. Paretzke and G. Leuthold

The energy diffusion out of the track core of heavy charge particles by deltarays is investigated by using both analytical and stochastic methods. The analytical calculations are mainly based on the method of Katz (3), they result in the expectation values of the radial dose distribution and the radial energy fluence only. The MC-codes, in addition, calculate the probability densities of these quantities. Two codes have been developed and used. One follows the life histories of all primary and secondary electrons via binary collisions within a two dimensional area around the path. The second one uses a continuous slowing down approach for the primary emitted electrons. For this code the deltaray energy dissipation formulae used hitherto have been improved to yield better agreement with experimental data in the low energy range.

The results show a strong dependency of the computed values on the assumed angular distribution of the electron emission. Results achieved using a  $\cos^2$ -distribution are similar to those of radial emission, but deviate considerably from those of isotropic emission.

- (1) Partridge, R.H., J. Polymer Sci., 3A, 2817 (1965)
- (2) Mozisek, M., Internat. J. of Appl. Radiation and Isotopes, 21, pp. 11-16, (1970)
- (3) Katz, R., Kobetich, E.J., Proc. of the JOURENTRA, Clermont 1969

Veröffentlichungen und Berichte:

H. G. Paretzke, Kernspuren in Kunststoffen  
GSF-Bericht S 138, Mai 1971

D. D. Peterson, H. Paretzke, G. Burger, A proposed Experiment to  
Study TSEE from Polymers  
Internal Report, August 1971

G. Leuthold, Modellrechnung zur Analyse des Schädigungsprofils um die  
Bahn schneller Ionen und experimentelle Untersuchungen des Ätzver-  
haltens von Kernspuren in Kunststoffen  
Diplomarbeit TU München, Oktober 1971

H. G. Paretzke, Charged Particle Track Structure in Solids and Gases  
3rd International Colloquium on Microdosimetry, Stresa, October 1971



LABORATOIRE DE BIOPHYSIQUE DES  
RAYONNEMENTS ET DE MÉTHODOLOGIE

Rue Humann - 67 STRASBOURG  
Tél. (88) 36.06.91

Directeur: Dr. R. V. Rechenmann

R A P P O R T, F I N A L

CONTRAT N° 085-70-01 BIOF(du 1/10/70 au 31/4/71)

CONTRAT N° 087-71-1 BIOC(du 1/5/71 au 31/12/71)

Strasbourg, le 7 Janvier 1971

## A. INTRODUCTION.

Le Laboratoire de Biophysique des Rayonnements et de Méthodologie a été créé dans le cadre d'un contrat passé en 1970 entre la Commission des Communautés Européennes et l'ancienne Faculté de Médecine de Strasbourg. Une partie des activités de ce laboratoire devait porter sur un programme de microdosimétrie, consacré notamment à l'étude des modes de perte d'énergie de particules chargées dans les milieux denses. Il était prévu que dans un premier stade, et dans le cadre des contrats accordés par la C.E.E., des méthodes ionographiques nouvelles devaient être mises au point et appliquées à des études microdosimétriques.

Arrivés aux termes de deux contrats de courte durée ( 085-70-01 BIOF et 087-71-1 BIOC ), ce rapport peut aussi être considéré comme une mise au point des premiers résultats ionographiques et microdosimétriques obtenus dans ce laboratoire.

Ce rapport sera d'abord consacré à la description de résultats, parfois remarquables, de travaux basés sur des hypothèses originales concernant l'image latente corpusculaire dans les émulsions nucléaires. Ces premiers résultats expérimentaux n'ont pu être obtenus qu'en mettant

en oeuvre des appareils originaux, qui ont dû être réalisés avant la mise en route de nos expériences. Ils seront brièvement décrits en chapitre D de notre compte rendu. Le troisième chapitre donnera quelques résultats préliminaires obtenus en observant aux microscopes optique et électronique des traces de particules alpha dans des émulsions "activées".

## B. ETUDE FONDAMENTALE SUR LES COUCHES SENSIBLES IONOGRAPHIQUES.

Nous tenons à rappeler que les études microdosimétriques en cours au LBRM sont, du moins dans un premier stade, entreprises essentiellement avec des émulsions ionographiques à grains fins et ultrafins; en outre, pour être menées à bonne fin, les recherches envisagées supposent que le détecteur utilisé, à savoir, les émulsions nucléaires, présente des caractéristiques au point de vue sensibilité, reproductibilité, "bruit" (voile) et résolution qui étaient considérées comme irréalisables par les nombreux auteurs qui ont poursuivi des recherches dans ce domaine.

C'est en introduisant des hypothèses additionnelles dans la théorie de l'image latente corpusculaire que la mise au point de nouveaux traitements des couches sensibles ionographiques a pu être envisagée. Il s'est avéré par ailleurs que dans ces procédures l'emploi d'appareils originaux, notamment d'un séchoir à gradient de température (Fig. 2), est décisif. Ces

travaux, actuellement en cours au LBRM, permettent de considérer déjà au stade actuel l'émulsion nucléaire comme un nouveau type de détecteur dont les possibilités sont loin d'être explorées.

Remarquons que dans un autre domaine, à savoir en micro-autoradiographie, l'"activation" des émulsions nucléaires a déjà permis d'obtenir quelques progrès spectaculaires, notamment une réduction très importante du temps d'exposition conjuguée avec une amélioration considérable de la résolution autoradiographique.

Or, nous tenons à insister sur le fait que les réalisations que nous venons d'indiquer correspondent à un stade encore très préliminaire de nos travaux; nous allons donner dans ce qui va suivre les résultats obtenus en 1971 dans nos expériences de mise au point des détecteurs ionographiques.

#### I. Etude de l'image latente corpusculaire.

Des problèmes plus urgents nous ont obligés à reporter notre programme sur l'étude de la structure de l'image latente corpusculaire dans différents types d'émulsions; ces travaux seraient destinés à élargir nos idées sur les hypothèses de base. Il s'est d'ailleurs avéré que des travaux de ce genre débouchent toujours sur des applications pratiques immédiates.

Une étude sur le comportement de la sous-image latente en fonction du temps démontrant la stabilité remarquable des sous-germes dans les émulsions ionographiques a déjà été mentionnée dans notre dernier rapport. Nous insistons néanmoins sur ces résultats qui démontrent indubitablement l'existence de sous-germes stables; ils ne pourraient être que difficilement interprétés par un mécanisme différent de celui que nous proposons, à savoir, une redistribution partielle, progressive avec le temps, de la sous-image latente corpusculaire (Fig. 1).

## II. Procédés d'activation.

L'image latente corpusculaire peut être activée soit par des procédés physiques, soit par des procédés physico-chimiques (Fig. 2). On peut agir sur les germes d'image latente en soumettant les couches sensibles à des traitements thermiques. Malheureusement, l'échauffement de l'émulsion ne provoque une intensification que dans des cas particuliers. D'autres procédures comme l'action des rayonnements électromagnétiques (lumière visible courte ou brève, infrarouges etc..) sont envisagées. Jusqu'à ce jour, ce sont des traitements physico-chimiques, à savoir, l'intensification dans un bain aurique, qui nous ont donné les meilleurs résultats.

Nous avons modifié la composition de la solution proposée par James (1), pour l'adapter aux autres paramètres

photographiques impliqués dans nos expériences. Les résultats obtenus sont remarquables et ont été partiellement décrits dans différentes publications (2,3,4).

Des essais sont en cours avec des complexes d'autres métaux nobles: platine, iridium, palladium etc..Ainsi, si l'on remplace dans nos solutions auriques l'or par l'iridium, on obtient toujours, et quelle que soit la concentration en sels d'iridium, une activation "négative", c'est à dire un nombre de grains développés inférieur par rapport au rendement en grains d'argent dus à un développement classique (Fig. 3). Cet effet "d'inactivation" de l'image latente augmente avec la concentration en iridium. Des expériences systématiques de ce genre seront néanmoins poursuivies en connection avec des procédures physiques et physico-chimiques. En effet, les travaux envisagés sur la mise en évidence de trajectoires d'électrons de très faible énergie dépendront étroitement de chaque amélioration du rapport signal/bruit. Or, la visualisation des traces d'électrons est essentielle pour l'étude de la structure des traces de particules chargées en milieu dense, étant donné la copieuse production d'électrons lors des collisions ionisantes ( voir Chapitre C).

Par ailleurs, des procédés d'activation "positive" et "négative" peuvent présenter un grand intérêt dans l'étude des trajectoires d'ions lourds qui traversent les milieux

denses. Ces traitements permettraient de contrôler la réponse de l'émulsion le long du parcours de ces particules pour une valeur donnée de la dose locale absorbée par le milieu .

### III. Mise au point de révélateurs originaux.

Des expériences systématiques destinées à la mise au point de révélateurs photographiques originaux ont été entreprises pour les raisons suivantes:

a) Les études microdosimétriques projetées exigeant un rapport signal/bruit optimum, il est intéressant d'établir des formules de solutions réductrices destinées à donner des résultats supérieurs à ceux obtenus par des voies classiques. L'amélioration que nous avons pu introduire en ionographie avec un révélateur minéral solvant nous a incité à poursuivre nos travaux dans ce sens. En effet, une adaptation du potentiel redox de ces révélateurs nous permet d'obtenir, pour une émulsion donnée, un signal optimum dans des préparations pratiquement sans voile. Notons que l'observation de rayons delta dans les émulsions nucléaires s'est toujours heurtée à la présence du voile quand on voulait mesurer leur parcours.

b) Les grains d'argent obtenus par un développement chimique puissant ont dans la plupart des cas une structure filamenteuse quand on les observe au microscope électronique( Fig.4). Or, les mesures réalisées au microscope électronique dans les

couches sensibles ionographiques sont plus précises quand les grains développés sont "compacts", avec des dimensions se rapprochant de celles du microcristal d'origine (Fig.5). Nous sommes en train de mettre au point des révélateurs de différents types qui se rapprochent d'un révélateur idéal, à savoir, une solution réductrice ne donnant aucun voile, qui développerait tous les grains touchés par la radiation, tout en respectant la taille de microcristaux de bromure d'argent. Différentes approches sont tentées avec des solutions fortement solvantes, organiques ou inorganiques, ayant des potentiels d'oxydo-réduction élevés. Des procédés d'activation sont appliqués dans tous les cas. Ainsi, des résultats préliminaires encourageants ont été obtenus avec des révélateurs minéraux inorganiques. Mais jusqu'à ce jour les dimensions des grains restent supérieures à celles des microcristaux d'origine, du moins si l'on pousse le développement (ce qui est indispensable si l'on veut mettre en évidence tous les grains touchés par une particule delta).

#### IV. Etude systématique des émulsions expérimentales à grains fins et ultrafins.

La visualisation au microscope électronique de rayons delta de très faible énergie exige l'emploi de détecteurs ionographiques possédant des microcristaux de BrAg ayant des diamètres moyens de l'ordre de (ou inférieurs à) 700Å.



En outre, les conditions posées au point de vue sensibilité et reproductibilité sont sévères. Malheureusement, aucune des émulsions nucléaires commerciales ne satisfait à toutes ces spécifications.

Il s'est donc imposé la nécessité d'entreprendre une étude photographique systématique sur le comportement de divers types d'émulsions expérimentales pour les appliquer ensuite à des études microdosimétriques.

#### Cas des émulsions "Montréal"

Différents types de détecteurs ionographiques "Montréal" ont été mis au point par le Professeur P. DEMERS dans le laboratoire de Physique de l'Université de Montréal. Ce laboratoire a une longue expérience dans le domaine de la photographie corpusculaire, et notamment dans l'élaboration de différents types d'émulsions nucléaires. L'ordre de grandeur des microcristaux de BrAg dans certaines de ces émulsions est de 200 à 500 Å (5).

L'intérêt de nos procédés d'activation a pu être démontré pour toutes les couches sensibles "Montréal" (Type A, B, C, D et F). Dans le cas des émulsions F32, F32T et B31 exposées à une source de  $^3\text{H}$  ou de  $^{14}\text{C}$ , le nombre de grains développés, sans prétraitement à l'or, n'était pas assez important pour résulter en une densité optique mesurable. Comme il fallait s'y attendre pour ces grains ultrafins (2), le rapport

sous-germes/germes est extrêmement élevé dans le cas d'une irradiation aux électrons. Ceci est mis en évidence par la courbe "activée" qui correspond à un renforcement spectaculaire de l'image ( Fig.6A,6B et 6C)

Il est intéressant de noter que même pour les émulsions "Montréal" déjà hypersensibilisées à la triéthanolamine (6), l'activation résulte toujours en un accroissement de la densité optique globale. Ces résultats montrent que l'on ne peut envisager l'emploi des émulsions à grains ultra-fins ( $\sim 500 \text{ \AA}$ ) pour l'enregistrement des électrons de faible énergie qu'après les avoir soumis à des traitements d'hypersensibilisation, suivis par un développement activé ( Fig.6B et 7A).

L'influence de la durée d'activation sur le rendement photographique a été étudiée pour le détecteur "Montréal" D23T. Pour ce faire, les couches sensibles ont été exposées par contact à une source bêta ( $^{14}\text{C}$ ). Après immersion dans une solution à l'or pour des durées variant entre 0 et 128 minutes, l'ensemble des plaques a été développé dans l'amidol (+ 15°C) pendant 15 minutes. Comme on peut le voir sur la Fig.7B, le taux d'accroissement de densité dû à l'activation devient moins important après 30 minutes d'immersion.

## C. PREMIERS RESULTATS MICRODOSIMETRIQUES.

1. Nous tenons à introduire ce chapitre par un bref rappel des résultats obtenus antérieurement et qui ont induit les études microdosimétriques actuellement en cours au LBRM.

Il s'était avéré que l'activation d'émulsions nucléaires, même hypersensibles, conduisait à une augmentation significative de la densité globale due à des particules alpha du  $^{210}\text{Po}$  (Fig. 8, 9 et 10). L'observation au microscope électronique des couches sensibles traitées d'après les procédés classiques avait montré que malgré l'apport énergétique très important transféré à chaque grain d'une émulsion ionographique par une particule alpha de 5 MeV, des lacunes apparaissent le long du parcours qui sont probablement dues à des grains non développés (Fig. 11). Par contre, si les détecteurs ionographiques ont été soumis à un traitement activé, on voit au microscope électronique que la trace est continue, autrement dit, que pratiquement tous les grains traversés par la particule ont été développés (Fig. 4). Des expériences annexes ont montré que l'hypothèse de "ponts argentiques" provoqués par l'activation devait être exclue.

2. Mais on a également observé que l'augmentation en densité globale était dûe surtout à un élargissement de la

trace. Cet élargissement peut être interprété en se basant sur deux phénomènes:

a) Il se pourrait que l'activation favorise un processus de contamination photographique, c'est-à-dire, un transfert du processus de réduction d'un grain porteur d'une image latente (parce que traversé par la particule) à un grain vierge se trouvant dans la proche proximité de sa trajectoire. Il en sera de même pour les formations en amas de grains d'argent dont nous allons parler par la suite. Jusqu'à ce jour tous les résultats d'une étude photographique que nous avons entreprise sur ce sujet particulier semble infirmer cette hypothèse.

b) Cet élargissement pourrait aussi s'expliquer par la contribution de particules delta de très faible énergie créées au sein de l'émulsion, et qui formeraient une image latente dans des microcristaux de BrAg n'ayant pas été traversés par la particule alpha. Le rapport sous-germes/germes étant assez important dans les grains touchés par les électrons (voir B. IV), l'effet de l'activation y sera particulièrement marqué. En effet, le nombre d'électrons delta décroît très rapidement avec leur énergie propre, et il y a, en termes relatifs, une surproduction d'électrons de faible énergie. En outre, pour les électrons éjectés avec une énergie maximale, on constate, en se référant au Tableau I, que leur nombre devient très grand en fin de parcours. Pour ces énergies de l'ordre

du KeV, le haut degré de scattering combiné avec le taux élevé de perte d'énergie des électrons peut bien résulter en un élargissement des traces. Si l'on considère le nombre de grains traversés par un électron en fonction de son énergie (Tableau II), il est évident que l'interprétation cohérente des résultats contenus dans les Tableaux I et II permet de soutenir l'hypothèse que l'élargissement des traces alpha en fin de parcours après activation est dû à l'action des électrons de faible énergie.

3.- Des formations en amas de grains d'argent ont aussi été observées sur des traces de particules alpha. Si l'on exclut la possibilité d'une contamination photographique, il devient très intéressant d'étudier systématiquement ces événements en vue d'une interprétation en termes de microdosimétrie de particules chargées lourdes traversant les milieux condensés.

#### D. INSTRUMENTATION.

Un séchoir à gradient de température, indispensable pour les travaux ionographiques en cours a été construit et se trouve en cours d'essai. Une modulation du gradient de température est envisagée. Cet appareil est destiné à jouer un rôle primordial dans nos travaux en cours sur l'obtention d'un rapport signal/bruit optimum dans l'émulsion nucléaire (Fig.12).

Un bac à développement automatisé permettant d'envisager des traitements à basse et à très basse température (inférieure à 0°C) est en cours d'essai (Fig.13).

#### D. CONCLUSION

Nous espérons que de ce rapport ressortent les grandes lignes des voies que nous avons suivies pour réaliser notre programme de microdosimétrie.

Dans un premier stade, nous avons entrepris la mise au point d'un détecteur visuel, permettant d'enregistrer d'une manière aussi fidèle que possible la structure fine des traces de particules chargées. Ceci nous a amené:

- a) à reconsidérer les théories sur l'image latente corpusculaire et à les compléter.
- b) à formuler des traitements photographiques nouveaux basés sur nos hypothèses.

Au fur et mesure de la mise au point de nos procédés, des tests ont été menés pour vérifier les possibilités d'emploi de nos méthodes dans le domaine de la microdosimétrie. Ainsi, des expériences ont été entreprises en vue de l'étude des modes de perte d'énergie de particules alpha en fin de parcours. Ces recherches seront poursuivies en 1972, ainsi que des essais de mise en évidence de particules delta de faible énergie.

TABLEAU I.

Nombre d'électrons/micron d'énergie maximale  $W=W_{\max}$  (KeV) éjectés lors du passage de particules alpha d'énergie E, dans l'intervalle E: 1.0--10.0 MeV; le calcul a été effectué pour l'émulsion "standard".  $Z^*$  représente la charge efficace des particules incidentes.

| E(MeV) | $Z^*$ | $W=W_{\max}$ | N° élec./ |
|--------|-------|--------------|-----------|
| 1.0    | 1.68  | 0.53         | 563       |
| 2.0    | 1.85  | 1.08         | 78        |
| 3.0    | 1.92  | 1.64         | 25        |
| 4.0    | 1.95  | 2.17         | 11        |
| 5.0    | 1.97  | 2.73         | 6         |
| 6.0    | 1.98  | 3.27         | 3         |
| 7.0    | 1.98  | 3.83         | 2         |
| 8.0    | 1.99  | 4.35         | 1         |
| 9.0    | 1.99  | 4.93         | 1         |
| 10.0   | 1.99  | 5.46         | 1         |

(A partir de la formule de BHABHA (Proc.Roy.Soc.A164,257(1938)))

TABLEAU II.

Relation parcours-énergie pour des électrons d'énergie W, dans l'intervalle W: 1.0--10.0 KeV, calculée selon la formule donnée par FELDMAN (W.H. Barkas, "Nuclear Research Emulsions", p.446, Academic Press(1963)) et Nombre de grains N traversés par ces électrons, déterminés par la méthode de LONCHAMP et GEGAUFF (J. Phys. Rad. 17,p.132 (1956)), dans les émulsions Ilford L-4 et Gevaert Scientia Nuc. 3.07.

| W(KeV)     | 1.0       | 2.0  | 3.0  | 4.0  | 5.0  | 6.0  | 7.0  | 8.0  | 9.0  | 10.0 |       |
|------------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| R(microns) | 0.02      | 0.07 | 0.14 | 0.24 | 0.36 | 0.50 | 0.66 | 0.85 | 1.05 | 1.25 |       |
| N {        | Ilford L4 | 0.15 | 0.46 | 0.91 | 1.46 | 2.10 | 2.84 | 3.66 | 4.50 | 5.57 | 6.30  |
|            | Nuc. 307  | 0.20 | 0.67 | 1.40 | 2.50 | 3.20 | 4.30 | 5.90 | 7.70 | 9.30 | 11.30 |

REFERENCES.-

1) James, T.H.

I. The site of reaction in direct photographic development.  
II. Kinetics of development initiated by gold nuclei, J. Colloid. Sc., 3, 447 (1948)

2) Rechenmann, R.

Progress in processing the corpuscular latent image. Prospects for micro-autoradiography., Proc. 7th Int.Coll. Cor-pusc. Phot. and Visual Solid Detectors., Barcelona(1970).  
Rapport Euratom N°: 4688e (1971)

3) Rechenmann R.,E. Wittendorp

Le développement activé appliqué aux détecteurs ionographi-ques "Montréal". Perspectives microdosimétriques., Proc.39<sup>ème</sup> Congrès Annuel ACFAS, Sherbrooke(1971)

4) Rechenmann, R. Wittendorp, E.

High efficiency development procedures for nuclear emulsions. Consequences for micro-autoradiography. Int.Symp. on Autoradio-graphy, Nottingham (1971)

5) Demers, P.

Evolution des microcristaux de bromure d'argent au cours de la fabrication (précipitation) des émulsions ionographiques du type Montréal. Proc. 7th Int.Coll. Cor-pusc. Phot. and Visual Solid Detectors, Barcelona (1971)

6) Demers, P., Hébert, J.

Expériences sur la sensibilisation des émulsions aux trajectoires des particules ionisantes. Sc. et Ind. Phot. T.23A, 304 (1951)



( CONTRATS N° 085-70-01 BIOF et N° 087-71-1 BIOG)

CONFERENCES.

E. WITTENDORP: "Mise au point et étude critique des méthodes autoradiographiques destinées à l'observation aux microscopes optique et électronique"

Sur invitation du Centre de Recherches Nucléaires de Strasbourg-Cronembourg.-Décembre 1970.

R. RECHENMANN: "Une nouvelle philosophie de l'emploi des détecteurs de radiations en Biologie. Cas des émulsions nucléaires"

Sur invitation de la Société de Biologie, Strasbourg, Avril 1971.

R. RECHENMANN: "Microdosimetric aspects of heavy particles crossing biological tissues".

Sur invitation de la C.E.E.-Wageningen, Pays-Bas, Mai 1971.

R. RECHENMANN: "High efficiency Development Procedures for Nuclear Emulsions. Consequences for Micro-autoradiography".

Sur invitation de la Royal Microscop. Soc., Int. Symposium on Autoradiography, Nottingham, Juillet 1971.

R. RECHENMANN: "Le développement activé appliqué aux détecteurs ionographiques "Montréal". Perspectives microdosimétriques".

Conférence lue par le Prof. P. Demers sur invitation de l'Association Canadienne Française pour l'Avancement des Sciences, Sherbrooke, Octobre 1971.

R. AIGUABELLA: "Perspectives actuelles de la microdosimétrie des particules chargées après le 3<sup>ème</sup> Symposium de Stresa.

Sur invitation du Centre de Recherches Nucléaires de Strasbourg-Cronembourg, Décembre 1971.

STAGES DE TRAVAIL.

E. WITTENDORP: Expériences sur les possibilités offertes par le microscope électronique à balayage en ionographie/ Séjours au Technische Fysische Dienst in de Landbouw(TFDL), Wageningen, Pays-Bas, du 30.11.70 au 4.12.70 et du 21.3.71 au 28.3.71.

PUBLICATIONS,

R. RECHENMANN.

Progress in processing the corpuscular latent image. Prospects for micro-autoradiography.

Proc. 7th Int. Coll. Corpusc. Phot. and Visual Solid Detectors; Barcelona 1970. Rapport Euratom N°: EUR. 4688e, 1971.

M. SENSENBRENNER, E. WITTENDORP, R. RECHENMANN.

Study of the incorporation of uridine-<sup>3</sup>H in neurons by various autoradiographic methods.

Proc. 7th Int. Coll. Corpusc. Phot. and Visual Solid Detectors; Barcelona 1970. Rapport Euratom N°: EUR. 4687e, 1971.

R. RECHENMANN, A. RINGOET, A. GIELINK, E. WITTENDORP.

Calcium localization in chloroplasts of the oat leaf by high-resolution track- autoradiography.

Z. Pflanzenphysiol. 1971, 64, 80.

A. RINGOET, R. RECHENMANN, A. GIELINK.

Calcium accumulation in and possible excretion through guard and accessory cells of stomata and through bulliform cells.

Z. Pflanzenphysiol. 1971, 64, 60.

R. RECHENMANN, E. WITTENDORP.

The development procedure in micro-autoradiography. Influence on Efficiency and Resolution.

Proc. Roy. Microsc. Soc., 1971, Vol.6, Part 4.

R. RECHENMANN, E. WITTENDORP.

Le développement activé appliqué aux détecteurs ionographiques "Montréal". Perspectives microdosimétriques.

39<sup>ème</sup> Congrès Annuel ACFAS, Sherbrooke, Oct. 1971.

R. RECHENMANN, E. WITTENDORP.

High Efficiency development procedures for nuclear emulsions.

Consequences for micro-autoradiography. (En préparation)

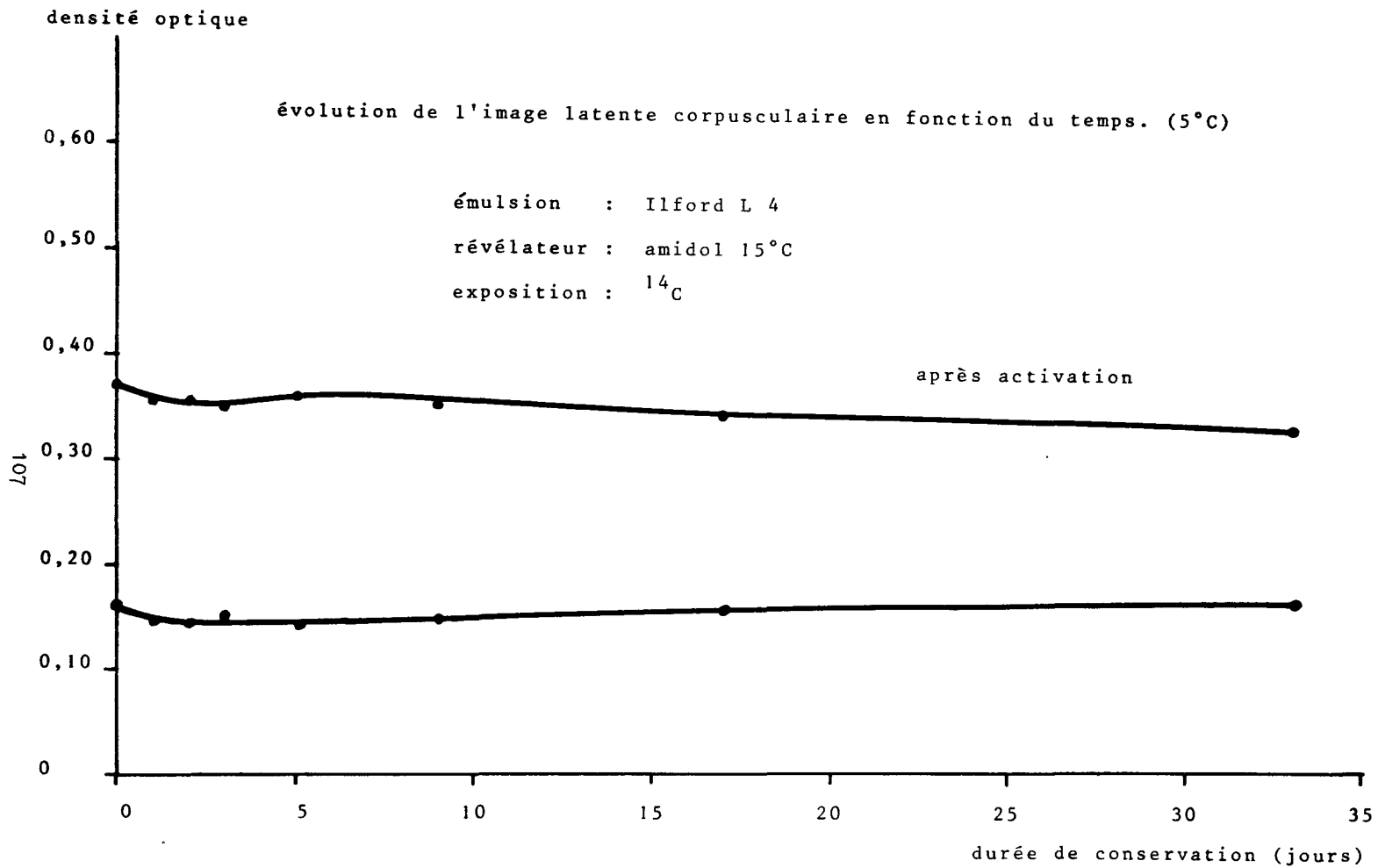


FIG.1

ACTIVATION EFFECT ON THE ELECTRONIC ENERGY LEVELS OF  
LATENT IMAGE GERMS AND SUB-GERMS

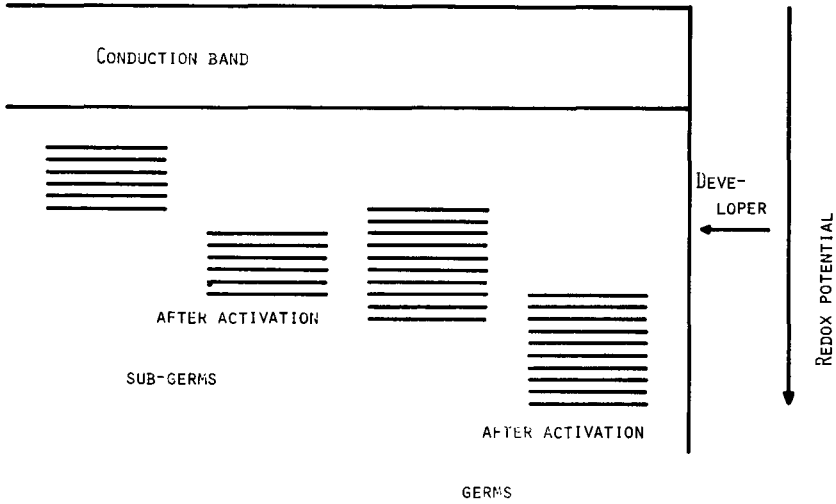


Fig. 2

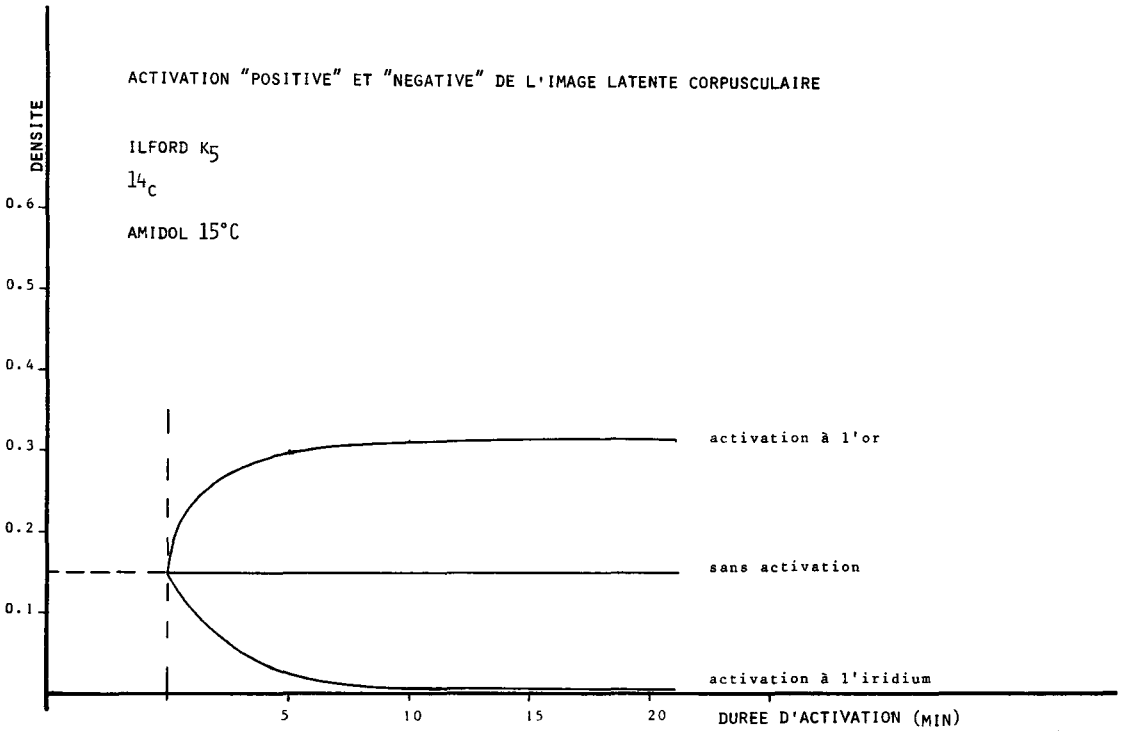
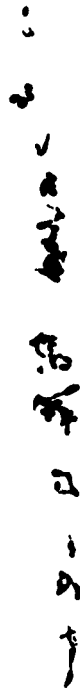


FIG. 3

OBSERVATION AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE DE PARTICULES ALPHA DE  $^{210}\text{Po}$   
DANS UNE EMULSION NUCLEAIRE A GRAINS ULTRA-FINS.



x 21.000



Développement activé

Fig. 4

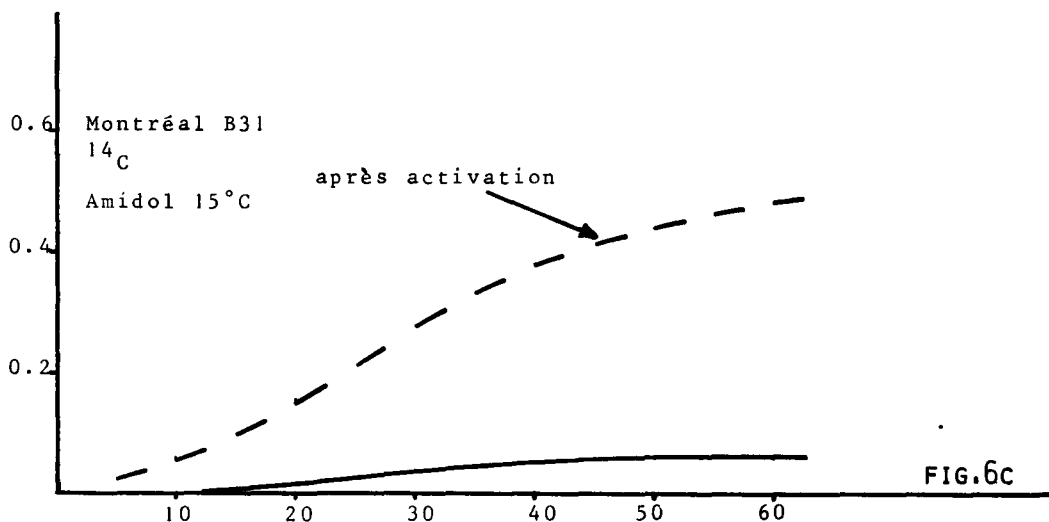
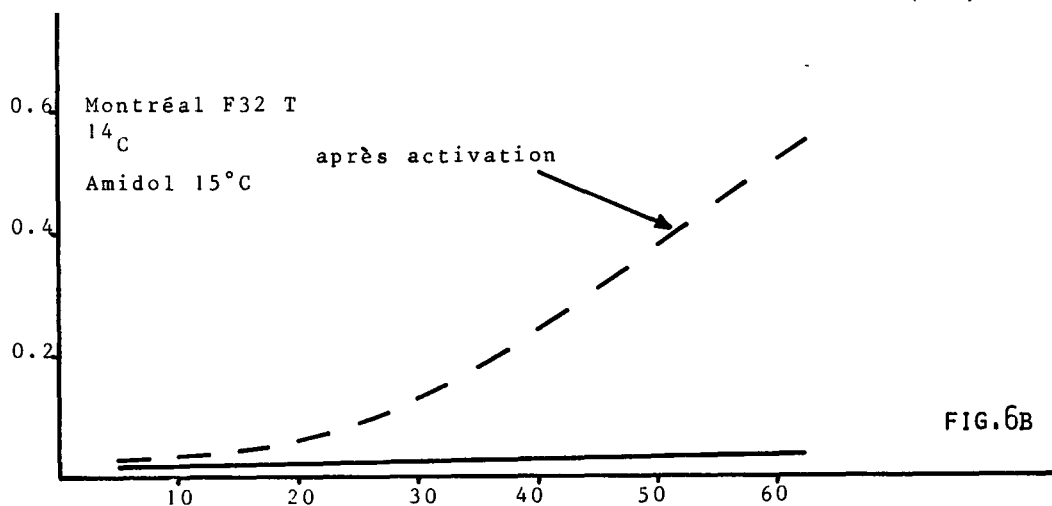
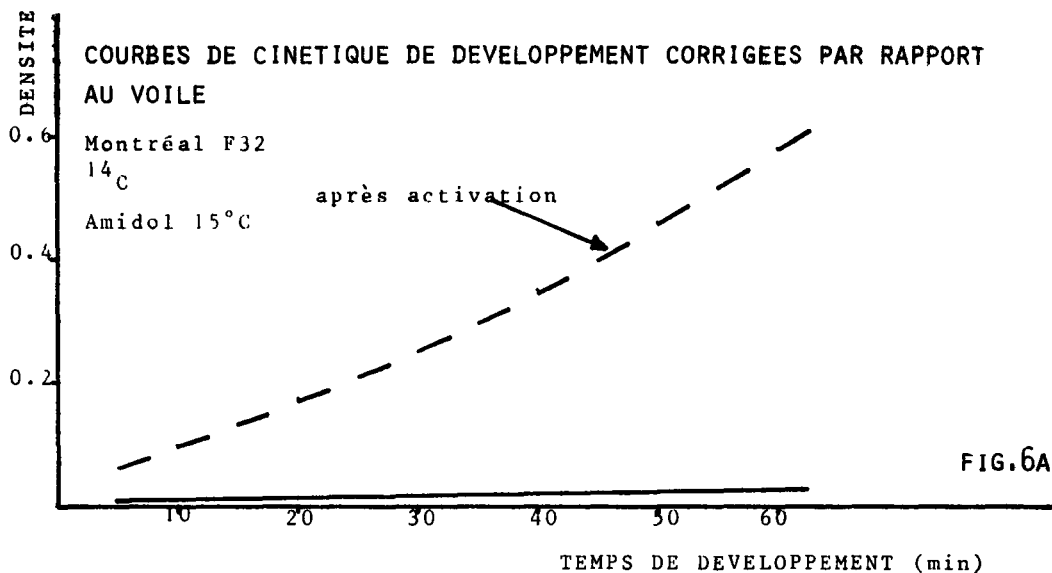
Développement classique

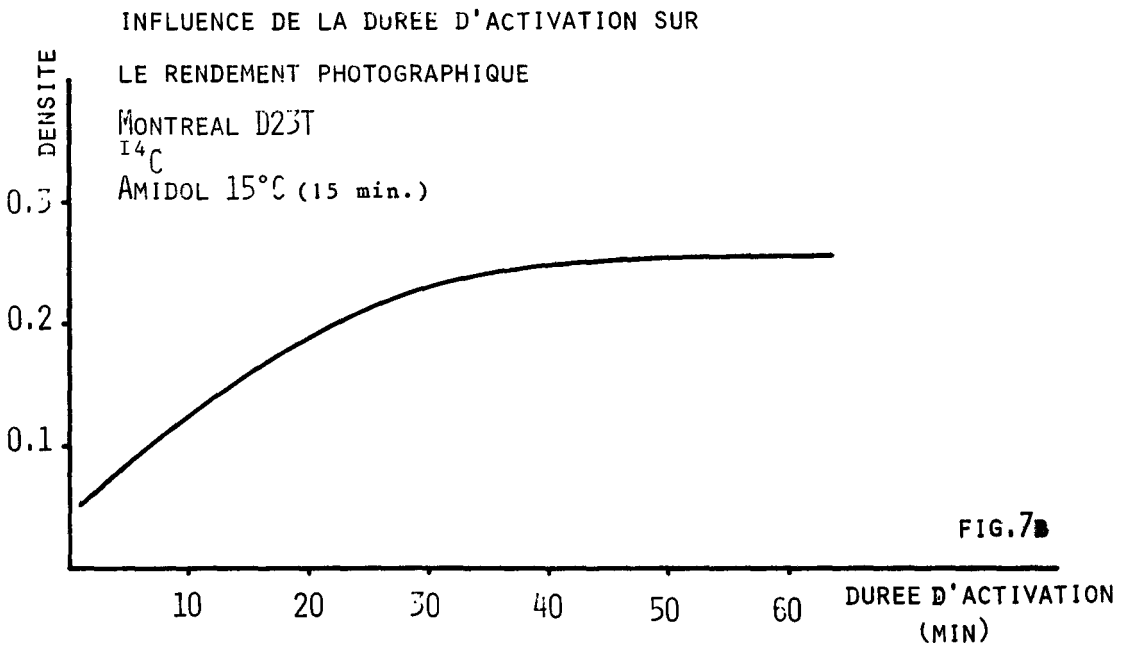
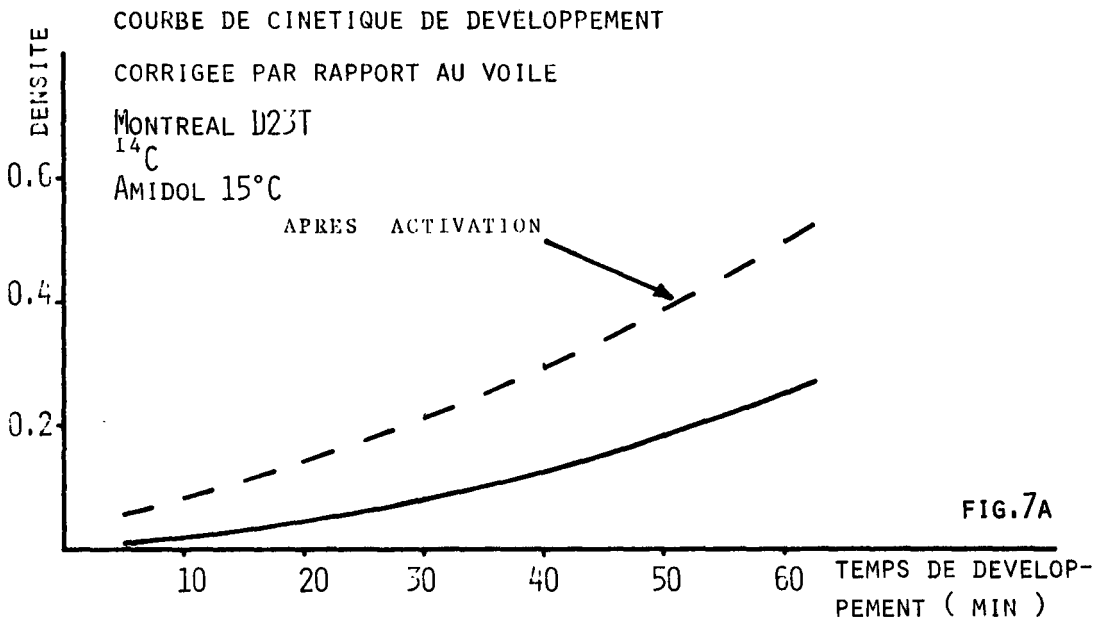
Fig. 11



Développement à grains "compacts"

Fig. 5





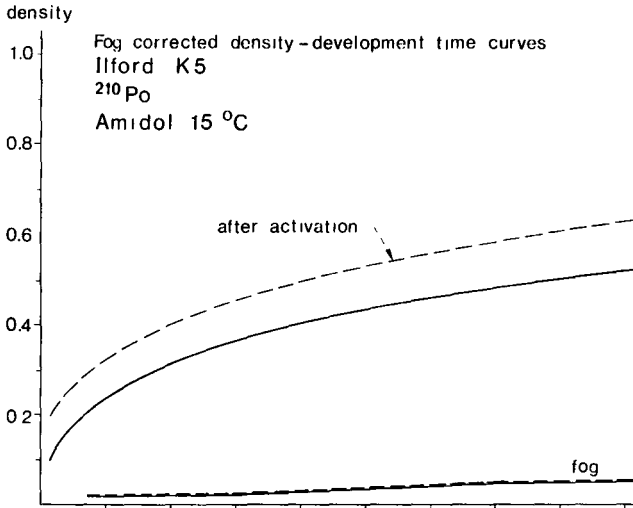


FIG.8

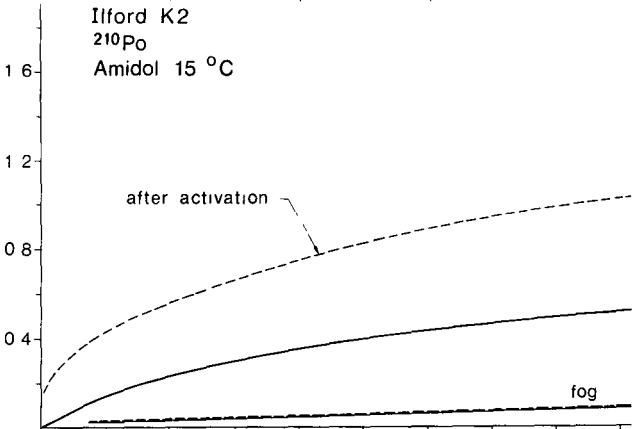


FIG.9

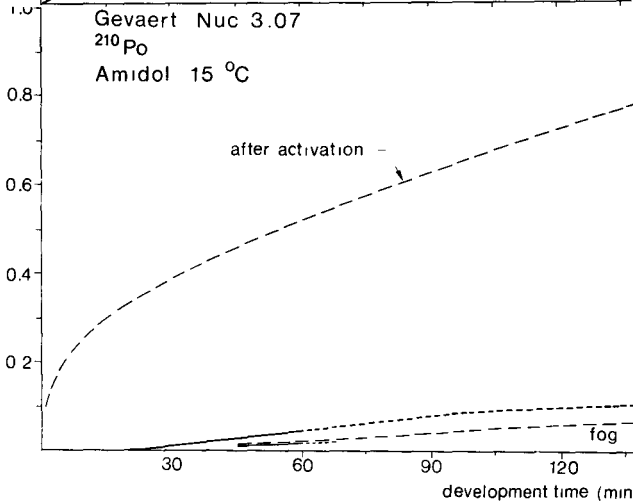
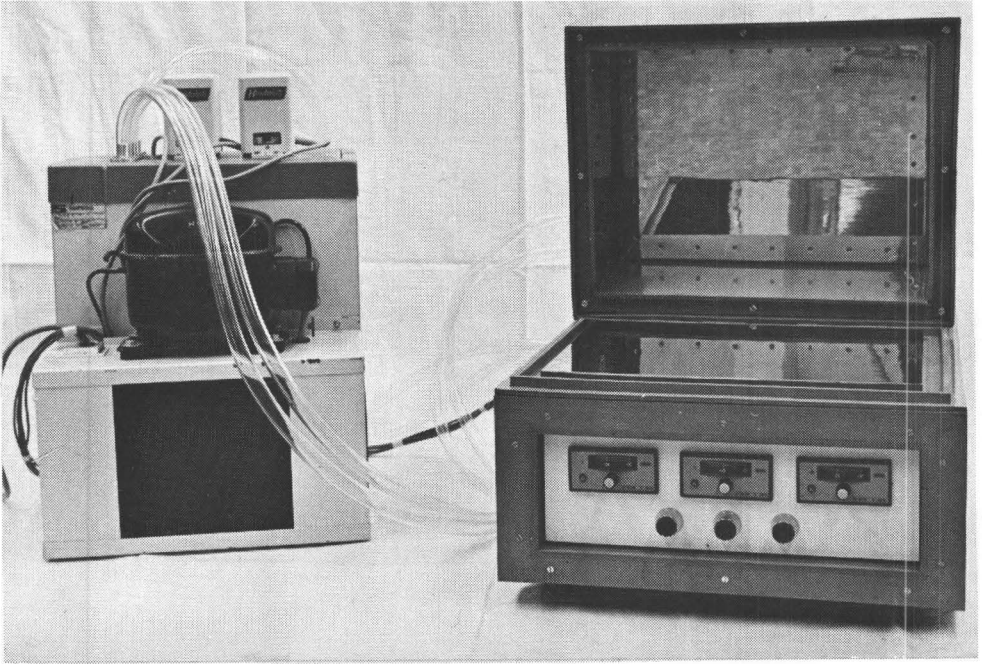


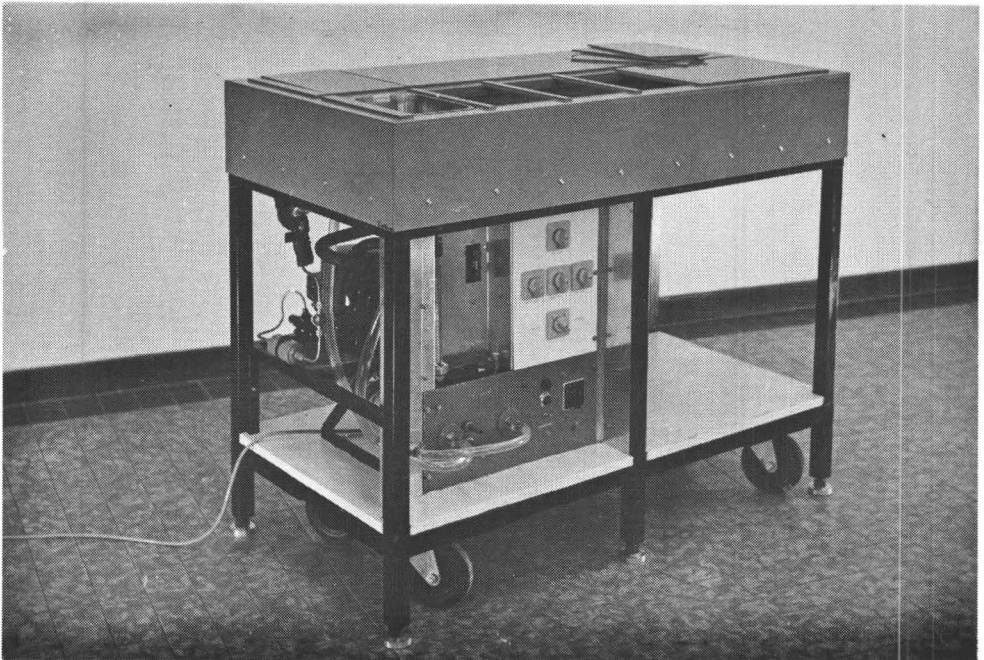
FIG.10





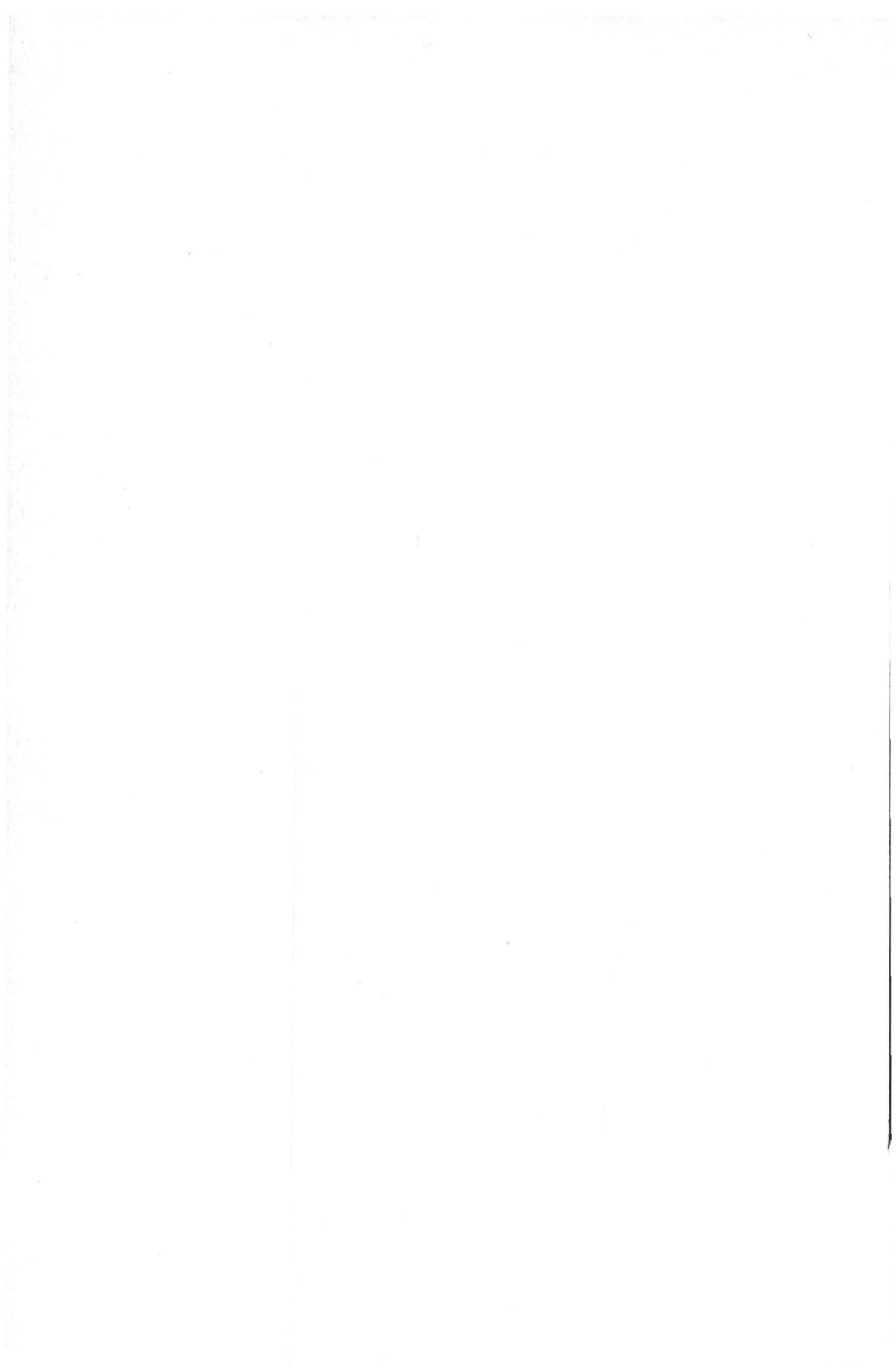
SECHOIR A GRADIENT DE TEMPERATURE

FIG.12



BAC A DEVELOPPEMENT AUTOMATISE

FIG.13



## TÄTIGKEITSBERICHT

A Vertrag Nr. 087 - 71 - 1 Bio C

Institut für Biophysik der Universität des Saarlandes, Homburg

Prof. Dr. H. Muth, Prof. Dr. R. Grillmaier

Titel: Investigations of the connection of radiation dose,  
radical production and radiation damage in biological  
systems (cells) and their components.

Allgemeine Darstellung der durchgeführten Arbeiten.

Entsprechend dem Ziel der Untersuchungen, einen Beitrag zum Problem des Energietransportes in den ersten Phasen nach der Absorption der Energie ionisierender Strahlen zu leisten und weitere Einblicke in die Zusammenhänge zwischen strahleninduzierten Primärprodukten und den biologischen Strahlenschäden auf molekularer Ebene zu erhalten, wurden ESR-spektroskopische Untersuchungen an bei 77°K mit Röntgenstrahlen bestrahlten Kulturen menschlicher Lymphocyten und an separaten Bestandteilen der Kulturen durchgeführt und das Verhalten der strahleninduzierten Radikale im Temperaturbereich von 90°K bis 250°K untersucht.

Da nicht damit gerechnet werden kann, daß unter den hier vorliegenden Strahlungsbedingungen (-196°C, Glycerin als Gefrierschutzsubstanz) Ausmaß und Art der biologischen Strahlenschäden die gleichen sind wie nach Bestrahlung bei Zimmertemperatur, wurde, um eine eindeutige Relation zwischen Strahlenschaden und Strahlendosis als Basis für die weiteren Untersuchungen zu erhalten, parallel zu den ESR-Messungen die Strahlenschäden an den Chromosomen der Lymphocyten ermittelt.

## B Projekt Nr. 1

Titel: Investigations of the connection of radiation dose, radical production and radiation damage in biological systems (cells) and their components.

R.Grillmaier, H. Fell

### Darstellung der Ergebnisse.

Die ESR-Untersuchungen der bei  $77^{\circ}\text{K}$  mit Röntgenstrahlen unterschiedlicher Dosis bestrahlten Suspensionen von menschlichen Lymphocyten in Plasma und Kulturmedium mit Glycerin-(10%) und ohne Glycerinzusatz sowie Proben reinen Wassers haben bisher folgendes ergeben:

- 1) Von den zu erwartenden radikalischen Strahlenprodukten des Wassers konnten bei  $90^{\circ}\text{K}$  nur noch  $\text{OH}^{\cdot}$ -Radikale nachgewiesen werden.
- 2) Mit zunehmender Temperatur der Proben werden die  $\text{OH}^{\cdot}$ -Radikale immer schneller abgebaut. Bei  $135^{\circ}\text{K}$  sind praktisch keine Wasser-radikale mehr nachzuweisen.
- 3) Die Konzentration der aus den biologischen Bestandteilen der Zellsuspension erzeugten Radikale bleibt im Bereich von  $90^{\circ}\text{K}$  bis  $135^{\circ}\text{K}$  innerhalb der Meßgenauigkeit konstant. Das ESR-Spektrum dieser Radikale bleibt unverändert. Daraus ergeben sich Hinweise, daß die  $\text{OH}^{\cdot}$ -Radikale abgebaut werden, ohne Biomoleküle anzugreifen.
- 4) Die Konzentration der aus Biomolekülen erzeugten Radikale bleibt in der glycerinfreien Suspension über den genannten Bereich hinaus bis zu einer Temperatur von  $180^{\circ}\text{K}$  konstant. Danach sinkt sie schneller als in der glycerinhaltigen Probe ab. Ein weiterer Unterschied besteht darin, daß die Radikalkonzentration in der Probe mit Glycerinzusatz im Bereich von  $150^{\circ}\text{K}$  bis  $160^{\circ}\text{K}$  noch einmal stark zunimmt.

In beiden Proben sind die Radikale noch vor dem Auftauen abgebaut.

- 5) Im Bereich von 150°K bis 160°K bzw. 170°K treten an beiden Proben Veränderungen der Linien des ESR-Spektrums auf, die nur durch inter- oder intramolekulare Umlagerungen (Energietransporte) des Radikalzustandes erklärt werden können.
- 6) In dem untersuchten Bereich von 500 - 5000R steigt die Konzentration der Radikale linear mit der Strahlendosis an.  
Die Steigung der Geraden beträgt für:  
Wasser bei 90°K  $1,65 \cdot 10^{12}$  Radikale/g.R.  
Zellsuspensionen mit Glycerin bei 90°K  $2,93 \cdot 10^{12}$  Radikale/g.R.  
Zellsuspensionen ohne Glycerin bei 90°K  $2,50 \cdot 10^{12}$  Radikale/g.R.  
Zellsuspensionen mit Glycerin bei 150°K (ohne Radikale des Wassers)  
 $1,09 \cdot 10^{12}$  Radikale/g.R.  
Zellsuspensionen ohne Glycerin ("Bioradikale") bei 150°K  
 $0,83 \cdot 10^{12}$  Radikale/g.R.
- 7) Gleichartige ESR-Untersuchungen wie die eingangs geschilderten wurden noch an verschiedenen separierten Bestandteilen der Zellsuspension vorgenommen. Zunächst wurden noch untersucht:  
Lösungen von Glycerin in Wasser (verschiedener Konzentrationen),  
Lösungen von NaCl und Glucose (verschiedener Konzentrationen) mit und ohne Zusatz von Glycerin. Die quantitative Auswertung dieser Messungen steht noch aus.
- 8) Die Untersuchungen der Chromosomenaberrationen haben ergeben, daß die Wirkung der Bestrahlung auf die eingeforenen Zellen im Vergleich zur Bestrahlung bei Zimmertemperatur stark reduziert ist. Diese Reduktion beträgt 1/15 bezüglich der Deletionen und 1/46 in Bezug auf die strahleninduzierte Entstehung von Ringen und dizentrischen Chromosomen. Die Dosisrelationsfaktoren betragen für  
Deletionen  $1,1 \cdot 10^{-2} / R$   
Ringe und dizentrische Chromosomen  $1,9 \cdot 10^{-5} / R^2$   
für die Gesamtbruchrate  $6,2 \cdot 10^{-5} / R^2$   
Außerdem haben die Ergebnisse gezeigt, daß auch im Fall der Deletionen und der Gesamtbruchrate im Gegensatz zur Bestrahlung bei Zimmertemperatur die Aberrationsraten am besten durch quadratische Dosisrelation zu beschreiben sind.

Liste der Veröffentlichungen im Jahre 1971

R.E. GRILLMAIER, Vorläufige Ergebnisse von Untersuchungen an eingefrorenen und bei tiefen Temperaturen bestrahlten Lymphocyten.

I. Der Einfluß der Abkühlgeschwindigkeit, der Endtemperatur und der Kulturdauer auf eingefrorene und tiefgekühlte Lymphocytenkulturen.

Biophysik 7, 120 - 125 (1971)

R.E. GRILLMAIER, II. Untersuchungen der Chromosomen-Abberationsraten bei Lymphocyten nach Bestrahlung im eingefrorenen und auf  $-196^{\circ}\text{C}$  abgekühlten Zustand.

Biophysik 7 , 126 - 132 (1971)

R.E. GRILLMAIER, und H. FELL, III. Das Verhalten von strahleninduzierten Radikalen in eingefrorenen und tiefgekühlten Lymphocytenkulturen in Abhängigkeit von der Temperatur.

Biophysik 7 , 133 - 139 (1971)

R.E. GRILLMAIER, und H. MUTH, Untersuchungen des temperaturabhängigen Verhaltens von strahleninduzierten Radikalen in Zellsuspensionen: Ein Beitrag zum Problem der Energieübertragung. Drittes Symposium über Mikrodosimetrie, 18. - 22. Oktober 1971 Stresa, Italien.

R.E. GRILLMAIER, Investigations and correlation of radiationinduced free radicals and chromosome aberration rates of human lymphocytes.

8<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology

20. - 23. Sept. 1971 Basko Polje, Juguslawien.

RELAZIONE DI ATTIVITA' 1971

A

Contratto N° 068 - 67 - 6 - BIOD

CNEN, CASACCIA, ITALIA

E. CASNATI, G. BENINCASA

STUDIO SULLA EQUIVALENZA AI TESSUTI DELLE  
SOSTANZE TERMOLUMINESCENTI E TERMOESOMET-  
TENTI.

L'attività espletata in questo Laboratorio in connessione con il contratto Euratom-CNEN 068-67-6-BIOD ha riguardato i seguenti tre argomenti:

1) Uso dosimetrico del tetraborato di litio attivato al manganese. Si è realizzato un aumento cospicuo della resa termoluminescente, che è ora doppia rispetto a quella dell'analogo materiale prodotto commercialmente dalla Harshaw.

2) Impiego dosimetrico dell'ossido di berillio ceramico, utilizzandone le proprietà di termoluminescenza. Sono stati conseguiti in questo campo notevoli miglioramenti nella conoscenza delle caratteristiche essenziali del materiale, con particolare riguardo per la riproducibilità delle letture, il fading, la resa assoluta TL, la misura delle dosi inferiori ad 1 R e la linearità della risposta con la dose.

3) Utilizzazione dosimetrica della TSEE nel BeO. In particolare sono stati ottenuti miglioramenti sulla riproducibilità mediante annealing a 600°C sotto vuoto e successivi trattamenti multipli a luce ultravioletta.

B

Progetto N° 1

E. CASNATI, G. BENINCASA

STUDIO SULLA EQUIVALENZA AI TESSUTI DELLE  
SOSTANZE TERMOLUMINESCENTI E TERMOESOMET-  
TENTI.

L'attività relativa al  $\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7:\text{Mn}$  è stata sostanzialmente rivolta all'incremento della resa TL della sostanza. Ciò ha comportato numerose prove di preparazione della sostanza variando finemente la temperatura di cottura, il tempo di permanenza in forno e la quantità di sostanza all'interno del crogiuolo usato per minimizzare il gradiente di temperatura che all'interno del crogiuolo si stabilisce.

La percentuale dell'attività nella sostanza è rimasta sempre la stessa (1% in mole). Alla fine di queste prove la sostanza da noi preparata presenta una resa TL superiore di circa un fattore 2 rispetto all'unico  $\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7:\text{Mn}$  commerciale esistente (Harshaw). Inoltre la temperatura del picco desimetrico è di circa  $15^\circ\text{C}$  più elevata rispetto all'analoga sostanza dell'Harshaw, il che dovrebbe determinare un più basso fading.

A tutt'oggi non sono ancora state completamente eseguite prove aettagliate di fading e di risposta con l'energia della radiazione.

Quanto al  $\text{Mg F}_2$  si è ritenuto opportuno sospendere per il momento la sperimentazione relativa all'incremento della resa, poichè il numero atomico efficace (10,4) non si appross-



sima nè a quello del tessuto muscolare (7,4) nè a quello del tessuto osseo (13).

Parallelamente a queste ricerche è stata continuata la sperimentazione sulle caratteristiche di termoluminescenza dell'ossido di berillio sinterizzato.

Sono state compiute esperienze per meglio determinare la tecnica ottimale di annealing, dimostrando come la riproducibilità delle misure raggiunga il suo massimo valore per temperatura intorno ai 600°C, anche nel caso di basse dosi.

Il problema della misura delle dosi inferiori ad 1 R è stato indagato mediante lunghe serie di misure, dalle quali è risultato che la deviazione standard aumenta con il diminuire della dose, fino a raggiungere il 30% circa per dosi di 25 mh.

Altri esperimenti hanno riguardato l'influenza del tipo di fotomoltiplicatore sulla resa TL del BeO: sono stati messi a confronto 2 fototubi a diversa sensibilità spettrale, utilizzando del LiF come materiale di riferimento. Si è così trovato che la resa TL del BeO è circa 1/3 di quella del LiF, se si utilizza un fotomoltiplicatore sensibile nella regione ultravioletta.

Lo studio del fading è proseguito con l'esecuzione di 5 prove di lunga durata, dalle quali è risultato un valore medio di fading dell'8% dopo 2 mesi.

Sono stati anche effettuati nuovi esperimenti sulla linearità di risposta con la dose e sulla dipendenza della risposta stessa dall'energia della radiazione. Tali esperimenti hanno dimostrato che l'ossido di berillio possiede una buona tessuto-equivalenza, migliore di quella del fluoruro di litio.

Tali risultati sembrano giustificare la continuazione di

queste indagini sull'applicabilità pratica del BeO come rivelatore da utilizzarsi in Dosimetria Biologica e Medica, oltre che radioprotezionistica.

Sempre sul BeO sono proseguiti gli studi di TSEE essenzialmente rivolti all'esame delle caratteristiche di riproducibilità di questa tecnica. Si è osservato che la riproducibilità di uno stesso disco in irraggiamenti successivi migliora sensibilmente se, dopo ogni misura, l'annealing termico è accompagnato da successive irradiazioni con raggi UV. Più precisamente si sfrutta il fatto che l'irraggiamento con radiazioni UV dà una risposta di TSEE; dopo l'annealing termico il disco è esposto agli UV e si esegue la misura di TSEE. Questo procedimento è ripetuto più volte ed il rivelatore è usato per la misura su radiazioni ionizzanti solamente dopo che le successive risposte agli UV, si mantengono su un valore costante.

#### BIBLIOGRAFIA

SCARPA G., BENINCASA G. CERAVOLO L. - Further studies on the dosimetric use of BeO as a thermoluminescent material. 3rd Int. Conf. on Luminescence Dosimetry, Risø DN 11-14-X-1971.

ROTONDI E. - The TSEE response of ceramic BeO covered with different absorbers during gamma and X-ray irradiation. 3rd Int. Conf. on Luminescence Dosimetry, Risø DN 11-14-X-1971

LAITANO R.F. MARTINELLI M. - The role of Sm and Mn as activators in calcium sulphate and lithium tetraborate. In corso di pubblicazione su Physica Status Solidi.

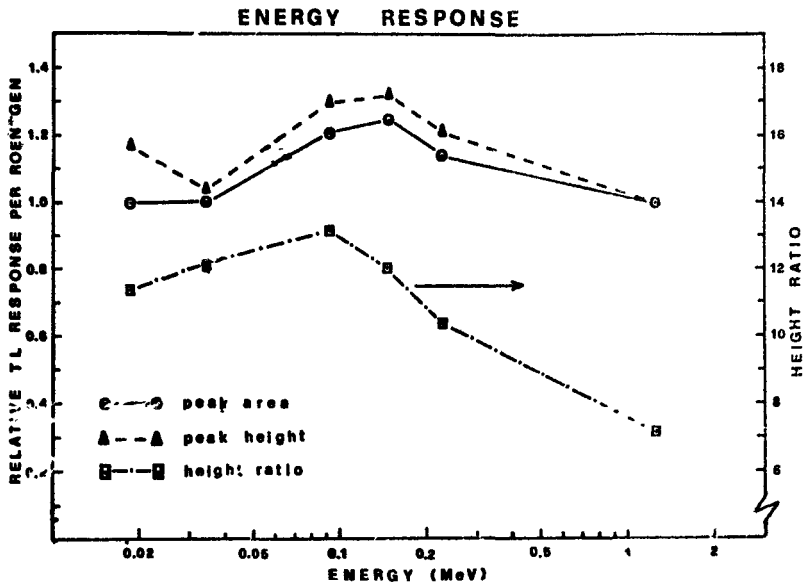


Fig. 1 - Risposta TL del BeO per radiazioni elettromagnetiche di varia energia ( $Co^{60} = 1$ )

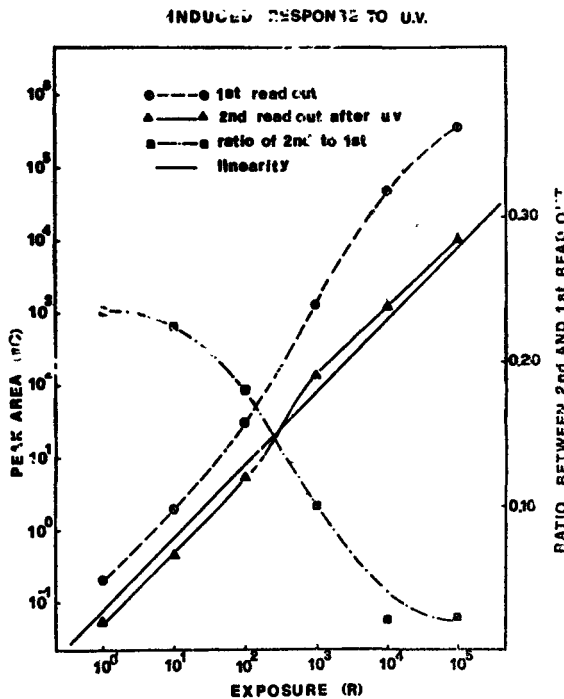


Fig. 2 - Risposta TL del BeO per radiazioni ultraviolette dopo esposizione a radiazioni gamma ma.



DEPARTEMENT DE PROTECTION

---

SERVICE DE TECHNIQUES DE PROTECTION  
ET DE POLLUTION ATMOSPHERIQUE

---

Section Dosimétrie Physique

---

PRODUCTION DE FAISCEAUX DE RAYONNEMENT X  
MONOCHROMATIQUES PAR DIFFRACTION CRISTALLINE

par

Jean-Louis CHARTIER

---

Etude exécutée dans le cadre du  
contrat EURATOM  
n° 053-70-1-PSTC (avenant n° 1)  
(Dosimétrie individuelle)  
Cde 12 251 - II/B6

## P L A N

- I - INTRODUCTION
- II - DIFFRACTION DU RAYONNEMENT X PAR LE MILIEU CRISTALLIN
- III - INFLUENCE DE DIFFERENTS PARAMETRES SUR LE POUVOIR REFLECTEUR
- IV - DESCRIPTION DU MONTAGE EXPERIMENTAL
- V - CARACTERISTIQUES DES CRISTAUX
- VI - MESURE DES LARGEURS MOSAIQUES DES CRISTAUX
- VII - METHODE DE COURBURE DES CRISTAUX
- VIII - RESULTATS EXPERIMENTAUX
  - 1 - Mesure des largeurs mosaïques des cristaux
  - 2 - Etude du faisceau diffracté
  - 3 - Influence de l'épaisseur du cristal sur différents paramètres
- IX - CONCLUSION

DEPARTEMENT DE PROTECTION

SERVICE DE TECHNIQUES DE PROTECTION  
ET DE POLLUTION ATMOSPHERIQUE

Section Dosimétrie Physique

PRODUCTION DE FAISCEAUX DE RAYONNEMENT X  
MONOCHROMATIQUES PAR DIFFRACTION CRISTALLINE

par

Jean-Louis CHARTIER

I - INTRODUCTION -

L'étude de la sensibilité spectrale relative des dosimètres de radioprotection ne peut être faite de façon précise sans l'utilisation de faisceaux de rayonnements de référence monochromatiques. Au dessous de 300 keV, le choix restreint de sources radioactives appropriées conduit à mettre en oeuvre des tubes radiogènes dont on modifie le profil du rayonnement émis de différentes façons. Parallèlement à ces techniques classiques, des résultats satisfaisants ont déjà été obtenus à l'aide d'une installation "de fluorescence", délivrant des faisceaux monochromatiques intenses d'énergie maximum voisine de 100 keV (1).

Grâce aux résolutions atteintes, la diffraction du rayonnement X ou  $\gamma$  par les solides cristallins a été pendant longtemps le moyen le plus approprié en spectrométrie fine. A l'aide d'un tel montage dispersif, il est également possible d'isoler, dans un spectre continu de rayonnement, des bandes énergétiques quasi-monochromatiques (largeurs de 1 à quelques keV). De plus, la valeur de l'énergie moyenne de cette bande peut être choisie de façon quelconque à l'intérieur de ce spectre. Quelques mesures expérimentales, (2), ont donné des résultats encourageants. Cependant, les pouvoirs réflecteurs intégrés des cristaux étant très faibles ( $10^{-4}$  à  $10^{-5}$ ) nous avons envisagé d'étudier les moyens permettant d'adapter un montage spectrométrique à des impératifs d'études dosimétriques. La plus grande partie de cette étude porte sur les caractéristiques des cristaux aptes à réaliser ce projet et les résultats partiels et provisoires obtenus à ce jour sont présentés dans ce rapport.

II - DIFFRACTION DU RAYONNEMENT X et  $\gamma$  PAR UN MILIEU CRISTALLIN -

La théorie de la diffraction du rayonnement X par le milieu cristallin a été traitée de façon très complète par différents auteurs (3, 4, 5). La relation de Bragg :

$$n\lambda = 2d_H \sin \theta_B \quad (1)$$

- $\lambda$  = longueur d'onde du rayonnement
- $d_H$  = distance réticulaire des plans réflecteurs
- $\theta_B$  = angle de Bragg
- $n$  = ordre de la réflexion

caractérise les directions d'incidence privilégiées donnant lieu à un phénomène d'interférences constructives entre les ondes diffusées par les atomes ou molécules d'un cristal mais ne donne aucune information sur l'intensité et la largeur énergétique de ces maxima. La théorie "dynamique" de la diffraction résoud ce problème. Nous n'en retracerons ici que les grandes lignes.

On sait qu'un cristal est défini par la répétition d'un "motif" cristallin, (ou base), par les trois translations fondamentales d'un réseau. La constante diélectrique d'un tel milieu est donc une fonction spatiale triplement périodique développable en série de Fourier dans le réseau réciproque du cristal considéré. Le comportement du rayonnement électromagnétique au sein d'un cristal parfait est donné par les solutions des équations de Maxwell compatibles avec la propagation de 2 ondes internes à ce cristal.

Limitons nous au cas de la "géométrie par transmission" dite de Laue. Les plans réticulaires utilisés sont perpendiculaires à la surface de l'échantillon monocristallin. La propagation du rayonnement dans le cristal se fait par diffusions multiples successives dans les 2 directions définies par la relation de Bragg, la périodicité de l'échange d'énergie étant liée à la distance "d'extinction primaire", ou extinction par diffusion cohérente.

$$t_E = \left( 2 r_0 \frac{F_H}{V} K d_H \tan \theta_B \right)^{-1} \quad (2)$$

- Notations :
- $r_0$  = rayon classique de l'électron
  - $F_H$  = facteur de structure des plans réticulaires d'espacement  $d_H$
  - $K$  = facteur de polarisation
  - $V$  = volume de la maille cristalline

On en déduit deux groupes de solutions selon les ordres de grandeurs de  $t_E$  et  $T_0$  (épaisseur du cristal)

- a) si  $t_E \ll T_0$ , le cristal est dit "épais". La courbe de diffraction moyenne (diffraction pattern) est de la forme :

$$y = \frac{\overline{P_H}}{P_0} = \frac{1}{2(1 + x^2)} \quad (3)$$



où :

$$\begin{aligned} \overline{P_H} &= \text{puissance diffractée moyenne} \\ P_e &= \text{ " incidente} \\ x &= f(\theta - \theta_B, K, F_H) \end{aligned}$$

Caractéristiques de la courbe  $\overline{P_H} = f(\theta)$   
 $\overline{P_0}$

$$\alpha) \frac{1}{2} \text{ Largeur à } \frac{1}{2} \text{ hauteur: } \boxed{w_c = Kr_0 \frac{F_H}{V} \frac{\lambda d_H}{\pi \cos \theta_B} = \varphi(\lambda)} \quad (4)$$

$$\beta) \text{ Surface} = R_H^0 = \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{P_H(\theta - \theta_B)}{P_c} d\theta = \text{pouvoir réflecteur intégré}$$

$$\boxed{R_H^0 = Kr_0 \frac{F_H}{V} \frac{\lambda d_H}{2 \cos \theta_B}} \quad (5)$$

b) si  $t_0 \gg T_0$  , le cristal est dit "mince"

L'équation de la courbe de diffraction s'écrit :

$$y = \frac{P_H}{P_0} \approx A \frac{\sin^2 Ax}{x^2}$$

dans laquelle  $A = F' (F_H, \lambda, K, T_0, \theta_B)$

Cette fonction d'interférences est approximée par lissage par la relation :

$$y = A^2 e^{-\frac{A^2 x^2}{\pi}}$$

Nous pouvons en tirer :

$$\alpha) \frac{1}{2} \text{ largeur à } \frac{1}{2} \text{ hauteur} \quad \omega_{\theta} = \sqrt{\frac{\log 2}{\pi}} \frac{d_H}{T_0} = c^{\theta} \quad (6)$$

$$\beta) \text{ pouvoir réflecteur intégré} \quad R_H^{\theta} = r_0^2 \kappa^2 \left(\frac{F_H}{V}\right)^2 \lambda^2 \frac{d_H}{\cos^4 \theta_B} T_0 \quad (7)$$

Toutefois, les succès et les désaccords de cette théorie avec les résultats expérimentaux ont conduit à admettre la présence, dans un cristal réel, d'un certain désordre dont le rôle s'avère plus ou moins important selon l'énergie du rayonnement. Il découle de cette idée la conception de la structure "mosaïque" pour les cristaux réels, constitués d'un assemblage de blocs monocristallins parfaits de très petites dimensions (donc pour lesquels la théorie dynamique reste valable). Ces cristaux ~~libres~~ sont faiblement désorientés les uns par rapport aux autres, mais toutefois suffisamment (quelques minutes d'angle) pour que chacune de ces cellules puisse être assimilée à une unité diffusante indépendante de ses voisines. Il y a alors addition des intensités diffusées par chaque bloc au lieu d'une addition des amplitudes.

Nous nous contenterons de rappeler la formule du pouvoir réflecteur intégré d'un cristal réel, valable pour une lame cristalline d'épaisseur  $T_0$ , dans l'approximation mosaïque "idéale" qui suppose les extinctions primaire et secondaire \* négligeables.

$$\boxed{R_H^{\theta} = Q \frac{T_0}{\delta_0} e^{-\mu_0 \frac{T_0}{\delta_0}}} \quad (8)$$

$$\text{avec } Q = r_0^2 \left|\frac{F_H}{V}\right|^2 \frac{1 + \cos^2 2\theta_B}{2 \cos^4 \theta_B} \lambda^2 d_H$$

les notations sont les mêmes que celles définies pour les relations (1) et (2).

De plus :

$$\delta_0 = \cos \theta_B$$

$$\mu_0 = \text{coefficient d'atténuation (effets photoélectrique et Compton).}$$

Si l'extinction secondaire n'est pas négligeable, mais toutefois faible par rapport à l'atténuation du rayonnement dans le cristal, l'expression (8) doit être modifiée pour devenir :

$$\boxed{R_H^{\theta} = Q \frac{T_0}{\delta_0} e^{-(\mu_0 + gQ) \frac{T_0}{\delta_0}}} \quad (9)$$

Le terme correctif  $gQ$  coefficient moyen d'extinction secondaire étant lié à  $g$ , largeur de la distribution mosaïque "locale" supposée gaussienne par :

\* extinction secondaire : atténuation du faisceau incident par diffraction dans les blocs monocristallins avant d'atteindre un bloc particulier.

$$g = \frac{1}{2\sqrt{\pi} \eta'} \quad (10)$$

Rappelons que, dans le cas du cristal mosaïque, la largeur de la courbe de diffraction s'identifie à celle de la distribution des cristallites au sein de l'échantillon.

### III - INFLUENCE DE DIFFERENTS PARAMETRES SUR LE POUVOIR REFLECTEUR -

L'ordre de grandeur de  $R_H^0$  est voisin de  $10^{-4}$  à  $10^{-5}$ , ce qui conduit à des valeurs faibles de l'intensité diffractée, toutefois suffisantes pour des expériences de spectrométrie fine. L'utilisation en dosimétrie des faisceaux monochromatiques produits par diffraction est subordonnée à la possibilité d'augmenter le pouvoir réflecteur des cristaux dans de larges proportions afin d'accroître l'intensité disponible. Examinons les différents paramètres dont dépend  $R_H^0$ .

#### 1°/- Le facteur de structure $F_H$ -

De la même façon que le facteur atomique de diffusion, le facteur de structure est grand pour les cristaux des composés contenant des éléments de Z élevé. Cependant le terme d'atténuation  $e^{-\mu_0 \frac{T_0}{\rho c}}$  limite fortement l'accroissement supposé de  $R_H^0$ .

#### 2°/- La distance réticulaire $d_H$ -

Le domaine énergétique étudié (30 à 250 keV) correspond à des angles de Bragg compris entre  $6^\circ$  et  $1^\circ$  pour une valeur de  $d_H$  voisine de  $1,2 \text{ \AA}$ . Les difficultés expérimentales résultant de la proximité des faisceaux diffracté et directement transmis limite le choix des cristaux intéressants. En effet, deux impératifs antagonistes doivent être respectés :

a) une distance réticulaire maximum voisine de  $2 \text{ \AA}$  pour des raisons de dispersion.

b) l'utilisation de plans réticulaires à faibles indices de Miller pour profiter d'un facteur de structure  $F_H$  acceptable. Or ces plans faiblement indicés sont généralement les plus espacés.

#### 3°/- L'épaisseur du cristal $T_0$ -

Le graphe de la fonction  $R_H^0 = f(T_0)$  c'est-à-dire la variation du pouvoir réflecteur intégré en fonction de l'épaisseur du cristal, est représenté figure 2.

Cette courbe passe par un maximum de  $R_H^0$  pour :

$$T_{OH} = \sigma / \mu_0$$

Donc théoriquement, l'augmentation de l'épaisseur de la lame cristalline jusqu'à la valeur  $T_{OH}$  doit permettre d'accroître le pouvoir réflecteur du montage au détriment d'autres caractéristiques du faisceau diffracté que nous jugeons secondaires vis-à-vis du but recherché.

#### IV - DESCRIPTION DU MONTAGE EXPERIMENTAL -

Nous utilisons un spectromètre à cristal courbé dans la géométrie dite de "DIAMOND" dont le schéma de principe est représenté figure 5.

Décrivons le brièvement :

Une source de rayonnement (S) constituée de 2 tubes radiogènes interchangeables\* est placée derrière une fente réglable (F). L'axe de symétrie de (F) coïncide avec un point du cercle de focalisation d'un cristal (C) courbé suivant un cylindre de rayon  $R = \beta C$ . Le faisceau de rayonnement traversant ce diaphragme frappe tout point du cristal (C) suivant un même angle  $\theta_p$  par rapport aux plans normaux aux faces de la lame. Les composantes du spectre continu incident, de longueurs d'onde  $n\lambda_p$  ( $n = 1, 2, \dots$ ) sont réfléchies si  $n\lambda_p = 2 d_H \sin \theta_p$ . Dans nos conditions de travail la diffraction des harmoniques d'ordre supérieur à 1 est négligeable. Un détecteur (D) tel que  $DH = HC$  enregistre l'intensité du faisceau diffracté.

Le cristal est solidaire d'un chariot (Ch) mobile par translation dans la direction Y'Y sur un socle en granit (So). La valeur de  $\theta_p$  donc de l'énergie diffractée est obtenue à partir de la mesure de l'abscisse du chariot le long de son guide et de la distance FH.

---

\* 1 tube radiogène 150 kV 20 mA (fenêtre beryllium)

\* 1 tube radiogène 300 kV 15 mA (filtration inhérente 1mmAl)

Des cristaux de différents rayons de courbure peuvent être étudiés. Il suffit pour cela d'adapter la distance FH  $\neq$  R à la valeur désirée en déplaçant l'ensemble (S,F) dans la direction X'X.

De nombreux spectromètres dispersifs ont déjà été construits. Nous avons choisi cette réalisation pour les raisons suivantes :

- 1°/- Pour obtenir des faisceaux monochromatiques de dimensions raisonnables (20 à 25 cm<sup>2</sup> de section minimum) nous avons opté pour un faisceau divergent. Dans notre montage, la section du faisceau diffracté est double de celle du cristal employé et si le détecteur n'est pas directif, sa position reste la même quel que soit  $\theta_c$  pour un cristal donné.
- 2°/- Les tubes à rayons X sont des sources de rayonnement intenses mais relativement ponctuelles (foyers optiques de quelques mm<sup>2</sup>) cette particularité s'accorde bien de la géométrie requise pour la source émissive d'un montage DUMOND.
- 3°/- La suppression d'un collimateur de Soller à fentes convergentes, généralement placé entre le cristal et le détecteur permet d'espérer une meilleure homogénéité du faisceau diffracté, une luminosité 2 fois supérieure à celle des montages classiques et rend plus facile l'utilisation de cristaux de courbures différentes.

#### V - CARACTERISTIQUES DES CRISTAUX -

Les performances d'un spectromètre sont fonction de la qualité du système dispersif donc dans notre cas du cristal. Pour que celui-ci soit actif sur toute sa surface, il faut assurer une très bonne convergence au point  $\beta$  (voir figure 3) des traces d'une famille de plans cristallins. Ceci conditionne le pouvoir de résolution du montage puisque la dispersion s'écrit :

$$D_{eV/mm} = \frac{E}{R \tan \theta_c} \quad (11)$$

Dans cette relation, on note :

E = énergie du rayonnement (en eV)

R = rayon de courbure du cristal (en mm)

$\theta_c$  = angle de Bragg correspondant à E

D s'exprime en eV par mm compté le long du cercle de focalisation.

On distingue 2 types de cristaux :

- a) les cristaux élastiques
- b) les cristaux plastiques

## 1°/- les cristaux élastiques -

La méthode de courbure habituellement utilisée peut être résumée ainsi : deux blocs métalliques, l'un convexe, l'autre concave emprisonnant une lame cristalline, lui imposent, par serrage, une forme cylindrique. Une ouverture, ménagée dans la partie centrale des blocs, permet au rayonnement d'atteindre le cristal.

Fréquemment employés en spectrométrie X ou  $\gamma$ , le quartz et plus tard le germanium donnent dans cette application d'excellents résultats. Après courbure, la résolution reste bonne (10 à 15" d'angle) et tous les autres cristaux se sont jusqu'à présent avérés inférieurs. Ces matériaux sont légèrement élastiques à température ordinaire, mais leurs caractéristiques mécaniques limitent l'épaisseur d'une lame qu'on envisage de courber avec succès à une valeur voisine de  $1/1000$  du rayon de courbure. Ceci se vérifie pour le quartz, par contre des essais avec le germanium nous ont montré que cette valeur pouvait être rarement atteinte.

Les possibilités trop limitées d'augmenter les épaisseurs de ces cristaux ont orienté temporairement nos travaux vers l'utilisation de cristaux plastiques.

## 2°/- les cristaux plastiques -

Alors que les cristaux élastiques ont un comportement relativement simple et expliqué théoriquement lorsqu'ils sont déformés par courbure (6) l'étude des cristaux plastiques montre une plus grande complexité dans différents domaines : structure interne perturbée, réactions imprévisibles à la déformation, modifications internes lors d'un traitement thermique sans contraintes etc...

Les échantillons monocristallins disponibles présentent une largeur mosaïque relativement importante (entre 1' et 10' d'angle, à l'état plan). Précisons toutefois que ces valeurs sont compatibles avec les impératifs d'expériences désimétriques. Compte tenu des rayons de courbure choisis, (entre 1 et 2 mètres), les risques de fracture sont nuls quelle que soit l'épaisseur. Les difficultés de réalisation de surfaces cylindriques découlent du processus même de la déformation plastique. On sait que la plasticité d'un solide est liée à la propriété de "glissement" de certaines familles de plans cristallins. Ainsi le CdF "glisse" préférentiellement suivant les plans (110). Toute inhomogénéité de structure ou contrainte interne rémanente peut perturber ce mouvement relatif de différentes parties du cristal. Ceci impose de procéder à tempé-

rature élevée (500°C pour LiF) pour augmenter la mobilité des dislocations et diminuer le rapport contrainte/déformation. Il est indispensable que les dislocations produites lorsqu'un effort est appliqué puissent se déplacer et se répartir de façon homogène à l'intérieur du matériau en évitant de créer des zones de contraintes localisées bloquant ou perturbant ce mouvement. Après refroidissement à température ordinaire, les échantillons déformés conservent la forme qui leur a été imposée. Nous avons prévu d'étudier l'aluminium et le fluorure de lithium. Les monocristaux d'aluminium que nous avons reçus se sont révélés inutilisables. Nos mesures ne portent donc actuellement que sur le LiF, celles sur l'Al seront reprises ultérieurement.

## VI - MESURE DES LARGEURS MOSAIQUES DES CRISTAUX -

Nous avons remarqué que les caractéristiques des différents échantillons de LiF pouvaient être très inégales. Nous les avons testés avant courbure par la méthode de GUINIER-TENNEVIN (12) que nous décrivons ci-après :

- une source linéaire (S), figure 4 (faite dans le plan de symétrie horizontale) irradie le cristal étudié (C). Les angles d'incidence du faisceau X sur le cristal varient de  $\theta_m$  à  $\theta_M$ . Pour tout  $\theta_m < \theta_i < \theta_M$ , il existe une longueur d'onde  $\lambda_1$  diffractée ( $\lambda_1 = 2 d_H \sin \theta$ ). Il y a convergence en P du rayonnement diffracté qu'enregistre une série de films photographiques. Ceci permet de mesurer simultanément l'orientation des plans cristallins en différents points de la surface du cristal (C). Si leur parallélisme est bon, l'image (C') et la source (S) doivent avoir des dimensions comparables, compte tenu de l'effet d'élargissement dû à l'épaisseur de (C) soit  $\Delta l_0 = 2T_0 \sin \alpha$ .

Ce montage a une sensibilité maximum pour évaluer la désorientation des plans réticulaires autour d'un axe perpendiculaire au plan de la figure 4. Tous les cristaux ont été testés dans 2 directions orthogonales afin de choisir l'orientation de l'échantillon permettant d'espérer le meilleur résultat.

Après la courbure (décrite au paragraphe suivant), un test de GUINIER-TENNEVIN modifié permet d'évaluer la qualité et de définir la résolution du cristal. Le schéma de principe est représenté figure 5.

Le cristal courbé C est irradié par sa face convexe. La géométrie de la source émissive (S) reste la même que dans le cas précédent. La disposition des plans cristallins identifie le montage à celui d'un "miroir cylindrique convexe" qui donnerait une

"image réelle". On a la relation :

$$\frac{1}{L} = \frac{1}{L'} + \frac{2}{R}$$

Une mesure de la largeur de la tache de focalisation donne la valeur de la distribution angulaire de la famille des plans réticulaires étudiés.

L'élargissement dû à l'épaisseur s'exprime par la relation approchée :

$$\Delta l'_E = 2T_0 \alpha \left( 2 - \frac{L'}{R} \right)$$

## VII - METHODE DE COURBURE DES CRISTAUX -

De la bibliographie faite sur ce sujet, il apparaît que l'accord au sujet d'une méthode de courbure plastique efficace et sûre est loin d'être unanime (7, 8, 9, 10). La difficulté réside principalement dans l'obtention d'une courbure homogène sur toute la surface de la lame ( $40 \times 40 \text{ mm}^2$ ). Nous avons utilisé un procédé supprimant au maximum l'empirisme trop incertain de certaines expériences décrites ailleurs.

Nous avons réalisé une presse, constituée de 2 formes cylindriques en inox, l'une convexe et l'autre concave, s'emboîtant exactement. Celles-ci ont été usinées au rayon de courbure choisi (11) puis polies. La pièce concave est mobile le long de glissières à billes, la commande du mouvement s'effectuant par un système vis-écrou en bronze, associé à un demi parallélogramme qui assure la démultiplication nécessaire. A température élevée (de l'ordre de  $500^\circ\text{C}$ ) les mouvements de translation et de rotation des différents mécanismes restent très faciles.

Après avoir positionné la lame cristalline sur la partie convexe de la presse, l'ensemble est porté à une température voisine de  $500^\circ\text{C}$  pendant 15 à 18 heures. Par ce recuit, on élimine les tensions internes et superficielles encore présentes dans le bloc cristallin qui a subi différents traitements mécaniques : taille, polissage etc... Nous avons remarqué, cependant, qu'un tel recuit ne modifiait pas de façon notable la largeur mosaïque du cristal, alors que le processus de polygonisation aurait dû intervenir pour regrouper les dislocations en "murs", traversant tout le cristal. Nous pensons que ceci est dû à la perfection des échantillons choisis (quelques minutes d'angles de largeur mosaïque) dont les dislocations restent cantonnées aux régions superficielles, tandis qu'en profondeur, la structure du cristal est beaucoup plus parfaite. La croissance des murs de dislocation n'a donc pu se faire vers l'intérieur du cristal. Ces expériences de traitement thermique doivent être reprises avec des cristaux courbés. L'efficacité du procédé doit être alors meilleure car les contraintes dues à la courbure feront naître au sein du solide cristallin des dislocations favorables à une polygonisation ultérieure.



Ensuite, a lieu la phase de courbure proprement dite. Les 2 blocs métalliques de la presse compriment progressivement le cristal. Leur vitesse de progression doit rester très faible (voisine de 20  $\mu$ /minute) pour éviter une brisure dans la courbure sur la ligne centrale d'appui du cristal. Une descente très lente en température (inférieure à 1°/min.) termine l'expérience. Tout au long du cycle, la température est contrôlée et enregistrée par des thermocouples placés dans le proche voisinage du cristal.

VIII -- RESULTATS EXPERIMENTAUX --

1°/- Mesure des largeurs mosaïques des cristaux -

Plusieurs lames de LiF (surface 20 cm<sup>2</sup>) d'épaisseurs différentes, ont été courbées par cette méthode. Nous donnons les résultats dans le tableau ci-dessous :

Tableau 1

| Cristal plan |            |                |                  |                                | Cristal courbé |         |                  | $\sigma$          |     |
|--------------|------------|----------------|------------------|--------------------------------|----------------|---------|------------------|-------------------|-----|
| N° cliché    | n° cristal | épaisseur (mm) | $\eta_p$ (total) | $\eta_p'(10^{-3} \text{ cal})$ | R(cm)          | cliché  | $\eta_c$ (total) | $\eta_c'$ (local) |     |
| 1140-6       | A          | 1              | 3,2'             | 3,1'                           | 74             | 1144-2  | 14'              | 13,8'             | 4,4 |
| 1128         | 1-21       | 1              | 3,1              | 3,0                            | 86             | 1137-5  | 8,2'             | 8'                | 2,7 |
| 1135-6       | 2-3        | 3              | 6,2'             | 5,9'                           | 94             | 1142-7  | 13,8'            | 12,6'             | 2,1 |
| 1145-6       | n° 8       | 3              | 2,6'             | 1,5'                           | 112            | 1151-11 | 7,2'             | 5,4'              | 3,6 |
| 1148-7       | n° 5       | 4              | 6,1'             | 5,4'                           | 100            | 1156-3  | 14'              | 12'               | 2,2 |
| 1150-6       | n° 2       | 5              | 4,5'             | 2,7'                           | 86             | 1155-5  | 14'              | 10,3'             | 3,8 |

Notation du tableau 1 -

$\left\{ \begin{array}{l} \eta_p \text{ (total)} = \text{largeur mosaïque vraie} + \text{élargissement dû à l'effet d'épaisseur du cristal plan} \\ \eta_c \text{ (total)} = \text{largeur mosaïque vraie} + \text{élargissement dû à l'effet d'épaisseur du cristal courbé.} \end{array} \right.$

Ces 2 valeurs définissent la résolution angulaire d'un spectromètre utilisant le cristal considéré.

$\left\{ \begin{array}{l} \eta_p' \text{ (local)} = \text{largeur mosaïque vraie du cristal plan} \\ \eta_c' \text{ (local)} = \text{ " " " " courbé} \end{array} \right. \left\{ \begin{array}{l} \text{en supposant une sommation} \\ \text{quadratique des largeurs} \end{array} \right.$

Mais supposons négligeable l'élargissement dû aux dimensions propres de la source de rayonnement (0,1 mm).

La lecture des valeurs du tableau 1 conduit les commentaires suivants :

- 1°/- La répartition des largeurs mosaïques des différents cristaux, à l'état plan, est aléatoire et l'influence de l'épaisseur n'apparaît pas de façon évidente. Chaque cristal subit, lors de son élaboration, différents traitements mécaniques et manipulations, sources de déformations et contraintes constituant une "histoire" du matériau impossible à connaître.  $\eta'_p$  représente une origine relative de chaque échantillon.
- 2°/- La dispersion assez grande des rayons de courbure obtenus provient d'un maintien insuffisant du cristal entre les blocs de la presse lors du refroidissement. Ce défaut est secondaire si la source de rayonnement peut être positionnée sur le cercle de focalisation du cristal de façon continue.
- 3°/- Le facteur  $v = \eta'_c / \eta'_p$  coefficient d'élargissement par courbure varie entre 2,1 et 4,4 conduisant à une valeur de saturation de  $\eta_c$  (total) voisine de 14'. Pour un cristal courbé selon  $R = 1$  m, cela correspond à une résolution de 3,2 keV à 50 keV et 12,8 keV à 100 keV.
- 4°/- L'étude des taches de focalisation obtenues dans nos différents cas d'expériences, montre que par notre méthode de courbure, des défauts localisés (torsions, pliures) ne sont pas introduits et que la structure cristalline reste la même sur toute la surface de la forme cylindrique obtenue.
- 5°/- Compte tenu de l'homogénéité de structure des échantillons courbés on peut déduire également des tests de GUINIER-TEBDEVIN une valeur de la largeur mosaïque locale. Si nous évaluons l'effet d'élargissement dû à l'épaisseur de la lame cristalline (qui se produirait même si le cristal était parfait), on obtient les valeurs  $\eta'_p$  (à l'état plan) et  $\eta'_c$  (après courbure) à partir de  $\eta_p$  et  $\eta_c$  mesurées au micro densitomètre. Il est d'usage d'admettre une addition quadratique des effets d'élargissements.

## 2°/- Etude du faisceau diffracté -

Nous avons utilisé un détecteur de rayonnement à semi-conducteur Ge(Li) refroidi, associé à un analyseur 4000 canaux INTELTECHNIQUE. La résolution de l'ensemble est voisine de 0,7 keV à 100 keV. L'interaction du rayonnement avec la diode détectrice lui fait délivrer des impulsions électriques dont la distribution est caractéristique du spectre énergétique de ce rayonnement. Cependant une spectrométrie faite avec un tel détecteur n'a de réelle valeur que si le faisceau est finement collimaté ( $\phi \approx 1$  mm) avant d'atteindre le détecteur.

Toutefois de telles précautions expérimentales sont inutiles si les mesures découlent de l'intégration de pics.

Nos résultats expérimentaux sont déduits de mesures faites sur des cristaux de LiF courbés suivant des rayons voisins de 1 mètre. Compte tenu des dimensions des cristaux ( $25 \times 25 \text{ mm}^2$ ) et de la section du faisceau diffracté ( $50 \times 50 \text{ mm}^2$ ) au point de mesure, l'énergie maximum du rayonnement atteint 100 keV. Pour des valeurs supérieures de l'énergie, les rayons de courbure devront être augmentés.

### 3°/- Influence de l'épaisseur du cristal sur différents paramètres -

Pour les valeurs suivantes de l'énergie : 45 keV, 70 keV et 95 keV, nous avons étudié l'influence de l'épaisseur du cristal traversé sur l'intensité du rayonnement diffracté et comparé nos résultats avec la loi de variation  $R_{\text{H}}^{\theta} = f(T_0)$  prévue par la théorie. Le tableau 2 et la figure 7 reproduisent quelques uns de nos résultats expérimentaux. Les épaisseurs supérieures à 5 mm ont été obtenues en accolant différents cristaux plus minces, ce qui explique une précision moyenne suivant le choix des éléments de l'assemblage réalisé.

TABLEAU 2

| E (keV)       | 45  | 70  | 95  |
|---------------|---|---|---|
| $\sigma$ (mm) |   |   |   |
| 1             | $\left\{ \begin{array}{l} 6,5 \cdot 10^3 \\ 7,4 \cdot 10^3 \end{array} \right.$ | $3,3 \cdot 10^4$  | $\left\{ \begin{array}{l} 1 \cdot 10^4 \\ 1,3 \cdot 10^4 \end{array} \right.$                               |
| 2             | $1,5 \cdot 10^4$  | $7,5 \cdot 10^4$  | $2,5 \cdot 10^4$  |
| 4             | $\left\{ \begin{array}{l} 4 \cdot 10^4 \\ 4,9 \cdot 10^4 \end{array} \right.$   | $1,4 \cdot 10^5$  | $7,8 \cdot 10^4$  |
| 5             | $3,55 \cdot 10^4$   | $1,5 \cdot 10^5$  | $6,5 \cdot 10^4$  |
| 6             |   |   | $\left\{ \begin{array}{l} 7 \cdot 10^4 \\ 6,5 \cdot 10^4 \end{array} \right.$                               |
| 9             | $2,6 \cdot 10^4$  | $\left\{ \begin{array}{l} 1,35 \cdot 10^5 \\ 1,38 \cdot 10^5 \end{array} \right.$ | $\left\{ \begin{array}{l} 6,5 \cdot 10^4 * \\ 8,11 \cdot 10^4 ** \\ 9,6 \cdot 10^4 *** \end{array} \right.$ |

Nous ne saurions trop insister sur le caractère provisoire et partiel de ces résultats. Ils sont cependant suffisamment significatifs pour définir l'orientation future de nos expériences. De plus, les incertitudes sur ces mesures sont supérieures à celles que nous aurons par la suite, car la réalisation et la mise en place des différents montages, de même que l'approvisionnement de cristaux défectueux nous a retardés et obligés à simplifier certains réglages complémentaires.

Les valeurs du pouvoir réflecteur intégré  $\beta_H^0$  d'un cristal mosaïque idéal de LiF (200) sont données dans le tableau 3 et représentées figure 8.

TABLÉAU 3

| $E$ (keV) | 25                   | 45                   | 70                   | 95                   |
|-----------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 0         |                      |                      |                      |                      |
| 1         | $0,7 \cdot 10^{-3}$  | $0,24 \cdot 10^{-3}$ | $0,96 \cdot 10^{-4}$ | $0,54 \cdot 10^{-4}$ |
| 2         | $1,2 \cdot 10^{-3}$  | $0,45 \cdot 10^{-3}$ | $1,8 \cdot 10^{-4}$  | $1,06 \cdot 10^{-4}$ |
| 4         | $1,7 \cdot 10^{-3}$  | $0,8 \cdot 10^{-3}$  | $3,37 \cdot 10^{-4}$ | $1,94 \cdot 10^{-4}$ |
| 5         | $1,85 \cdot 10^{-3}$ | $0,95 \cdot 10^{-3}$ | $4,03 \cdot 10^{-4}$ | $2,54 \cdot 10^{-4}$ |
| 9         | $1,73 \cdot 10^{-3}$ | $1,36 \cdot 10^{-3}$ | $6,2 \cdot 10^{-4}$  | $3,64 \cdot 10^{-4}$ |

La comparaison des figures 7 et 8 appelle les commentaires suivants :

a) allure générale des courbes -

On note, dans la première partie des courbes (2, 3, 4) une bonne similitude entre les figures 7 et 8. Par contre, pour  $T_0 > 5$  mm, se produit une inversion des sens de variations. Ceci correspond au phénomène d'extinction secondaire, supposé négligeable dans l'hypothèse du cristal mosaïque idéal. Cet effet peut être évalué à partir de  $g$ , relié à  $\eta'_c$  par l'égalité (10)

$$g = \frac{1}{\pi \eta'_c \sqrt{2}}$$

Un terme correctif en  $e^{-gQ T_0}$  intervient alors dans le pouvoir réflecteur intégré  $\beta_H^0$ .

Nous avons mis en évidence l'extinction secondaire par l'expérience suivante. Deux lames cristallines courbées de 4 mm et 5 mm ont été accolées de 2 façons différentes :

- de manière que les énergies du rayonnement diffracté par chaque cristal soient identiques.
- de manière qu'une faible différence (de l'ordre de 1 keV) apparaisse entre les énergies diffractées.

Une différence d'intensité notable ( $\approx 35 \%$ ) est enregistrée par le détecteur (voir figure 7, courbes 4\* et 4\*\*\*. Dans le cas b) le rayonnement

diffraqué par le 2ème cristal ne subit pas d'atténuation par extinction lors de la traversée du 1er cristal. La courbe 4\*\* correspond à un cas intermédiaire.

Il faut également remarquer que l'ordre de grandeur mesuré dépasse largement celui prévu par la théorie soit 10 p.cent pour une énergie voisine de 95 koV. A 70 koV et 45 koV la théorie est mieux vérifiée. Une prochaine série d'expériences tentera de préciser ces différents points.

b) Influence sur le débit d'exposition de la largeur énergétique du faisceau diffracté -

A partir de la formule de la dispersion :

$$D_{\text{oV/mm}} = \frac{E(\text{oV})}{R \operatorname{tg} \theta}$$

Il est possible d'évaluer la bande passante énergétique théorique résultant de la largeur de la fente-source de rayonnement placée sur le cercle de focalisation du cristal courbé. Nous avons évalué le gain d'intensité diffractée compatible avec une valeur acceptable en dosimétrie de la largeur en énergie et les dimensions du foyer optique du tube radiogène utilisé.

TABLEAU 4

| E = 25 koV |           |
|------------|-----------|
| E(oV)      | Intensité |
| 20         | 9         |
| 100        | 40        |
| 200        | 74        |
| 400        | 170       |
| 800        | 260       |
| 1000       | 306       |

| E = 45 koV |                                | E = 70 koV |                                | E = 95 koV |                                |
|------------|--------------------------------|------------|--------------------------------|------------|--------------------------------|
| E (oV)     | Intensité (unités arbitraires) | E (oV)     | Intensité (unités arbitraires) | E (oV)     | Intensité (unités arbitraires) |
| 68         | 70                             | 160        | 45                             | 290        | 30                             |
| 340        | 280                            | 800        | 205                            | 1450       | 140                            |
| 680        | 545                            | 1600       | 480                            | 2900       | 310                            |
| 1560       | 907                            | 3200       | 900                            | 5800       | 580                            |
| 2720       | 2045                           | 4800       | 1500                           | 8700       | 920                            |
| 3400       | 2500                           |            |                                |            |                                |

c) Dosimétrie du faisceau diffracté -

Nous avons procédé à des mesures de débit d'exposition dans le faisceau diffracté par un monocristal de LiF pour les énergies moyennes suivantes : *d.f.*

45 keV, 70 keV et 95 keV

Le dosimètre de mesure est un appareil P.T.W. muni d'une chambre d'ionisation à cavité 100 mR. *d'ionisation*

TABEAU 5

| tension<br>kV | Débit<br>mA | Energie moyen-<br>ne (keV) | Bande énergo-<br>tique (keV) | Exposition mR/h | épaisseur cristal<br>(mm) |
|---------------|-------------|----------------------------|------------------------------|-----------------|---------------------------|
| 90            | 10          | 45                         | 2,7                          | 250             | 9                         |
| 90            | 10          | 45                         | 3,4                          | 315             | 9                         |
| 140           | 10          | 70                         | 4,8                          | 310             | 9                         |
| 190           | 10          | 95                         | 8,7                          | 300             | 9                         |
| 200           | 10          | 100                        | 9,5                          | 360             | 9                         |
| 200           | 10          | 100                        | 4,7                          | 200             | 9                         |

Les résultats que nous présentons dans le tableau 5 sont provisoires et incomplets pour différentes raisons :

- 1°/- Les débits d'exposition ont été mesurés pour des conditions de fonctionnement du tube radiogène voisine de la moitié de la puissance maximum.
- 2°/- La spectrométrie du faisceau diffracté n'a pu encore être faite de manière approfondie en raison de montages mécaniques complémentaires qui seront réalisés prochainement. On n'a donc pas encore mesuré la "pureté" du faisceau diffracté, soit la proportion de l'intensité diffractée par rapport à l'intensité totale. On sait que des rayonnements parasites proviennent principalement de diffusions Compton, donc incohérentes, dans le cristal se superposent au rayonnement monochromatique produit. Toutefois, on peut dès maintenant l'évaluer à 90 p.cout environ.
- 3°/- Le domaine d'énergie couvert (du dessous de 100 keV) doit être complété jusqu'à 250 keV.
- 4°/ Le tube radiogène utilisé pour les mesures préliminaires à 45 et 70 keV n'était pas le mieux adapté à ce domaine d'énergie (forte filtration inhérente). Des modifications seront apportées au tube radiogène lui-même (dimensions du foyer optique).

- 5°/- Les caractéristiques géométriques du système dispersif seront reconsidérées dans le but d'un gain supplémentaire en intensité.
- 6°/- Les spectres proposés dans les figures (11, 12, 13, 14, 15, 16), donnent une idée de la répartition énergétique du rayonnement diffracté. Toutefois, le détecteur n'étant pas collimaté, le profil correspondant aux basses énergies est entaché d'erreurs, car l'irradiation des zones périphériques de la jonction Ge(Li) entraîne la formation d'impulsions de basse énergie correspondant à des interactions non suivies d'absorption totale de l'énergie incidente, et à des déformations du signal produit en raison d'une mauvaise collection électronique au sein du milieu détecteur.

## IX - CONCLUSION -

A la lumière des expériences préliminaires décrites précédemment, nous pouvons dégager les points suivants :

- 1°/- Nous avons vérifié partiellement la théorie proposée pour le cristal mosaic et l'état actuel de nos travaux permet d'espérer une amélioration notable des résultats obtenus.
- 2°/- Des mesures complémentaires doivent être faites dans différents domaines :
- spectrométrie du faisceau diffracté
  - dosimétrie jusqu'à 250 keV
  - poursuite de l'étude de l'intensité diffractée en fonction de l'épaisseur du cristal et de l'énergie du rayonnement.
- 3°/- Des modifications apportées au montage actuel (protections, collimateurs) permettront d'améliorer les caractéristiques des faisceaux monochromatiques produits ("pursés", diffusions parasites provenant de la source radiogène).
- 4°/- Le système dispersif sera modifié en 2 points :
- a) géométrie de la disposition des échantillons monocristallins.
  - b) nature des cristaux.

Sur ce dernier point les résultats de nos calculs pour des cristaux de Cuivre (111) sont visualisés sur la figure 10. Pour mieux comparer, nous avons reporté sur ce schéma les graphes de la figure 8 relatifs au LiF (200).

Nous remarquons que grâce au facteur de diffusion atomique important du cuivre, un gain substantiel peut être obtenu pour les fortes énergies par rapport au LiF. Le facteur multiplicatif serait voisin de 2 pour 100 keV et de 7 pour 200 keV. Dans ce domaine d'énergie, le germanium est équivalent au cuivre mais son emploi est mieux adapté à la spectrométrie X fine, la qualité des cristaux disponibles actuellement permettant de profiter de largeurs mosaicques de quelques secondes.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 - J.L. CHARTIER - G. PORTAL - D. ROMAN - D. DUGUAY - Contrat EURATOM n° 055-70-1-PSTC  
Réf. CEA 12 251 - II/B6 PSTC
- 2 - J.L. CHARTIER - Thèse 3ème cycle - Rapport CEA-R-5555 (1968)
- 3 - W.H. ZACCHARIASEN\* - Theory of X ray. Diffraction in crystals (J.WILEY Inc) N.Y 1945
- 4 - B.W. RUTHERFORD - H. COLE - Rev. of Mod. Phys. 36, 3, 1964
- 5 - R.W. JAMES - The Optical Principles of the diffraction of X Rays (G.Bell and Sons, London 1950) Chap. II et VIII.
- 6 - SUTERBY J.J. - Sov Phys. J.E.T.P. 5, 6 (1957)  
" " " 5, 2 (170)
- 7 - J.S. REID - T. SMITH - J. of Sci. Instr. (J. of Phys. E) 1969 serie 2 - Vol. 2
- 8 - D.R. CHIPMAN - Rev. Sc. Instr. 27, 164
- 9 - F. HEN RIGGS - Rev. Sc. Instr. 33, 874 (1962)
- 10 - L.S. BIRKS, R.T. SEAL - J. Appl. Phys. 28, 541 (1957)
- 11 - J.W.M. DUMOND
- 12 - GUINIER-JANNEVIN - Acta Cryst. (1949) 2, 133



FIG 1

"Diffraction pattern" Cas de la transmission (LAÜE)

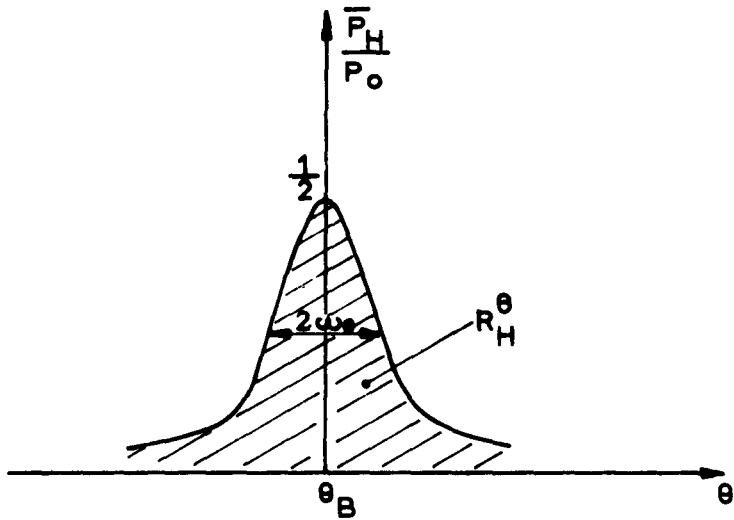
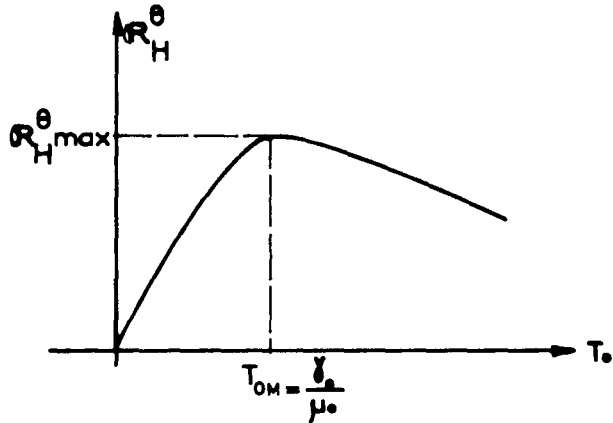
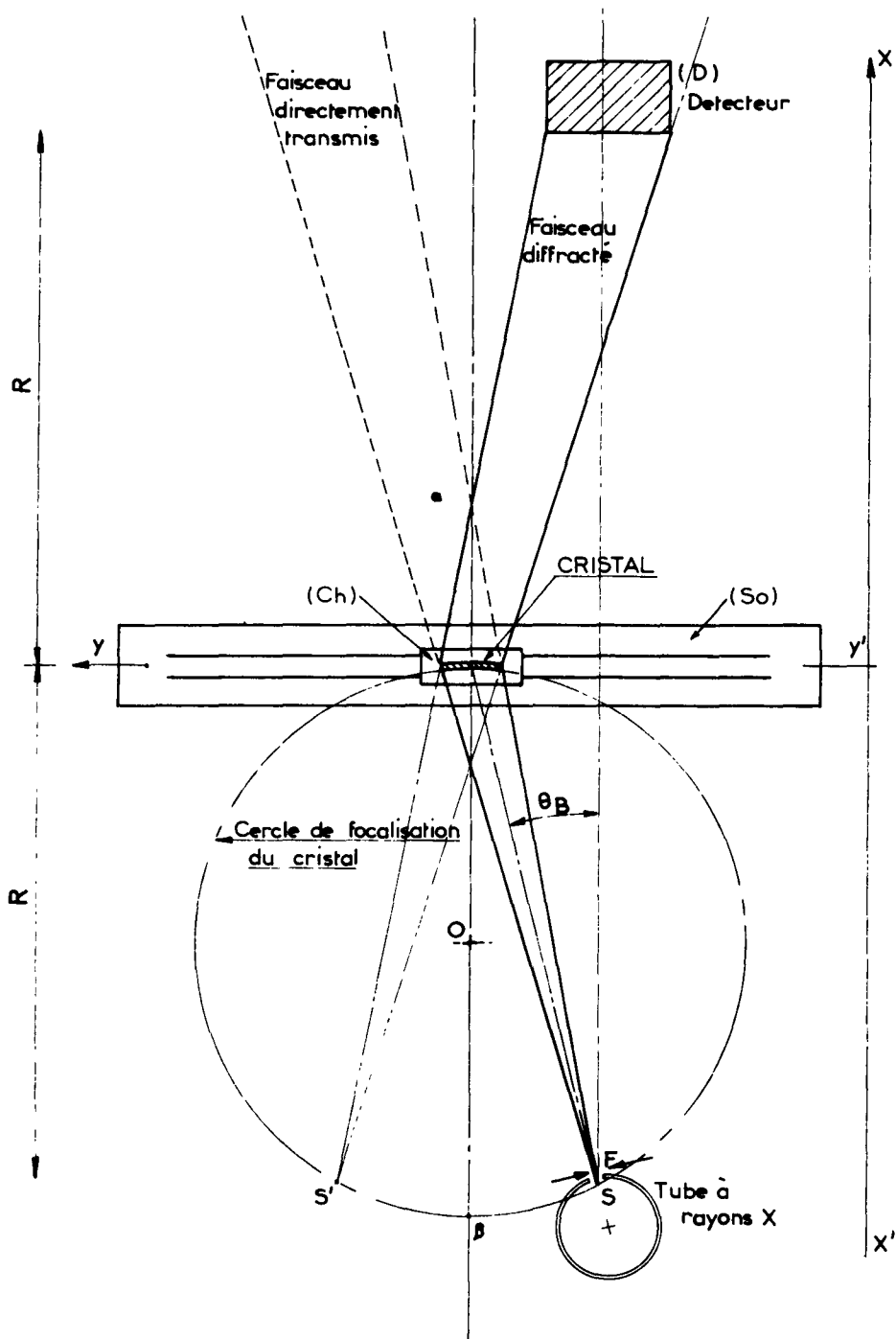


FIG 2

Pouvoir reflecteur intégré Cristal "mosaïque"

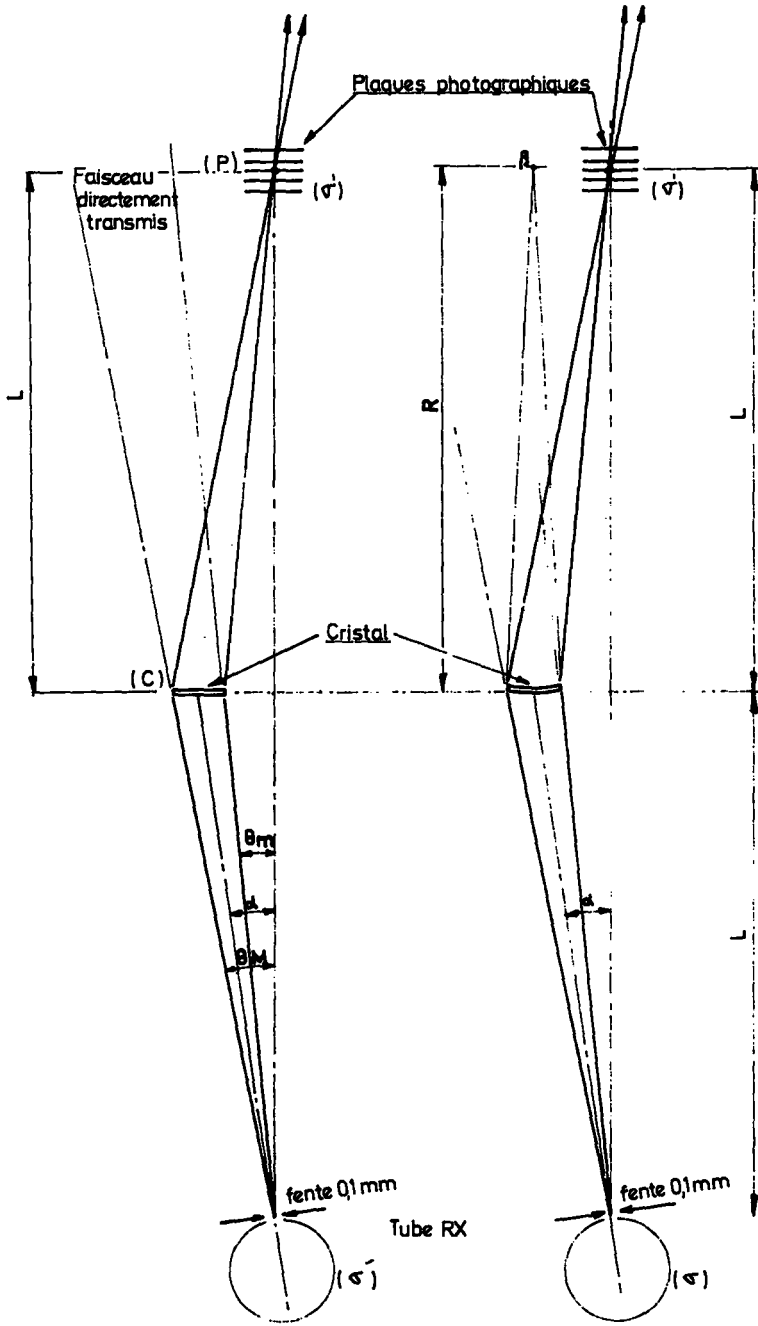




SHEMA DE PRINCIPE DU MONTAGE

FIG:3

# TEST DE GUINIER - TENNEVIN

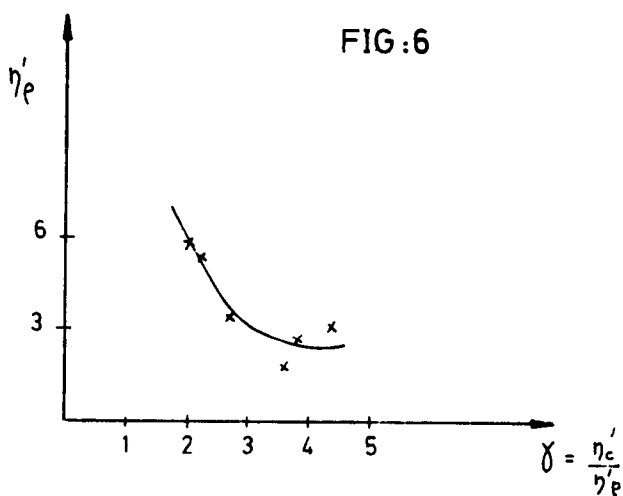


**CRISTAL PLAN**

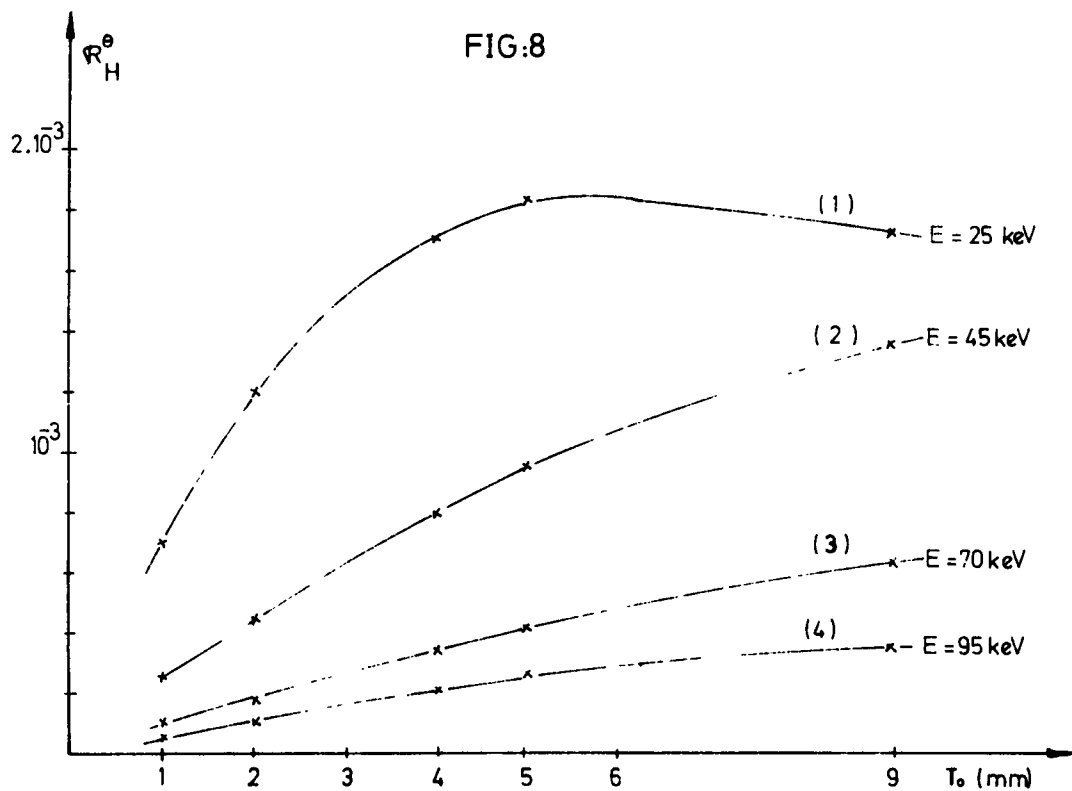
FIG. 4

**CRISTAL COURBE**

FIG. 5



ELARGISSEMENT MOSAÏQUE PAR COURBURE



POUVOIR REFLECTEUR INTEGRE THEORIQUE  
11F (200)

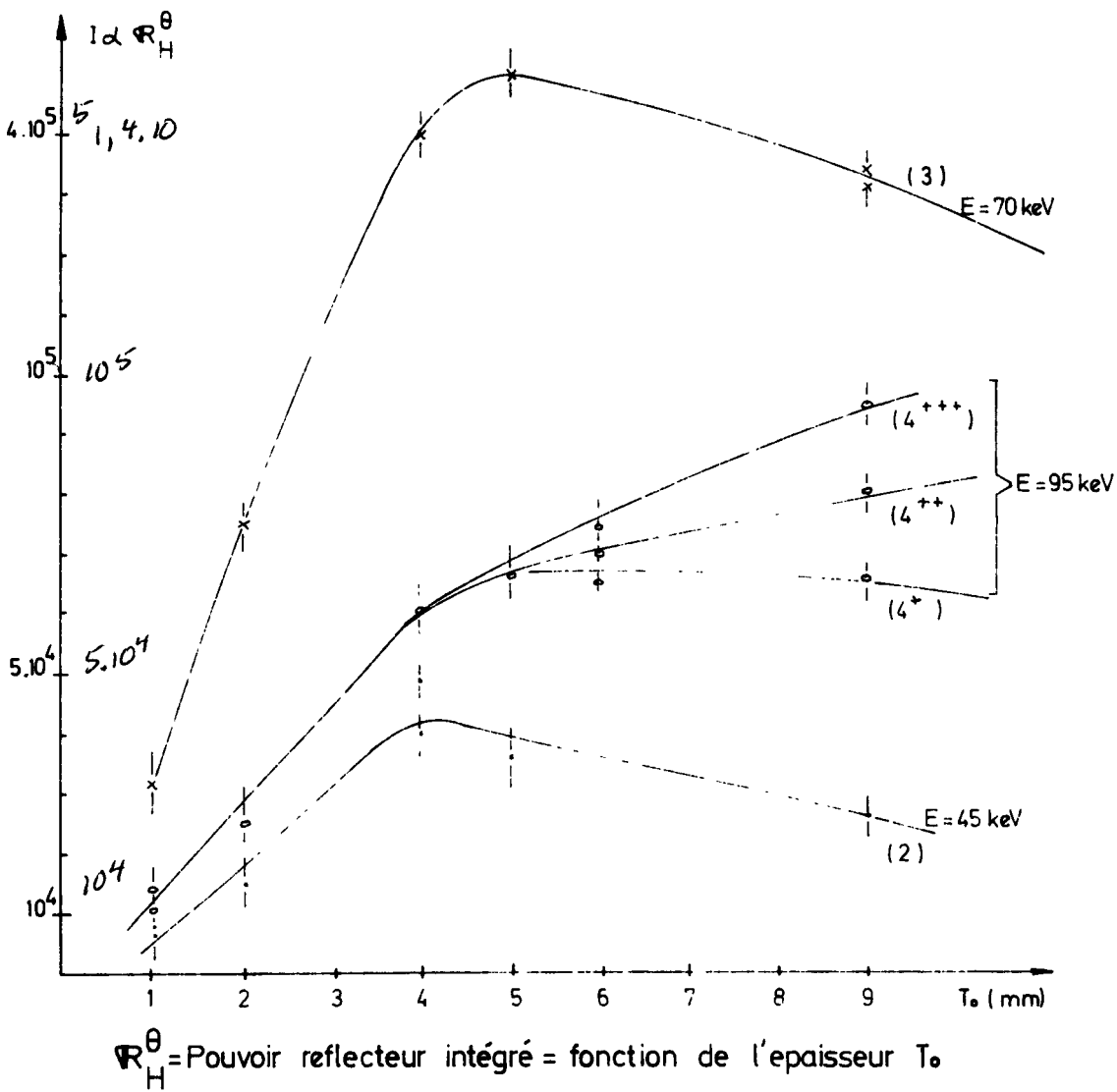


FIG:7

FIG:9

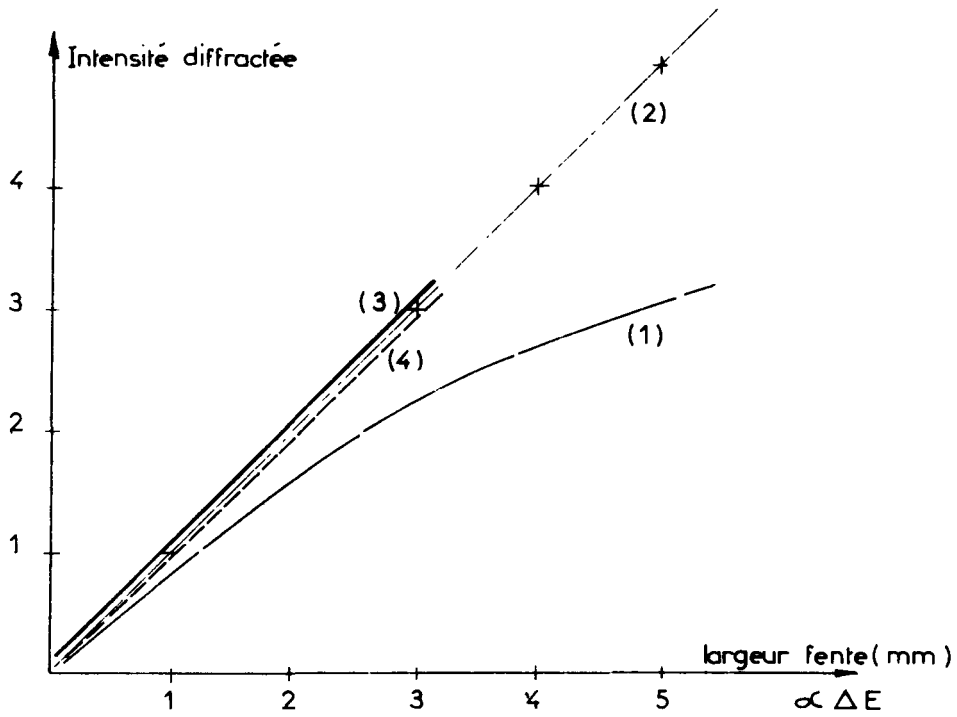
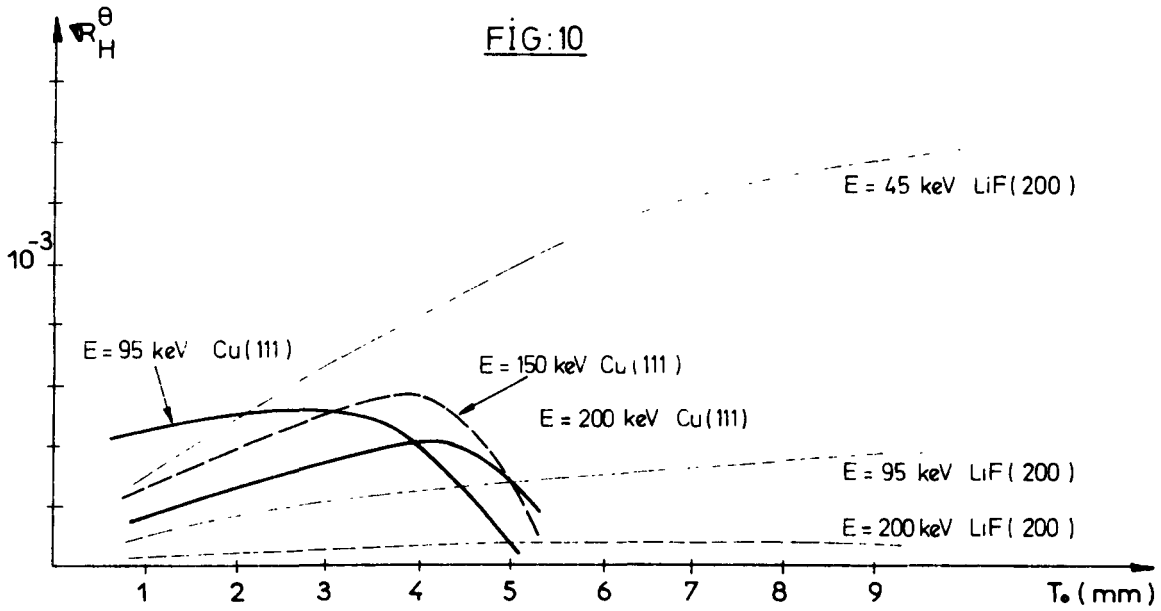


FIG:10



Pouvoirs reflecteurs comparés du LiF ( 200 ) et Cu ( 111 )

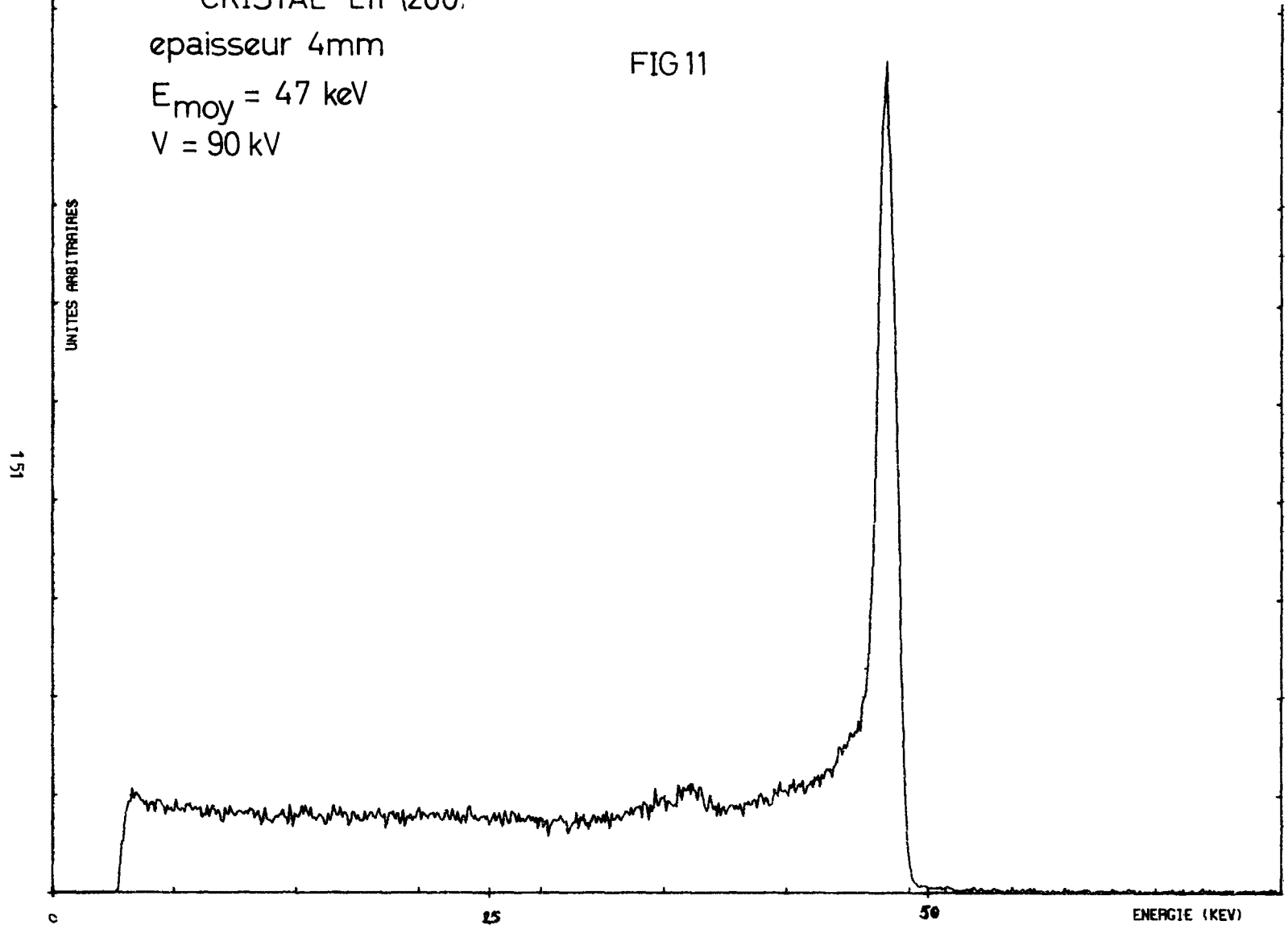
CRISTAL LIF (200)

epaisseur 4mm

$E_{moy} = 47 \text{ keV}$

$V = 90 \text{ kV}$

FIG 11



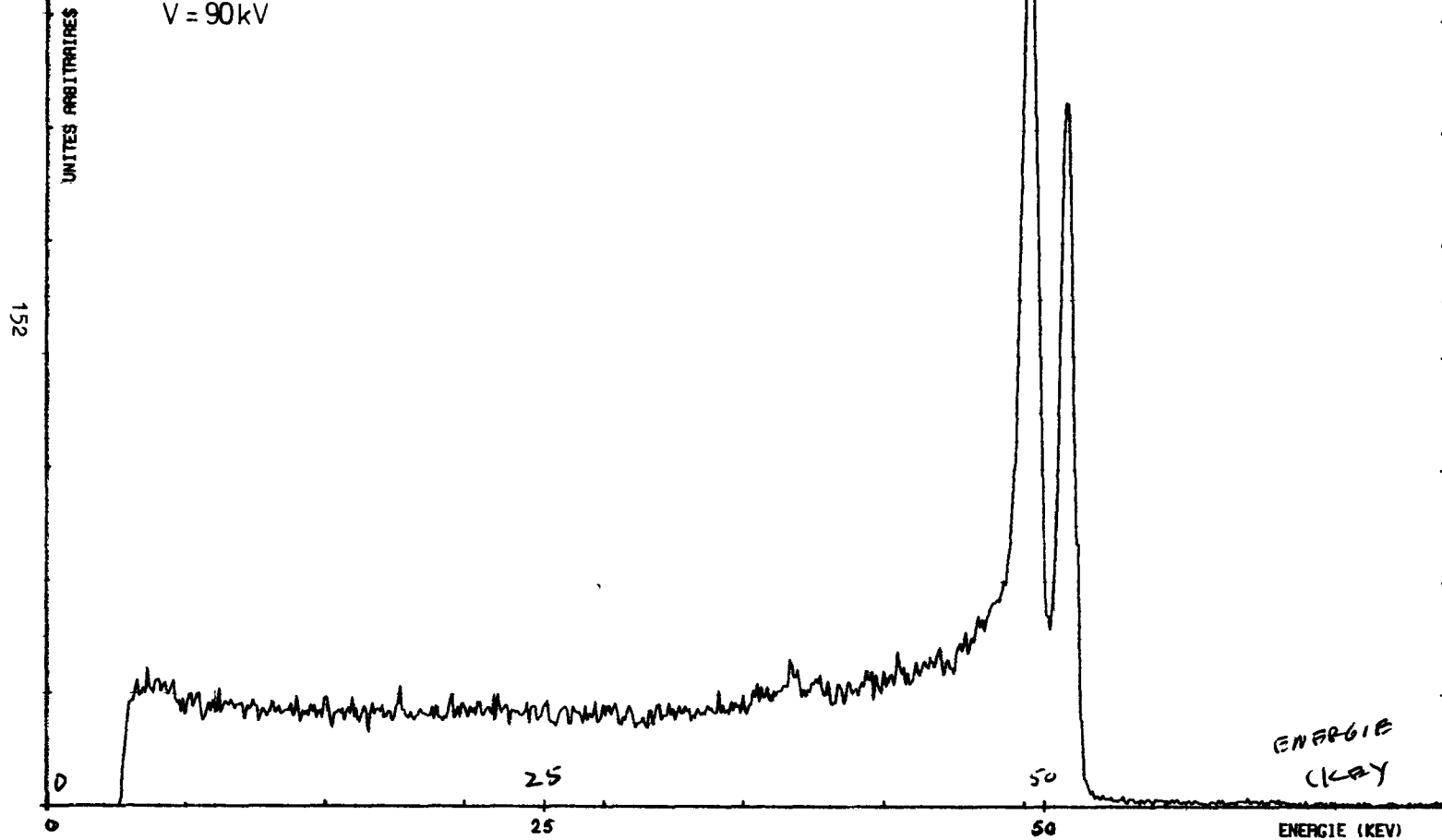
CRISTAL LiF(200)

FIG 12

épaisseur 4mm + 5mm accolées

E = 50 keV

V = 90 kV





CRISTAL LiF(200)

épaisseur 4 mm

$E_{\text{moy}} = 70 \text{ keV}$

$V = 140 \text{ kV}$

FIG 13

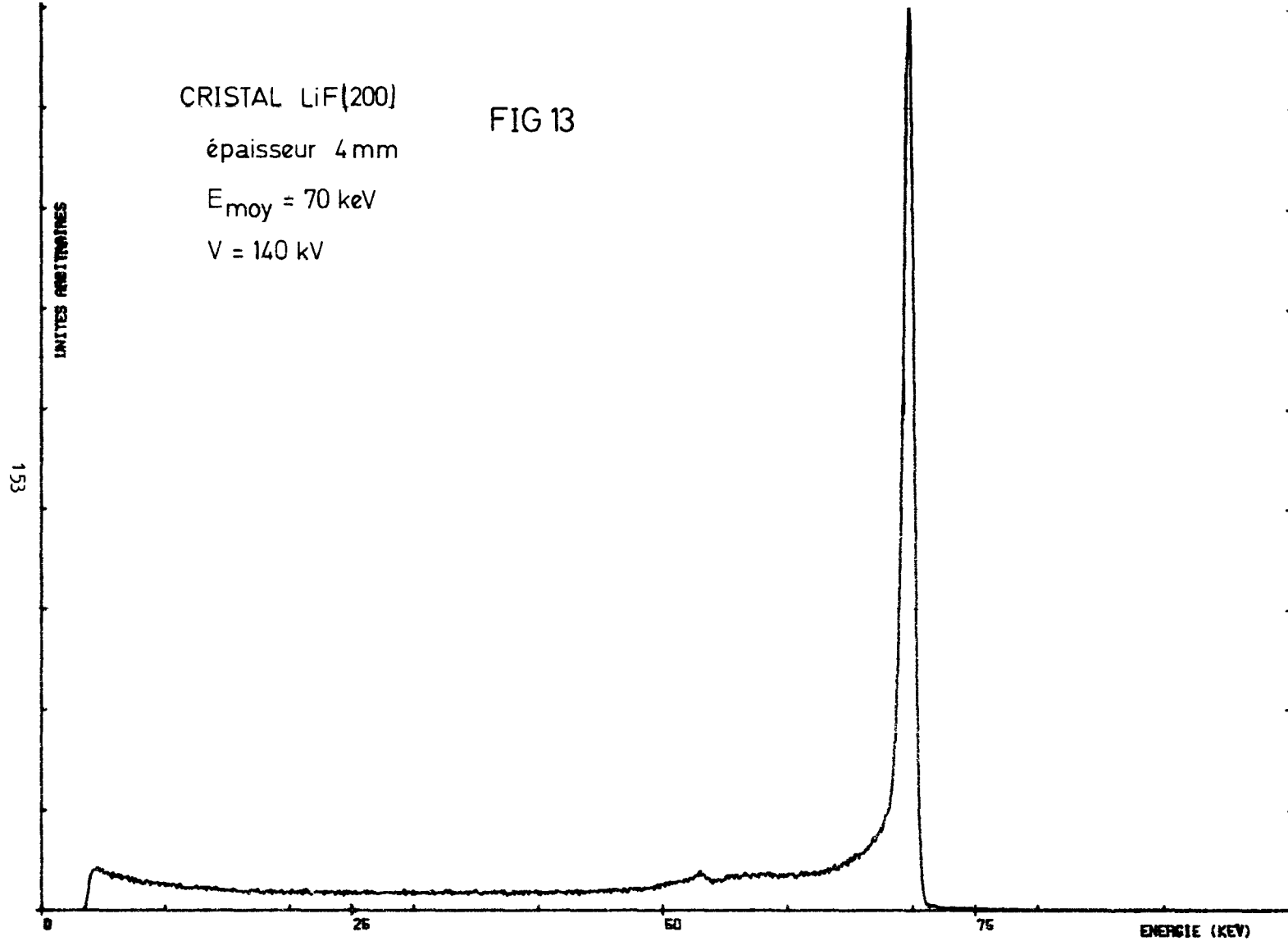


FIG 14

CRISTAL LiF (200)

épaisseurs 4 mm + 5 mm accolées

$E_{\text{moy}} = 72 \text{ keV}$

$V = 140 \text{ kV}$

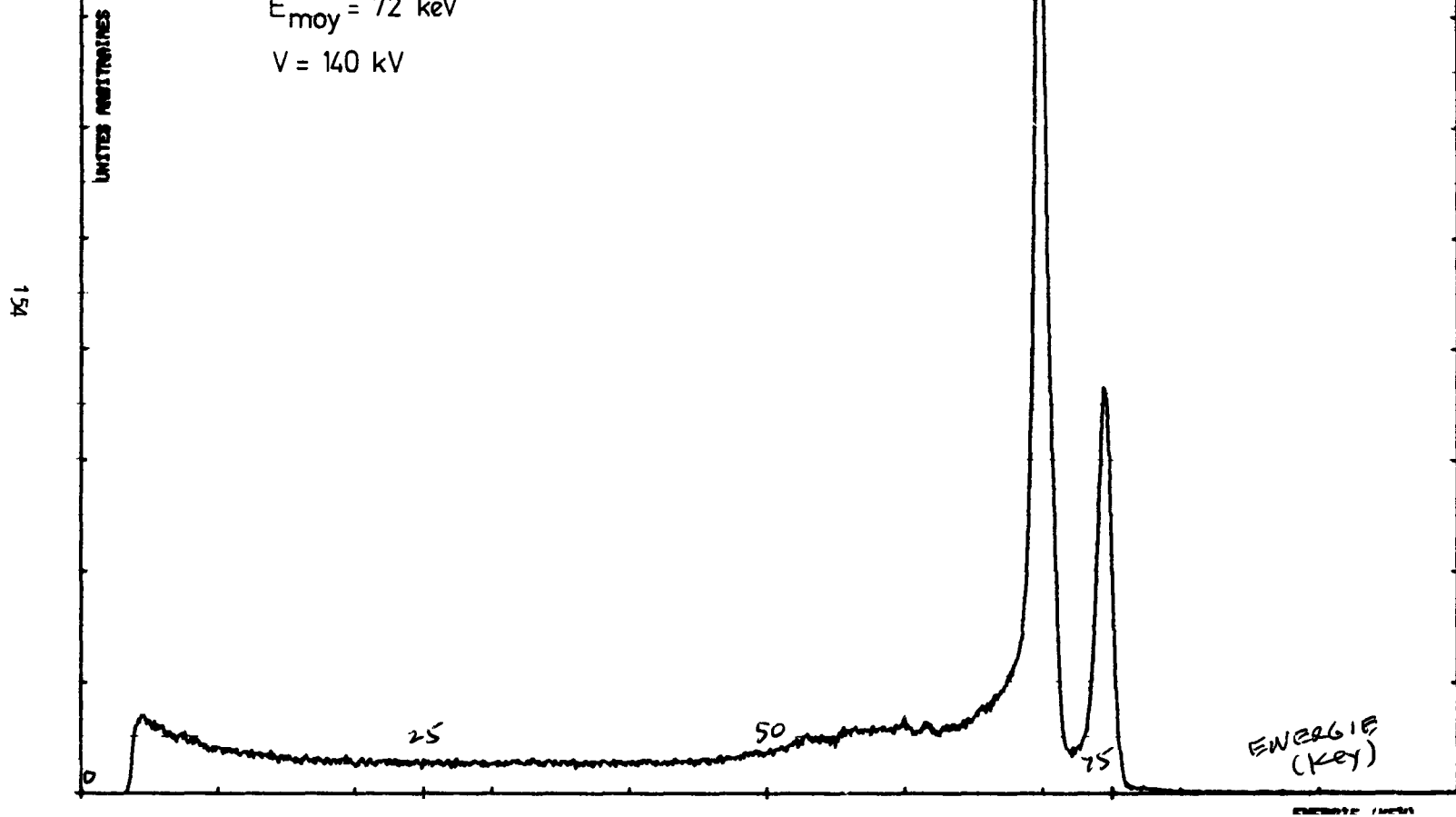


FIG 15

CRISTAL LiF(200)

épaisseur 4 mm

$E_{\text{moy}} = 95 \text{ keV}$

$V = 190 \text{ kV}$

UNITES ARBITRAIRES

155

0

25

50

75

100

ENERGIE (KEV)

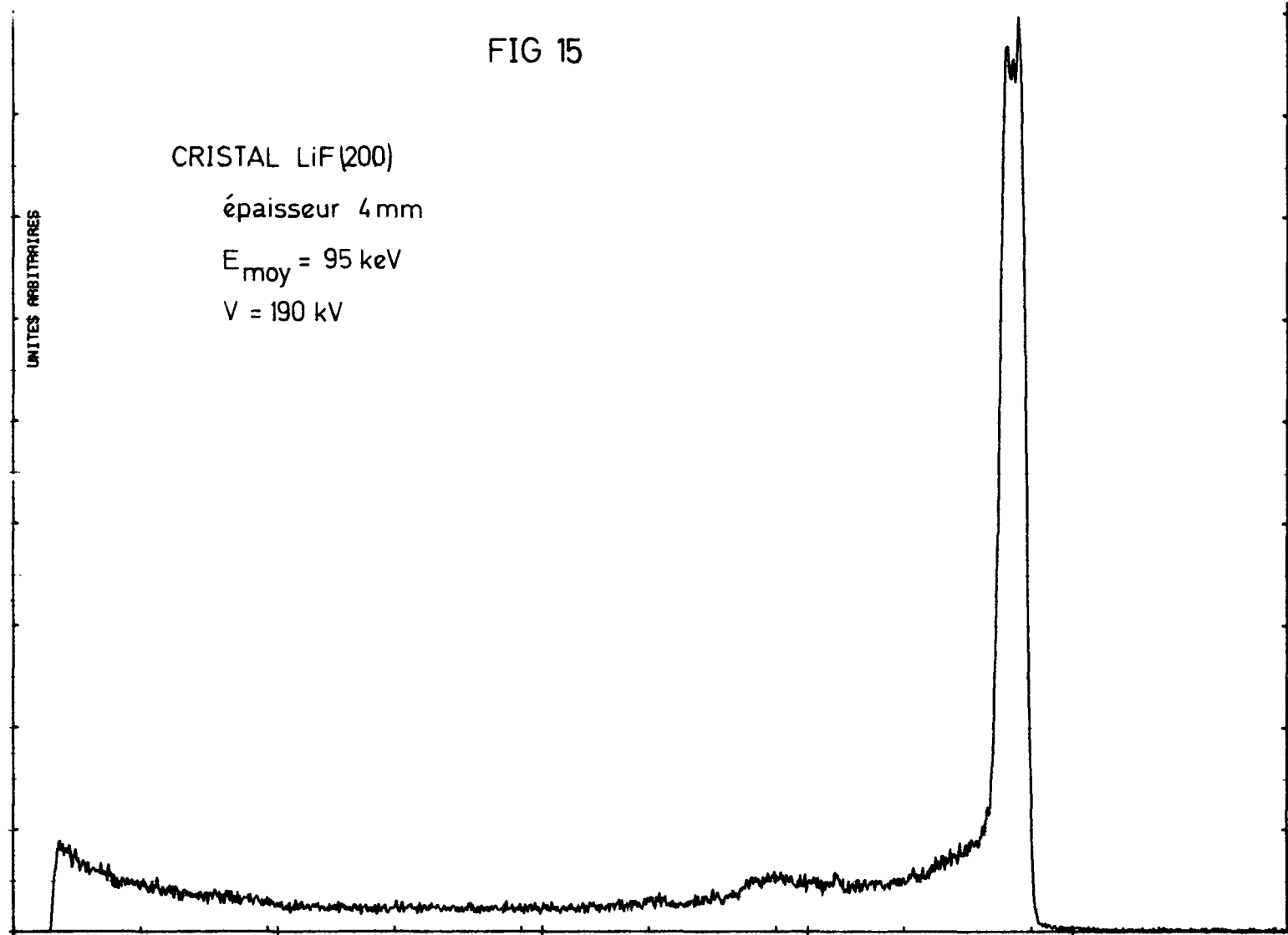


FIG 16

CRISTAL LiF(200)

épaisseurs 4mm + 5mm accolées

$E_{\text{moy}} = 95 \text{ keV}$

$V = 190 \text{ kV}$

UNITES ARBITRAIRES

156

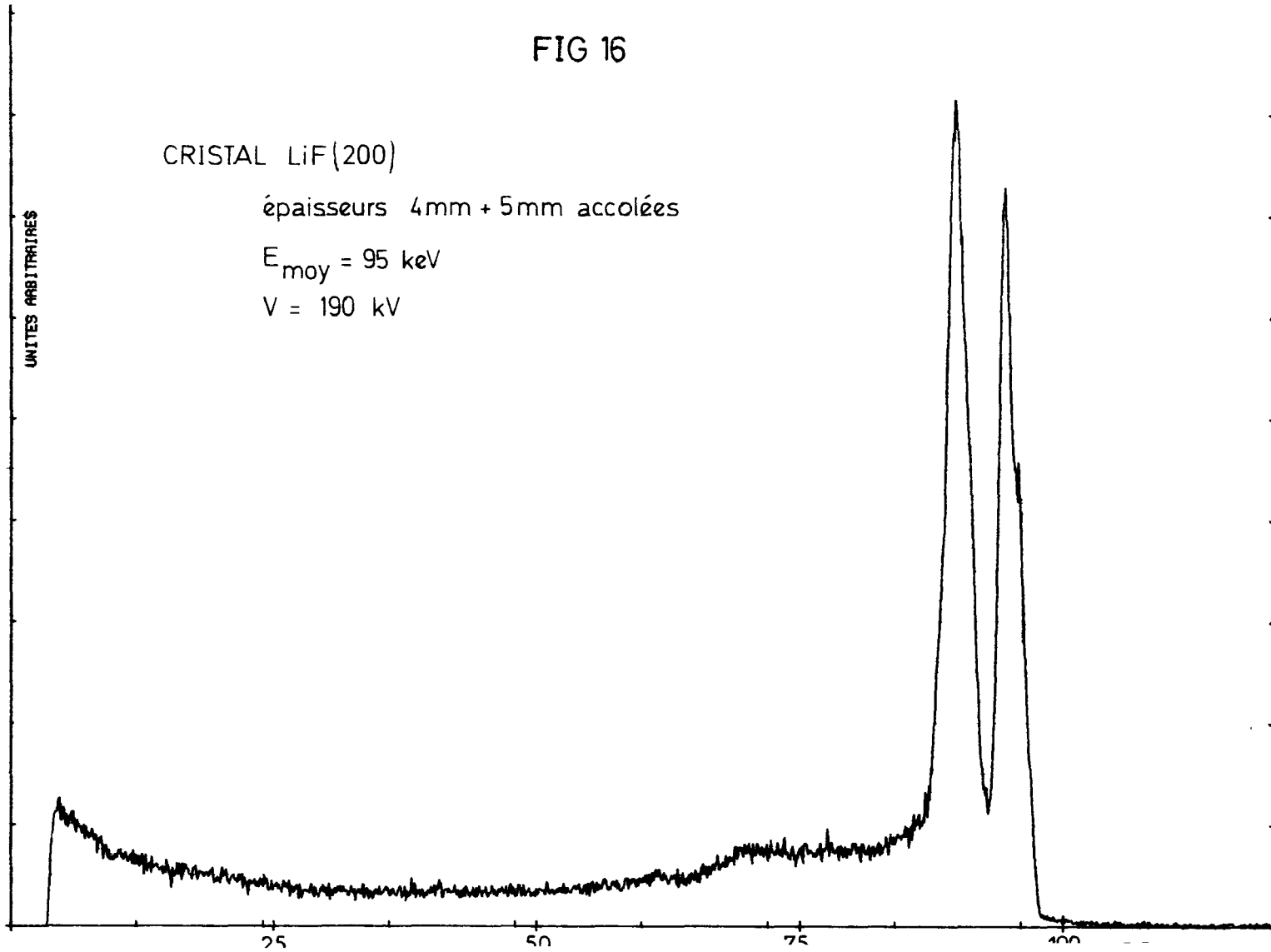
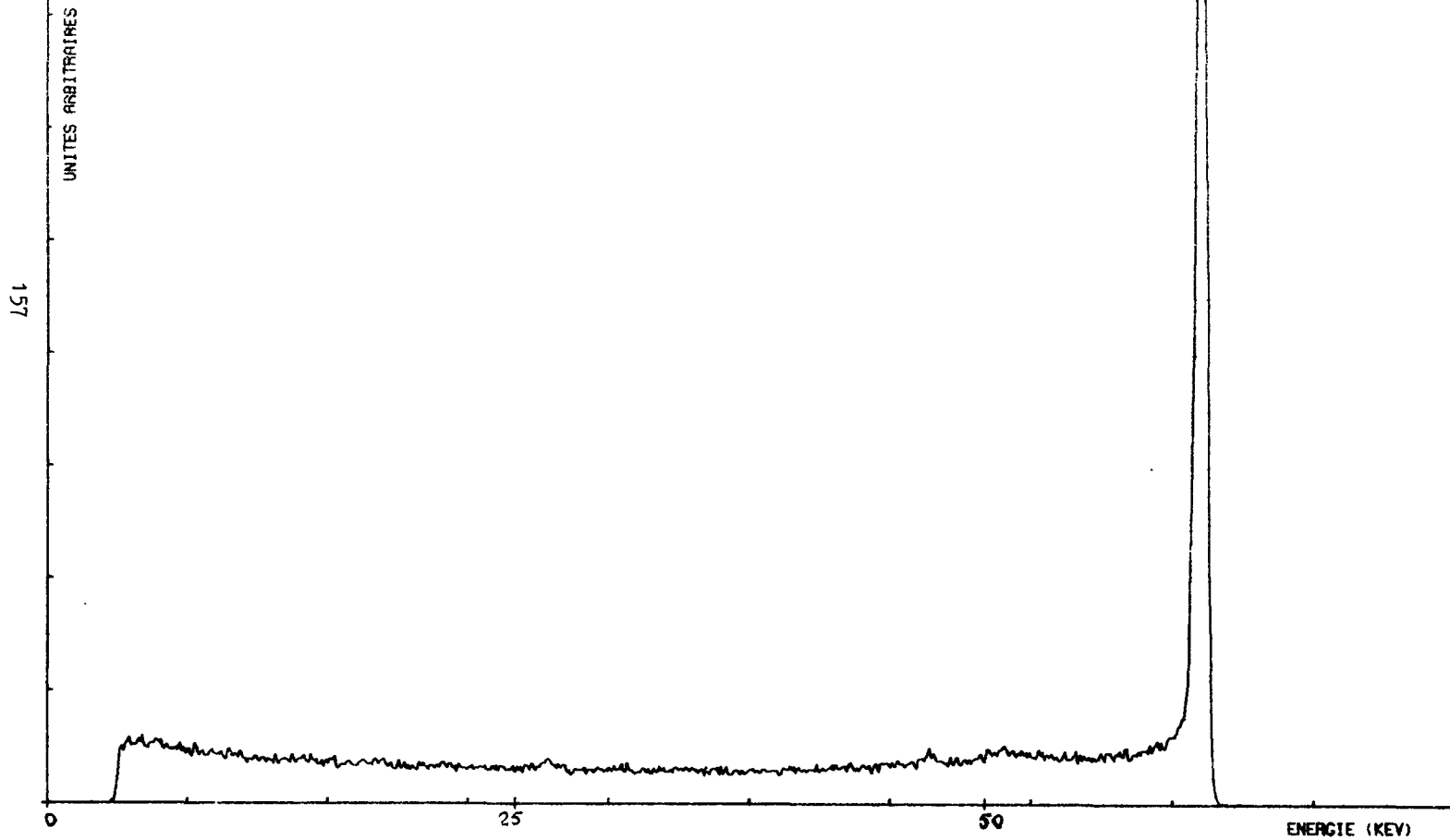


FIG 17

Rayonnement  $\gamma$  monochromatique de  $^{241}\text{Am}$  ( E = 59,5 keV )





## RELAZIONE DI ATTIVITA' 1971

Contratto n. 053-70-1 PSTC (Dosimetria Individuale)

COMITATO NAZIONALE PER L'ENERGIA NUCLEARE  
(ITALIA)

G. Busuoli<sup>(\*)</sup>, A. Cavallini<sup>(\*)</sup>, E. Rotondi<sup>(\*\*)</sup>

### STUDIO DELLA APPLICABILITA' DEI RIVELATORI TSEE ALLA DOSIMETRIA PERSONALE

Le prove condotte nel 1970 riguardanti le caratteristiche del BeO ceramico come rivelatore TSEE hanno mostrato che le maggiori difficoltà per un suo impiego dosimetrico provengono dalla scarsa riproducibilità.

D'altra parte, poichè uno studio più approfondito del fenomeno può essere di estremo interesse nella realizzazione di un dosimetro personale, si è ritenuto utile riproporre anche per il 1971 il seguente programma:

- 1) Riproducibilità: influenza del trattamento termico
- 2) Fading: studio in funzione dei fattori fisici ambientali
- 3) Studio della risposta energetica del BeO ricoperto con schermi di materiale di diverso numero atomico
- 4) Approfondimento dello studio della risposta del rivelatore a radiazioni di diverso LET
- 5) Realizzazione di un dosimetro personale e prove del prototipo in laboratorio.

Ci si era riservati di prendere in esame questo ultimo punto solo se fossero risultati positivi i risultati ottenuti per i punti precedenti.

Il programma è stato condotto, come quello precedente, in collaborazione fra il Laboratorio di Fisica Sanitaria del Centro di Calcolo CNEN (Bologna) e il Laboratorio di Dosimetria e Standardizzazione del C.S.N. della Casaccia (Roma). Purtroppo

(\*) Laboratorio di Fisica Sanitaria, CNEN, Bologna

(\*\*) Laboratorio di Dosimetria e Standardizzazione CSN, CNEN Casaccia.

per cause di forza maggiore il programma ha potuto essere portato avanti solo in parte.

#### 1 - RIPRODUCIBILITA'

Per queste misure sono stati presi in considerazione solo rivelatori di BeO non ricoperti da alcuno strato di materiale conduttore (ad. es oro, platino, ecc.). Era infatti risultato dalle misure effettuate nel corso del 1970 che la riproducibilità risultava migliore per le pastiglie non ricoperte.

Per le nuove prove si sono presi due tipi di pastiglie di diametro diverso: 2 cm e 1 cm circa. Tutte le pastiglie sono state irraggiate con raggi gamma del Co-60.

E' stata condotta una prima serie di misure su una stessa pastiglia non azzerata preventivamente a 600°C, ma solamente azzerata effettuando una lettura fino a circa 400°C con lo stesso contatore. Su un totale di 40 letture eseguite in seguito sempre sulla stessa pastiglia la deviazione standard percentuale è risultata pari al  $\pm 15,8\%$ . L'esposizione per queste prove è stata di circa 100 mR.

Per quanto riguarda lo scarto si può dire che, nonostante appaia rilevante, è circa dello stesso ordine di grandezza di quello che si trova facendo misure di ripetibilità su materiali termoluminescenti quali il LiF (TLD 100) sinterizzato prodotto dalla Harshaw.

In seguito si è eseguita una seconda serie di misure azzerando le pastiglie a 600°C per 30 minuti una unica volta prima di effettuare le prove di ripetibilità.

Le misure, effettuate con la stessa pastiglia usata in precedenza e con due nuove hanno dato i seguenti risultati: la pastiglia vecchia ha mostrato un errore percentuale del  $\pm 4,7\%$ , le altre due rispettivamente un errore percentuale del  $\pm 14\%$  e del  $\pm 7,6\%$ .

Successivamente ci si è rivolti alle pastiglie di diametro inferiore. Anche in questo caso si è operato in due modi. La prima serie di misure su 10 diverse pastiglie è stata fatta azzerandole semplicemente mediante una lettura nel contatore fino a 400°C circa. I rivelatori sono poi stati esposti a circa 1 R di Co-60 e la standard deviation è risultata veramente molto elevata e pari al 58%.

In base ai risultati ottenuti con pastiglie a diametro grande si sono presi gli stessi dieci rivelatori e questi sono stati azzerati per 30' a 600°C. I rivelatori poi sono stati esposti a circa 1 R di Co-60.

Questa seconda serie ha dato risposte con errori percentuali del 23% in una prima serie di letture e del 12,8% in una seconda serie di letture.



Dal quadro presentato si deduce che prima di iniziare una serie di letture è necessario effettuare un trattamento termico a 600°C per 30' almeno la prima volta che le pastiglie vengono utilizzate. Sarebbe inoltre che se le pastiglie vengono riscaldate e raffreddate non in presenza di ossigeno, migliori la ripetibilità. Bisogna tenere presente infatti che quando i rivelatori sono stati letti nel contatore questi non sono stati estratti sino a completo raffreddamento.

Si pensa perciò di condurre ancora prove di ripetibilità riscaldando e lasciando raffreddare i rivelatori in atmosfera inerte (ad es. azoto). Inoltre si effettueranno prove sistematiche sul contatore stesso per rendersi conto se la non buona riproducibilità sino ad ora ottenuta sia interamente da attribuirsi al BeO o meno.

## 2 - STUDIO DELLA RISPOSTA ENERGETICA DEL BeO RICOPERTO CON SCHERMI DI MATERIALI DI DIVERSO NUMERO ATOMICO

A causa del sottilissimo strato che partecipa al fenomeno della esoemissione, la risposta di un rivelatore TSEE è ovviamente influenzata da schermi presenti durante l'irraggiamento a X e gamma.

Tale influenza è predominante per raggi X di bassa energia e schermi di materiale con elevato numero atomico.

In fig.1 è riportata la risposta di un campione di BeO (Thermalox 995) di diametro 0,9 cm e spessore 0,5 mm, per una esposizione di 1 R di raggi X di 66 KeV energia equivalente.

La curva 1 si riferisce al BeO con schermo di oro (10 mg/cm<sup>2</sup>), la curva 2 rappresenta la risposta dello stesso campione con schermo di alluminio (10 mg/cm<sup>2</sup>). La risposta con schermo di oro è circa 18 volte più grande di quella con alluminio. Tale risultato è in buon accordo con il rapporto dei coefficienti di assorbimento massici dei due materiali all'energia considerata.

La risposta ai raggi gamma del cobalto varia leggermente col numero atomico del materiale usato come schermo. E questo è spiegabile col fatto che per fotoni di elevata energia, il coefficiente di assorbimento massico varia lentamente con il numero atomico.

I risultati sopra descritti offrono la possibilità di rivelare la componente di raggi X di bassa energia presente in un campo fotonico. Ciò è mostrato in fig.2 ove è riportata la risposta di un campione di BeO schermato irraggiato con 1 R di cobalto più 50 mR di raggi X.

La curva 1 riguarda la risposta del BeO con lo schermo di oro, la curva 2 quella con alluminio. Nel primo caso la risposta è notevolmente più grande e ciò è dovuto essenzialmente al contributo dei raggi X.

### 3 - RISPOSTA DEL RIVELATORE A RADIAZIONI DI DIVERSO LET

Sono state condotte alcune prove qualitative irraggiando il BeO a particelle  $\alpha$ .

In precedenza infatti (relazione 1970) si era solamente visto che l'irraggiamento con particelle di alto LET non portava a spostamenti del picco principale a 280°C. Sembrava quindi impossibile avere una indicazione del tipo di particelle che aveva colpito il rivelatore.

Il BeO però presenta anche altri picchi a temperature più elevate (circa 450-500°C) e si pensava di sfruttare questi picchi per discriminare le varie radiazioni (ad esempio le diverse altezze relative o il rapporto fra le aree) in analogia a quanto si è trovato per la termoluminescenza (1).

Purtroppo però le prime prove non hanno ancora messo in evidenza i diversi picchi e quindi non si è potuto osservare l'effetto desiderato. Ci si ripromette comunque di proseguire su questa linea che darebbe la possibilità, come si è detto, di discriminare radiazioni di diverso LET in un campo misto di radiazioni.

---

(1) G.Busuoli, A.Cavallini, A.Fssò, O.Rimondi "Mixed Radiation Dosimetry with LiF (TLD 100)" Phys. Med. Biol. vol.15, n.4 pg.673-681, 1970.

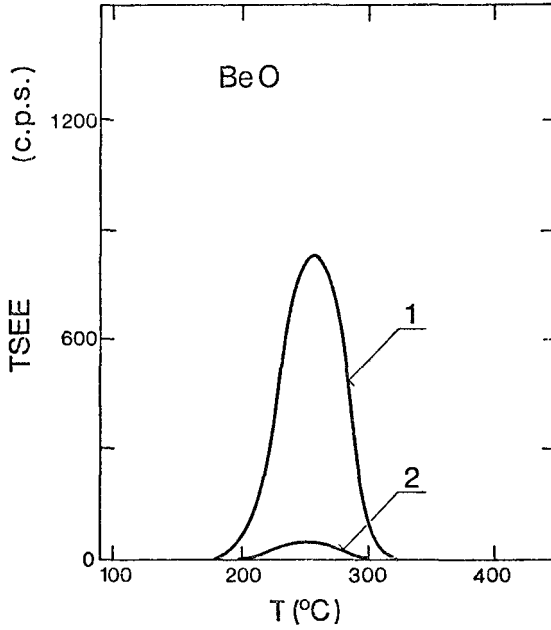


Fig.1 Risposta a raggi X, esposizione 1 R:

1- schermo di oro 10 mg/cm<sup>2</sup>

2- schermo di alluminio 10 mg/cm<sup>2</sup>

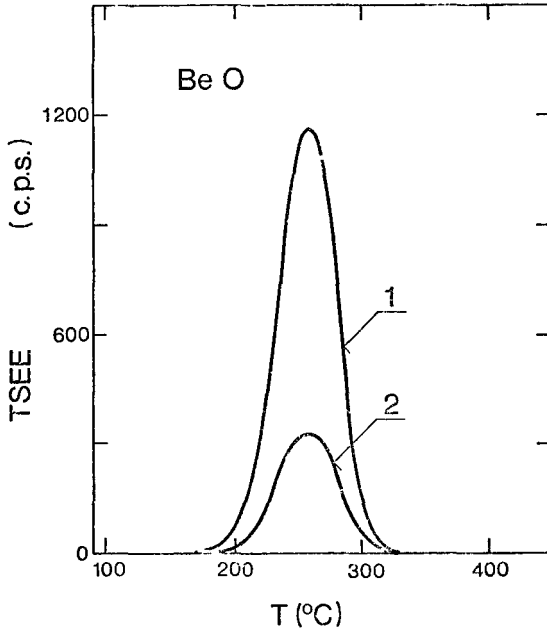


Fig.2 Risposta a 1R di cobalto più 50 mR di raggi X:

1- schermo di oro 10 mg/cm<sup>2</sup>

2- schermo di alluminio 10 mg/cm<sup>2</sup>



**Université**

**Paul Sabatier**

**C  
P  
A  
N**

**CENTRE DE  
PHYSIQUE  
ATOMIQUE ET  
NUCLEAIRE**

Contrat EURATOM 053 70 1 PSTC

MESURE DE SPECTRES ET DE FLUX  
PARTICULAIRES DE PHOTONS ET  
D'ELECTRONS EN UN POINT  
QUELCONQUE D'UN SYSTEME  
IRRADIE.

118, Route de Narbonne

31 - TOULOUSE

Ces recherches, effectuées sous la direction de Monsieur Daniel BLANC, Directeur du Centre de Physique Atomique, ont fait appel à la participation de :

- Monsieur André PEYRE-LAVIGNE, Boursier du CEA, Docteur de spécialité,

- Madame Monique PEYRE-LAVIGNE, Boursière du CEA, Docteur de spécialité,

- Monsieur Bernard CASSANHIOL, Ingénieur ENSEEIHT, Boursier du CEA,

- Mademoiselle Anne Marie MALMARY, Boursière de DEA, pour la partie expérimentale.

Les réalisations pratiques de spectrométrie  $\beta$  et  $\gamma$  ont pu être assurées grâce à l'appui matériel que nous apporte le service technique d'études de protection et de pollution atmosphérique du CEA, et plus particulièrement, Monsieur Henri FRANCOIS, Chef de la section de dosimétrie de ce service.

## AVANT PROPOS

---

Ce rapport résume notre collaboration annuelle avec l'EURATOM. Le but poursuivi, et en partie atteint, concerne de manière très générale la mesure des spectres et des fluences de rayonnements aux divers points d'un système irradié.

Expérimentalement, le groupe dirigé par Monsieur PEYRE-LAVIGNE met au point les spectromètres destinés à contrôler les calculs qui précèdent. Il s'agit de diodes de silicium à barrière de surface, opérant pour des énergies d'électrons comprises entre 100 keV et 2,8 MeV.

L'étape franchie en 1971 a été décisive. Nous avons recueilli le fruit des efforts des années qui précèdent et obtenu de très nombreux résultats originaux.

Nous exprimons notre reconnaissance à Monsieur le Docteur RECHT, Directeur de la Protection Sanitaire à la Commission des Communautés Européennes, pour la confiance qu'il nous manifeste.

D. BLANC  
Directeur du Centre de Physique Atomique.

Les possibilités nouvelles d'obtenir de hauts pouvoirs de résolution nucléaire sont à l'origine du développement pris par les détecteurs semi-conducteurs. La rapidité de collection obtenue dans les détecteurs à semi-conducteurs ( $t_c \simeq 10^{-9}$  s) permet malgré les limitations actuelles imposées par l'électronique associée, d'obtenir un comptage rapide ( $10^7$  coups/s) et une résolution en temps élevée ( $t$  montée  $\simeq 1$  ns). Rappelons néanmoins qu'au sein d'une même chaîne de détection, il ne peut y avoir simultanément de hautes performances de résolution nucléaire et de résolution en temps et qu'un compromis est nécessaire.

Les détecteurs métal-semiconducteur que nous proposons se distinguent par leur faible encombrement, déjà très réduit dans des séries existant sur le marché, et par leur facilité de mise en œuvre. Nous avons cherché à démontrer que l'utilisation d'isolants adéquats permet d'obtenir des diodes métal-semiconducteur fonctionnant à l'avalanche (Pe-1). Il est clair que l'utilisation des nitrures de silicium, dont la technologie est parfaitement maîtrisée maintenant, rend possible l'utilisation des techniques propres aux circuits intégrés. On assurera ainsi un puissant taux de reproductibilité et de réalisation.

Ces dernières propriétés conjuguées aux possibilités de haute résolution et de comptage rapide mettent en relief l'importance et la nécessité des détecteurs métal-semiconducteur tant dans les domaines variés de la recherche nucléaire que dans certaines applications industrielles, médicales et de radioprotection, utilisant des rayons X, des rayons  $\gamma$ , des émetteurs de particules  $\beta$  et d'électrons.

Il est certain que les détecteurs compensés au lithium Ge (Li) et Si(Li) marquent le pas. Malgré leur haut pouvoir de résolution, les spécialistes de spectrométrie X et  $\gamma$  appliquée se tournent vers les structures métal-semiconducteur en particulier, les diodes, Au-Cd Te (Pa-1), (Be-1), (Ka-1), (Za-1) et Au-Ga As (Eb-1)

Toutefois, ces nouveaux détecteurs présentent quatre inconvénients :



a) la réalisation de monocristaux de Cd Te n'est pas parfaite (Tr-1), (Sc-1).

b) le phénomène de piégeage des porteurs est important entraînant une collection incomplète des charges (Za-1), (Ma-1), (Vu-1).

c) la dégradation des pics photoélectriques sous l'irradiation aux  $\gamma$  incidents.

d) le taux de comptage dépend de la température (Dy-1).

Nos mesures ont été obtenues avec des diodes Au-Si n, leur température a toujours été supérieure à 260°K. Les résultats ne sont pas parfaits, car ils s'écartent encore des prévisions théoriques : notre principal effort a porté sur la mise en évidence des deux causes responsables du mauvais rapport signal sur bruit. La première raison est liée au ralentissement des rayonnements incidents dans l'isolant et collectés sous ce dernier. La deuxième, d'ordre technologique, est provoquée par un trop fort niveau de courant issu du canal. Ce dernier affecte la sensibilité des photodiodes métal-semiconducteur ainsi réalisées, qui au demeurant, présentent des performances comparables aux photodiodes obtenues par diffusion.

## 1 - QUELQUES APPLICATIONS DES DIODES METAL-SEMICONDUCTEUR.

### 1 - 1. Spectrométrie des photons X et $\gamma$ .

Les résultats obtenus actuellement avec des diodes à avalanche sont semblables à ceux présentés sur la figure 1 : le pouvoir de résolution optimum est de 20 % pour la raie de fluorescence X ( $K_{\alpha}$ ) de l'indium. Le coefficient d'amplification M est égal à 4 ; pour cette valeur le pouvoir de résolution calculé est égal à 9 % (le bruit du préamplificateur est inclus). Il existe bien un coefficient d'amplification donnant le pouvoir de résolution en énergie optimum (figure 1).

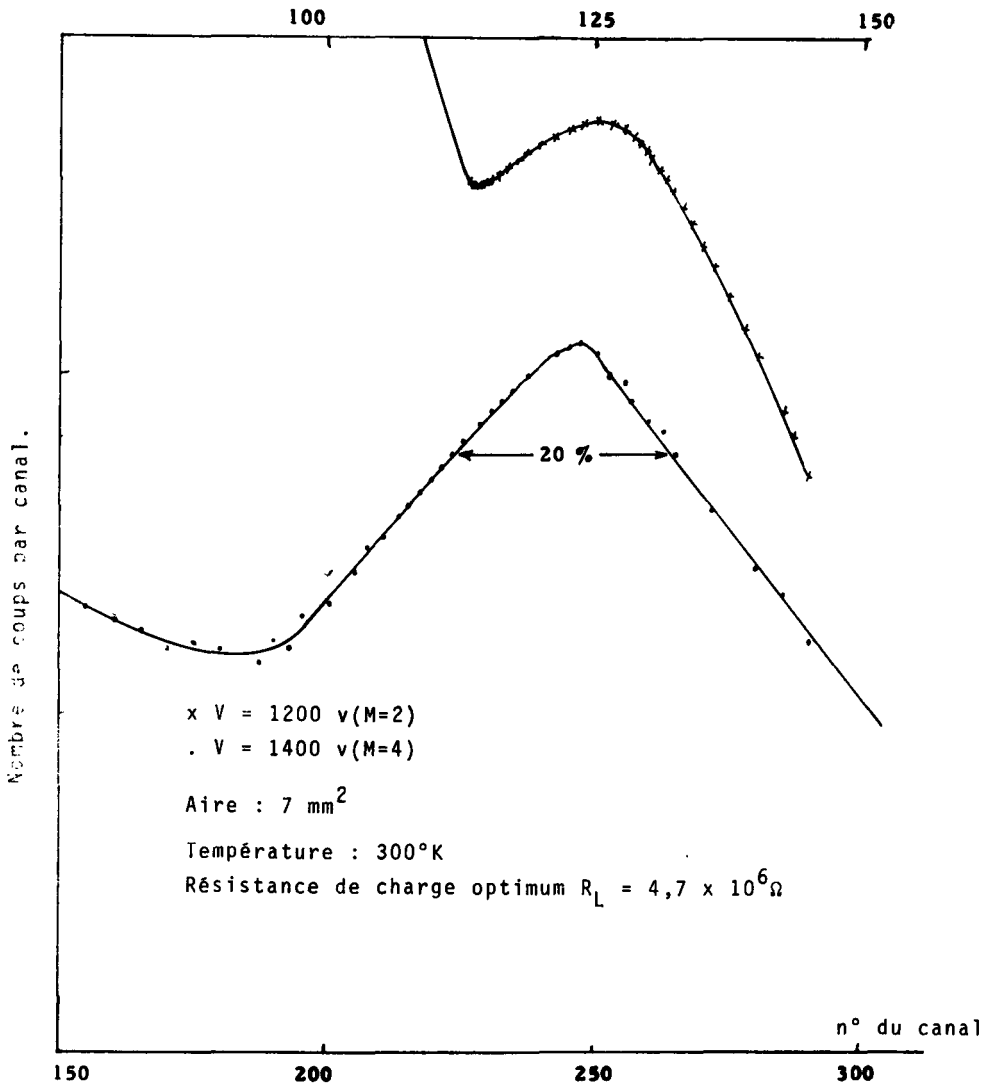


FIGURE 1 : Spectre de fluorescence X (33 keV Indium).

Nous avons couvert la gamme 33 keV-60 keV avec des coefficients d'amplification compris entre 4, 2 et 1. Dans un prochain paragraphe nous donnerons les solutions pour l'amélioration des performances du détecteur à avalanche réalisé sur du silicium de faible résistivité (inférieure à  $56 \Omega \text{ cm}$ ).

La technologie employée donne de très bons résultats, comme en témoignent les résultats des figures 2 et 3, obtenus avec des diodes métal-semiconducteur ne fonctionnant pas en régime de multiplication. Le spectre du  $^{57}\text{Co}$ , mesuré à température ambiante, est un résultat intéressant ; la résolution est comparable à celle d'un Si(Li) refroidi avec une plus faible efficacité (1 % au lieu de 99 %).

Ce spectre en énergie présente les raies  $K\alpha$  et  $K\beta$  de l'or qui constitue le contact redresseur (figure 2a et 2b). Le tableau 1 suivant donne le pouvoir de résolution  $\Delta E_0$  et l'efficacité  $\eta$  pour les deux raies types du spectre.

|                                      | V = 10 V     |        | V = 100 V    |        | V = 400 V    |        |
|--------------------------------------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|
|                                      | $\Delta E_0$ | $\eta$ | $\Delta E_0$ | $\eta$ | $\Delta E_0$ | $\eta$ |
| $^{57}\text{Co}_{122 \text{ keV}}$   | 3 %          | 1 %    | 2,7 %        | 2 %    | 2,7 %        | 5 %    |
| $\text{Au}_{K\alpha} 67 \text{ keV}$ | 7,4 %        | 1,7 %  | 6,8 %        | 4 %    | 7 %          | 10 %   |

Tableau 1 (température ambiante).

Pour illustrer les multiples possibilités d'application des diodes métal-semiconducteur, nous représentons le spectre du  $^{137}\text{Cs}$ , figure 3 (efficacité 3 %). Le pouvoir de résolution est correct et suffisant dans certains types d'expériences à réaliser à la température ambiante, celles-ci étant irréalisables avec des détecteurs Si(Li) refroidis à l'azote liquide. Pour les figures 2 et 3 le plateau COMPTON n'est pas évident : comme nous allons le préciser, ceci est dû à la collection des charges dans le canal.

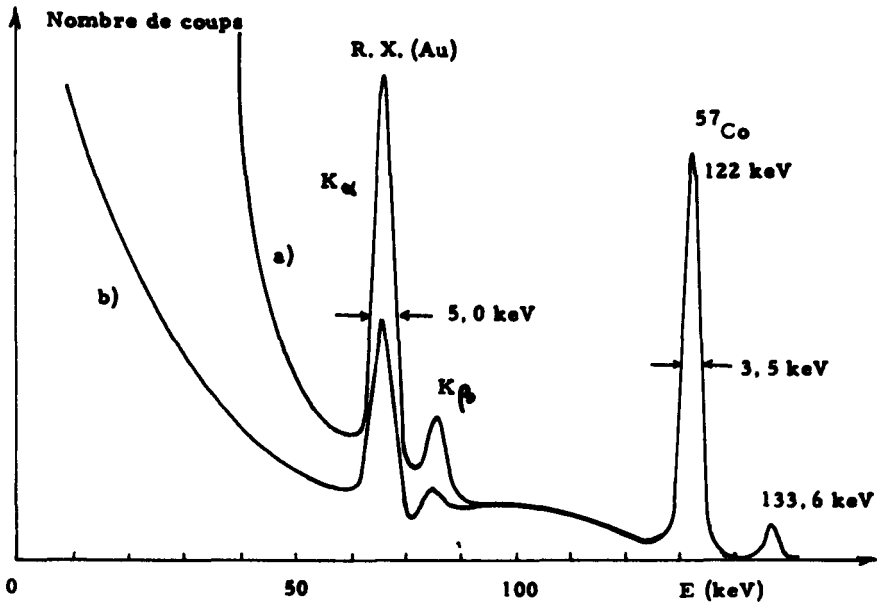


FIGURE 2: Spectre du  $^{57}\text{Co}$ .

Caractéristiques du détecteur 144 Bn (anneau de garde)

Tension depolarisation : 10 v  
 Courant de fuite : 10 nA  
 Surface :  $5 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$   
 Résistivité : 10 000  $\Omega \cdot \text{cm}$   
 Durée de vie : 2 ms  
 Profondeur de la zone désertée: 140  $\mu\text{m}$   
 Bruit du préamplificateur : 1,4 keV (OpF)  
 Capacité de la diode : 3,8 pF

a/ épaisseur du dépôt d'or : 800  $\text{Å}$   
 b/ épaisseur du dépôt d'or : 400  $\text{Å}$

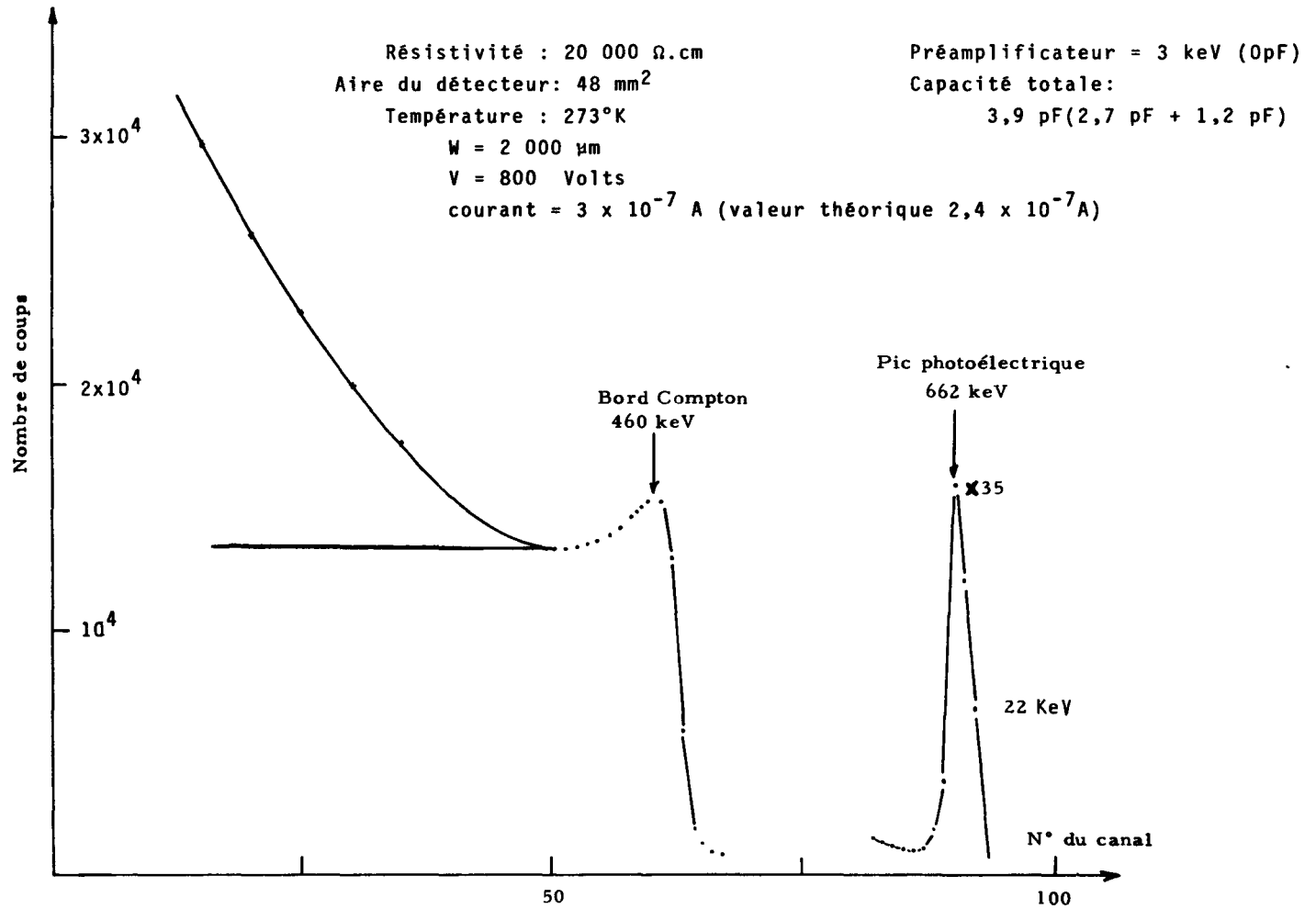


FIGURE 3 : Spectre du  $^{137}\text{Cs}$  ; diode à anneau de garde.

## 1 - 2. Particules ionisantes.

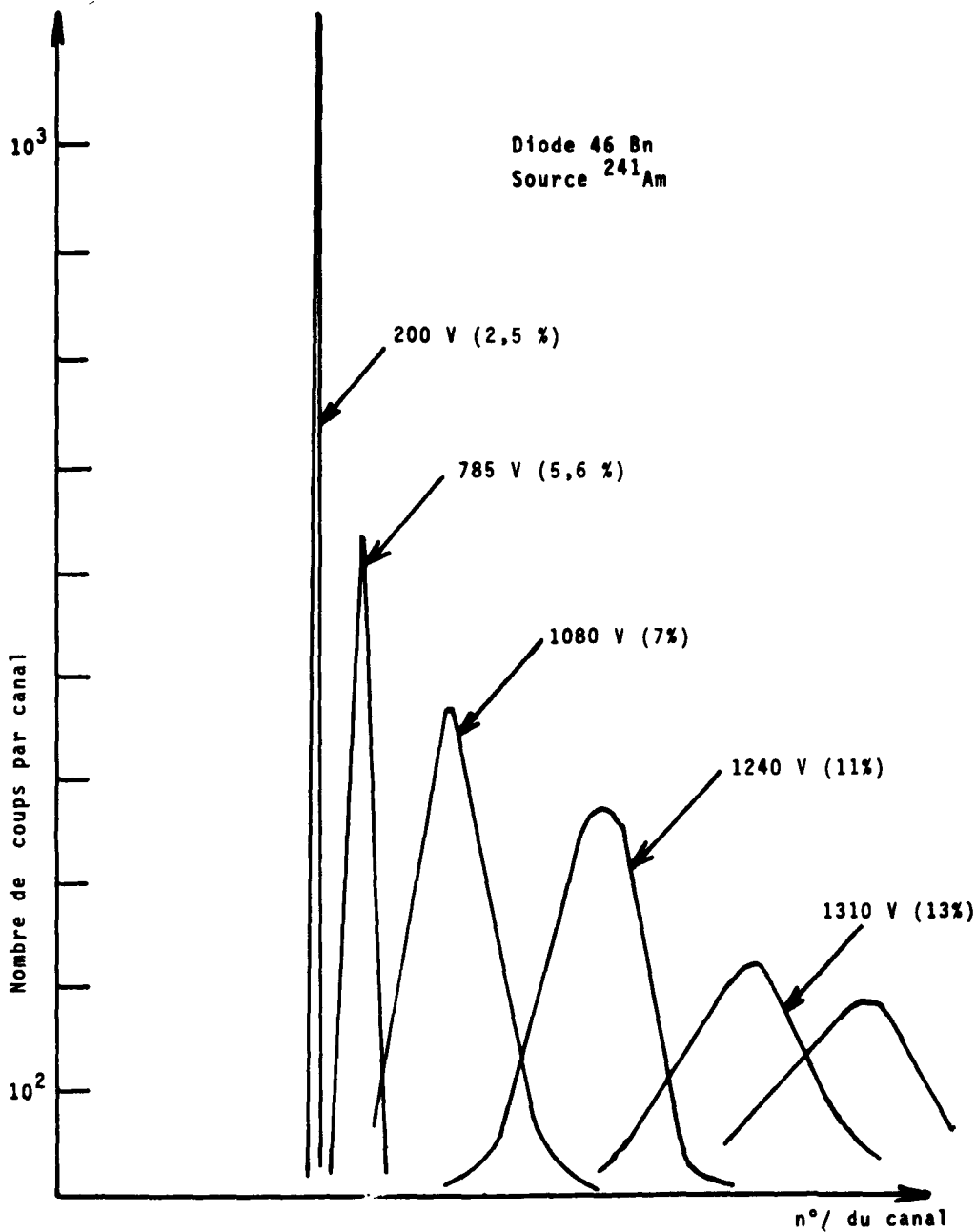
Comme précédemment nous donnons les résultats caractéristiques d'une diode à avalanche et d'une diode classique de forte résistivité.

La figure 4 montre l'évolution du spectre en énergie de l'américium  $^{241}\text{Am}$  en fonction de la tension de polarisation. De meilleures valeurs du pouvoir de résolution  $\Delta E_0$  sont obtenues avec des diodes métal-semiconducteur réalisées sur des substrats plus résistifs ( $1000 \Omega \cdot \text{cm}$ ) valeur parfaitement adaptée pour ce problème-là. Malgré la dégradation du pouvoir de résolution en fonction du coefficient de multiplication, cette expérience est fort intéressante ; on détermine la tension d'avalanche qui vérifie la valeur théorique (figure 5a) ; l'ionisation spécifique constante permet d'accéder directement au bruit de grenaille lié au phénomène d'avalanche (figure 5b). La puissance du bruit blanc, (figure 5c) correspond à la multiplication de charges, ralenties dans l'isolant (résine p) collectées ensuite par la diode de SCHOTTKY. Ce phénomène a été minimisé en augmentant le rapport aire de la diode sur l'aire du canal. Ce problème sera plus largement détaillé car il affecte tous les résultats spectrométriques tel que le spectre  $\beta$  du  $^{207}\text{Bi}$  (figure 6a) mesuré à  $260^\circ\text{K}$  ; ainsi, pour cette diode, le pouvoir de résolution en énergie pour la raie de conversion située à  $974 \text{ keV}$  n'est diminué seulement que de  $3 \text{ keV}$  lorsque la diode a été refroidie de  $40^\circ\text{C}$ . Sans entrer dans une nouvelle description, les performances des diodes ont été améliorées, et celles-ci pourraient l'être encore davantage, en remplaçant les résines dopantes par de l'oxyde de silicium convenablement protégé.

L'ensemble des résultats spectrométriques montre que les diodes métal-semiconducteur apportent des solutions à un grand nombre de problèmes grâce à un mode de fonctionnement à température ambiante.

## 1 - 3. Photodiodes à avalanche.

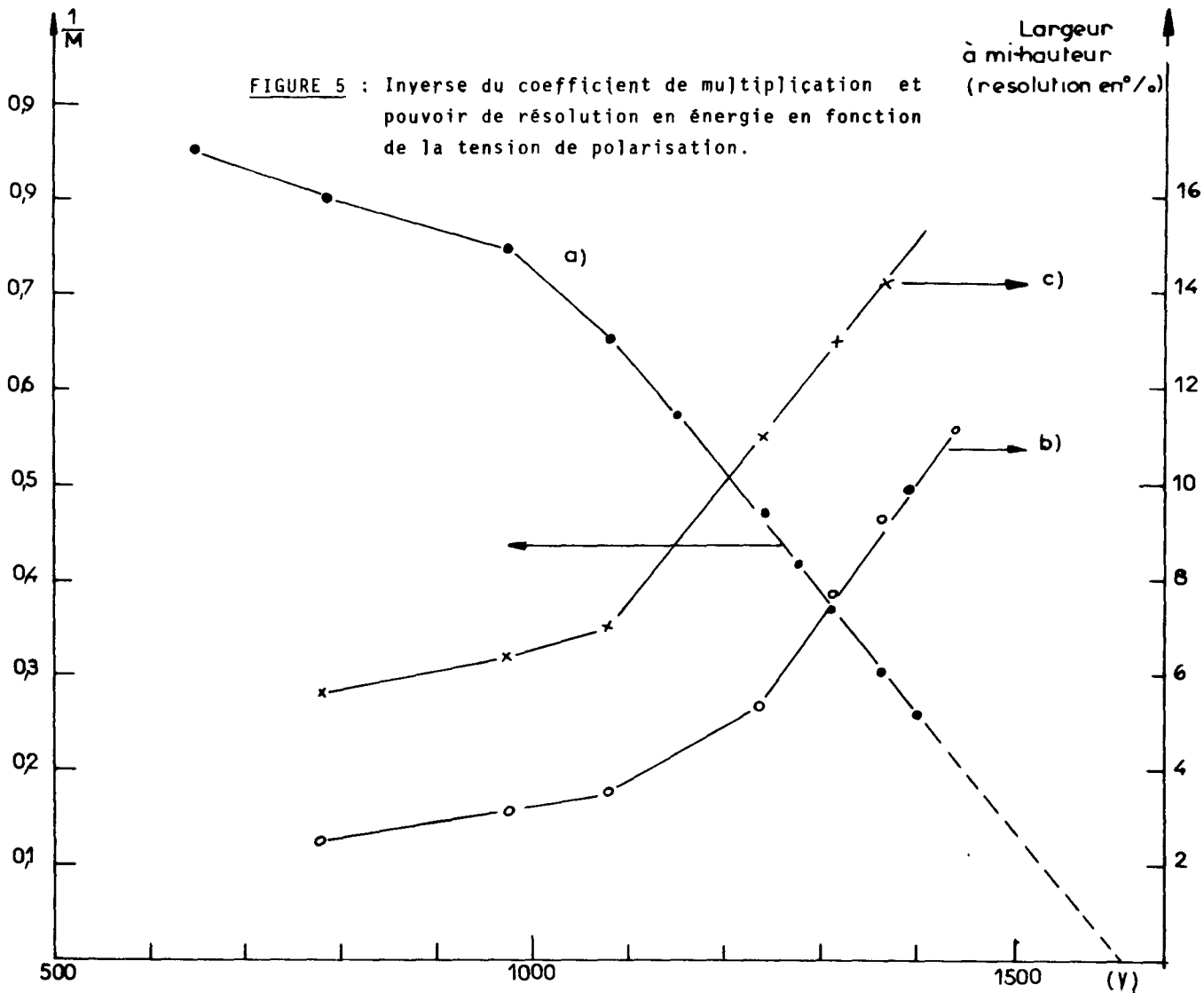
Comme cela est prévu par la théorie des photodiodes (Me-1), il existe une valeur optimum de la puissance délivrée, pour une diode donnée



**FIGURE 4:** Spectre de  $^{241}\text{Am}$  pour différents coefficients de multiplication.

Diode sans anneau de garde aire =  $7 \text{ mm}^2$ ;

$T = 300^\circ\text{K}$ .





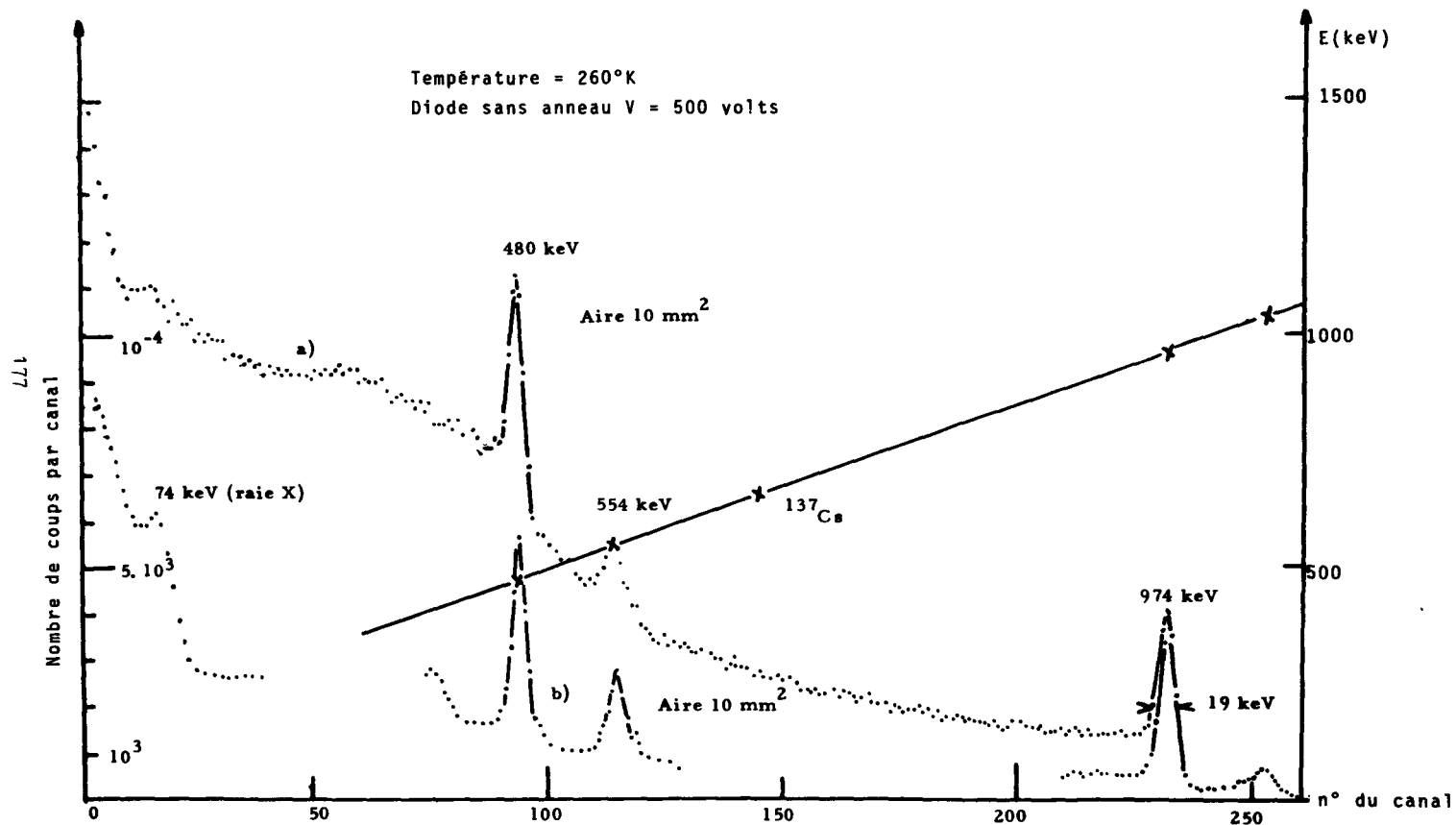


FIGURE 6 : Spectre du <sup>207</sup>Bi - correspondance canal-énergie

(figure 7) en fonction de la résistance de charge  $R_L$  et en fonction de l'intensité lumineuse modulée (figure 8). En effet (Jo-1), (Me-1) et (Ri-1) trouvent un coefficient d'amplification optimum égal à :

$$\left[ M_{\text{pho}} \right]_{\text{max}} = \sqrt{\frac{V_B}{m R I_p}} \quad (1)$$

dans lequel  $R$  est la résistance totale de la diode soumise à l'éclairage et  $I_p$  est la somme du courant d'obscurité et du photocourant.

Ainsi, pour une résistance de charge optimum, il existe une valeur maximum de la puissance délivrée, celle-ci dépend de l'intensité lumineuse. Dans notre cas, le coefficient d'amplification est deux fois plus faible lorsque le courant de court circuit  $I_{\text{pho}}$  est dix fois plus grand. Une photodiode atteint de forts niveaux d'amplification, pour de faibles intensités lumineuses. La sensibilité dépendant du courant d'obscurité.

Dans les conditions optimales, la puissance moyenne  $\langle p \rangle$  utilisable est donnée par l'expression suivante :

$$\langle p \rangle = \frac{I_s^2(\omega) M^2 R_L}{1 + \omega^2 C^2 (R_s + R_L)^2} \quad (2)$$

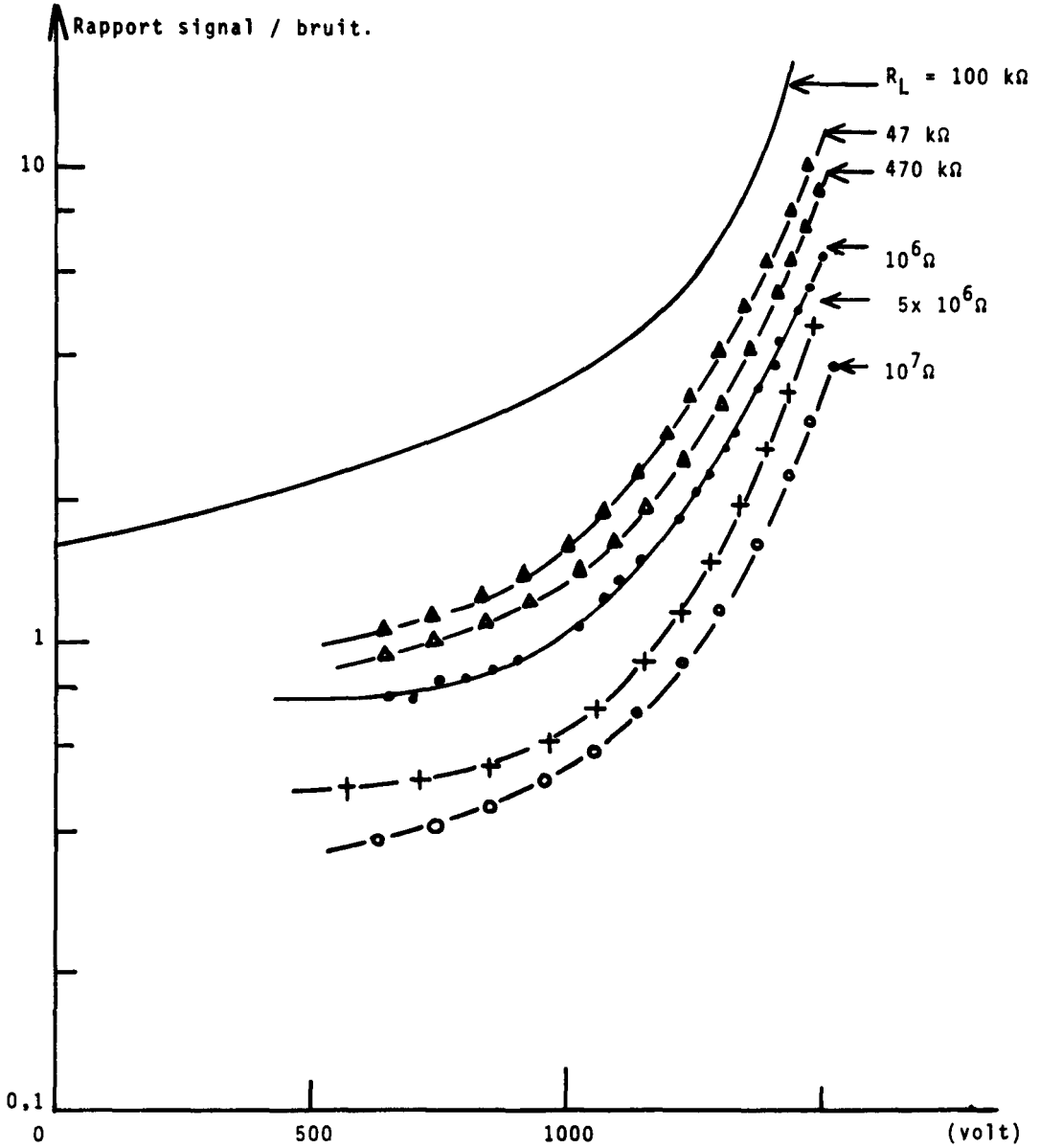
La puissance de bruit blanc liée à l'injection de porteurs est donnée par la relation (chapitre II) :

$$\langle P_B \rangle = \frac{2 q I_B M^p R_L}{1 + \omega^2 C^2 (R_s + R_L)^2} \quad (3)$$

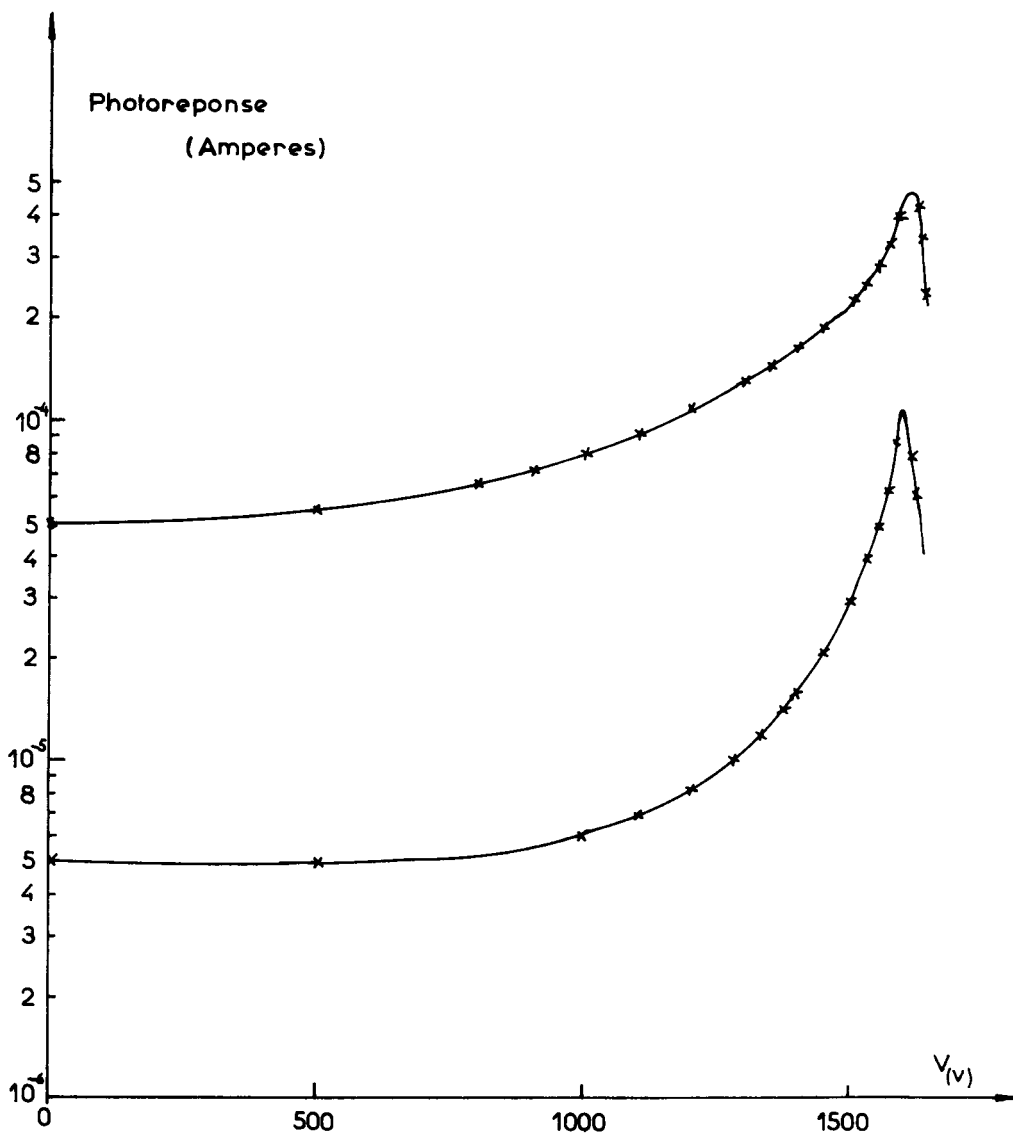
$I_s(\omega)$  : intensité du photocourant,

$M$  : coefficient de multiplication

$I$  : intensité du courant total composé du photocourant et du courant d'obscurité.



**FIGURE 7** : Rapport signal/bruit en fonction de la tension de polarisation pour différentes résistances de charge.  
 Longueur d'onde de la lumière =  $6\ 100 \text{ \AA}$ .



**FIGURE 8** : Photomultiplication en fonction de la tension de polarisation pour deux intensités de lumière hachée. (1080 Hz).

B : largeur de la bande passante,

$R_s$  et  $R_L$  correspondent respectivement à la résistance série et à la résistance de charge,

C : capacité de la diode et capacité de fuite.

Les valeurs du paramètre  $p$  dépendent du taux d'injection  $\Upsilon$  et de la position de création de la première paire électron-trou :  $p$  est compris entre 2 et 4.

A partir des relations (2) et (3) on déduit  $(M)_{opt}$ , dont les valeurs sont en accord avec les résultats donnés sur la figure 8 dans la mesure où nous avons optimisé la résistance de charge par rapport au circuit équivalent schématisé sur la figure 9b. Les coefficients d'amplification optimum sont supérieurs à ceux obtenus par BAERSCH (Ba-1), la résistance série  $R_s$  est inférieure à la résistance de charge  $R_L$  dans notre cas. Ceci n'est pas le cas pour BAERTSCH qui est obligé d'utiliser  $R_L$  égal à  $50\Omega$ .

Les résultats présentés portent sur les performances actuelles des diodes métal-semiconducteur. Les utilisateurs connaissent bien le rôle joué par le bruit dans la limitation des performances d'une structure. Nous allons examiner les améliorations à faire afin de diminuer le bruit dans une diode métal-semiconducteur.

## 2 - AMELIORATION DU RAPPORT SIGNAL SUR BRUIT.

Le rapport signal sur bruit est optimisé en diminuant, le taux de fluctuation d'impulsions nucléaires liées au ralentissement des particules dans l'isolant, et le niveau de courant circulant dans la diode surtout lorsque celle-ci fonctionne en avalanche.

Le premier type de bruit n'existait pas dans les diodes à barrière de surface élaborées en particulier par P. SIFFERT et par A. COCHE (Si-1) (Si-2), (Co-1); ces diodes présentaient d'importantes dérives dépendant

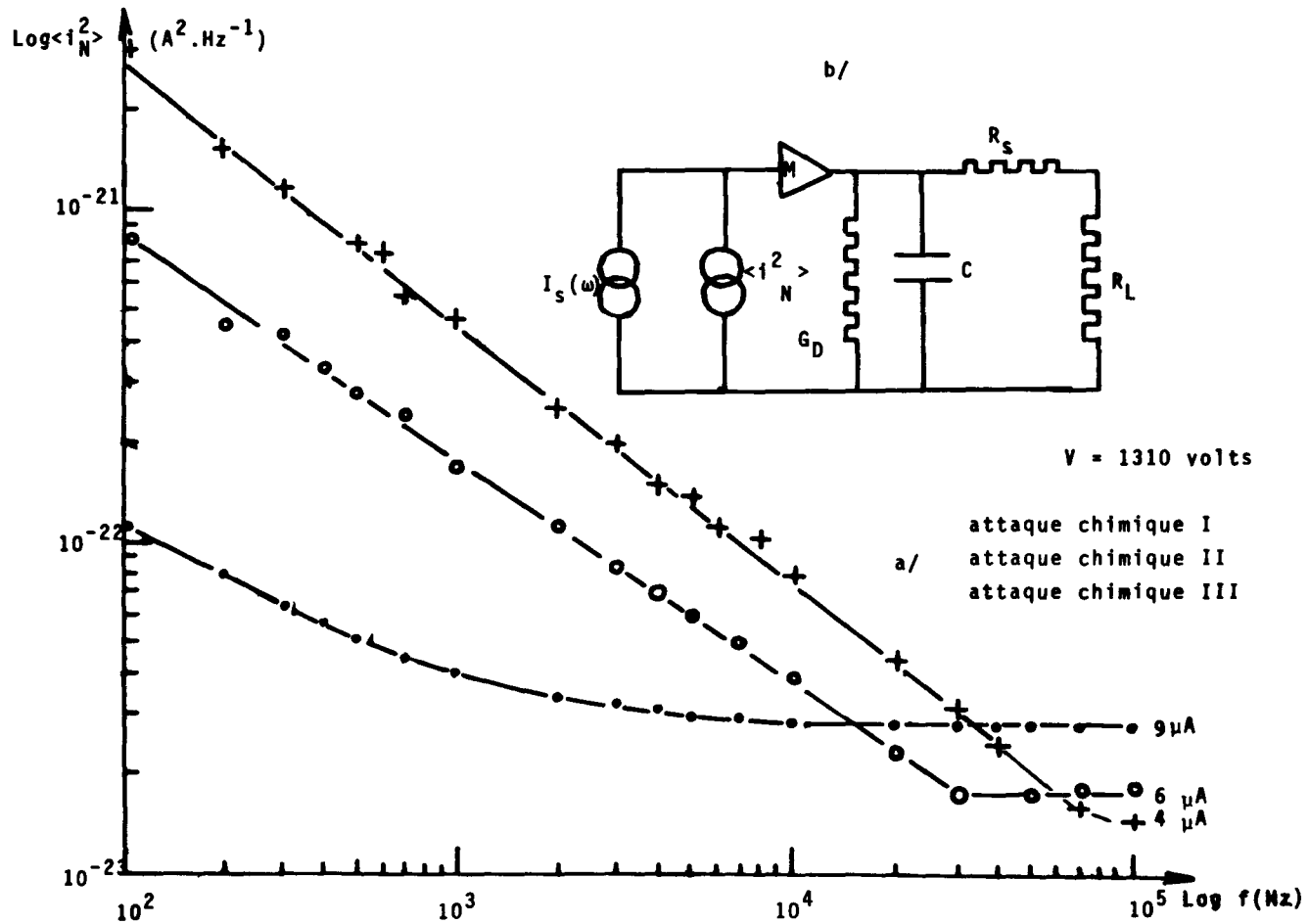


FIGURE 9 : Densité spectrale de bruit pour trois attaques chimiques.(PE.8).

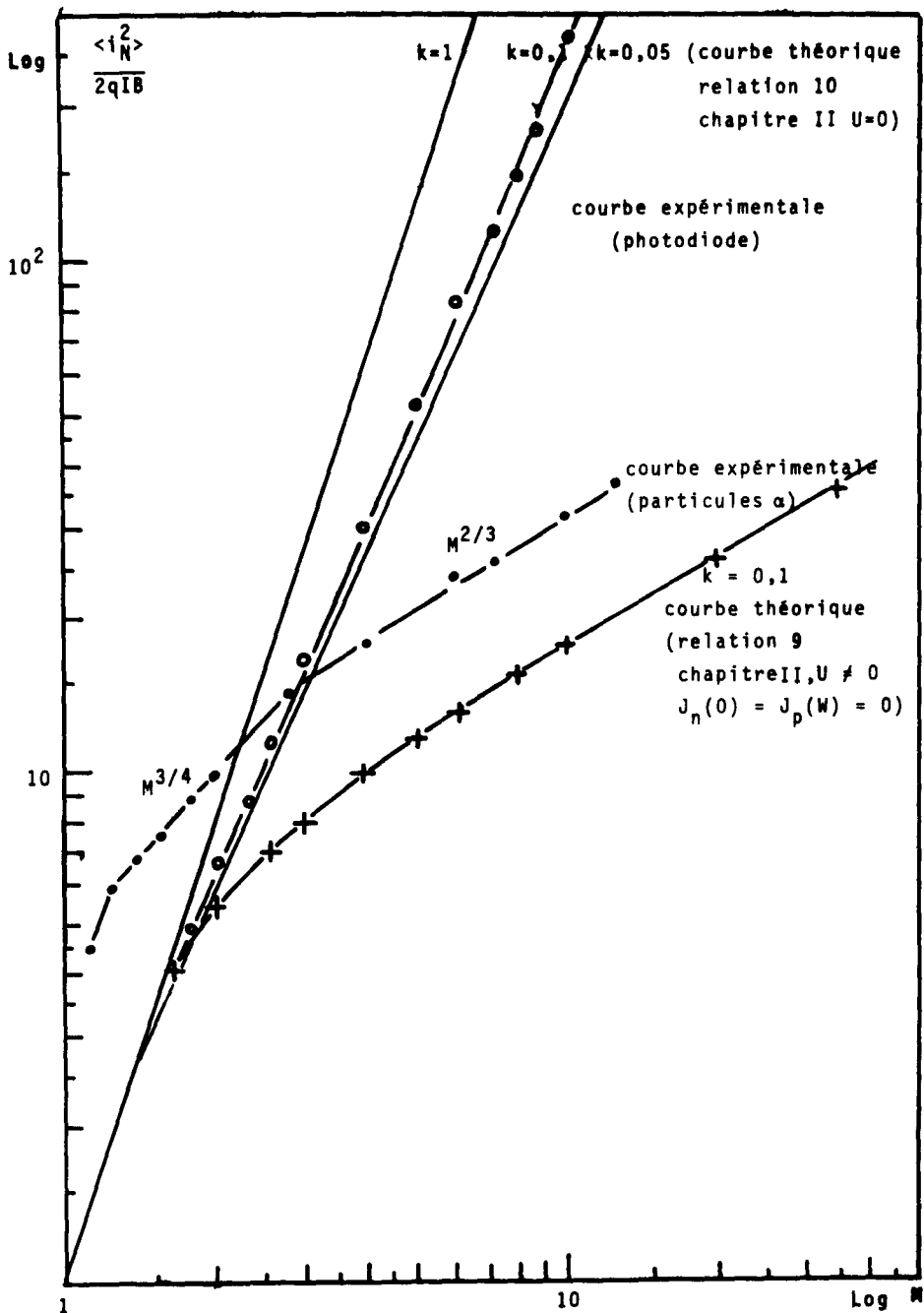
énormément de toutes les conditions atmosphériques, ce qui limite considérablement leur emploi (Si-1). Les deux types de bruit ci-dessus sont des bruits blancs. Afin d'effectuer des mesures précises de ces derniers, il est bon de rejeter le bruit en excès ou bruit en  $1/f$  vers les plus basses fréquences.

## 2 - 1. Densité spectrale de bruit en excès (figure 9).

Les résultats présentés correspondent au régime de multiplication de la diode métal-semiconducteur. Les densités spectrales de bruit obtenues pour trois attaques chimiques, classées d'après l'épaisseur de la couche résiduelle, dépendent fortement du processus chimique de préparation de la structure.

Ainsi, le traitement oxydant I ( $40 \text{ \AA}$ ) empêche toute mesure de bruit de grenaille et toute spectrométrie X dans le domaine de la multiplication, malgré un niveau de courant plus important ( $9 \mu\text{A}$  au lieu de  $5 \mu\text{A}$  pour le traitement I). Le traitement III engendre une plus faible densité spectrale de bruit en excès permettant une spectrométrie X valable. Ce traitement III a été retenu pour la fabrication des diodes ; de plus, la couche d'oxyde résiduel ne présente pas de pièges responsables d'oscillations de relaxation, toujours néfastes pour les mesures spectrométriques. La notion de pièges dans l'oxyde a été préconisée (Pe-2) : l'effet FRENKEL-POOLE se traduit par la conduction d'électrons dans les centres pièges. Le traitement chimique III donne une fréquence de coupure de bruit en  $1/f$  se situant aux alentours de 1 kHz. Pour les diodes présentant cette fréquence de coupure, il existe un accord parfait entre les mesures de bruit blanc et les prévisions théoriques indiquant la validité du modèle de canal décrit (Pe-3). Les mesures de densités de bruit effectuées en polarisation directe donnent un résultat analogue.

En effet la puissance de bruit en  $1/f$  et la fréquence de coupure dépendent de l'épaisseur de la couche d'oxyde résiduel. D'autre part, il existe une corrélation entre la fréquence de coupure du bruit en  $1/f$ , le



**FIGURE 10:** Puissance de bruit blanc en fonction du coefficient de multiplication  $M$  pour deux valeurs du taux de génération  $U$ .



paramètre  $n$ , la constante de RICHARDSON, le métal, le traitement thermique subi par la diode et la nature de l'isolant de passivation. Une interprétation théorique est en cours afin de définir la source de bruit naissant au contact métal-semiconducteur et la source de bruit en provenance du canal adjacent. Nous pouvons dès lors effectuer les mesures de bruit blanc dans le domaine 1 kHz-600 kHz.

## 2 - 2. Bruit de grenaille.

Les principaux résultats utilisés, tirés des figures 5 b et 5c sont donnés sur la figure 10 dans laquelle nous donnons l'évolution de la puissance de bruit blanc, ou la largeur à mi-hauteur du pic nucléaire, en fonction du coefficient de multiplication. Sur cette figure nous donnons :

a) l'évolution du bruit de grenaille lié à l'injection des porteurs aux bornes de la jonction (Fe-4) en fonction du coefficient de multiplication  $M$  et pour différentes valeurs du paramètre  $k = \alpha / \beta (I_n - 1)$ .

b) l'évolution du bruit de grenaille lié au taux de création  $U$ , non nul, dans la zone de charge d'espace, pour deux valeurs du paramètre  $k$ .

Pour les rayonnements ionisants, le bruit lié à la création de paire électron-trou dans la zone de charge d'espace est prédominant même lorsque la diode fonctionne en avalanche. Nous pouvons considérer comme négligeable le bruit lié à l'injection au niveau du métal. Nous trouvons une valeur de  $k$  égale à 0,1 environ : cette valeur est en bon accord avec les valeurs trouvées dans la littérature et confirmée par nos mesures de photodiodes (figure 10). Dans ce mode d'application pour la longueur d'onde choisie, la puissance de bruit blanc est due strictement à un phénomène d'injection à l'interface métal-semiconducteur.

## 2 - 3. Bruit lié à l'effet de bord.

Nous avons montré qualitativement l'existence d'un canal dont les propriétés électroniques sont précisées (Pe-1, Chapitre V). Les par-

ticules nucléaires, en particulier  $\alpha$  et  $\beta$  montrent elles aussi l'existence de ce canal. Ceci est illustré sur la figure 6b qui donne le spectre en énergie des particules  $\beta$  du  $^{207}\text{Bi}$  lorsque la résine de passivation des bords de la diode est protégée afin de réduire le rayonnement dans cette zone. Ainsi, le spectre  $\beta$  est débarrassé du spectre de ralentissement dans la résine p et collecté dans le canal en communication avec l'électrode de SCHOTTKY. Ce résultat a été confirmé par les travaux de LANEGRASSE (La-1) pour des particules  $\alpha$  du radon : l'efficacité et la résolution calculées et mesurées sont en bon accord si l'on prend un canal de longueur égale à 1 mm.

Afin d'éviter ce problème, nous remplaçons les résines par de la silice convenablement fabriquée afin d'éviter les principaux inconvénients.

A la lumière des résultats présentés deux conclusions s'imposent :

a) Les diodes métal-semiconducteur à anneau de collection répondent au problème posé dans le domaine des énergies supérieures à 50 keV. Sans être refroidies, elles donnent avec une bonne résolution les raies de fluorescence X de l'or. Un étalonnage de l'ensemble permet la détermination de l'épaisseur du dépôt d'or réalisé et par extension, le dosage de celui-ci dans les composés. Il ne nous est pas possible de donner la sensibilité de la méthode. Dans le domaine à faible énergie X, les pouvoirs de résolution ne correspondent pas aux prévisions théoriques. Mis à part le problème de collimation, les mesures de bruit blanc sont en très bon accord avec les prévisions théoriques prouvant l'existence du phénomène de multiplication. L'augmentation de la résolution en énergie est uniquement due au courant issu du bord de la jonction encore trop important car l'anneau de collection n'a pas joué son rôle. Ce dernier est remplacé par un véritable anneau de garde modulant la conductivité dans le canal.

b) Il existe une tension de fonctionnement et une résistance de charge optimale donnant le meilleur rapport signal sur bruit. Ceci est aussi valable pour les photodiodes métal-semiconducteur à avalanche aux très bonnes performances.

En effet, dans ce domaine, nous avons considérablement amélioré la sensibilité et la stabilité des photodiodes. D'autre part, il est très facile de réaliser des photodiodes à avalanche sensibles dans une bande étroite de longueur d'onde en déposant un filtre interférentiel sur la diode.

### CONCLUSION.

Nous avons réalisé des spectromètres opérationnels pour l'analyse des rayonnements  $\beta$  d'énergie comprise entre 100 keV et 2,8 MeV. Cette dernière limite peut être portée selon la demande à 3,4 MeV actuellement. La limite inférieure est sûrement bien inférieure à 100 keV mais un étalonnage en énergie monochromatique s'avère nécessaire afin de s'affranchir de toutes les raies de fluorescence X parasites. Dans le domaine des photons des solutions intéressantes ont été apportées, des améliorations peuvent être apportées dans le domaine des basses énergies (1 keV environ) en régime de multiplication. D'autre part, la réalisation de diode Al-Sip éviterait le pic parasite lié à la fluorescence X de l'or constituant le contact redresseur.

Dans l'état actuel de notre travail, nous avons fourni une diode Au-Sin à Monsieur DELATTRE (Ingénieur au Département de Biologie du Commissariat à l'Energie Atomique, SACLAY), permettant la spectrométrie  $\beta$  (100 keV-2,8 MeV) et la spectrométrie de photons de 50 keV-150 keV.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- (Ba-1) - R. D. BAERTSH : Jour. Appl. Phys. , 38, 11, 4267, 1967.
- (Be-1) - R. C. BEAVIN : Gamma radiation detection with Cd Te at elevated temperatures , STRASBOURG 29-30 Juin 1971.
- (Co-1) - C. P. CORADIA and H. REYNOLDS : I. E. E. E. , Trans. Nucl Science, ED-13, 344, 1968.
- (Dy-1) - O. DYES : Nucleonics propellant gauging in zero G environnement ; STRASBOURG 29-30 Juin 1971.
- (Eb-1) - J. E. EBERHARDT, R. D. RYAN and A. J. TAVENDALE : Nuclear radiation detectors from high purity epitaxial n-Ga As STRASBOURG, 29-30 Juin 1971.
- (In-1) - R. J. Mac INTYRE : I. E. E. E. , Trans. Elec. Devices, ED 13, 164, 1966.
- (Jo-1) - K. M. JOHNSON : I. E. E. E. , Trans. Elec. Devices, ED 12, 55, 1965.
- (Ka-1) - V. P. KAZPENKO, P. G. KASHERINNOV, O. A. MATEEV, S. V. PROKOFIEV and S. M. RIVKIN : Cd Te crystals for rays counters, STRASBOURG 29-30 Juin 1971.
- (La-1) : L. LANEGRASSE : Thèse de doctorat d'Université, TOULOUSE (à soutenir).
- (Ma-1) - Y. MARFAING et R. TRIBOULET : A study of localised levels by means of electrical and optical measurements, STRASBOURG, 29-30 Juin 1971.
- (Me-1) - H. MELCHIOR and W. T. LYNCH : I. E. E. E, Trans. Elec. Devices, ED 13, 829, 1966.
- (Pa-1) - J. M. PALMS : The evolution of Cd Te for gamma and X rays spectrometers and counters, STRASBOURG 29-30 Juin 1971.
- (Pe-1) - Thèse Doctorat ès-Sciences, n° 468, TOULOUSE, 7 Janvier 1972.
- (Pe-2) - Thèse Doctorat ès-Sciences, n° 468, Chapitre V, TOULOUSE, 7 Janvier 1972.
- (Pe-3) - Thèse doctorat ès-Sciences, n° 468, Chapitre V, paragraphe 3, TOULOUSE, 7 janvier 1972.

- (Pe-4) - Thèse doctorat ès-Sciences, n° 468, chapitre II, relation 10, TOULOUSE, 7 janvier 1972.
- (Ri-1) - G. RIPOCHE : Thèse de doctorat de spécialité, PARIS 1969.
- (Sc-1) - B. SCHAUB and C. PUTARD : The purification of Cadmium and Tellurium, STRASBOURG 29-30 Juin 1971.
- (Si-1) - P. SIFFERT et A. COCHE : I. E. E. E. , Trans. Nucl. Sciences, NS 12, 284, 1965.
- (Si-2) - P. SIFFERT : Thèse de doctorat ès-Sciences, STRASBOURG 1966.
- (Tr-1) - R. TRIBOULET : Growth of high purity Cd Te single crystals by vertical zone melting. STRASBOURG 20, 30 Juin 1971.
- (Vu-1) - B. M. VUL, V. S. VAVILOV, V. S. IVANOV, V. B. STOPACHINSKY and V. A. CHAPNIN : Investigation of double charged acceptor in Cd Te, STRASBOURG, 29-30 juin 1971.
- (Za-1) - K. ZANIO : Characterisation of Cd Te by Nuclear Methods. STRASBOURG, 29 - 30 Juin 1971.



Contrat N° 12.251 - II / B6

Organisme, lieu, pays : Commissariat à l'Energie Atomique  
CEM Cadarache - FRANCE .

Noms : M. BRICKA , J. LAMBERIEUX

Description générale succincte des travaux accomplis :

L'étude des courbes de réponse des sphères de BONNER ne peut être faite en neutrons monoénergétiques entre 0,4 eV et 5 keV. Cette bande d'énergies sera donc traitée, parallèlement, par le calcul et par des mesures globales sur des spectres convenablement connus.

Le projet n° 1 porte sur la détermination précise des spectres des sources qui seront utilisées pour les mesures globales: convertisseur ( 14 meV - fission ) nu et derrière des écrans de graphite ou de polythène.

Il importe également de déterminer avec précision les réponses des sphères aux bornes de l'intervalle 0,4 eV - 5 keV. Ceci a été fait, en 1970, pour les énergies supérieures à 5 keV. Le projet n° 2 concerne les mesures et les calculs effectués au niveau thermique. Des mesures sont en cours pour l'énergie 0,4 eV.

Enfin, le projet n° 3 anticipe sur les études prévues au contrat, concernant le développement d'appareils de mesure des fluences de neutrons utilisables en routine. La détermination des courbes de réponse a été entreprise pour les sphères équipées de compteurs à hélium 3. Les résultats sont donnés pour une première bande d'énergies. Le compteur à  $^3\text{He}$ , moins fragile que le cristal d'iodure de lithium, moins sensible au rayonnement gamma, se révèle d'un meilleur rendement pour les neutrons.

B

Projet N° 1

Titre : Détermination expérimentale de spectres de neutrons dans la gamme d'énergies 10 keV - 6 MeV.

Noms des chercheurs : G. BENEZECH, M. BROSSON, R. VENTRE

Description des résultats :

Pour préciser la réponse des sphères de BONNER pour les neutrons d'énergie intermédiaire, il est envisagé des mesures auprès de sources dont le spectre aura été déterminé avec une précision satisfaisante. La source retenue est le convertisseur ( 14 MeV - fission ) de la station STIRCA, avec les trois configurations suivantes :

- 1 - convertisseur nu
- 2 - convertisseur avec écran de 30 cm de graphite
- 3 - convertisseur avec écran de 5 cm de polythène

Pour la détermination précise des spectres de ces sources, on a utilisé une méthode mise au point par le S.E.C.P.R. Cadarache [1] basée sur la détection par protons de recul dans un compteur proportionnel à remplissage de méthane :

- un neutron incident diffusé par les noyaux d'hydrogène du méthane engendre un proton qui, par ionisation, donne, à la sortie du compteur une impulsion électrique proportionnelle à l'énergie du proton. Ainsi, à un spectre de neutrons incidents correspond un spectre d'impulsions dues aux protons dont la forme est fonction du spectre des neutrons. Dans la gamme d'énergies 10 keV - 50 keV, le compteur est perturbé par l'influence des rayonnements gamma parasites. Les impulsions dues à ces derniers sont discriminées à l'aide d'un système électronique d'après leur temps de montée qui est différent de celui des impulsions dues aux protons.

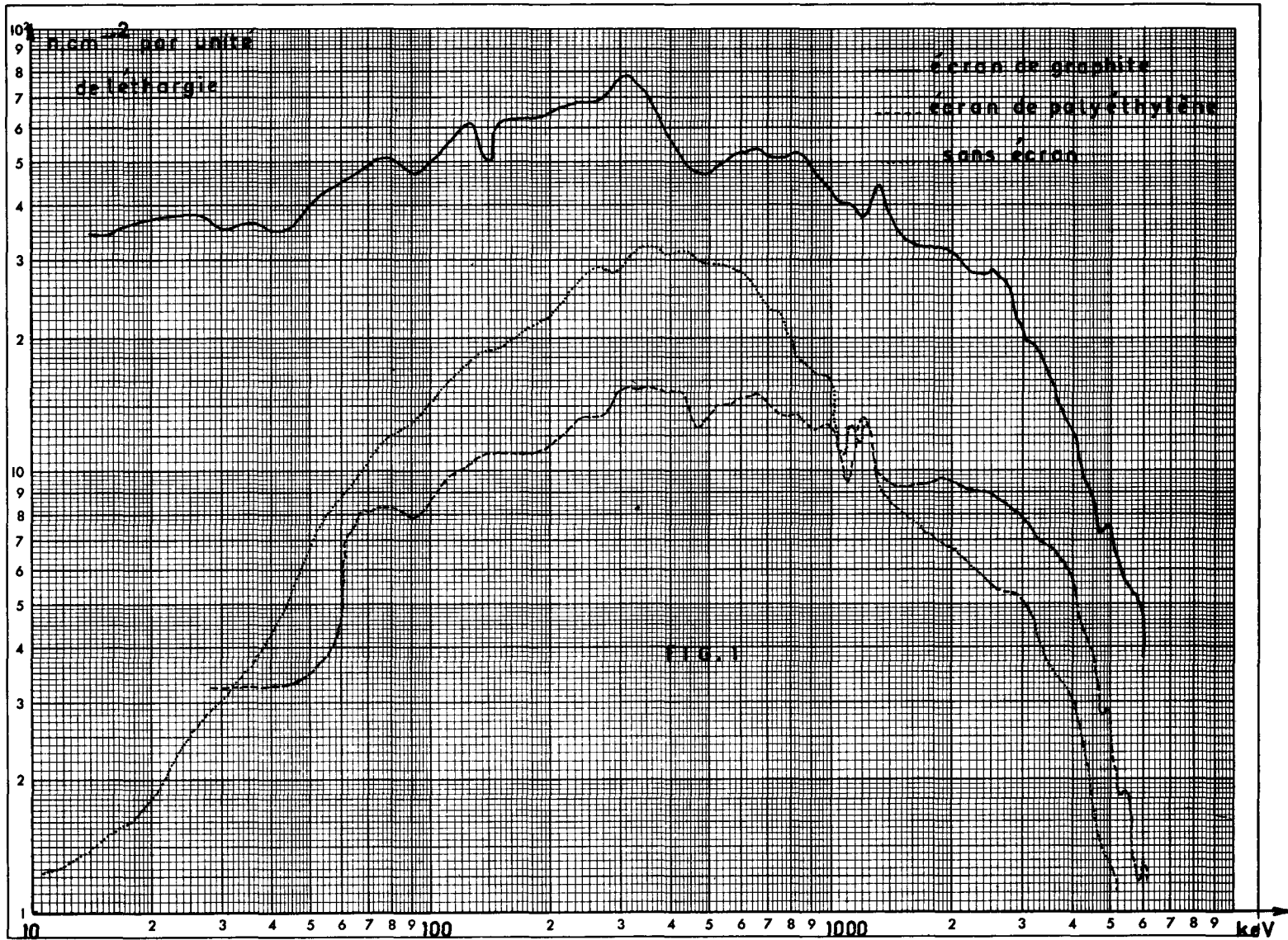
La résolution des spectres obtenus par cette méthode est de 15 à 20 % à 10 keV et de l'ordre de 12 % aux énergies supérieures.

La figure 1 donne les spectres obtenus pour les trois configurations de sources étudiées.

[1] A. LERIDON, R. WERZ, C. JEANDIDIER, D. CALAMAND, A. P. SCHMITT, R. COMTE  
Spectrométrie par compteurs proportionnels à protons de recul.

Note technique SECPR 71 / 155





Projet N° 2Titre : Réponse des sphères de BONNER aux neutrons thermiquesNom des chercheurs : J. LAMBERIEUX - D. EYMERYDescription des résultats

Les sphères sont équipées selon la façon décrite par BONNER : cristal scintillateur à l'iodure de lithium ( $\phi = 4\text{mm}$ ,  $H = 4\text{mm}$ ), guide de lumière en plexiglass ( $\phi = 18\text{mm}$ ,  $L = 195\text{mm}$ ). Leur réponse aux neutrons thermiques a été étudiée par voie théorique et expérimentale.

THEORIE : On utilise la théorie de la diffusion simple.

Le champ neutronique correspondant au flux  $\phi$  dans lequel est plongée la sphère est représenté par une source coquille collée à la sphère de rayon  $R$ , et émettant, sur chaque face, un courant  $J = \frac{\phi}{4}$  ;

Le détecteur cylindrique central est remplacé par une sphère de rayon  $2,3\text{mm}$ . Ce détecteur est supposé parfaitement noir aux neutrons thermiques.

Si  $L_0$  est la longueur de diffusion thermique du polythène, on a :

$$\nabla^2 \phi - \phi/L_0^2 = 0$$

avec les deux conditions aux limites :

- courant rentrant dans la sphère pour  $r = R$  :  $J$

- courant rentrant dans la sphère pour  $r = 2,3\text{ mm}$  :  $0$

En adoptant, pour les constantes thermiques du polythène, les valeurs :

$$L_0 = 22\text{ mm} \qquad \lambda_{tr} = 3,5\text{ mm}$$

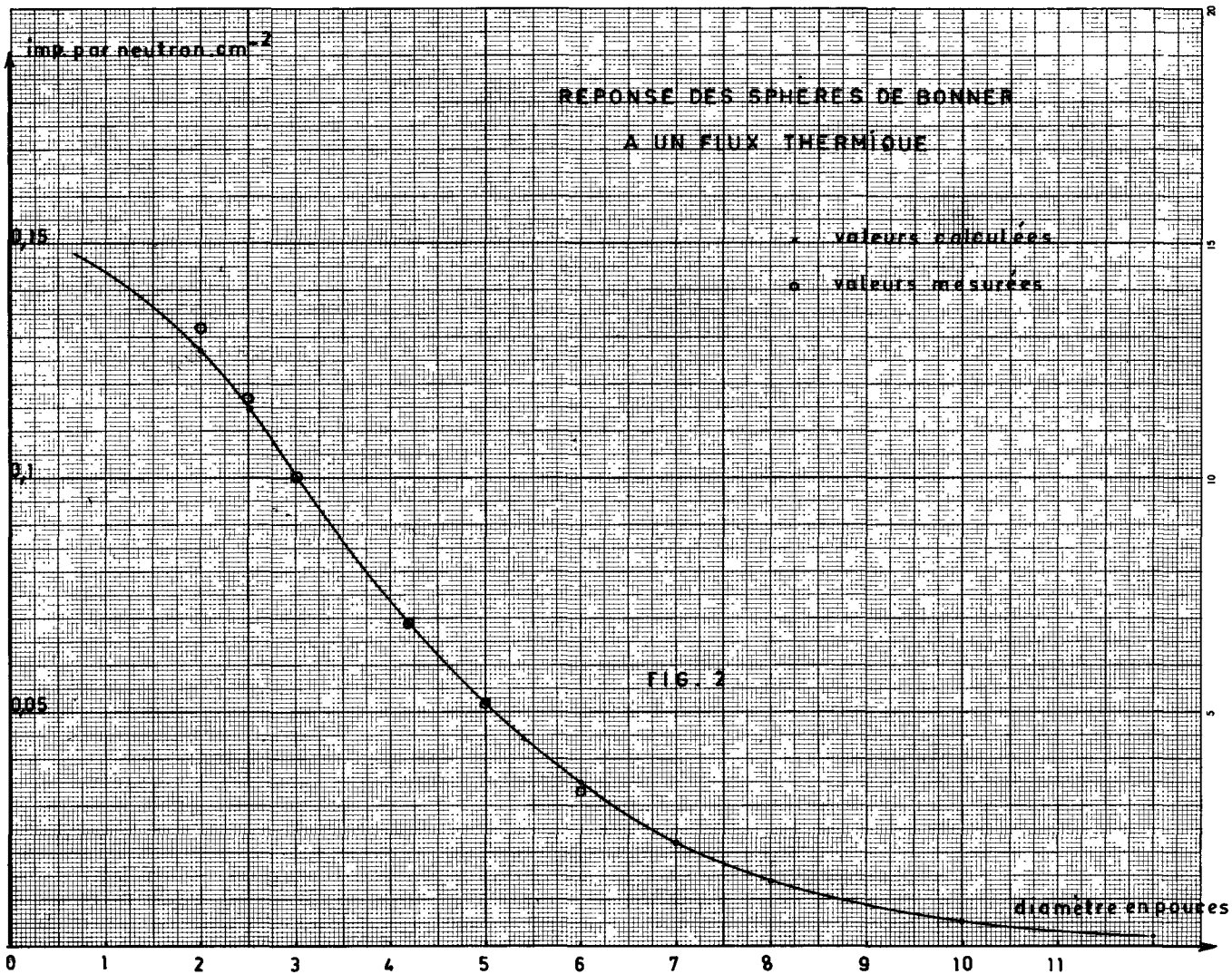
on obtient, pour le rendement en impulsion par  $\text{n.cm}^{-2}$ , la formule :

$$\eta = \frac{0,0765 R}{s^h (R/L_0 + 0,0549)} \qquad R \text{ et } L_0 \text{ en cm}$$

La figure 2 donne le rendement calculé en fonction du diamètre.

EXPERIMENTATION : Les mesures ont été faites à 30 cm de la face avant de l'empilement graphite SIGMA. Le flux thermique mesuré en ce point est :  $2300 \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1} \pm 6,6\%$ . Les sphères ont été irradiées successivement nues et sous cadmium. Le spectre des  $\alpha$  produits par réaction ( $n, \alpha$ ) sur le lithium était relevé sur analyseur 400 canaux. Le nombre d'impulsions enregistré pour chaque sphère était de l'ordre de  $10^5$ . La différence entre le comptage de la sphère nue et celui de la sphère sous cadmium de 0,7 mm d'épaisseur était pris comme réponse aux neutrons thermiques.

Les résultats obtenus pour un certain nombre de diamètres de sphères sont portés sur la figure 2. La concordance avec les valeurs calculées est satisfaisante.



B

Projet N° 3

Titre : Réponse d'un compteur à hélium 3 sous sphère modératrice, pour les énergies de 100 à 600 keV

Noms des chercheurs : Mme M. DOLIAS, D. EYMERY

Description des résultats :

Le compteur à hélium 3 utilisé est le compteur LCT 04NH 1/1, de longueur utile 10 mm et de diamètre intérieur 8,5 mm. Le gaz de remplissage est un mélange d'hélium 3 ( pression : 8 bars ) et de krypton ( pression : 2 bars ).

L'étalonnage a été fait selon la technique définie par BONNER pour les cristaux d'iodure de lithium :

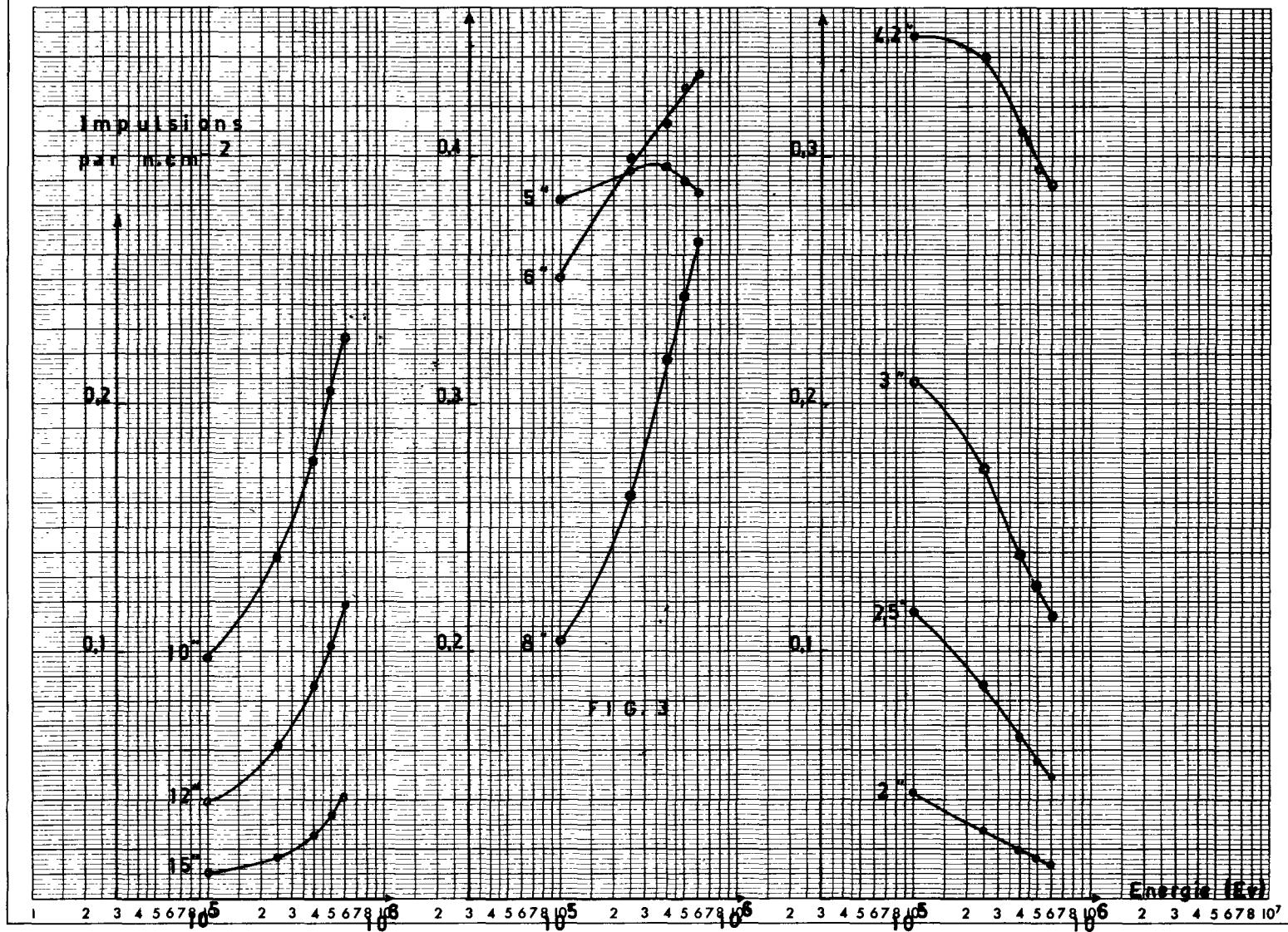
- source Am-Be de 1 Ci (  $2,62 \cdot 10^6 \text{ n.s}^{-1} \pm 3\%$  )
  - point de mesure : à 40 cm de la source et à 1,5 m du sol.
- Le flux en ce point est de  $130 \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

Le tableau ci-dessous donne les étalonnages respectifs  $^3\text{He}$  et ILi en impulsion / neutron.cm<sup>-2</sup>.

| Diamètres             | 8"    | 10"   | 12"   |
|-----------------------|-------|-------|-------|
| Réponse ILi           | 0,213 | 0,210 | 0,186 |
| Réponse $^3\text{He}$ | 0,369 | 0,354 | 0,303 |

La mesure des réponses en neutrons monoénergétiques a été faite au Van de Graaff du Centre de Cadarache, pour des énergies allant de 100 keV à 600 keV.

La figure 3 présente les résultats obtenus pour les sphères de diamètre 2", 2,5", 3", 4,2", 5", 6", 8", 10", 12" et 15". Si l'on compare avec les données obtenues en 1970 pour l'iodure de lithium, on constate que l'allure générale des courbes de réponse, dans cette gamme d'énergie reste la même. La sensibilité, par contre, est approximativement deux fois plus grande pour les sphères équipées du compteur à hélium.





FORSCHUNGSVERTRAG

zwischen

DER EUROPÄISCHEN ATOMGEMEINSCHAFT

und der

Kernforschungsanlage Jülich

Vertrag Nr. 053-70-1 PSTC

Untersuchungen zur Personendosimetrie

31. Dezember 1971

Jahresbericht 1971

## Arbeitsschema

1. Einleitung
2. Mathematische Methoden
  - 2.1 Berechnete Empfindlichkeit von Detektoren nach Bonner
  - 2.2 Programm zur Berechnung eines neuen Streupunktes beim Neutronentransport in Kugelmoderatoren
  - 2.3 Programm für die relativistische Berechnung der elastischen Neutronenstreuung
3. Experimentelle Untersuchung der Detektoren nach Bonner
  - 3.1 Bisherige Meß- und Rechenergebnisse zur Beeinflussung der Empfindlichkeit
  - 3.2 Messung der Empfindlichkeitsänderung Bonnerscher Detektoren durch den Lichtleiter
  - 3.3 Empfindlichkeitsbeeinflussung durch die Art des Szintillators
4. Spaltfragmentdosimetrie
  - 4.1 Herstellung dünner Thoriumschichten
  - 4.2 Aufbau der Spaltfragmentdosimeter
  - 4.3 Erfahrungen mit großflächigen Spaltfragmentdosimetern
5. Literaturverzeichnis
6. Abbildungen



## 1. Einleitung

Im Jahre 1971 wurden im Rahmen des Vertrages folgende Arbeiten durchgeführt:

- a) Auf dem Gebiet der Moderation schneller Neutronen in Polyäthylenkugeln wurde eine vollständige Matrix der Responsewerte errechnet. Innerhalb der Weiterführung der Arbeiten wurden 2 Unterprogramme geschaffen, welche Streuprozesse in geschichteten Kugeln bzw. in relativistischer Genauigkeit für sehr hohe Energien berechnen (Abschnitt 2).
- b) Die Experimente zum systematischen Untersuchen der Detektoren nach Bonner wurden teilweise zurückgestellt zugunsten der Herstellung geeigneter Spaltfragmentdosimeter. Es wurden nur einige Messungen der Empfindlichkeitsbeeinflussung Bonnerscher Detektoren durch den Lichtleiter und die Art des Detektors im Moderatormittelpunkt durchgeführt. In einer Literaturstudie wurde das bisher vorliegende Material über Abwandlung Bonnerscher Detektoren und die dabei festgestellten Empfindlichkeitsänderungen zusammengestellt (Abschnitt 3).
- c) Für die Spaltfragmentdosimetrie wurde ein geeignetes Verfahren zur elektrolytischen Herstellung großflächiger Dosimeter mit Thorium gefunden. Es wurden etwa 30 Dosimeter gleicher Empfindlichkeit hergestellt. Mit der Erprobung der Spaltfragmentdosimeter im praktischen Einsatz und dem Vergleich mit Kernspurfilmern wurden begonnen (Abschnitt 4).

## 2. Mathematische Methoden

### 2.1 Berechnete Empfindlichkeit von Detektoren nach Bonner

Der unter dem Forschungsvertrag O24-65-11 PST D (1) entwickelte Programmzyklus zur Berechnung der Moderation schneller Neutronen in Polyäthylenkugeln wurde benutzt,

eine vollständige Matrix der Empfindlichkeiten zu berechnen. An Stellen größerer Krümmung der Kurven wurden zusätzlich Werte bestimmt. Diese Matrix ist in Tabelle 1 wiedergegeben und in Abb. 1 aufgezeichnet. Abb. 2 zeigt einen Vergleich der Ergebnisse mit denen von Awshalom (2) bzw. Hansen und Sandmeier (3). Es zeigen sich große Differenzen bei sehr kleinen Energien, wo die neu errechneten Werte schneller in der Empfindlichkeit abnehmen als die älteren. Dies wird darauf zurückgeführt, daß wir nicht mit einer elementaren Diffusionstheorie, sondern nach der Yvonschen Methode mit einer Entwicklung des Neutronenflußterms nach Kugelfunktionen bis zum n-ten Glied gerechnet haben. Die elementare Diffusionstheorie liefert bekanntlich immer dann unzuverlässige Ergebnisse, wenn für Aufpunkte gerechnet wird, die weniger als die Diffusionslänge von der nächsten Unstetigkeitsstelle entfernt sind. Mit einer Diffusionslänge von  $L = 2,54$  cm sind die Voraussetzungen für die Anwendung der elementaren Diffusionstheorie schon für Kugeln von 2" bzw. 3" Durchmesser nicht mehr erfüllt, eine strenge Rechnung ist den üblichen Korrekturen mit der Extrapolationslänge vorzuziehen.

Die Rechenergebnisse zeigen, daß erst recht mit Unstetigkeitseinflüssen zu rechnen ist, wenn man die durch Meßabsorber (He 3 Zählrohre großen Volumens) bedingten Unstetigkeiten berücksichtigen kann.

Es ist begonnen worden, den vorhandenen Rechenprogrammzyklus so umzustellen, daß er auch starke materielle und räumliche Unstetigkeiten verarbeiten kann.

Tabelle 1: Empfindlichkeit Bonnerscher Detektoren als Ergebnis einer P 5-Rechnung  
Moderatorkugeldurchmesser in Zoll

| E [eV]                | 2"      | 3"      | 4"      | 5"    | 7"    | 8"      | 10"     | 11,5" | 12"    |
|-----------------------|---------|---------|---------|-------|-------|---------|---------|-------|--------|
| 1                     | 1.18441 | 0.89811 | 0.67101 | 0.52  | 0.195 | 0.16429 | 0.07812 | 0.03  | 0.0326 |
| 4                     | 1.69518 |         |         |       |       |         |         |       |        |
| 10                    | 1.78530 | 1.68445 | 1.24391 | 0.94  | 0.40  | 0.29961 | 0.13401 | 0.066 | 0.0542 |
| 40                    | 1.62430 | 1.66313 | 1.47947 |       | 0.486 | 0.41124 | 0.15597 | 0.079 | 0.0620 |
| 63                    |         | 1.76127 |         |       |       |         |         |       |        |
| 100                   | 1.56838 | 1.76047 | 1.57835 | 1.16  | 0.534 |         | 0.16999 | 0.079 | 0.0657 |
| 160                   |         | 1.76291 |         |       |       |         |         |       |        |
| 400                   | 1.27203 | 1.74922 | 1.60953 | 1.24  | 0.591 | 0.40684 | 0.18777 | 0.101 | 0.0748 |
| 10 <sup>3</sup>       | 1.15792 | 1.62200 | 1.57588 | 1.22  | 0.647 | 0.45453 | 0.20194 | 0.097 | 0.0823 |
| 1,6 · 10 <sup>3</sup> |         |         |         |       |       |         |         | 0.111 |        |
| 2,5 · 10 <sup>3</sup> |         |         |         |       |       |         |         | 0.117 |        |
| 4 · 10 <sup>3</sup>   | 0.87768 | 1.59808 | 1.58060 | 1.36  | 0.678 | 0.49698 | 0.22207 | 0.108 | 0.0881 |
| 6,3                   |         |         |         |       |       |         |         | 0.125 |        |
| 10 <sup>4</sup>       | 0.74842 | 1.46274 | 1.52802 | 1.38  | 0,727 | 0.55879 | 0.24628 | 0.115 | 0.0960 |
| 1,6 · 10 <sup>4</sup> |         |         |         |       |       |         |         | 0.124 |        |
| 2,5 · 10 <sup>4</sup> |         |         |         |       |       |         |         | 0.145 |        |
| 4 · 10 <sup>4</sup>   | 0.64104 | 1.21414 | 1.50897 | 1.42  | 0.880 | 0.65444 | 0.28543 | 0.140 | 0.1166 |
| 6,3 · 10 <sup>4</sup> |         |         |         |       |       |         |         | 0.187 |        |
| 10 <sup>5</sup>       | 0.44002 | 1.12359 | 1.58976 | 1.6   | 1.05  | 0.80142 | 0.37593 | 0.181 | 0.1469 |
| 1,6 · 10 <sup>5</sup> |         |         |         |       |       |         |         | 0.215 |        |
| 2,5 · 10 <sup>5</sup> |         |         |         |       |       |         |         | 0.270 |        |
| 4 · 10 <sup>5</sup>   | 0.22486 | 0.74128 | 1.45065 | 1.65  | 1.53  | 1.16234 | 0.66301 | 0.393 | 0.3150 |
| 6,3 · 10 <sup>5</sup> |         |         |         |       | 1.58  | 1.41913 |         | 0.489 |        |
| 10 <sup>6</sup>       | 0.12757 | 0.51495 | 1.03944 | 1.39  | 1.70  | 1.63884 | 1.17891 | 0.760 | 0.6854 |
| 1,6 · 10 <sup>6</sup> |         |         |         |       | 1.64  | 1.67297 | 1.36951 | 1.016 |        |
| 2,5 · 10 <sup>6</sup> | 0.04836 | 0.26999 | 0.59746 | 0.95  | 1,45  | 1.50433 | 1.54890 | 1.238 | 1.0036 |
| 4 · 10 <sup>6</sup>   | 0.02429 | 0.11896 | 0.41313 | 0.69  | 1.06  | 1.30900 | 1.49566 | 1.245 | 1.1500 |
| 6,3 · 10 <sup>6</sup> |         |         |         | 0.49  |       |         |         | 1.172 | 1.1733 |
| 10 <sup>7</sup>       | 0.00795 | 0.05126 | 0.14483 | 0.32  | 0.620 | 0.81178 | 1.11317 | 1.087 | 1.2103 |
| 1,6 · 10 <sup>7</sup> |         |         |         |       |       |         |         | 0.829 |        |
| 2,5 · 10 <sup>7</sup> |         |         |         |       |       |         |         | 0.486 |        |
| 4 · 10 <sup>7</sup>   | 0.00029 | 0.00387 | 0.01732 | 0.053 | 0.124 | 0.17513 | 0.21269 | 0,281 | 0.3865 |
| 6,3 · 10 <sup>7</sup> |         |         |         |       |       |         |         | 0.114 |        |
| 10 <sup>8</sup>       |         | 0.00056 |         | 0.008 | 0,024 | 0.06188 | 0.07930 | 0.070 |        |

## 2.2 Programm zur Berechnung eines neuen Streupunktes beim Neutronentransport in Kugelmoderatoren

Um räumliche Unstetigkeiten erfassen zu können, wurde ein Unterprogramm geschrieben, welches neue Streupunkte in einer geschichteten Kugel errechnet.

Gegeben sei eine Kugel, die aus mehreren (z.B. M) konzentrischen Schalen mit dem jeweils inneren Radius RA (M) und in einem Material der freien Weglänge FW (M) aufgebaut sei, vgl. Abb. 3. Es sei ferner R der Radius des letzten Streupunktes und W die Richtung der Neutronenbahn gegeben. Dann soll das Programm den neuen Endpunkt R', der durch die freien Weglängen der Materialien gegeben ist, suchen. Das Problem dabei ist, buchzuführen, in welchem Material das Neutron sich gerade befindet, wo es hinstrebt, und wieviel seiner freien Weglänge jeweils aufgebraucht ist.

M ist der Parameter des Materials, N = 1 oder - 1 gibt an, ob das Neutron nach außen oder innen fliegt.

Im Programm ist GA (vgl. Abb. 4) der Weg des Neutrons bis zu der Stelle, wo es dem Mittelpunkt der Kugel am nächsten ist. DA ist die halbe Sekante, sodaß

$$A = GA \pm DA$$

jeweils der Abschnitt bis zur Schnittstelle mit dem zu betrachtenden Schalenradius ist. G ist die kontrollierte freie Weglänge des Neutrons. Wenn  $A > G$  gilt, ist der Endpunkt der Neutronenbahn gefunden und der neue Radius R' ist mit

$$R' = \sqrt{G^2 + R^2 + 2 RGW}$$

gefunden.

Das Programm ist ausgetestet und enthält noch alle Testausgaben. Es soll als Unterprogramm im Rahmen eines erweiterten Kugelmoderatorprogramms verwendet werden.

Programm zur Berechnung eines neuen Streupunktes

```

REAL RA(7) /0.0,1.0,5.0,5.1,10.0,15.0,100.0/
REAL FW(6) /5.0,7.0,0.5,8.0,6.0,9.0/
NAMELIST /DATA/ R,W,IX,M
100 FORMAT(' ',I10,F10.2)
101 FORMAT(' ',I10,5F10.2)
102 FORMAT(' -----'/' WINKEL ',I5,5X,2F10.2)
103 FORMAT(' EINGANG',I5,I5,2F10.5)
105 FORMAT(' EXIT', ' W = ',F10.2/' *****'///)
106 FORIAT(' ',I10X,2F10.4)
R=12.0
W=-0.9
WT=-1.0
M=5
IX=35567
1 IF(IX.NE.35567)WRITE(6,105) W
READ(5,DATA)
IF(I.LT.0) STOP
2 CALL RANDU1(IX,IY,Z)
G=-FW(M)*ALOG(Z)
A=0.0
3 IF(W.LT.0.0)WT=-SQRT((R**2-RA(M)**2)/R/R)
N=-1
IF(W.GT.WT) N=+1
IF(M.GT.5.AND.N.EQ.1) GO TO 1
4 WRITE(6,103) M,N,W,WT
WW=180.0/3.14*ARCOS(W)
WWT=180.0/3.14*ARCOS(WT)
WRITE(6,106) W,WWT
GA=-R*W
MZ=M
IF(N.EQ.1)MZ=M+1
DA=SQRT(GA*GA+RA(MZ)*RA(MZ)-R*R)
A=GA+N*DA
WRITE(6,101) N,G,A,GA,DA,R
IF(A.GT.G) GO TO 5
MN=M+N
G=A+(G-A)*FW(MN)/FW(M)
M=M+N
IF(N.EQ.1) GO TO 4
GO TO 3
5 CALL RANDU1(IX,IY,Z)
R=SQRT(G*G+R*R+2.0*R*G*W)
W=2.0*Z-1.0
WRITE(6,102) M,R,W
GO TO 2
END

```

2 Beispiele mit Berechnung eines neuen Streupunktes

|          |   |    |          |          |       |       |       |
|----------|---|----|----------|----------|-------|-------|-------|
| EINGANG  | 5 | -1 | -0.90000 | -0.55277 |       |       |       |
|          |   |    | 154.2363 | 123.6200 |       |       |       |
|          |   | -1 | 14.76    | 2.28     | 10.80 | 8.52  | 12.00 |
| EINGANG  | 4 | 1  | -0.90000 | -0.90519 |       |       |       |
|          |   |    | 154.2363 | 154.9279 |       |       |       |
|          |   | 1  | 18.92    | 19.32    | 10.80 | 8.52  | 12.00 |
| -----    |   |    |          |          |       |       |       |
| WINKEL   | 4 |    | 9.66     | 0.03     |       |       |       |
| EINGANG  | 4 | 1  | 0.02532  | -0.90519 |       |       |       |
|          |   |    | 88.5939  | 154.9279 |       |       |       |
|          |   | 1  | 9.45     | 2.36     | -0.24 | 2.61  | 9.66  |
| EINGANG  | 5 | 1  | 0.02532  | -0.90519 |       |       |       |
|          |   |    | 88.5939  | 154.9279 |       |       |       |
|          |   | 1  | 7.68     | 11.24    | -0.24 | 11.48 | 9.66  |
| -----    |   |    |          |          |       |       |       |
| WINKEL   | 5 |    | 12.49    | -0.55    |       |       |       |
| EINGANG  | 5 | 1  | -0.54688 | -0.59920 |       |       |       |
|          |   |    | 123.2155 | 126.8767 |       |       |       |
|          |   | 1  | 3.08     | 17.58    | 6.83  | 10.75 | 12.49 |
| -----    |   |    |          |          |       |       |       |
| WINKEL   | 5 |    | 11.11    | 0.11     |       |       |       |
| EINGANG  | 5 | 1  | 0.10508  | -0.59920 |       |       |       |
|          |   |    | 84.0108  | 126.8767 |       |       |       |
|          |   | 1  | 0.45     | 8.98     | -1.17 | 10.15 | 11.11 |
| -----    |   |    |          |          |       |       |       |
| WINKEL   | 5 |    | 11.17    | 0.19     |       |       |       |
| EINGANG  | 5 | 1  | 0.13852  | -0.59920 |       |       |       |
|          |   |    | 79.1737  | 126.8767 |       |       |       |
|          |   | 1  | 9.23     | 8.13     | -2.11 | 10.23 | 11.17 |
| EINGANG  | 6 | 1  | 0.13852  | -0.59920 |       |       |       |
|          |   |    | 79.1737  | 126.8767 |       |       |       |
|          |   | 1  | 9.77     | 97.29    | -2.11 | 99.40 | 11.17 |
| -----    |   |    |          |          |       |       |       |
| WINKEL   | 6 |    | 16.17    | 0.88     |       |       |       |
| EXIT W = |   |    | 0.88     |          |       |       |       |
| *****    |   |    |          |          |       |       |       |

|          |   |    |          |          |       |       |       |
|----------|---|----|----------|----------|-------|-------|-------|
| EINGANG  | 3 | -1 | -0.64275 | -0.14037 |       |       |       |
|          |   |    | 130.0632 | 98.1190  |       |       |       |
|          |   | -1 | 0.33     | 0.08     | 3.25  | 3.17  | 5.05  |
| EINGANG  | 2 | 1  | -0.64275 | -0.98020 |       |       |       |
|          |   |    | 130.0632 | 168.6643 |       |       |       |
|          |   | 1  | 3.59     | 6.41     | 3.25  | 3.17  | 5.05  |
| -----    |   |    |          |          |       |       |       |
| WINKEL   | 2 |    | 3.88     | -0.16    |       |       |       |
| EINGANG  | 2 | 1  | -0.16453 | -0.96629 |       |       |       |
|          |   |    | 99.5206  | 165.1642 |       |       |       |
|          |   | 1  | 1.15     | 3.85     | 0.64  | 3.21  | 3.88  |
| -----    |   |    |          |          |       |       |       |
| WINKEL   | 2 |    | 3.87     | -0.34    |       |       |       |
| EINGANG  | 2 | 1  | -0.34224 | -0.96596 |       |       |       |
|          |   |    | 110.0695 | 165.0909 |       |       |       |
|          |   | 1  | 7.54     | 4.76     | 1.32  | 3.44  | 3.87  |
| EINGANG  | 3 | 1  | -0.34224 | -0.96596 |       |       |       |
|          |   |    | 110.0695 | 165.0909 |       |       |       |
|          |   | 1  | 4.96     | 4.90     | 1.32  | 3.58  | 3.87  |
| EINGANG  | 4 | 1  | -0.34224 | -0.96596 |       |       |       |
|          |   |    | 110.0695 | 165.0909 |       |       |       |
|          |   | 1  | 5.78     | 10.64    | 1.32  | 9.32  | 3.87  |
| -----    |   |    |          |          |       |       |       |
| WINKEL   | 4 |    | 5.75     | -0.83    |       |       |       |
| EINGANG  | 4 | -1 | -0.83325 | -0.46139 |       |       |       |
|          |   |    | 146.5079 | 117.5367 |       |       |       |
|          |   | -1 | 6.65     | 0.80     | 4.79  | 3.99  | 5.75  |
| EINGANG  | 3 | -1 | -0.83325 | -0.49340 |       |       |       |
|          |   |    | 146.5079 | 119.6252 |       |       |       |
|          |   | -1 | 1.17     | 0.93     | 4.79  | 3.86  | 5.75  |
| EINGANG  | 2 | 1  | -0.83325 | -0.98475 |       |       |       |
|          |   |    | 146.5079 | 170.0680 |       |       |       |
|          |   | 1  | 4.25     | 8.65     | 4.79  | 3.86  | 5.75  |
| -----    |   |    |          |          |       |       |       |
| WINKEL   | 2 |    | 3.22     | 0.72     |       |       |       |
| EINGANG  | 2 | 1  | 0.72332  | -0.98475 |       |       |       |
|          |   |    | 43.6931  | 170.0680 |       |       |       |
|          |   | 1  | 9.65     | 2.14     | -2.33 | 4.48  | 3.22  |
| EINGANG  | 3 | 1  | 0.72332  | -0.98475 |       |       |       |
|          |   |    | 43.6931  | 170.0680 |       |       |       |
|          |   | 1  | 2.68     | 2.26     | -2.33 | 4.59  | 3.22  |
| EINGANG  | 4 | 1  | 0.72332  | -0.98475 |       |       |       |
|          |   |    | 43.6931  | 170.0680 |       |       |       |
|          |   | 1  | 9.05     | 7.42     | -2.33 | 9.75  | 3.22  |
| EINGANG  | 5 | 1  | 0.72332  | -0.98475 |       |       |       |
|          |   |    | 43.6931  | 170.0680 |       |       |       |
|          |   | 1  | 8.64     | 12.50    | -2.33 | 14.83 | 3.22  |
| -----    |   |    |          |          |       |       |       |
| WINKEL   | 5 |    | 11.20    | 0.51     |       |       |       |
| EINGANG  | 5 | 1  | 0.51266  | -0.98475 |       |       |       |
|          |   |    | 59.1885  | 170.0680 |       |       |       |
|          |   | 1  | 7.83     | 5.77     | -5.74 | 11.51 | 11.20 |
| EINGANG  | 6 | 1  | 0.51266  | -0.98475 |       |       |       |
|          |   |    | 59.1885  | 170.0680 |       |       |       |
|          |   | 1  | 8.86     | 93.80    | -5.74 | 99.54 | 11.20 |
| -----    |   |    |          |          |       |       |       |
| WINKEL   | 6 |    | 17.48    | 0.64     |       |       |       |
| EXIT W = |   |    | 0.64     |          |       |       |       |

\*\*\*\*\*

## 2.3 Programm für die relativistische Berechnung der elastischen Neutronenstreuung

Die elastische Streuung wurde neu durchdacht, und im Hinblick auf relativistische Energien ( $> 10$  MeV) wurde ein Streuprogramm geschrieben.

### 2.3.1 Beschreibung des Neutrons

Bei einer elastischen Neutronenstreuung bleibt die Summe der kinetischen Energien der stoßenden Teilchen erhalten, mit anderen Worten: Es wird keine Bewegungsenergie in Anregungsenergie umgesetzt. Im klassischen Bild wird die elastische Streuung durch die Erhaltung des Impulsvektors und der Energie beschrieben, die beide für sich erhalten bleiben. Im relativistischen Bild wird z.B. ein Neutron mit dem Impuls  $\vec{p} = m \cdot \vec{v}$  und der Energie  $E$  beschrieben durch einen Vierervektor

$$(p_1, p_2, p_3, i\frac{E}{c}) \quad (1)$$

dessen Betrag

$$p^2 - \frac{E^2}{c^2} = -m^2 c^2 \quad (2)$$

(Einsteinsche Gleichung) bei unitären Transformationen erhalten bleibt.  $m$  ist hierin die Ruhemasse des Teilchens,  $c$  die Lichtgeschwindigkeit, die Invariante ist also die Energie des ruhenden Teilchens. Wir rechnen mit den nuklearen Einheiten  $m = 1$ ,  $c = 1$ , und schreiben für Gleichung (1):

$$(\beta_1 \eta, \beta_2 \eta, \beta_3 \eta, i\eta) \quad (3)$$

Die Invariante dieses Vektor ist mit  $\beta^2 = \beta_1^2 + \beta_2^2 + \beta_3^2$

$$\beta^2 \eta^2 - \eta^2 = -1 \quad (4)$$

oder

$$\eta = \frac{1}{\sqrt{1-\beta^2}}$$



$\beta$  ist die Geschwindigkeit in Einheiten der Lichtgeschwindigkeit ( $\beta = \frac{v}{c}$ );  $\eta$  ist dann die relativistische Korrektur der Masse ( $m = \frac{m_0}{\sqrt{1-\beta^2}}$ ), wie sie in den Impuls eingeht.

$E$  ist hier die Gesamtenergie einschließlich der Ruheenergie. Die kinetische Energie der klassischen Physik erhält man durch Abzug der Ruheenergie, also

$$E_{\text{kin}} = \eta - 1 \quad (5)$$

in Einheiten  $mc^2$ , also

$$E_{\text{kin}} = mc^2 \left( \frac{1}{\sqrt{1-\beta^2}} - 1 \right) \sim \frac{1}{2} mv^2 \quad (6)$$

die Einheit  $mc^2$  besitzt den Wert 939 MeV für die Ruheenergie des Neutrons.

### 2.3.2 Der Streuprozeß

Die elastische Streuung der Neutronen ist im Schwerpunktsystem isotrop. Um sie in einem Monte-Carlo-Programm darzustellen, muß man den Vierervektor des Neutrons (3) zuerst ins Schwerpunktsystem transformieren, eine gleichwahrscheinliche Raumdrehung anwenden, und den Vektor ins Laborsystem zurücktransformieren. Dadurch ist der elastische Streuprozeß vollständig beschrieben.

Der Tensor für die Transformation ist

$$T_{\mu\nu} = \begin{vmatrix} \delta_{mn} + \frac{\beta_m \beta_n}{\beta^2} (\eta - 1) & i\eta \vec{\beta} \\ -i\eta \vec{\beta} & \eta \end{vmatrix} \quad (7)$$

$\mu, \nu = 1, 4$   
 $m, n = 1, 3$

worin  $\beta_m$  die Relativgeschwindigkeit des Neutrons im Schwerpunktsystem ist. Das Gleichungssystem (6) kann man ableiten, indem man den Tensor aus fünf Einzeltensoren zusammensetzt. Diese stellen zwei Raumdrehungen in die Flugrichtung dar, eine Geschwindigkeitstransformation auf das Schwerpunktsystem, und zwei Rückdrehungen in die ursprüngliche Richtung. Ist M die Masse des stoßenden Kernes, so wird der Vektor der Relativgeschwindigkeit  $\vec{\beta}$  gefunden aus der Gleichung

$$\begin{pmatrix} \vec{\beta}_\eta \\ i\eta \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 0 \\ iM\eta \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \vec{\beta} \bar{\eta} \\ i\bar{\eta} \end{pmatrix}$$

$$\vec{\beta} = \vec{\beta} \frac{\eta}{M+\eta}$$

und  $\bar{\eta}$  folgt aus der Normierung

$$\bar{\eta}^2 (\vec{\beta}^2 - 1) = -1$$

### 2.3.3 Das Rechenprogramm

In dem vorgelegten Rechenprogramm sind verschiedene Testaufgaben vorhanden, ferner ein Vergleich mit einer klassischen Rechnung.

Zunächst wird ein Geschwindigkeitsvektor B (in Einheiten der Lichtgeschwindigkeit) eingelesen und zum vierdimensionalen Energie-Impulsvektor BT ergänzt.

Den Tensor (7)  $T_{\mu\nu}$  wird als vier-dimensionaler Bereich AT aufgebaut. Alle Vierergrößen werden formal mit einem realen Energieanteil geschrieben, die Tensorenmultiplikation wird in dem Unterprogramm REMULT durch Vorzeichenwahl richtig

ausgeführt. Die Anwendung von AT auf BT ergibt GT, den Energie-Impuls-Vektor im Schwerpunktsystem.

Im Schwerpunktsystem wird eine reine Raumdrehung durch das Unterprogramm STREU ausgeführt. Die Streuwinkel werden entweder zufallsmäßig bestimmt oder eingelesen. Das Ergebnis ist TT, der Energie-Impuls-Vektor des gestreuten Neutrons im Schwerpunktsystem. AT ist wieder der vierdimensionale Tensor für die Rückdrehung ins Laborsystem, es werden nur die Vorzeichen in den Vierergrößen geändert (Ersetzen von  $\beta$  durch  $-\beta$ ).

TE ist das Ergebnis dieser Drehung, der Energie-Impuls-Vektor im Laborsystem. Die Viererstelle dieses Vektors ergibt die Gesamtenergie ERGNEW des Neutrons.

Als Vergleich werden die reinen Raumdrehungen mit ausgedruckt. Zunächst wird die klassische Drehung im Laborsystem errechnet. Darauf folgt die Drehung im Schwerpunktsystem und das Endergebnis nach Ausführung der relativistischen Rückdrehung ins Laborsystem. ERGNEU ist hierbei die Energie des Neutrons nach dem Stoß in klassischer Rechnung.

#### 2.3.4 Ergebnisse

Es sind die Ausgaben einiger Testrechnungen im Anschluß an das Programm beigefügt.

##### A. Streuungen am Wasserstoff

Bei kleinen Neutronenenergien sieht man, wie es sein soll, keinen Unterschied zwischen klassischer und relativistischer Rechnung. Bei Energien von etwa 10 MeV machen sich relativistische Effekte bemerkbar. Es tritt eine Vorwärtsstreuung auf, die mit höheren Energien merklich wird.

##### B. Streuungen an schweren Kernen

Es tritt sowohl eine Vorwärtsstreuung als auch eine Energieverringerung, vor allem bei großen Streuwinkeln auf. Die relativistische Viererenergie bleibt dabei bei der Streuung erhalten:  $GT(4) = TT(4)$ . Der Energieverlust tritt ein als eine Folge der relativistischen Rückstreuung:  $TT \rightarrow TE$ .

Er ist so zu erklären, daß die Energieabgabe an den Streukern verstärkt ins Gewicht fällt, weil bei der relativistischen Rückdrehung dieser Kern mit einer höheren Masse ein-  
geht.

Dieses Programm soll später als ein Unterprogramm in einem erweiterten Kugelmoderatorprogramm verwendet werden.

Programm zur relativistischen Streuung und 4 Beispiele

```

REAL*8 UP(3),USP(3),UNP(3)
REAL*8 AT(4,4),BT(4),GT(4) /4*0.0D0/
REAL*8 B(3) /0.40D0,0.50D0,-0.70D0/, BN(3), WV(4), CV(4)
REAL*8 WT(4,4)/16*0.0D0/,TT(4),TE(4)
DOUBLE PRECISION REMULT
REAL*8 ETA, BE, V2, ETT, BET, VN2, VS2
IX=12345
MST=1
KST=0
MB=6
NAMELIST/DAT/B, V2, BE, ETA, ERG, MST, IX, KST, MB
NAMELIST/RUMM/ERGNEU, R, A, AS, AW, ASW, R2, DEL, C, D
NAMELIST/RITT/ERGNEU, VN2, VS2
NAMELIST/RAPP/WV, CV
33 IX=12345
READ(5, DAT)
IF(KST.GT.0) READ(5, RUMM)
IF(MST.LT.1) STOP
WRITE(MB, 116)
116 FORMAT('1TEST-RECHNUNG ZUR RELATIVISTISCHEN STREUUNG')
36 V2=B(1)**2+B(2)**2+B(3)**2
IF(V2.LT.1.0D0) GO TO 37
CALL RANDU1(IX, IY, CX)
DO 123 K=1, 3
123 B(K)=B(K)*CX
GO TO 36
37 BE=DSQRT(V2)
ETA=1.0D0/DSQRT(1.0D0-V2)
BT(1)=B(1)*ETA
BT(2)=B(2)*ETA
BT(3)=B(3)*ETA
BT(4)=ETA
ERG=939.0*(ETA-1.0D0)
WRITE(MB, DAT)
C ERZUEGUNG VON AT(4,4)
BET=BE*ETA/(MST+ETA)
ETT=1.0D0/DSQRT(1.0D0-BET**2)
DO 1 N=1, 3
DO 1 M=1, 3
AT(M,N)=B(M)*B(N)/V2*(ETT-1.0D0)
1 IF(M.EQ.N)AT(M,N)=AT(M,N)+1.0D0
DO 2 N=1, 3
AT(N,N)=B(N)/BE*BET*ETT
2 AT(N,4)=-B(N)/BE*BET*ETT
AT(4,4)=ETT
CALL REMULT(AT, BT, GT)
K=333
CALL RANDU1(IX, IY, R)
IF(KST.EQ.0) A=2.*R-1.0D0
AS=DSQRT(1.0D0-A**2)
Zael=MST**2+2*MST*A+1
ERGNEU=ERG*Zael/(MST+1)**2
AW=(1+MST*A)/SQRT(Zael)
ASW=DSQRT(1-AW**2)

```

```

CALL RANDU1(IX,IY,R2)
DEL = 6.2832*R2 - 3.1416
IF(KST.EQ.0) C=COS(DEL)
D=DSQRT(1.000-C**2)
IF(DEL.LT.0.) D= -D
DO 11 K=1,3
11 UP(K)=B(K)/BE
IF(B(3).GT.1.0E0) B(3)=1.000
WRITE(MB,RUNM)
USP(1)=ASW*C
USP(2)=ASW*D
USP(3)=AW
CALL STREU(UP,USP,UNP)
WRITE(MB,117)
WRITE(MB,105) UP,USP,UNP
ACON=UP(1)*UNP(1) + UP(2)*UNP(2) + UP(3)*UNP(3)
WS=DSQRT(GT(1)**2+GT(2)**2+GT(3)**2)
USP(1)=AS*C
USP(2)=AS*D
USP(3)=A
DO 12 K=1,3
12 UP(K)=GT(K)/WS
CALL STREU(UP,USP,UNP)
WRITE(MB,118)
WRITE(MB,106) UP,USP,UNP
DO 13 K=1,3
13 TT(K)=UNP(K)*WS
TT(4)=GT(4)
DO 4 N=1,3
AT(4,N)=-AT(4,N)
4 AT(N,4)=-AT(N,4)
CALL REMULT(AT,TT,TE)
ERGNEW=939.*(TE(4)-1.)
VN2=TE(1)**2+TE(2)**2+TE(3)**2
VS2=DSQRT(VN2)
BCON=0.0
DO 14 K=1,3
BN(K)=TE(K)/VS2
14 BCON=BCON+BN(K)*UP(K)
WRITE(MB,119)
WRITE(MB,115) BN
WRITE(MB,RITT)
WRITE(MB,101) AT

WRITE(MB,107) BT
WRITE(MB,108) GT
WRITE(MB,109) TT
WRITE(MB,110) TE
101 FORMAT(' AT : ',4G15.6/6X,4G15.6/6X,4G15.6/6X,4G15.6)
107 FORMAT(' BT : ',4G15.6)
102 FORMAT(' GT : ',4G15.6)
109 FORMAT(' TT : ',4G15.6)
110 FORMAT(' TE : ',4G15.6)
105 FORMAT(' UP : ',3F10.4/' USP : ',3F10.4/' UNP : ',3F10.4/)

```

```

115 FORMAT(' BN :',3F10.4)
117 FORMAT(' DREHUNG IN KLASSISCHER RECHNUNG, LABORSYSTEM ')
118 FORMAT(' DREHUNG IN SCHWERPUNKTSYSTEM, RELATIVISTISCH ')
119 FORMAT(' ERGEBNIS DER RELATIVISTISCHEN DREHUNG IN LABORSYSTEM ')
WV(1)=BT(1)**2+BT(2)**2+BT(3)**2-BT(4)**2
WV(3)=TT(1)**2+TT(2)**2+TT(3)**2-TT(4)**2
WV(4)=TE(1)**2+TE(2)**2+TE(3)**2-TE(4)**2
WV(2)=GT(1)**2+GT(2)**2+GT(3)**2-GT(4)**2
CV(1)=GT(1)*TT(1)+GT(2)*TT(2)+GT(3)*TT(3)
CV(2)=GT(1)**2+GT(2)**2+GT(3)**2
CV(4)=CV(1)/CV(2)
CV(3)=CV(4)**2
WRITE(MB,RAPP)
WRITE(MB,103) ACON
103 FORMAT('/' COSINUS DES STREUWINKELS '/' NACH DER KLASSISCHEN RECHNUNG:
WRITE(MB,104) BCON
104 FORMAT(' NACH DER RELATIVISTISCHEN RECHNUNG: ',F8.4) ' ',f8.4)
3 CONTINUE
IF(MST.GT.0) GO TO 33
STOP
END

```

#### SUBROUTINE REMULT(A,B,G)

```

REAL*8 A(4,4),B(4),G(4)
G(1)=A(1,1)*B(1)+A(2,1)*B(2)+A(3,1)*B(3)-A(4,1)*B(4)
G(2)=A(1,2)*B(1)+A(2,2)*B(2)+A(3,2)*B(3)-A(4,2)*B(4)
G(3)=A(1,3)*B(1)+A(2,3)*B(2)+A(3,3)*B(3)-A(4,3)*B(4)
G(4)=A(1,4)*B(1)+A(2,4)*B(2)+A(3,4)*B(3)+A(4,4)*B(4)
RETURN
END

```

#### SUBROUTINE STREU(U,US,UN)

```

REAL*8 U(3),US(3),UN(3)
IF(DABS(U(3)).GT.0.999999999) GO TO 1
RO=1.0D0/DSQRT(1.0D0-U(3)**2)
UN(1)=US(3)*U(1) + RO*(U(1)*U(3)*US(1)-U(2)*US(2))
UN(2)=US(3)*U(2) + RO*(U(2)*U(3)*US(1)+U(1)*US(2))
UN(3)=US(3)*U(3) - US(1)/RO
RETURN
1 UN(1)=US(1)
UN(2)=US(2)
UN(3)=US(3)*U(3)
RETURN
END

```

TEST-RECHNUNG ZUR RELATIVISTISCHEN STREUUNG (Wasserstoff, hohe Energie)

```

&DAT
B= 0.40, 0.30, -0.20
V2= 0.290
BE= 0.53851643071345
ETA= 1.1867816581939
ERG= 175.3880
HST= 1
IX= 12345
KST= 0
MB= 6
&END
&RUMM
ERGNEU= 66.07855
R= 0.3767567
A= -0.2464867
AS= 0.9691461
AW= 0.6138048
ASW= 0.7894579
R2= 0.2604887
DEL= -1.504397
C= 0.6585145E-01
D= -0.9978294E0
&END

```

DREHUNG IM KLASSISCHER RECHNUNG, LABORSYSTEM.

```

UP : 0.7428 0.5571 -0.3714
USP : 0.0520 -0.7877 0.6138
UNP : 0.9131 -0.2998 -0.2762

```

DREHUNG IM SCHWERPUNKTSYSTEM, RELATIVISTISCH

```

UP : 0.7428 0.5571 -0.3714
USP : 0.0638 -0.9670 -0.2465
UNP : 0.3782 -0.9252 0.0323

```

ERGEBNIS DER RELATIVISTISCHEN DREHUNG IM LABORSYSTEM

```

BH : 0.9179 -0.2794 -0.2817

```

&RITT

```

ERGNEU= 66.07858
VN2= 0.14569442890322
VS2= 0.38169939599535
&END

```

```

AT : 1.02519 0.188910D-01 -0.125940D-01 -0.226993
      0.188910D-01 1.01417 -0.944551D-02 -0.170245
      -0.125940D-01 -0.944551D-02 1.00630 0.113497
      0.226993 0.170245 -0.113497 1.04565
BT : 0.474713 0.356034 -0.237356 1.18678
GT : 0.226993 0.170245 -0.113497 1.04565
TT : 0.115571 -0.282731 0.986711D-02 1.04565
TE : 0.350373 -0.106629 -0.107534 1.07037

```

&RAPP

```

WV= -1.0, -1.0, -1.0000001582773, -1.0000001582773
CV= -0.23019591076910D-01, 0.93390829096927D-01, 0.60755660562966D-01,

```

&END

-0.24648663363957D0

COSINUS DES STREUWINKELS

```

NACH DER KLASSISCHEN RECHNUNG: 0.6138
NACH DER RELATIVISTISCHEN RECHNUNG: 0.6308

```



TEST-RECHNUNG ZUR RELATIVISTISCHEN STREUUNG (Kohlenstoff, hohe Energie)

&DAT  
 B= 0.40, 0.30, -0.20  
 V2= 0.290  
 BE= 0.53851648071345  
 ETA= 1.1867816581939  
 ERG= 175.3880  
 MST= 12  
 IX= 12345  
 KST= 0

MR= 6  
 &END  
 &RUHM  
 ERGNEU= 144.3415  
 R= 0.3767567  
 A= -0.2464867  
 AS= 0.9691461  
 AW= -0.1660115  
 ASW= 0.9861239  
 R2= 0.2604887  
 DEL= -1.504897  
 C= 0.6585145E-01  
 D= -0.9978294E0  
 &END

DREHUNG IN KLASSISCHER RECHNUNG, LABORSYSTEM

|       |        |         |         |
|-------|--------|---------|---------|
| UP :  | 0.7428 | 0.5571  | -0.3714 |
| USP : | 0.0649 | -0.9840 | -0.1660 |
| UNP : | 0.4478 | -0.8941 | 0.0014  |

DREHUNG IN SCHWERPUNKTSYSTEM, RELATIVISTISCH

|       |        |         |         |
|-------|--------|---------|---------|
| UP :  | 0.7428 | 0.5571  | -0.3714 |
| USP : | 0.0638 | -0.9670 | -0.2465 |
| UNP : | 0.3782 | -0.9252 | 0.0323  |

ERGEBNIS DER RELATIVISTISCHEN DREHUNG IM LABORSYSTEM

|      |        |         |         |
|------|--------|---------|---------|
| BN : | 0.4584 | -0.8837 | -0.0035 |
|------|--------|---------|---------|

&RITT

ERGNEU= 142.3192  
 VN2= 0.32610061690866  
 VS2= 0.57105220156187  
 &END

|      |               |               |               |               |
|------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| AT : | 1.00065       | 0.486834D-03  | -0.324556D-03 | -0.360415D-01 |
|      | 0.486834D-03  | 1.00037       | -0.243417D-03 | -0.270311D-01 |
|      | -0.324556D-03 | -0.243417D-03 | 1.00016       | 0.180207D-01  |
|      | 0.360415D-01  | 0.270511D-01  | -0.180207D-01 | 1.00118       |
| BT : | 0.474713      | 0.356034      | -0.237356     | 1.18678       |
| GT : | 0.432498      | 0.324373      | -0.216249     | 1.15717       |
| TT : | 0.220201      | -0.538696     | 0.188001D-01  | 1.15717       |
| TE : | 0.261781      | -0.507511     | -0.199018D-02 | 1.15156       |

&RAPP

WV= -1.0, -1.0, -1.0000005748736, -1.0000005748736  
 CV= -0.83567842191283D-01, 0.33903500264022D0, 0.60755659425729D-01,  
 &END

-0.24648665133267D0

COSINUS DES STREUWINKELS

NACH DER KLASSISCHEN RECHNUNG: -0.1660  
 NACH DER RELATIVISTISCHEN RECHNUNG: -0.1533

TEST-RECHNUNG ZUR RELATIVISTISCHEN STREUUNG (Wasserstoff, mittlere Energie)

&DAT  
 B= 0.10D-01, -0.20D-01, 0.30D-01

V2= 0.140D-02

BE= 0.37416573867739D-01

ETA= 0.10007007358586D01

ERG= 0.6579909D0

MST= 1

IX= 12345

KST= 0

NR= 6

&END

&RUMM

ERGNEU= 0.2479025

R= 0.3767567

A= -0.2464867

AS= 0.9691461

AW= 0.6138048

ASW= 0.7894579

R2= 0.2604887

DEL= -1.504897

C= 0.6585145E-01

D= -0.9978294E0

&END

DREHUNG IN KLASSISCHER RECHNUNG, LABORSYSTEM

UP : 0.2673 -0.5345 0.8018

USP : 0.0520 -0.7877 0.6138

UNP : -0.5219 -0.7177 0.4611

DREHUNG IM SCHWERPUNKTSYSTEM, RELATIVISTISCH

UP : 0.2673 -0.5345 0.8018

USP : 0.0638 -0.9670 -0.2465

UNP : -0.9079 -0.3465 -0.2358

ERGEBNIS DER RELATIVISTISCHEN DREHUNG IM LABORSYSTEM

BN : -0.5218 -0.7177 0.4611

&RITT

ERGNEU= 0.2479025

VH2= 0.52308336057756D-03

VS2= 0.22930064416306D-01

&END

|      |               |               |               |               |
|------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| AT : | 1.00001       | -0.250241D-04 | 0.375361D-04  | -0.500263D-02 |
|      | -0.250241D-04 | 1.00005       | -0.750723D-04 | 0.100053D-01  |
|      | 0.375361D-04  | -0.750723D-04 | 1.00011       | -0.150079D-01 |
|      | 0.500263D-02  | -0.100053D-01 | 0.150079D-01  | 1.00018       |
| BT : | 0.100070D-01  | -0.200140D-01 | 0.300210D-01  | 1.00070       |
| GT : | 0.500263D-02  | -0.100053D-01 | 0.150079D-01  | 1.00018       |
| TT : | -0.169950D-01 | -0.648563D-02 | -0.441314D-02 | 1.00018       |
| TE : | -0.119917D-01 | -0.164922D-01 | 0.105967D-01  | 1.00026       |

&RAPP

IV= -1.0, -1.0, -1.0000000001514, -1.0000000001514

CV= -0.86361023090817D-04, 0.35036792927588D-03, 0.60755676980506D-0

&END

-0.24648666694267D0

COSINUS DES STREUWINKELS

NACH DER KLASSISCHEN RECHNUNG: 0.6138

NACH DER RELATIVISTISCHEN RECHNUNG: 0.6139

TEST-RECHNUNG ZUR RELATIVISTISCHEN STREUUNG (Kohlenstoff, mittlere Energie)

&DAT

B= 0.10D-01, -0.20D-01, 0.30D-01

V2= 0.140D-02

BE= 0.37416573867739D-01

ETA= 0.10007007358586D01

ERG= 0.6579909D0

MST= 12

IX= 12345

KST= 0

MB= 6

&END

&RUHM

ERGNEU= 0.5415161

R= 0.3767567

A= -0.2464867

AS= 0.9691461

AW= -0.1660115

ASW= 0.9861239

R2= 0.2604887

DEL= -1.504897

C= 0.6585145E-01

D= -0.9978294E0

&END

DREHUNG IN KLASSISCHER RECHNUNG, LABORSYSTEM

UP : 0.2673 -0.5345 0.8018

USP : 0.0649 -0.9840 -0.1660

UNP : -0.9012 -0.3979 -0.1719

DREHUNG IM SCHWERPUNKTSYSTEM, RELATIVISTISCH

UP : 0.2673 -0.5345 0.8018

USP : 0.0638 -0.9670 -0.2465

UNP : -0.9079 -0.3465 -0.2358

ERGEBNIS DER RELATIVISTISCHEN DREHUNG IM LABORSYSTEM

BN : -0.9012 -0.3979 -0.1719

&RITT

ERGNEU= 0.5414869

VH2= 0.11536587963623D-02

VS2= 0.35965553084887D-01

&END

AT : 1.00000 -0.592485D-06 0.888728D-06 -0.769731D-03

-0.592485D-06 1.00000 -0.177746D-05 0.153946D-02

0.888728D-06 -0.177746D-05 1.00000 -0.230919D-02

0.769731D-03 -0.153946D-02 0.230919D-02 1.00000

BT : 0.100070D-01 -0.200140D-01 0.300210D-01 1.00070

GT : 0.923678D-02 -0.184736D-01 0.277103D-01 1.00060

TT : -0.313792D-01 -0.119750D-01 -0.814836D-02 1.00060

TE : -0.306091D-01 -0.135153D-01 -0.583782D-02 1.00058

&RAPP

WV= -1.0, -1.0, -1.0000000005163, -1.0000000005163

CV= -0.29441672539552D-03, 0.11944529454776D-02, 0.60755676999031D-01

&END

-0.2464866669802500

COSINUS DES STREUWINKELS

NACH DER KLASSISCHEN RECHNUNG: -0.1660

NACH DER RELATIVISTISCHEN RECHNUNG: -0.1660

### 3. Experimentelle Untersuchungen der Detektoren nach Bonner

#### 3.1 Bisherige Meß- und Rechenergebnisse zur Beeinflussung der Empfindlichkeit

Neutronendosimeter im praktischen Strahlenschutz werden für den Einsatz in Neutronenfeldern mit Neutronenenergien von  $10^{-2}$  bis ca.  $10^7$  eV benötigt.

Um diesen großen Energiebereich einfach erfassen zu können, bieten sich Detektoren für langsame Neutronen in Moderatoren an. Außer dem Dosimeter von Andersson und Braun (4) sind besonders Detektoren nach Bonner (5) verbreitet. Letztere werden als Ein- und Mehr- Kugel- Verfahren in verschiedenen Varianten benutzt (6-14).

Detektoren nach dem ursprünglichen Entwurf von Bonner (5) bestehen aus einem LiJ (Eu)-Kristall von 4 mm  $\emptyset$  und 4 mm Höhe in der Mitte einer Polyäthylen-Moderatorkugel. Der Kristall ist durch einen Plexiglaslichtleiter von 1,27 cm  $\emptyset$ , der von einer dünnen Aluminiumhülle umgeben ist, mit dem Photomultiplier verbunden.

Außer von Bonner wurde die Empfindlichkeit dieses Detektorsystems noch von Hansen und Sandmeier (2, 3), von Lamberieux (15) und von Rohloff (1) berechnet. Bonner und Hansen und Sandmeier nahmen bei der Empfindlichkeitsberechnung einen Kristall in der Mitte der Moderatorkugel von der bei Bonner benutzten Größe und Art an. Lamberieux und Rohloff haben im Mittelpunkt der Detektorkugel nur ein für thermische Neutronen empfindliches Nachweissystem.

Neue Rechnungen von Maerker (31) gelten für Polyäthylenkugeln mit kugelförmigem  $\text{BF}_3$ -Zählrohr von 2,03 Zoll Durchmesser im Kugelmittelpunkt. Um die Kugeln ist außen eine Kadmiumsicht. Vergleicht man diese Rechnungen mit Werten nach Hansen und Sandmeier (2), so erhält man bei kleinen Kugeldurchmessern erwartungsgemäß sehr große Abweichungen (Abb. 5, die Werte nach Hansen und Sandmeier sind normiert), bei großen Moderatorkugeldurchmessern ist die Übereinstimmung beider Rechnungen aber erstaunlich gut. Bei keiner

der Rechnungen wurde der Lichtleiter, eine starke Inhomogenität besonders für kleine Moderatorokugeln, irgendwie berücksichtigt.

Im Laufe der Zeit wurden am Detektorsystem nach Bonner viele Änderungen vorgenommen. Der LiJ-Kristall wurde durch einen Kristall mit 8 mm, 10 mm und sogar 16 mm Durchmesser und kleinerer Höhe ersetzt (16-18).

Statt des LiJ-Kristalls werden LiF-Thermolumineszenzdetektoren (19, 20) und Silber-, Dysprosium-, Indium- oder Gold-Aktivierungsfolien (14, 20-22) verschiedener Größe benutzt. Es wird mit  $\text{BF}_3$ -Zählrohren (23, 24) und ZnS-Szintillatoren (12, 25-28) mit Borzusatz gearbeitet. Als Lichtleiter wird Plexiglas oder Quarz (6) verwendet. Wegen verschiedener Szintillatorgrößen werden Lichtleiter ganz verschiedenen Durchmessers benutzt. Die Lichtleiter haben verschiedene Länge. Bei einigen Autoren reicht der Multiplier teilweise in die Moderatorokugel hinein (27), oder auf den Lichtleiter wird sogar ganz verzichtet (18).

Angaben darüber, wie eine Änderung des Detektors für langsame Neutronen in der Kugel oder des Lichtleiters die Empfindlichkeit des Detektors nach Bonner beeinflusst, sind in der Literatur sehr spärlich. Offenbar nehmen viele Autoren an, daß dies keinen Einfluß auf die Energieabhängigkeit der Empfindlichkeit hat. Mc Guire (10) folgert aus einer Testrechnung, daß bei konstanter Größe der Polyäthylenkugel die Empfindlichkeit dem Quadrat des Kristallradius proportional ist. Die Empfindlichkeit soll sich unabhängig von Neutronenenergie und Radius der Moderatorokugel um einen konstanten Faktor ändern, wenn ein anderer Detektor im Moderatorokugelmittelpunkt verwendet wird (10). Phillip (29), der in einer 10" Kugel 5 Siliziumdioden von je  $450 \text{ mm}^2$  Fläche mit einer LiF-Schicht auf den Dioden benutzt, mißt für thermische Neutronen eine zu hohe Empfindlichkeit, und er folgert, daß sein Dosimeter sich eher wie ein Dosimeter mit einer 8" Moderatorokugel verhält.\*

---

\* Vergleicht man die Rechenergebnisse von Maerker (31) und Hansen und Sandmeier (2), so würde man diesen Schluß nicht ziehen, wenn nicht noch andere Eigenschaften als nur die Größe des Detektors im Kugelmittelpunkt eine Rolle spielen.

Dvorak und Dyer (22) führen die Richtungsabhängigkeit ihres Dosimeters auf einen Plexiglaskörper um ihre Aktivierungsfolien im Mittelpunkt der Moderator­kugel zurück. Hankins (23) bohrt wie 9"- und 10"-Moderator­kugel zur Aufnahme eines  $\text{BF}_3$ -Zählrohres etwas weiter auf. Außer der Richtungsabhängigkeit prüft er aber nur für  $\text{BF}_3$ -Zählrohr und LiJ-Kristall das Zählratenverhältnis bei thermischen Neutronen und im Felde einer Am-Be-Quelle. Benezech, Bricka und Dolias (24), die ebenfalls den LiJ-Kristall durch ein  $\text{BF}_3$ -Zählrohr ersetzt haben, finden ein anderes Verhältnis der Zählrate im Felde einer Pu-Be-Quelle zur Zählrate für Neutronen von 500 keV für beide Detektoren. Zu kleineren Kugeldurchmessern steigt das Verhältnis der Zählraten an. Mijnheer (14) sagt klar, daß die Energieabhängigkeit der Empfindlichkeit vom Detektor im Mittelpunkt der Moderator­kugel abhängt. Er zeigt auch, daß die Energieabhängigkeit der Empfindlichkeit bei Messungen mit und ohne Kadmium um die Aktivierungsfolien im Kugelmittelpunkt verschieden ist. Trotzdem vergleicht Mijnheer seine Meßergebnisse mit Aktivierungsfolien in der Moderator­kugel mit den Rechnungen von Bonner (5) und von Hansen und Sandmeier (3), da er glaubt, daß für seine Foliendicke die Empfindlichkeit für thermische und epithermische Neutronen vergleichbar ist mit dem ursprünglichen Bonnerschen Detektor. Alejnikov (12) führt die Tatsache, daß das Verhältnis der Zählrate mit der 2" Moderator­kugel im Felde seiner Sb-Be-Quelle zur Zählrate im Felde einer Pu-Be-Quelle nur  $\frac{1}{6}$  des nach den Rechnungen von Hansen und Sandmeier zu erwartenden Wertes ist, auf die unterschiedliche Konstruktion seines Detektors für thermische Neutronen im Kugelmittelpunkt zurück. Bei größeren Durchmessern der Moderator­kugeln ist das entsprechende Verhältnis innerhalb der Fehler­grenzen für Messung und Rechnung gleich.

Im Bereich intermediärer Neutronen wurde die Energieabhängigkeit der Empfindlichkeit von Basson (25), Alejnikov (30), Keirim-Markus (28) und Mijnheer (14) gemessen. Alejnikov, der einen LiJ-Kristall von 8 mm  $\emptyset$  und 4 mm Höhe benutzt,

findet halbwegs Übereinstimmung mit den Rechnungen von Hansen und Sandmeier. Mijnheer findet mit Aktivierungsdetektoren nur für die kleineren Moderatorokugeln gute Übereinstimmung mit den Rechnungen von Hansen und Sandmeier. Keirim-Markus findet recht unterschiedliche Empfindlichkeiten verglichen mit den Messungen von Alejnikov. Erstaunlicherweise stimmen die Werte von Keirim-Markus sehr gut mit den Messungen von Basson überein, nachdem Bassons Meßergebnisse von Keirim-Markus unter Berücksichtigung der Lebensdauer der thermischen Neutronen korrigiert wurden. Sowohl Basson als auch Keirim-Markus haben beide mit relativ großen ZnS-Szintillatoren in den Moderatorokugeln gemessen.

Obwohl viele Autoren zu glauben scheinen, daß die Energieabhängigkeit von Detektoren nach Bonner wenig vom Detektortyp im Kugelmittelpunkt und von weiteren Parametern, z.B. der Größe und des Stoffes des Lichtleiters abhängt, so zeigen doch die wenigen vorliegenden Meßergebnisse, daß die Empfindlichkeit sehr wohl von diesen Faktoren abhängen kann, und genauere Untersuchungen sind erforderlich. Eine wie große Störung der Lichtleiter besonders bei kleinen Moderatorokugeln darstellen kann, zeigt Abb. 6, in der Maßstabsgerecht der in Jülich verwendete Lichtleiter in der 2" Moderatorokugel dargestellt ist (Anstelle des LiJ-Kristalles ist dabei eine Aktivierungsfolie eingezeichnet, wie sie bei späteren Messungen verwendet wird). Wir waren gezwungen, einen dickeren Lichtleiter als Bonner (5) zu verwenden, weil die Kapselung des benutzten LiJ-Szintillators von 4 mm Durchmesser und 4 mm Höhe so groß ist. Auch an anderer Stelle wird ein solch dicker Lichtleiter verwendet (24). Die Abbildung führt deutlich vor Augen, daß eine Empfindlichkeitsberechnung, die den Einfluß des Lichtleiters bei einer kleinen Moderatorokugel nicht berücksichtigt, zu falschen Ergebnissen führen muß.

Die unzureichend bekannte Energieabhängigkeit gilt nicht nur für die Detektoren nach Bonner. Die Messungen von Thompson (32) haben gezeigt, daß die angenommene Empfindlichkeit des Dosimeters nach Leake (33), einer Abwandlung des Andersson und Braun Dosimeters (4), nicht stimmt.

### 3.2 Messung der Empfindlichkeitsänderung Bonnerscher Detektoren durch den Lichtleiter

Die Empfindlichkeitsänderung Bonnerscher Detektoren durch den Lichtleiter wurde mit Aktivierungsfolien gemessen. Im Moderator­kugelmittelpunkt wurde eine 100 mg schwere Indiumfolie von 1 cm Durchmesser angebracht.

Die Aktivierungsfolie befand sich entweder an Stelle des LiJ-Kristalls im Lichtleiter (Abb. 6) oder in einem Polyäthylen­stopfen, der anstelle des Lichtleiters in die Bohrung der Moderator­kugeln eingesetzt werden konnte. Die Moderator­kugeln wurden mit den Neutronen einer 10 Ci Am-Be-Quelle bestrahlt. Der Abstand Moderator­kugelmittelpunkt - Neutronenquelle be­trug 30 cm. Nach mindestens 6 Stunden Bestrahlungszeit wurde die Aktivität der Indiumfolie im Proportionalzählrohr be­stimmt. Aus Messungen mit und ohne Kadmium um die Aktivierungs­folie folgt die Flußdichte thermischer Neutronen im Modera­tor­kugelmittelpunkt.

Die Meßergebnisse sind in Abbildung 7 dargestellt. Durch den Lichtleiter wird die Flußdichte thermischer Neutronen in der 2"­Moderator­kugel um 28 % erniedrigt. Bei großen Kugeldurch­messern ist der Einfluß des Lichtleiters gering (4 - 6 %).

Die Messungen sollen im Jahre 1972 mit weiteren Neutronen­quellen und mit Lichtleitern anderer Dimension fortgesetzt werden.

### 3.3 Empfindlichkeitsbeeinflussung durch die Art des Szintillators

Der Einfluß des Detektors für thermische Neutronen im Modera­tor­kugelmittelpunkt auf die Empfindlichkeit des Bonnerschen Detektors wurde mit Glasszintillatoren verschiedenen  ${}^6\text{Li}$ -Gehalts bestimmt. Glasszintillatoren von 3 mm Höhe und 10 mm Durchmesser mit dem natürlichen Isotopengemisch des Lithiums, mit  ${}^6\text{Li}$  angereichert auf 95 % und praktisch ohne  ${}^6\text{Li}$  (99,99 %  ${}^7\text{Li}$ )\* wurden verwendet. Lichtleiter und Szintillator konnten

---

\* Glasszintillatoren NE 904, NE 905 und NE 906 der Firma Nuclear Enterprises.



mit einem 1 mm dicken Kadmiublech abgedeckt werden. Als Neutronenquelle wurden eine 10 Ci Am-Be-Quelle (mittlere Neutronenenergie  $\bar{E} = 4,4$  MeV) eine 5 Ci Mock-Fission-Quelle ( $\bar{E} = 1,8$  MeV) und eine 3 Ci Am-Li-Quelle ( $\bar{E} = 0,5$  MeV) verwendet. Die mit 3 m Blei abgeschirmten Neutronenquellen wurden in 30 cm Abstand vom Moderatororkugelmittelpunkt aufgestellt, und die Impulse in den Szintillatoren wurden gezählt. Die Diskriminatorschwelle vor dem Zähler soll dabei so eingestellt sein, daß die Impulse durch  $\gamma$ -Strahlung nicht gezählt werden, die Impulse der durch Neutronen ausgelösten  ${}^6\text{Li}(n,\alpha){}^3\text{H}$  Reaktion aber gezählt werden. Bei Messung mit Glasszintillatoren lassen sich die  $\gamma$ -Impulse aber nicht vollständig unterdrücken. Da mit dem  ${}^7\text{Li}$ -haltigen Szintillator praktisch nur Impulse durch  $\gamma$ -Strahlung gemessen werden, können durch Differenzbildung die Impulse durch Neutronen in den anderen Szintillatoren bestimmt werden.

Zuerst wurde das Kadmiumverhältnis gemessen. Dies wächst von etwa 2 oder 3 bei der 2" Moderatorkugel bis etwa 30 bei der 12" Moderatorkugel an. Daß Kadmiumverhältnis ist bei Messung mit dem mit  ${}^6\text{Li}$  angereicherten Szintillator kleiner als bei Messung mit dem Szintillator mit Lithium als natürliches Isotopengemisch. Ebenso ist für die 3 Neutronenquellen das Kadmiumverhältnis deutlich verschieden. Im allgemeinen ist das Verhältnis für die Neutronen der Am-Li-Quelle größer als für die Neutronen der Mock-Fission-Quelle, und bei dieser ist es wieder größer als für die Neutronen der Am-Be-Quelle. Vor allem bei kleinen Moderatorkugeln, wo die Zahl der nachgewiesenen Neutronen mit Energien oberhalb der Kadmiumkante (Kadmiumverhältnis 2-3) einen merklichen Anteil der gesamten Zählrate darstellt, bedeutet ein unterschiedliches Kadmiumverhältnis für verschiedene Neutronenenergien eine unterschiedliche Energieabhängigkeit. Die Energieabhängigkeit Bonnerscher Detektoren ändert sich, wenn der  ${}^6\text{Li}$ -Gehalt des Szintillators in der Moderatorkugel geändert wird.

Die bis jetzt durchgeführten Messungen sind nur vorläufig. Es wurde noch nicht geprüft, wie weit die einzelnen Szintillatoren unterschiedliche Lichtausbeuten haben, wie weit der optische Kontakt zwischen Szintillator und Lichtleiter immer gleich gut ist oder ob die Diskriminatorschwelle sich ändert. Deswegen wurde auf Angabe von Meßwerten verzichtet. Die ersten Versuche sind aber erfolversprechend, und sie lassen auf eine merkliche Änderung der Energieabhängigkeit der Empfindlichkeit für verschiedene Detektoren in der Moderator-kugel schließen.

Die Messungen werden mit weiteren Szintillatoren unter genauer Berücksichtigung aller Fehlerquellen im Jahre 1972 fortgesetzt werden. Da die Abschirmung des Szintillators und des Lichtleiters mit Kadmiun nicht verhindert, daß im Lichtleiter thermisch gewordene Neutronen auch im Szintillator nachgewiesen werden, deswegen werden 1972 noch Messungen mit  $^6\text{LiF}$  und  $^7\text{LiF}$  Thermolumineszenzdosimetern in den Moderator-kugeln durchgeführt. Dabei wird das Kadmiun-verhältnis besser bestimmt.

#### 4. Spaltfragmentdosimetrie

Großflächige Spaltfragmentdosimeter sollen in Jülich hergestellt und im praktischen Einsatz erprobt werden. Die Vor- und Nachteile dieser Dosimeter wurden im Jahresbericht 1970 zu diesem Vertrag beschrieben. In Jülich werden z.Zt. monatlich über 800 Kernspurfilmte ausgegeben, aber nie wird eine Neutronendosis mit diesen Filmen festgestellt. Deswegen bedeuten die Spaltfragmentdosimeter gleichzeitig eine Überprüfung der Zuverlässigkeit der Kernspurfilmte.

##### 4.1 Herstellung dünner Thoriumschichten

Da das radioaktive Material in den einzelnen Dosimetern möglichst gering sein soll, wurden keine Dosimeter mit Thoriumblech gebaut, sondern es wurde versucht, galvanisch dünne Thoriumschichten herzustellen. Bei den ersten Versuchen im Jahre 1970 gelang es, Flächen bis zu  $4\text{ cm}^2$

galvanisch mit einer solch dicken Thoriumschicht zu überziehen, daß die damit hergestellten Dosimeter etwa  $\frac{1}{3}$  bis  $\frac{1}{4}$  der Empfindlichkeit besitzen, wie Dosimeter der gleichen Fläche aber mit Thoriumblech. 1971 wurde die gleiche Vorschrift (34) zur Herstellung größerer Thoriumschichten benutzt. Es gelang, eine Fläche von  $24 \text{ cm}^2$  gleichmäßig mit Thorium zu beschichten, so daß das daraus hergestellte Dosimeter mit einer  $12 \mu$  dicken Makrofolie für Neutronen einer Am-Be-Quelle eine Empfindlichkeit von 1 Spur/13 mrem hat. Der Versuch, weitere Dosimeter nach der gleichen Vorschrift herzustellen, scheiterte. Der Grund hierzu ist nicht bekannt. Zur Herstellung der dünnen Thoriumschichten wurde daraufhin ein weiteres Verfahren aus der Literatur entnommen (35).

Geätzte Edelmetalkathoden von  $24 \text{ cm}^2$  Fläche werden in einer Lösung von Thoriumnitrat in Methyl-Keton-vergälltem Alkohol 30 Minuten lang galvanisch beschichtet. Die Konzentration der Lösung betrug  $250 \text{ mg Th (NO}_3)_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}^*$  pro Liter. Pro Versuch wurden 23 ml der Lösung verwendet. Als Anode wurde ein Platinnetz benutzt. Der Abstand Kathode - Anode war 4 - 5 mm. Die Stromstärke betrug ca. 30 mA. Sie hängt sehr stark vom Wassergehalt des Alkohols und von der Zeit seit Beginn der Elektrolyse ab. Nach 30 Minuten wurde die Kathode aus dem Bad genommen, getrocknet und bei  $800^\circ \text{ C}$  3 Minuten lang geglüht. Dabei wird ein Teil des Thoriums oxidiert. Nach dem Glühen wurde das galvanische Beschichten wiederholt. Zur Herstellung einer hinreichend dicken Thoriumschicht muß der Prozeß etwa 20 mal wiederholt werden. Die dabei entstehende, glatte Thoriumschicht, die sich durch vorsichtiges Reiben nicht entfernen läßt, hat eine dunkle Farbe mit einer weißlich grauen Schicht. Die Qualität des hergestellten Thoriumbelags und die maximal erreichbare Dicke hängt stark vom Wassergehalt des Alkohols ab. Mit 96 %igem Alkohol, wie Reformatskaja (35) angibt, konnten keine dickeren Thoriumschichten erhalten werden. Nach einigen

---

\* Das  $\text{Th (NO}_3)_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}$  war über Schwefelsäure getrocknet. Der Kristallwassergehalt entspricht deswegen nicht der oben angegebenen Formel.

Elektrolysen läßt sich dann die neu abgeschiedene Schicht, die als weißer Belag auf der Kathode sitzt, teilweise und nach weiteren Elektrolysen vollständig abreiben. Ganz wasserfreier Alkohol ist auch ungeeignet, da dann die Stromstärke zu gering ist. Kleinere Wassermengen sollten zur besseren und schnelleren Abscheidung des Thoriums im Alkohol vorhanden sein.

Das Anwachsen der Dicke der abgeschiedenen Thoriumschicht wird mit einem Kontaminationsmonitor für  $\alpha$ -Strahlung gemessen. Wenn auch die Zählrate nicht proportional mit der Zahl der Elektrolysen ansteigt, so ist erstere doch ein gutes Maß für die Dicke der Schicht. Elektroden mit gleicher  $\alpha$ -Zählrate zeigen praktisch die gleiche Empfindlichkeit im Spaltfragmentdosimeter.

#### 4.2 Aufbau der Spaltfragmentdosimeter

Den Aufbau der Spaltfragmentdosimeter zeigt Abbildung 8. Das Dosimeter ist 8,5 x 7 cm groß und äußerlich den Filmplaketten ähnlich. Das mit Thorium beschichtete Edelstahlblech wird in eine Plexiglashalterung geklebt. Auf das Thorium wird eine 10  $\mu$  bzw. 12  $\mu$  dicke Polycarbonatfolie\* geklebt. Die Folie ist etwas größer als in Abbildung 8 gezeichnet. Sie wird noch um die Plexiglashalterung (Nr. 4 in Abb. 8) herumgelegt. Diese Größe der Polycarbonatfolie ist für das spätere Einspannen beim Ätzprozeß erforderlich. Über die Polycarbonatfolie und unter die Plexiglashalterung wird noch je eine, in Abbildung 8 nicht eingezeichnete, ca. 1 mm dicke Schaumgummischeibe gelegt, und das Ganze wird in der Dosimeterkapsel verschlossen. Der Deckel trägt eine Beschriftung mit der Nummer des Dosimeters.

Jedes Spaltfragmentdosimeter enthält ca. 100 mg Thorium, das fest innerhalb der Plakette angebracht ist. Diese Menge liegt weit unter der Freigrenze für Thorium (10 g), so daß bis zu 100 dieser Plaketten ohne Genehmigung getragen werden können.

---

\* Makrofol KG der Firma Farbenfabriken Bayer AG

Der Ätzprozeß und die Apparatur zum automatischen Auswerten der Dosimeter nach Cross und Tommasino (36) wurde im letzten Jahresbericht beschrieben.

#### 4.3 Erfahrungen mit großflächigen Spaltfragmentdosimetern

Bis jetzt wurden 30 Spaltfragmentdosimeter nach der obigen Methode hergestellt. Zuerst wurde die Empfindlichkeit der Dosimeter bei Bestrahlung mit den Neutronen einer Am-Be-Quelle geprüft. Die Empfindlichkeit war 1 Spur/8 mrem bei Verwendung der 12  $\mu$  dicken Makrofol KG Folie und 1 Spur/5,2 mrem bei Verwendung einer 10  $\mu$  dicken Makrofol KG Folie. Innerhalb  $\pm 10\%$  ist die Empfindlichkeit aller Dosimeter gleich. Die neuen Dosimeter sind erheblich empfindlicher als die nach der im Jahr 1970 angewandten Elektrolysevorschrift hergestellten Dosimeter.

Der Nulleffekt unbestrahlter Dosimeter ist kleiner als 1 Spur/Dosimeter. Dabei tritt häufiger eine Spur bei einem unbestrahlten Dosimeter mit 10  $\mu$  Makrofol auf als bei einem Dosimeter mit 12  $\mu$  Makrofol.

Mit der Methode des automatischen Auswertens wurden das Fading und die Richtungsabhängigkeit großflächiger Spaltfragmentdosimeter geprüft. Die Versuche wurden mit den Neutronen einer Am-Be-Quelle (mittlere Neutronenenergie 4,4 MeV) an Dosimetern mit 12  $\mu$  dickem Makrofol und mit Thoriumblech durchgeführt. Die Versuche mußten mit Dosimetern aus Thoriumblech durchgeführt werden, da zu dem Zeitpunkt noch nicht genügend Dosimeter mit galvanisch hergestellter, dünner Thoriumschicht vorhanden waren. Entsprechende Versuche werden später mit den galvanisch beschichteten Thoriumdosimetern ausgeführt werden, es ist aber kein anderes Ergebnis zu erwarten, da das Verhalten der dünnen Makrofolfolie entscheidend ist.

Die Ergebnisse der Messung der Richtungsabhängigkeit sind in Abbildung 9 für 2 verschiedene Ätzzeiten dargestellt. Als Abszisse ist der Winkel zwischen der Einfallrichtung

der Neutronen und der Dosimeteroberfläche angegeben. Aus der Abbildung folgt, daß die Richtungsabhängigkeit stark von der Ätzzeit abhängt. Bei der in Jülich normalerweise benutzten Ätzzeit von 2,25 Stunden unterscheidet sich die gemessene Richtungsabhängigkeit nicht stark von den Ergebnissen, die mit dicken Makrofol-E-Folien beim Auszählen unter dem Mikroskop gewonnen wurden (37).

Die Ergebnisse der Fading-Messung zeigen die Abbildungen 10 bis 12. Die Dosimeter wurden zwischen der Bestrahlung und dem Ätzen für die auf den Abszissen der Abbildungen angegebenen Zeiten im Trockenschrank bei Temperaturen von 100, 120 und 1 0° C gelagert. Für die beiden verschiedenen Ätzzeiten wurden ganz verschiedene Ergebnisse erhalten. Dies läßt sich mit den Versuchen von Becker (38) vergleichen, der bei der Beobachtung von  $\alpha$ -Spuren in Makrofol E unter dem Mikroskop ein anderes Fading bei verlängerter Ätzzeit feststellte. Die Abbildungen 10 - 12 zeigen außerdem, daß das Fading in der ersten Stunde stark ist und dann sehr klein wird. Letzteres gilt besonders für die längere Ätzzeit.

In den Monaten November und Dezember 1971 wurden die ersten großflächigen Spaltfragmentdosimeter mit Thoriumschicht gleichzeitig mit Kernspurfilmen zur Personendosisüberwachung getragen. Jeweils am Monatsende wurden gleichzeitig mit dem Wechseln der Kernspurfilme die 10  $\mu$  Makrofol KG Folie im Spaltfragmentdosimeter durch eine neue Folie ersetzt. Die Ergebnisse stehen in Tabelle 2.

Zur Berechnung der Werte in Tabelle 2 ist der für die Neutronen einer Am-Be-Quelle geltende Umrechnungsfaktor von 1 Spur/5,2 mrem benutzt. Die Energieabhängigkeit des Dosimeters ist nicht berücksichtigt. Die Werte in Tabelle 2 sind auf ganzzahlige Werte abgerundet. Erst ab 2 Spuren/Dosimeter ist in der Tabelle eine Angabe gemacht, da in wenigen Fällen auch auf unbestrahlten Dosimetern eine Spur nachgewiesen werden kann. Der statistische Fehler der gefundenen Ergebnisse ist sehr groß, da maximal nur 10 Spuren gezählt werden.

Tabelle 2: Erste Ergebnisse mit Spaltfragmentdosimetern in der Personendosisüberwachung

| Person | Monatsdosis (mrem) |                | Neutronenquellen, mit denen gearbeitet wurde      |
|--------|--------------------|----------------|---|
|        | November 1971      | Dezember 1971  |   |
| A      | 16                 | 10             | Reaktor   |
| B      | 16                 | -              |   |
| C      | 21                 | 31             |   |
| D      | -                  | -              | von de Graaff-Generator für<br>14,5 MeV Neutronen |
| E      | 26                 | 10             |   |
| F      | 10                 | 16             |   |
| G      | -                  | 10             |   |
| H      | 52                 | nicht getragen | Am-Be-Quelle                                      |

Die gleichzeitig getragenen Filmdosimeter zeigten im November keine Neutronendosis an, obwohl diese Filme genau geprüft wurden. Da Kernspurfilme für Neutronen mit Energien oberhalb 500 KeV empfindlich sind, Thorium-Spaltfragmentdosimeter aber erst für Neutronen mit Energien über 1,3 MeV, sollten die Kernspurfilme eigentlich eine höhere Dosisbelastung als die Spaltfragmentdosimeter anzeigen. Die geringen Dosisbelastungen der Tabelle 2 sollten von Kernspurfilmen noch erfaßt werden können (untere Grenze 10 mrem für 4 MeV Neutronen (39)). Die Kernspurfilme vom Dezember sind noch nicht ausgewertet. Da in Jülich aber seit etlichen Jahren nie eine Neutronendosisbelastung auf einem Kernspurfilm festgestellt wurde, ist anzunehmen, daß auf den Filmen von Dezember wieder keine Neutronendosisbelastung festgestellt wird.

Die ersten Ergebnisse der Spaltfragmentdosimeterauswertung machen wahrscheinlich, daß beim Arbeiten mit verschiedenen Neutronenquellen kleinere Personendosisbelastungen erhalten werden, die von Kernspurfilmen nicht nachgewiesen werden. Die ersten Messungen sind aber noch mit Vorbehalt zu betrachten. Es ist nicht völlig auszuschließen, daß durch die Erschütterung der Dosimeter beim Tragen die 10  $\mu$  Makrofol KG Folie leicht beschädigt wird und daß dadurch beim Auswerten eine Spur vorgetäuscht wird. Um diesen Effekt auszuschließen, werden ab Januar 1972 auch Spaltfragmentdosimeter von Personen getragen, die mit Sicherheit nicht in Neutronenfeldern arbeiten.

Beim Auswerten der getragenen Spaltfragmentdosimeter wurden auch "Spuren" dort gezählt, wo die 10  $\mu$  dicke Makrofol KG Folie um die Plexiglashalterung (Nr. 4 in Abbildung 8) herumgeklappt war. Diese Spuren liegen deutlich außerhalb der Fläche, die in Kontakt mit dem Thorium des Dosimeters war, so daß solche vorgetäuschten Spuren leicht von echten Spaltfragmentspuren getrennt werden können. Um in Zukunft eine Beschädigung der Makrofol KG Folie durch die Kanten der Plexiglashalterung zu vermeiden, sind diese Kanten noch einmal gut poliert worden, und außerdem wird ab Januar 1972 um die 10  $\mu$ -Folie eine weitere Folie derselben Stärke zum Schutz gelegt.



Die Makrofol KG Folien, die einen Monat lang im Dosimeter in Kontakt mit der Thoriumfläche waren, erwiesen sich als ganz leicht kontaminiert. Diese Kontamination war im Dezember etwas geringer als im November. Die Kontamination ist unbedenklich, da die Radioaktivität nicht durch das geschlossene Dosimeter nach außen dringen kann und da die gesamte Thoriummenge im Dosimeter weit unterhalb der Freigrenze liegt. Trotzdem wird die Kontamination auf den Makrofol KG Folien weiter beobachtet werden. Falls sich zeigt, daß diese Kontamination ständig auftritt, soll die Thoriumfläche des Dosimeters noch mit einer sehr dünnen Kunststoffschicht abgedeckt werden.

Zusammenfassend kann man feststellen, daß die ersten Ergebnisse mit Spaltfragmentdosimetern ermutigend sind. Einige Fragen sind noch zu klären. Es scheint aber so zu sein, daß die Spaltfragmentdosimeter Neutronendosisbelastungen anzeigen, die mit Kernspurfilmern immer übersehen wurden. Trotz der höheren Energieschwelle haben die Spaltfragmentdosimeter wegen des nicht vorhandenen Fadings und das Ausschließen subjektiver Faktoren beim Auswerten (Auszählen unter dem Mikroskop) Vorteile gegenüber den Kernspurfilmern.

## 5. Literaturverzeichnis

- (1) Rohloff, F. und M. Heinzelmann  
EUR-4540 d (1971)
- (2) Awaschalom, M. in Neutron Monitoring,  
IAEA, Wien 1967
- (3) Hansen, G.E. und H.A. Sandmeier  
Nucl.Sci.Eng. 22, 315 (1965)
- (4) Andersson, J.Ö. und J. Braun  
Nukleonik 6, 237 (1964)
- (5) Bramblett, R.L., R.I. Ewing und T.W. Bonner  
Nucl. Instrum. Meth. 9, 1 (1960)
- (6) Hankins, D.E.  
LA 2717 (1962)
- (7) Nachtigall, D. und F. Rohloff  
Nukleonik 6, 330 (1964)
- (8) Nachtigall, D. und F. Rohloff  
Jül-213-ST (1964)
- (9) Zaborowski, H.  
CEA-R-2772 (1965)
- (10) Mc Guire, St.A.  
LA-3435 (1965)
- (11) Nachtigall; D. und F. Rohloff  
Nucl. Instrum. Meth. 50, 137 (1967)
- (12) Alejnikov, V.E., V.A. Archipov und M.M. Komočkov  
JINR-P 16-4480 (1969)

- (13) Heinzelmann, M. und F. Rohloff  
Atompraxis 16 (1970) Direct Information Strahlenschutz 1/70
- (14) Mijneer, B.J.  
Dissertation, Amsterdam 1971
- (15) Lamberieux, J.  
Radioprotection 5, 19 (1970)
- (16) Hankins, D.E.  
IDO-16655 (1961)
- (17) Firmenprospekt  
CL-13-0965, Neutronen-REM-Dosisleistungsmesser  
LB 140, Laboratorium Prof. Dr. Berthold/Wildbad
- (18) Leake, J.W.  
AERE-M 1564 (1965)
- (19) Distenfeld, D., W. Bishop and D. Colvett  
BNL 9605 (1965)
- (20) Hankins, D.E.  
LA DC 7323 A (1965)
- (21) Benezech, G. und H. Zaborowski  
in Personnel Dosimetry for Radiation Accidents,  
IAEA, Wien 1965
- (22) Dvorak, R.F. und N.C. Dyer  
ANL-7085 (1965)
- (23) Hankins, D.E.  
Health Physics 14, 518 (1968)

- (24) Benezech, G., M. Bricka und M. Dolias  
CEA-CONF-1685 (1970)
- (25) Basson, J.K.  
Nucl. Instrum. Meth. 22, 339 (1963)
- (26) Keirim-Markus, I.B. und L.N. Uspenskij  
Instruments and Experimental Techniques  
No. 6, 1384 (1966)
- (27) Andreeva, L.S., I.B. Keirim-Markus, L.N. Uspenskij  
und I.V. Filjuškin  
Instruments and Experimental Techniques  
No. 4, 61 (1969)
- (28) Andreeva, L.S., I.B. Keirim-Markus, L.N. Uspenskij,  
I.V. Filjuskin und E.N. Chernov  
Instruments and Experimental Techniques  
No. 1, 77 (1970)
- (29) Phillip, L.D. in BNWL-481-4, 16 (1967)
- (30) Vetcel, L., G. Kneške, G. Taut, V.A. Alejnikov,  
V.A. Archipov, M.M. Komočkov, V.M. Nazarov und  
F. Klapper  
in JINR-P 16-4888 (1970)
- (31) Maerker, R.E., L.R. Williams, F.R. Mynatt und  
N.M. Greene  
ORNL-TM-3451 (1971)
- (32) Thompson, I.M.G., L. Lavender, R.G. Shipton  
und J. Goodwin in  
Advances in Physical and Biological Radiation  
Detectors, IAEA, Wien 1971, S. 505

- (33) Leake, J.W.  
Nucl. Instrum. Meth. 45, 151 (1966)
- (34) Chlebnikov, G.I. und E.P. Dergunov  
Kernenergie 2, 174 (1959)
- (35) Reformatskaja, I.A.  
Radiochemie der Akad. d. Wissenschaften  
UdSSR 13, No. 1 (1971) S.89
- (36) Cross, W.G. und L. Tommasino  
Radiat. Eff. 5, 85 (1970)
- (37) Heinzelmann, M.  
Atompraxis 14, Direct Information Strahlen-  
schutz 1/68 (1968)
- (38) Becker, K.  
Atompraxis 14, 331 (1968)
- (39) Dudley, R.A. in F.H. Attix, W.C. Roesch und  
E. Tochilin, Radiation Dosimetry II,  
New York, London 1966, S. 326

Abb. 1: Empfindlichkeit für Detektoren nach Bonner  
 Berechnet mit einer P5-Näherung  
 Parameter an den Kurven, Durchmesser der Moderatorakugel in Zoll

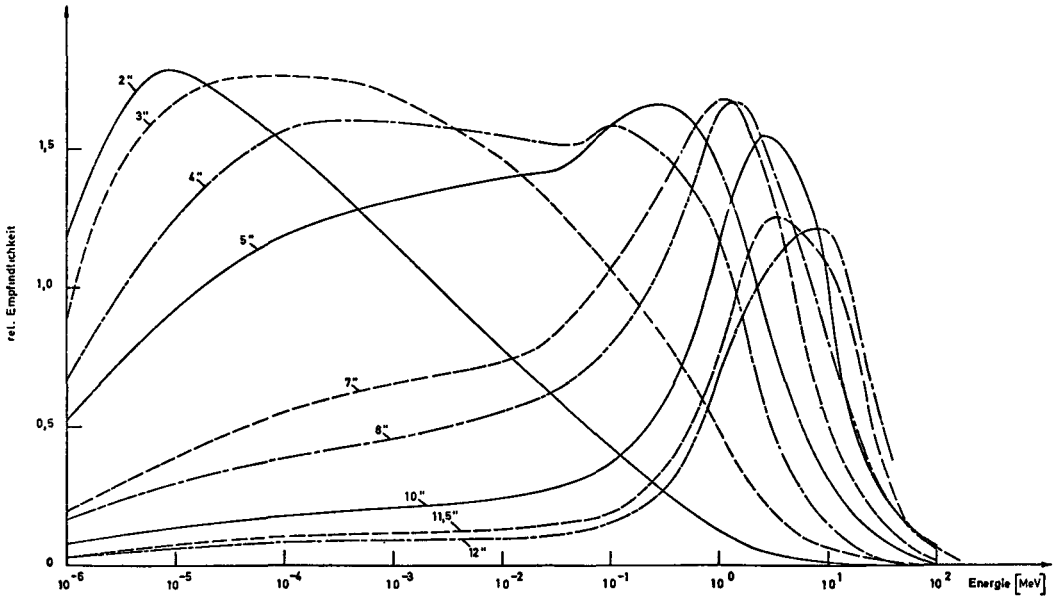
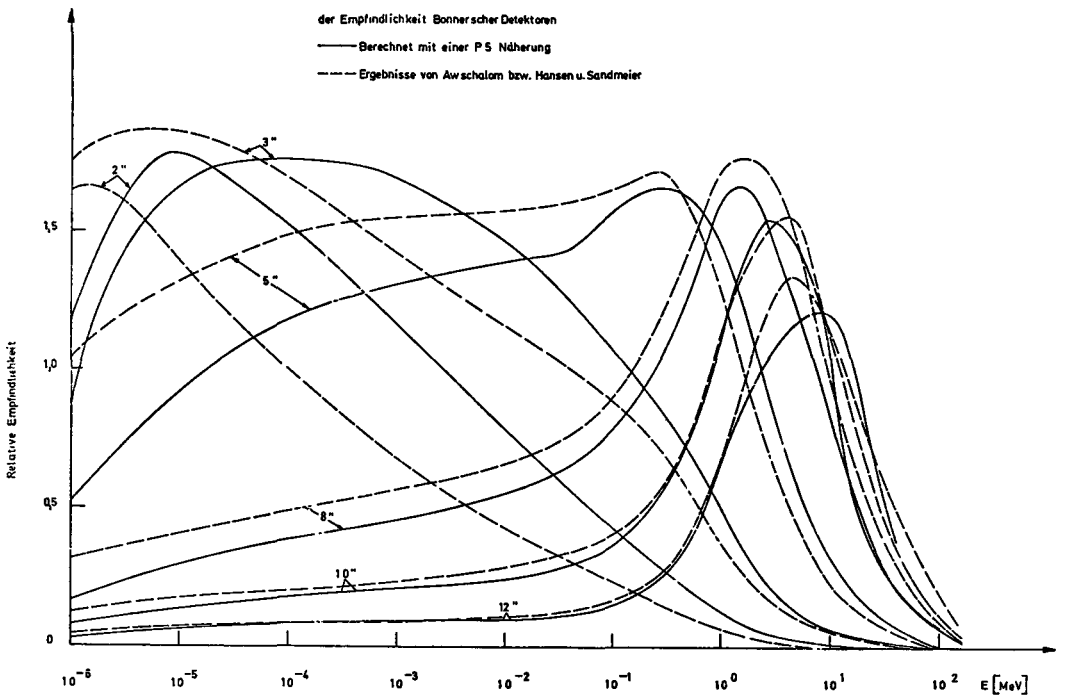


Abb. 2. Vergleich verschiedener Rechenergebnisse  
 der Empfindlichkeit Bonnerscher Detektoren  
 — Berechnet mit einer P5 Näherung  
 - - - Ergebnisse von Awaschalom bzw. Hansen u. Sandmeier



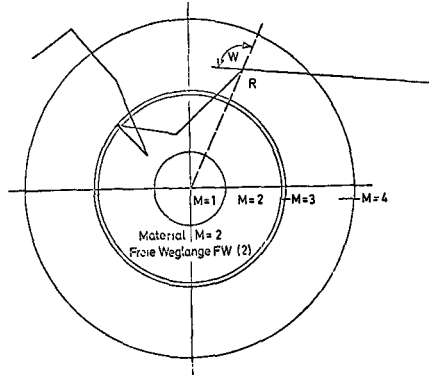


Abb 3 Beispiel eines zufälligen Fluges

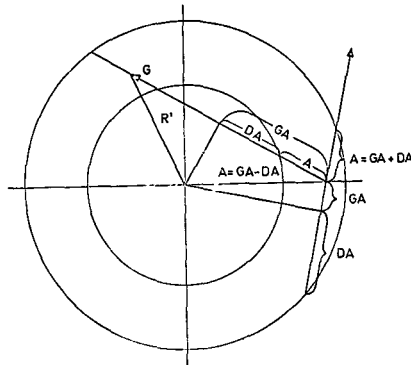
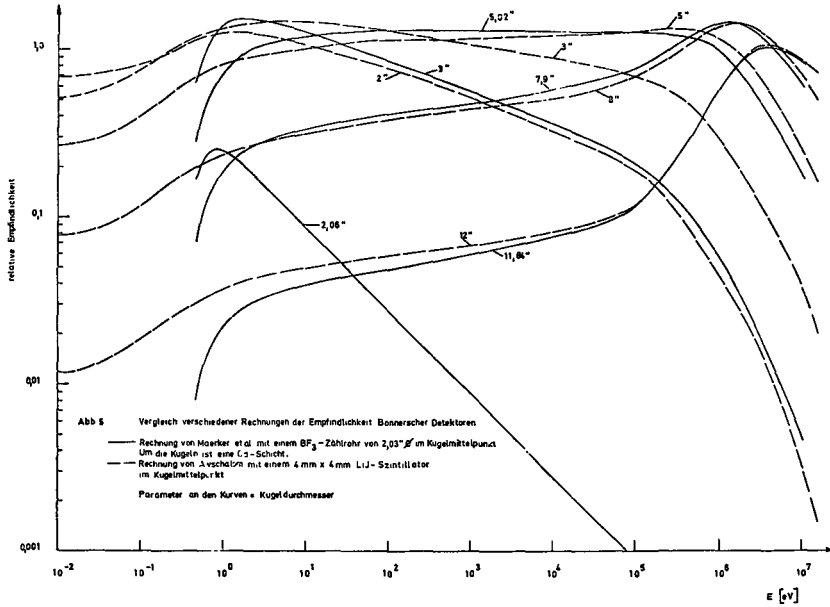


Abb 4 Darstellung der in 2.2 benutzten Relationen zwischen GA, DA, A und R'



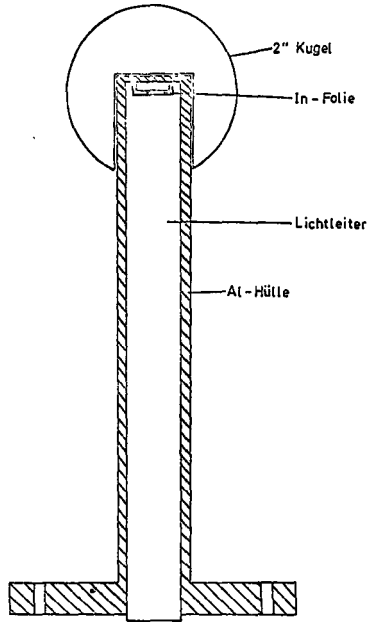


Abb. 6:

Verwendeter Lichtleiter in der 2" Moderatorkugel.

Anstelle des Szintillators ist eine Aktivierungsfolie in der Kugel

o

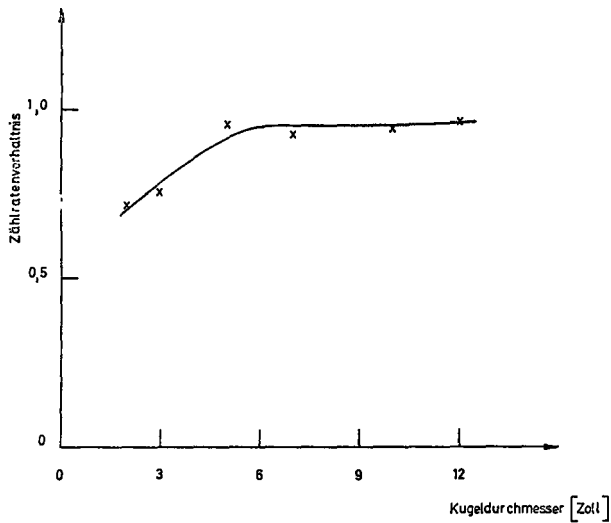


Abb. 7:

Zählratenverhältnis der Messung mit Lichtleiter  
zur Messung mit Polyäthylenstopfen in Moderatorkugeln  
Am-Be Neutronenquelle



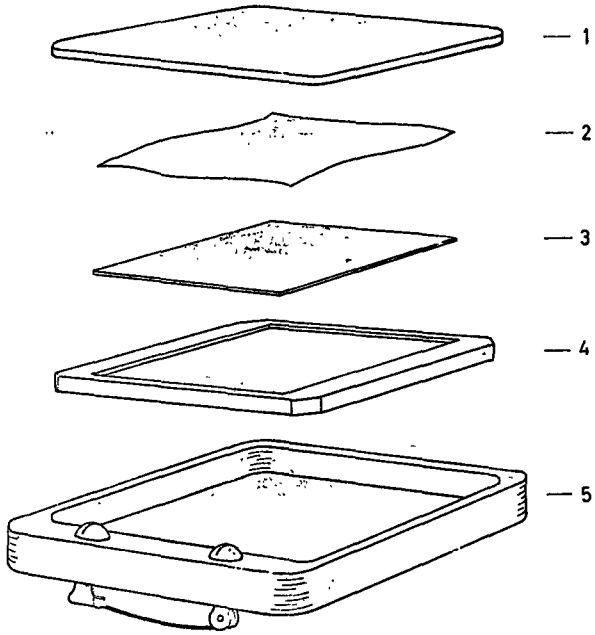


Abb. 8: Explosionszeichnung des Spaltfragmentdosimeters

- 3- mit Thoriumoxid beschichtete Platte
- 4- Plexiglashalterung
- 2- dünne Makrofol KG - Folie zum Spaltfragmentnachweis
- 5- Dosimeterkapsel mit Deckel 1

Abb. 9: Richtungsabhängigkeit nach verschiedenen Ätzezeiten bei automatischer Auswertung von Spaltfragmentdosimetern

Am-Be-Neutronenquelle  
 Thoriumspaltung  
 Ätzen in 35% KOH bei 40°C

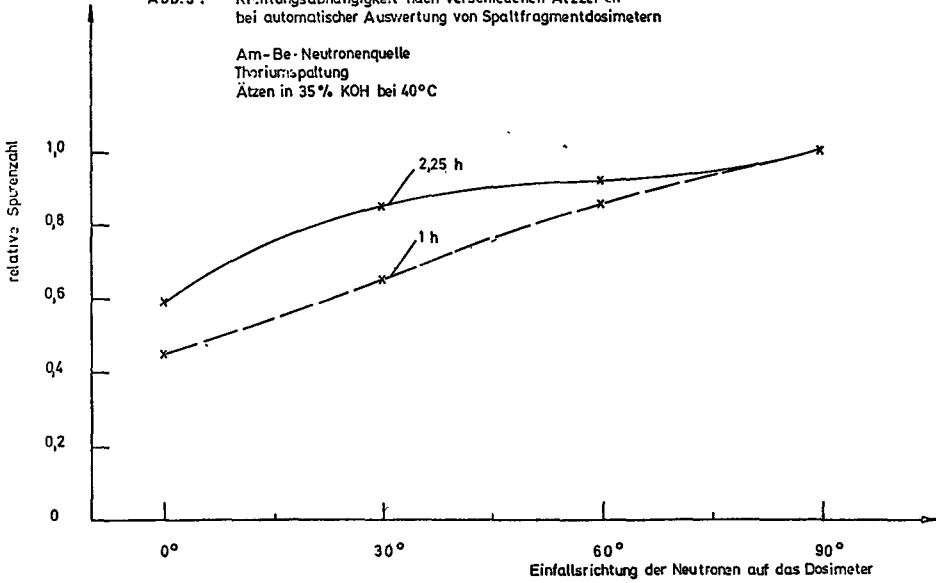


Abb.10: Relative Spurenzahl als Funktion der Tempezzeit bei einer Temperatur von 100°C

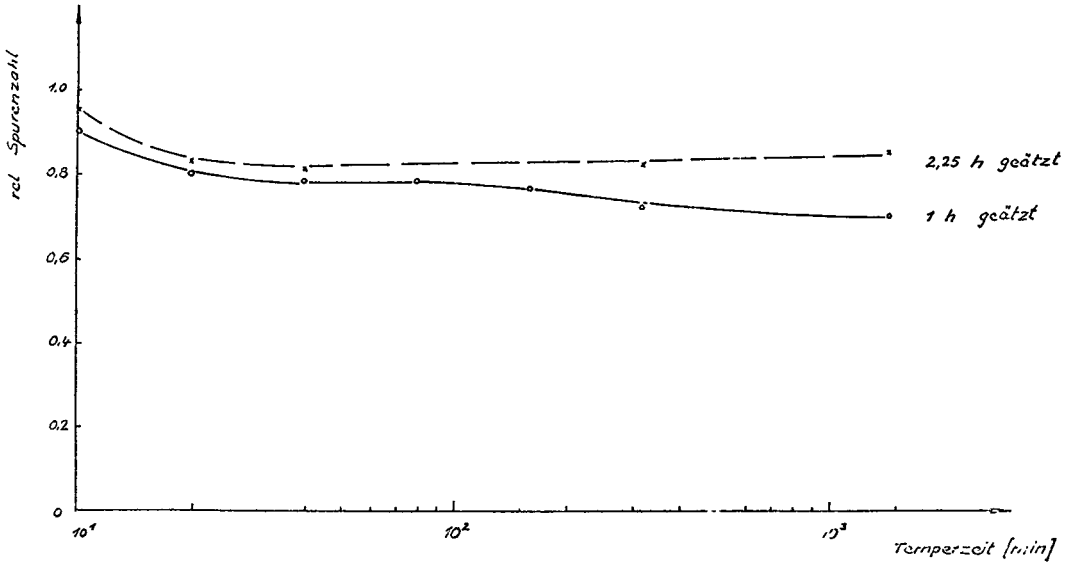


Abb.11: Relative Spurenzahl als Funktion der Tempezzeit bei einer Temperatur von 120°C

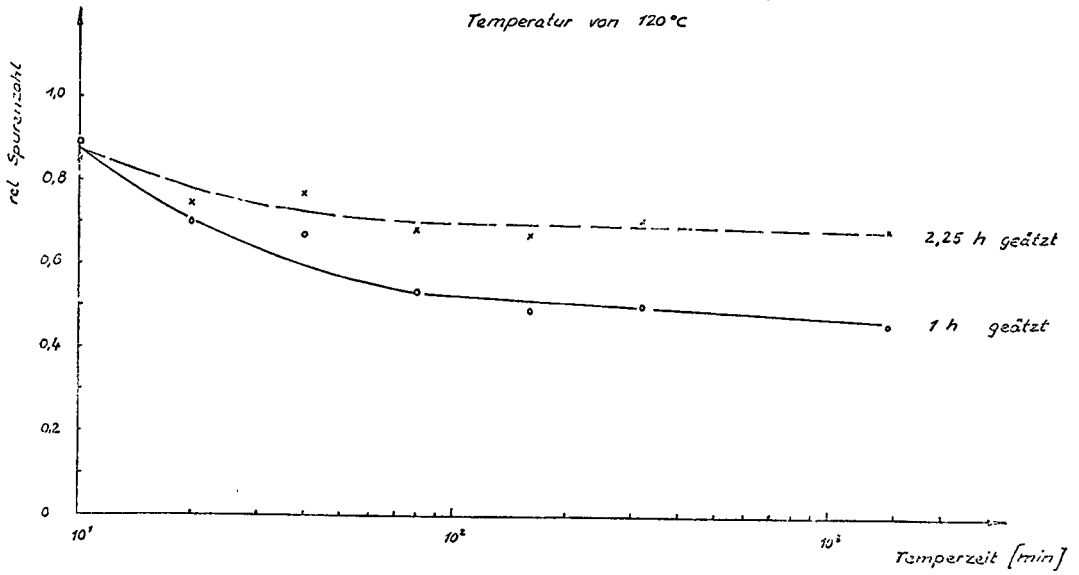
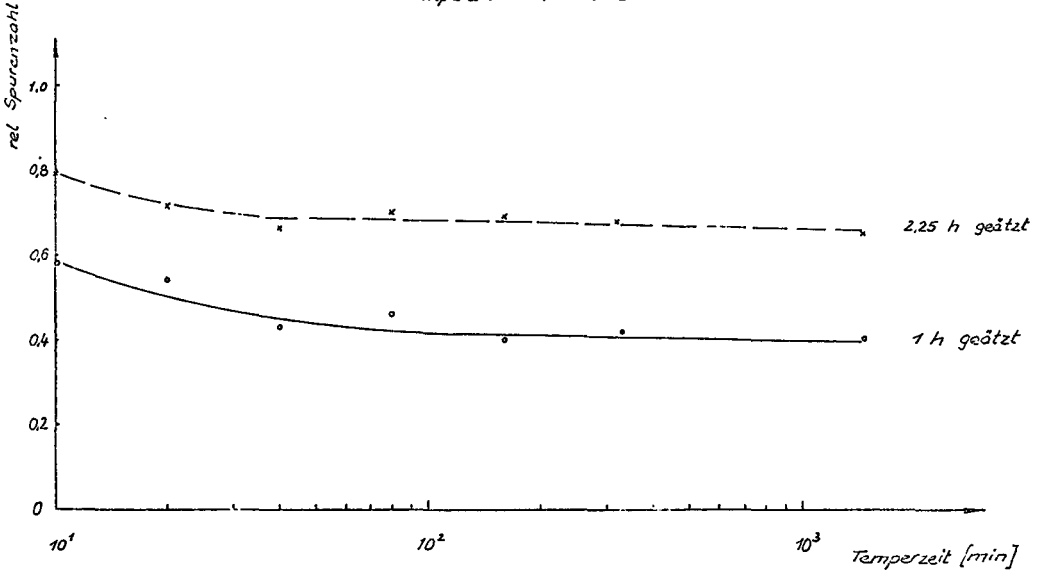


Abb.12: Relative Spurenzahl als Funktion der Tempezeit bei einer Temperatur von 140 °C





A.

Vertrag Nr. 053 - 70 - 1 PST C

Institut für Strahlenschutz der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH., 8042 Neuherberg bei München, Deutschland

F. Wachsmann und G. Burger

Neutronendosimetrie - Feldgrößen, Spektrometrie und Moderator-detektoren

Im Berichtszeitraum wurden die Untersuchungen zur Datenanalyse bei Anwendung der Mehrdetektormeßtechnik weiter verfolgt. Es wurden mehrere Verfahren entwickelt und verwendet zur Ermittlung integraler Parameter und des Spektrums der Neutronenkomponente in Überwachungsfeldern aus Messungen mit dem Bonner-Vielkugelspektrometer, sowie zur Entfaltung von Neutronenspektren aus den gemessenen Impulshöhenverteilungen eines Teleskopspektrometers und Szintillationsspektrometers.

Die beiden letztgenannten Spektrometermeßplätze wurden apparativ verbessert und zur Spektrometrie schneller Neutronen an Beschleunigern und aus Radionuklidquellen eingesetzt.

Die theoretischen und numerischen Arbeiten zur Ergänzung und Verbesserung bekannter SN-Codes zur Lösung von Neutronentransportproblemen in ein- und mehrdimensionalen Geometrien wurden fortgeführt.

B.

Verfahren zur Bestimmung integraler Feldgrößen und von Spektren aus gemessenen Datenvektoren mit impliziter Fehlerberücksichtigung

F. Grünauer und W. Schmatz

Bei jedem Neutronenspektrometer ist der Vektor der Meßgrößen und das Energiespektrum der Neutronen durch folgende Ungleichung verknüpft:

$$\left| \int \varphi(E) \xi_j(E) dE - Z_j \right| \leq \Delta Z_j .$$

Die  $\Delta Z_j$  beinhalten dabei sowohl die unvermeidlichen Meßfehler als auch die ungenügende Kenntnis der Empfindlichkeitsfunktionen. Aufgabe einer Methode zur Rückgewinnung der Spektren ist es, eine Lösung dieser Ungleichung zu finden. Das Problem eine untere und obere Einhüllende der interessierenden unendlichen Lösungsschar zu bestimmen, wurde auf zwei Wegen gelöst:

1. Durch das Fensterverfahren: Die Einhüllenden stellen dabei Konfidenzgrenzen zu Lösungen dar, für die der Fehlervektor innerhalb eines Fehlerellipsoids liegt. Die aufwendige nichtlineare Rechentechnik beschränkt das Verfahren auf wenige Meßkanäle (Vielkugeltechnik).
2. In diesem Fall werden die Einhüllenden unter Berücksichtigung der in obiger Gleichung definierten Fehlergrenzen und physikalisch sinnvoller Zusatzinformation bestimmt.

Beide Verfahren können zur Bestimmung integraler Feldgrößen (z. B. der Äquivalentdosis) aus Vielkugelmessungen angewendet werden.

Rechnerische Simulation von Moderationsvorgängen

F. Grünauer

Die bekannten SN-Codes für mehrdimensionale Neutronentransportrechnungen erweisen sich für viele Zwecke der Behandlung von Moderator-Detektorsystemen (z. B. Berechnung ihrer Empfindlichkeitsfunktion) als unbefriedigend und zwar dann, wenn

1. Quelle und/oder Detektor klein gegenüber der Bestrahlungsgeometrie sind, oder

2. die Streuweglängen groß gegenüber den gewählten räumlichen Ablageelementen sind.

Eine Verbesserung bietet sich an durch die analytische Berechnung von ungestreuten Flußanteilen und Erststoßquellen. Ein Programm hierfür, das als Vorprogramm zu DOT-2 läuft, wurde ergänzt, ausgetestet und für einige Beispiele angewendet. Damit ist es möglich die Empfindlichkeitsfunktionen von Moderator-Detektor-Systemen mit ausreichender Genauigkeit zu berechnen.

### Die Spektrometrie schneller Neutronen

H. Schraube, W. Eckl und K. Kolbe

Zur Ausschaltung vorhandener systematischer Fehler bei der Spektrometrie schneller Neutronen werden zwei Systeme verwendet, die Szintillations- und die Teleskopspektrometrie.

Im Rahmen der Szintillationsspektrometrie wurden für einen  $1,5'' \phi \times 1,5''$  Flüssigkeits-Szintillator NE 213 mit einer MC-Rechnung Übertragungsfunktionen für Neutronen im Energiebereich  $0,1 \text{ MeV} \leq E_n \leq 14 \text{ MeV}$  berechnet und für mehrere Energien experimentell bestimmt. Für zwei verschiedene Meßbereiche wurden daraus umfangreiche Übergangsmatrizen unter der Annahme eines idealen Auflösungsvermögens gebildet und mit ihrer Hilfe die Neutronenspektren mehrerer Radionuklidquellen bestimmt.

Der Einsatz eines Teleskopspektrometers zur Ausmessung von Radionuklidquellen fordert den Verzicht auf eine hohe geometrische Auflösung zugunsten einer verbesserten Nachweiswahrscheinlichkeit. Mit einem MC-Code wurden die Empfindlichkeitsfunktionen ermittelt und die Anwendung geeigneter Entfaltungsverfahren untersucht. Als erstes wurde das Spektrum einer  $^{54}\text{Cr}$ -Am-Be-Quelle gemessen und mit dem Ergebnis des Szintillationsspektrometers verglichen.

**Veröffentlichungen und Berichte:**

**Schmatz, W.**

**Die Grenzen der Anwendung von schlechtauflösenden Meßsystemen zur Ermittlung integraler und differentieller Parameter in Teilchenfeldern  
Dissertation, TU München 1971**

**Burger, G., F. Grünauer and H. Paretzke**

**The applicability of track detectors in neutron dosimetry  
IAEA Symposium on Advances in Physical and Biological Radiation  
Detectors  
Vienna 1971**

**Grünauer, F.**

**Calculation of a Neutron Collimator  
GSF Report - S 137, 1971**

**Burger, G., W. Eckl and H. Gredel**

**Spectra and Conversion Factors of Neutron Calibration Sources  
IAEA Symposium on Advances in Physical and Biological Radiation  
Detectors  
Vienna 1971**

**Eckl, W.**

**Ermittlung der Übertragungsmatrix eines Szintillationsspektrometers  
für Neutronen und Entfaltung von Neutronenspektren  
Dissertation, TU München, 1972  
GSF Report - S 164 , 1971**



Contract : 047-69-4 PSTC

Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung, Karlsruhe

Rijksinstituut voor de Volksgezondheid, Bilthoven

THE IDENTIFICATION OF IRRADIATED FOODSTUFFS

1) Dr. SCHERZ

a) Electrical conductivity

The conductivity decrease of irradiated and nonirradiated potatoes was tested for practical purpose. The results show, that by measurement of the differences  $\Delta t_{(0)} - \Delta t_{(180)}$  and  $\Delta t_{(30)} - \Delta t_{(180)}$  the range of the applied dose could be determined. It is possible to distinguish between nonirradiated and irradiated potatoes (lowest dose : 10 krad). Further investigation will concern the improvement of the accuracy of the method.

b) Chromatography and colorimetry

The formation of malondialdehyde by irradiation was studied with several foodstuffs. The results show that this substance is formed only with carbohydrate-rich food. Since malondialdehyde is unstable and disappears during storage, its determination seems not to be a suitable base for a method to distinguish between irradiated and nonirradiated food.

The splitting products of starch were studied by gas chromatography of their trimethylsilyl ethers after reduction with potassium borhydride. Irradiated starch could be detected, when a dose of 100 krad or higher was applied. With irradiated flour, the detection limit was 1000 krad. This gaschromatographic method is thus inferior to the previously described colorimetric method.

In continuation of these studies, we will try to use other splitting products of starch as a base for the development of a method to distinguish between irradiated and nonirradiated food.

c) The following works were not continued :

- Redox potential
- Polarimetry
- Polarography.

2) Dr. RADOLA

Isoelectric focusing

The radiation-induced changes of the polyphenoloxidase isoenzyme pattern of mushrooms irradiated with 150 - 250 krad provide a basis for their identification. On isoelectric focusing the pattern of the unirradiated mushrooms consists of 10 isoenzymes which can be classified in three groups. In the pattern of irradiated mushrooms some of the isoenzymes are missing or their content is strongly reduced. On thin-layer gel chromatography two zones of polyphenoloxidase activity were detected in the irradiated and untreated mushrooms. The amount of the component with the higher molecular weight was lower in the irradiated samples than in the control.

Studies on the identification of irradiated mushrooms will be continued. Thin-layer gel chromatography and isoelectric focusing will be used in studies on irradiated meat.

3) Dr. DRAWERT

Gas chromatography

Volatile compounds : isolated from animal lipids, glycerides and methylesters irradiated with 3 and 6 Mrad were separated on a silica gel column into hydrocarbons and oxygen-containing fractions. Both fractions were further studied by gas chromatography and mass spectrometry.

The fatty acids of pork fat have been quantitatively determined after saponification.

Hydrocarbons which are formed dependent on the applied dose provide suitable indicators of irradiation.

Fatty acids and the oxygen-containing compounds (aldehydes, ketones, alcohol) are on the basis of our results uncharacteristic for a radiation treatment.

4) Dr. PENNER

Chromatography

Studies on the wound healing method for identification of irradiated potatoes have been continued. It has been found that after more than 6 months of storage time the method is not reliable.

A method of determination of chlorogenic acid in potatoes by thin-layer chromatography and remission measurement has been developed. The biological variation was too high for identification of irradiated potatoes.

The activity of phenylalanine-aminoacylase has been determined in incubated potato tuber slices. Differences between chemical and irradiated potatoes have been found.

Further work is planned on determination of phenolic compounds and enzyme activity in potato tuber slices.

5) Dr. ONDEDELINDEN and Dr. STRACKEE

Electron spin resonance

The results of PVC are such that no exact information could be devised from the dependence of the radical production and annihilation on the dose rate and the sample temperature. This type of measurements therefore will not be continued on plastics.

Decay measurements on radicals induced by irradiation remain useful and for a number of admitted packing materials the stability of the induced free radicals will be investigated for two doses (0.5 and 5 Mrad) with fixed dose rate and temperature (duration about 1 year).

The temperature dependence of the radicals in fatty acids is found to be very strong and this type of work will be continued. Furthermore the stability of the radicals in fatty acids will be measured at room temperature. To restore the link with the identification problem these measurements will also be performed in fats.

Measurements on radicals induced in bones will also be performed.

6) Dr. BUGYAKI and Dr. VAN DER STICHELEN ROGIER

a) Starch gel electrophoresis

Meat

With this technique it is possible to differentiate a 5 Mrad irradiated meat sample or a 0.5 Mrad meat sample (after a period of storage) from a non irradiated meat sample (fresh, stored at 4 C° or frozen). But it is not possible to conclude whether the 0.5 Mrad dosis had been applied to the sample at room temperature or at dry ice temperature.

Fish

This technique applied to sarcoplasmic proteins of codfish gives no possibility of differentiation between irradiated and non-irradiated samples.

Eggs

This technique seems not to be applicable for the identification or irradiation.

b) Isoelectric focusing

Our first results are encouraging and lead us to carry on our investigation in that field.

c) Starch gel electrophoresis : study on meat and fish proteins other than sarcoplasmic.

d) Disc electrophoresis and isoelectric focusing : will carry on our investigation.

It is necessary to investigate in the coming years the influence of different factors on the usefulness of these techniques as practical methods for the identification of irradiated foodstuffs.

7) Prof. DESCHREIDER

a) Spectrophotometry

The difficult interpretation of the infrared absorption spectra makes the detection of irradiated foodstuffs very delicate. The use of infrared differential absorption spectrophotometry is a method much more sensitive for the detection of minimal changes in the absorbing substances under investigation. Also, with this method applied to the lipids it is possible to detect the irradiation of frozen eggs, beef, pork and mutton fats.

b) Spectropolarimetry

Spectropolarimetry of the lipids and of the aqueous extractible proteins of eggs can be used for the detection of irradiated frozen eggs, but is unsuitable for the identification of irradiated potatoes, beef, pork and mutton fats.

c) Turbidimetry

This technique was used for the measurement of the lytic degradation of *Micrococcus lysodeikticus* cells by the lysozyme of the egg. This kind of turbidimetry is unsuitable for the detection of irradiated frozen eggs.

d) Thermal differential analysis

Till now the described DTA-technique as used for the identification of irradiated foodstuffs gave only interesting results for egg white and isolated proteins of yolk.

The intention is to apply the infrared differential absorption on irradiated plastic packaging. The same technique plus spectropolarimetry and turbidimetry would be tried for irradiated meat and fish. The DTA-technique will be studied more profoundly.

8) Following programme

The following specific details of research for the 1st October 1971 - 1st October 1972 programme are :

Methods to be used by German laboratories :

- 1) Electrical conductivity : potatoes
- 2) Chromatography : a) gel : meat  
b) paper and thin layer : carbohydrates
- 3) Colorimetry : carbohydrates
- 4) Gaschromatography and mass spectrometry : fats, oils, carbohydrates
- 5) Microstructure : potatoes
- 6) Isoelectric focusing : meat, mushrooms
- 7) Enzyme analysis : meat, potatoes

Methods to be used by Dutch and Belgian laboratories :

- 8) Electron spin resonance : packaging material, fat, bone
- 9) Electrophoresis : meat, fish, eggs
  - a) starch gel
  - b) disc
- 10) Isoelectric focusing : meat, fish, eggs
- 11) Spectrophotometry : packaging material, meat, fish
- 12) Spectropolarimetry and turbidimetry : meat, fish
- 13) Thermal differential analysis : packaging material, eggs, shrimps.

Foodstuffs : Special attention will be given during this research period to the following irradiated foodstuffs a.o. : mushrooms, potatoes, wheat, wheatflour, meat, fish, shrimps, eggs and packaging material.

9) Reports to be published

The following reports are in preparation for publication as EUR-reports :

- Drs. BUGYAKI and VAN DER STICHELEN ROGIER : on electrophoresis studies

- Dr. ONDERDELINGEN : on electron spin resonance (May 1972)
- Dr. BECK : on gaschromatography studies of animal fats (May 1972)
- Dr. DESCHREIDER : on spectrophotometry a.o. research (May 1972).

## SUMMARY OF RESULTS

| Annexe 1                               | Potato<br>irad |     | Apple Banana<br>irad |     | Wheat<br>irad |   | Egg<br>irad |   | Fish<br>irad |   | Meat<br>irad |   | Fats<br>irad |   | Packing<br>material<br>irad |     | Mush-<br>rooms<br>irad |     |      |
|--|----------------|-----|----------------------|-----|---------------|---|-------------|---|--------------|---|--------------|---|--------------|---|-----------------------------|-----|------------------------|-----|------|
|  | 0,01           | 0,2 | 0,2                  | 0,2 | 0,1<br>0,025  | 1 | 0,5         | 1 | 0,5          | 1 | 0,5          | 5 | 0,5          | 1 | 5                           | 0,1 | 1                      | 0,1 | 0,25 |
| A <sub>1</sub> ELECTRICAL CONDUCTIVITY | +              | +   |                      |     |               |   |             |   |              |   | -            | - |              |   |                             |     |                        |     |      |
| A <sub>2</sub> REDOX POTENTIAL (r)     | -              | -   |                      |     |               |   |             |   |              |   | -            | - |              |   |                             |     |                        |     |      |
| A <sub>3</sub> POLARIMETRY *)          |                |     |                      |     |               |   |             |   |              |   |              |   |              |   |                             |     |                        |     |      |
| A <sub>4</sub> POLAROGRAPHY *)         |                |     |                      |     | -             | - |             |   |              |   | -            | - |              |   |                             |     |                        |     |      |
| A <sub>5</sub> CHROMATOGRAPHY          |                |     |                      |     |               |   |             |   |              |   |              |   |              |   |                             |     |                        |     |      |
| a) gel                                 |                |     |                      |     |               |   |             |   |              |   | +            | + |              |   |                             |     |                        |     |      |
| b) paper and thin layer                |                |     |                      |     | +             | + |             |   |              |   |              |   |              |   |                             |     |                        |     |      |
| A <sub>5</sub> COLORIMETRY             |                |     | +                    | +   |               |   | +           | + |              |   | +            | + |              |   |                             |     |                        |     |      |
| A <sub>7</sub> ULTRACENTRIFUGATION**)  |                |     |                      |     |               |   |             |   |              |   |              |   |              |   |                             |     |                        |     |      |
| A <sub>8</sub> GASCHROMATOGRAPHY       |                |     | +                    | +   | +             | + | +           | + |              |   | +            | + | +            | + | +                           |     |                        |     |      |
| A <sub>9</sub> MICROSTRUCTURE          | +              | +   | +                    |     |               |   |             |   |              |   |              |   |              |   |                             |     |                        |     | +    |
| A <sub>10</sub> ISOELECTRIC FOCUSING   |                |     |                      |     |               |   |             |   |              |   | +            | + |              |   |                             |     |                        |     | +    |
| B <sub>1</sub> ELECTRON SPLICING       |                |     |                      |     |               | + | -           | - | -            | - | -            | - |              |   |                             | +   | +                      |     |      |
| B <sub>2</sub> ELECTROPHORESE          |                |     |                      |     |               |   |             |   |              |   |              |   |              |   |                             |     |                        |     |      |
| a) immuno                              |                |     |                      |     |               |   | -           | - | -            | - | -            | - |              |   |                             |     |                        |     |      |
| b) starch gel                          |                |     |                      |     |               | + | +           | + | -            | - | +            | + |              |   |                             |     |                        |     |      |
| c) disc                                |                |     | +                    | +   |               |   | -           | - | -            | - | +            | + |              |   |                             |     |                        |     |      |
| B <sub>3</sub> SPECTROPHOTOMETRY       | -              | -   |                      |     | +             | + | +           | + |              |   |              |   | +            | + | +                           |     |                        |     |      |
| B <sub>4</sub> SPECTROPOLARIMETRY      | -              | -   |                      |     | +             | + | +           | + |              |   |              |   | -            | - | -                           |     |                        |     |      |
| B <sub>5</sub> THERMAL DIFFER. ANAL.   |                |     |                      |     |               | + | +           | + |              |   |              |   | -            | - | -                           |     |                        |     |      |
| B <sub>6</sub> TURBIDIMETRY            | -              | -   |                      |     | +             | + | -           | - |              |   |              |   | -            | - | -                           |     |                        |     |      |



\*) Work will not be continued

\*\*\*) Not useful at this stage

+ = possibly useful for identification

- = not useful

no sign = experiment not required in the contract or not yet done



B.

Contract No. 047-69-4 PSTC

Titel: Detection of irradiated foodstuffs by means of electron spin resonance

Naam van de onderzoekers: D.Onderdelinden en L.Strackee  
R.I.V. Bilthoven, Nederland

Beschrijving van de resultaten:

- a) Een beschrijving van de activiteiten in de periode oktober 70 oktober 71 werd gegeven in het tot nu gebruikelijke jaarverslag (Laboratorium mededeling nr. 255). (Zie bijlage).
  
- b) In de periode oktober 71 - december 71 werden spectra gemeten van de reeks "dodecanoic acid" tot en met "eicosanoic acid". Bestralingen met een  $850 \text{ Ci Co}^{60}$  bron tot een dosis van 2 Mrad werden uitgevoerd bij  $77^{\circ}\text{K}$ . Gedurende gecontroleerde opwarming werden de spectra geobserveerd. Voor de gemeten vetzuren bleek de vorm van het spectrum sterk te veranderen met de temperatuur. Dit wordt toegeschreven aan een reeks radicaal omzettingen. Pogingen worden gedaan tot een identificatie van de betrokken radicalen te komen. In deze periode werden tevens voorbereidingen getroffen van de bestraling van een veertiental plastics bij kamertemperatuur.



A            Contrat N° 047-69-4 PST C.

Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie,  
14, rue Juliette Wytsman,  
1050-Bruxelles.  
BELGIQUE.

L.Bugyaki et M.Vander Stichelen Rogier.

Application de techniques électrophorétiques à  
l'identification de l'irradiation de certains aliments.

L'irradiation gamma des aliments, en vue de leur conservation, pose le problème de leur contrôle et de leur identification ( preuve de l'irradiation et évaluation de la dose ). Pour des aliments riches en protéines l'électrophorèse offre la possibilité de séparer les protéines solubles suivant leur charge électrique résiduelle et leurs dimensions. Dans le présent travail, l'électrophorèse verticale en gel d'amidon a été utilisée à la séparation des protéines sarcoplasmiques de la viande (boeuf) et du poisson (cabillaud) et à celle des protéines de l'oeuf entier liquide homogénéisé. L'étude a porté sur des échantillons témoins, non irradiés, conservés en réfrigérateur et en deepfreezer, et sur des échantillons irradiés à la température ordinaire et à basse température. On a observé des modifications électrophorétiques plus ou moins importantes, et provoquées par l'irradiation, pour les trois aliments ; mais uniquement dans le cas de la viande elles sont suffisamment claires pour servir à identifier l'irradiation.

B Application de techniques électrophorétiques à  
l'identification de l'irradiation de certains aliments.

M.Vander Stichelen Rogier.

L'utilisation de l'électrophorèse verticale, en gel d'amidon, a fait l'objet, de notre part, d'une mise au point et d'une standardisation, afin d'assurer une bonne reproductibilité des résultats et de permettre une évaluation densitométrique des séparations protéiques.

Viandes : de la viande de boeuf a été irradiée à la température ordinaire ( 0,5 et 5 Mrads ) et à la température de la carboglace ( 0,5 Mrads ). Ces échantillons, ainsi que des témoins non irradiés ont été conservés en réfrigérateur. Des échantillons témoins, non irradiés, ont également été conservés en deepfreezer. Les séparations électrophorétiques des protéines sarcoplasmiques extraites des différents échantillons montrent qu'immédiatement après l'irradiation on peut différencier la viande irradiée à 5 Mrads. Les extraits des viandes fraîche, congelée, et irradiées à 0,5 Mrads présentent, à ce moment, les mêmes électrophérogrammes. Toutefois, les viandes irradiées à 0,5 Mrads, à température ordinaire et à basse température, présentent pendant leur conservation, une évolution qui est suivie hebdomadairement. Après trois semaines, les viandes irradiées à 0,5 Mrads se différencient électrophorétiquement des témoins non irradiés: affaiblissement de certaines zones protéiques et transformation de l'oxymyoglobine en metmyoglobine. Après cette période évolutive, qui dépend de la température de conservation des échantillons, on n'observe plus, dans les deux mois qui suivent, de modifications électrophorétiques importantes. L'électrophorèse en gel d'amidon permet donc de différencier, suivant les conditions expérimentales utilisées ici, une viande irradiée à 0,5 et 5 Mrads, d'une viande fraîche ou congelée. Toutefois, il ne se manifeste pas de différences électrophorétiques entre viandes irradiées à température ordinaire ou à basse température.

Poisson : des morceaux de cabillaud ont été irradiés aux doses 0,5 et 1 Mrad, à la température ordinaire et à la température de la carboglace. Ces échantillons, ainsi que des témoins non irradiés, ont été conservés ensuite en réfrigérateur. Des témoins congelés ont été conservés en deep-freezer. Les séparations électrophorétiques des extraits protéiques de tous ces échantillons présentent de faibles différences entre échantillons irradiés ou non, mais ces modifications sont peu importantes et n'évoluent pas au cours de la conservation. Dès lors, l'électrophorèse en gel d'amidon ne peut servir, telle qu'utilisée ici, à l'identification du cabillaud irradié.

Oeuf : des oeufs entiers ont été homogénéisés, placés dans de petits sacs en plastique, scellés et traités de la même manière que les échantillons de poisson. Les échantillons irradiés à basse température ont été, quant à eux, conservés en deepfreezer. Les séparations électrophorétiques de ces échantillons, après centrifugation, présentent des modifications provoquées par l'irradiation, surtout si elle a été pratiquée à température ordinaire. Cependant, les modifications les plus importantes sont apportées par le fait de la congélation des oeufs. Au cours de différentes expériences on a observé des résultats contradictoires. Aussi, il semble que l'électrophorèse en gel d'amidon ne soit pas une méthode adéquate à la détection de l'irradiation des oeufs.

Deux techniques supplémentaires ont fait l'objet d'essais préliminaires en vue de leur utilisation: l'électrophorèse et la focalisation isoélectrique en gels de polyacrylamide.





TRANSPORT VON RADIONUKLIDEN IN DEN KOMPONENTEN DER UMWELT

CHEMINEMENT ET TRANSFERT DES RADIONUCLIDES DANS LES COMPOSANTS DU  
MILIEU AMBIANT

MIGRAZIONE E TRASFERIMENTO DEI RADIONUCLIDI NEI COMPONENTI DELL'AMBIENTE

VERPLAATSING EN OVERDRACHT VAN RADIONUCLIDEN IN DE MILIEUFACTOREN

TRANSFER OF RADIOACTIVE NUCLIDES IN THE CONSTITUENTS OF THE ENVIRONMENT

Weitere Forschungsarbeiten zu diesem Thema werden auch in folgenden Jahresberichten beschrieben:

D'autres travaux sur ce thème de recherche sont également décrits dans les rapports annuels suivants:

Altri lavori di ricerca al riguardo vengono descritti anche nelle seguenti relazioni annuali:

Verdere publikaties over dit thema zijn ook in de volgende jaarverslagen opgenomen:

Further research work on these subjects will also be described in the following annual reports:

O49-BIAF            CEA, CEN Fontenay-aux-Roses (LAFUMA)

Biology Group Ispra

RAPPORT D'ACTIVITE 1971

Contrat N° 003-61-10 PSAF -

Commissariat à l'Energie Atomique, Paris, France

" Niveaux de contamination radioactive du milieu ambiant et de la chaîne alimentaire ".

Le but visé consiste essentiellement dans la recherche des méthodes et des données à mettre en oeuvre pour définir, dans une situation donnée, les niveaux de contamination du milieu ambiant et des différents maillons de la chaîne alimentaire, tels que les limites de doses d'irradiation fixées par le public ne soient pas dépassées.

Dans son stade actuel, l'étude se divise en quatre projets principaux :

1. Etude des paramètres biologiques de l'homme européen.
2. Etude des paramètres de transfert de la contamination de l'environnement à partir de la pollution de l'atmosphère.
3. Etude des paramètres de transfert à l'homme de la contamination à partir de la pollution des eaux.
4. Etude des paramètres de transfert de la contamination déposée dans les sols.

## B

### Projet N° 1 -

Étude des paramètres biologiques de l'homme européen -  
M. KARHAUSEN, Mme GARNIER -

### RESULTATS -

#### 1. Paramètres de dilution au cours du transit gastro-intestinal ( collaboration du Professeur Loeb de l'Université de Bruxelles ) -

Une technique a été mise au point pour l'étude de la dilution des repas chez le nouveau-né, l'enfant et l'adolescent à différents niveaux du tractus gastro-intestinal. L'évaluation des paramètres est en cours.

#### 2. Métabolisme thyroïdien ( collaboration du Dr Ermans de l'Université de Bruxelles ) -

Deux études sont en cours. L'une porte sur la variation géographique de la captation thyroïdienne. Des résultats ont été rassemblés dans quarante laboratoires ou centres cliniques, montrant des variations très importantes pour les différents groupes de population étudiés. L'autre étude porte sur l'hétérogénéité de la distribution de l'iode dans la glande thyroïde. Les deux hétérogénéités inter et intra folliculaires sont étudiées. Les résultats obtenus sont en cours d'interprétation et suggèrent une modification de la valeur des paramètres physiologiques actuellement utilisés en radioprotection.

#### 3. Métabolisme du strontium ( collaboration du Professeur Lanzola de l'Université de Pavie ) -

Des enquêtes portant sur la rétention du strontium 90 dans le squelette et de son évolution avec l'âge ont été réalisées dans quatre régions d'Italie.

Les prélèvements et les analyses portant sur 707 échantillons sont achevés et les résultats sont en cours d'interprétation. Un modèle mathématique a été appliqué aux mesures faites sur l'adulte dans la région de Milan. En outre, les valeurs obtenues sur la rétention du  $^{90}\text{Sr}$  dans les régions étudiées ont montré une différence nette entre la population de la région d'Udine ( région montagneuse ) et celle de Milan, Rome et Bari, d'autre part. En particulier le rapport  $^{90}\text{Sr}/\text{Ca}$  est plus élevé à Udine, tandis que la concentration du strontium stable dans le squelette est plus basse.

#### 4. Composition minérale du corps humain -

Un programme comportant l'étude de la teneur des différents tissus du corps humain en oligoéléments et de sa variabilité avec l'âge a été mis au point et sa réalisation qui s'étalera sur trois ou quatre ans commencera en 1972.

## B

### Projet N° 2 -

Etude des paramètres de transfert de la contamination de l'environnement à partir de la pollution de l'atmosphère -

M. ANGELETTI -

### RESULTATS -

Une étude bibliographique concernant les mécanismes du dépôt sec des isotopes de l'iode, en cours de publication met en évidence l'importance des paramètres suivants :

forme physico-chimique du polluant  
vitesse du vent à la surface du sol  
densité de l'herbe des pâturages.

Une étude expérimentale de l'influence de ces paramètres sur la vitesse de dépôt de l'iode a été entreprise avec la collaboration du K.F.A. de Jülich.

Dans une première phase, on a mis au point le matériel et les méthodes expérimentales notamment en ce qui concerne la modalité d'émission du polluant et les méthodes de mesure.

Les expériences in situ sont réalisées avec l'iode 127 et complétées par des essais en boîte à gants à partir de l'iode 131.

Cette phase préparatoire est achevée et les essais expérimentaux effectifs sont en cours.

B

Projet N° 3 -

Etude des paramètres des transferts à l'homme de la contamination radioactive, à partir de la pollution des eaux -

R. BITTEL, B. VAUBERT -

1. Transferts de la contamination dans les végétaux irrigués  
( collaboration de la Division de Biologie d'Euratom à Ispra ) -

Une étude portant sur les transferts du radiostrontium sur le ray-grass au cours d'une irrigation par aspersion a été réalisée en conditions contrôlées avec l'eau du Lac Majeur. Elle a montré que la contamination directe de l'appareil foliaire et la contamination de la plante par voie racinaire étaient totalement indépendantes. Des valeurs ont été données aux facteurs de transfert correspondants dans les conditions de l'expérience.

Une deuxième étude portant sur le transfert du radiochrome sur des laitues lors d'irrigation par aspersion a montré que le chrome était très peu mobile dans la plante. En outre, le facteur de rétention varie avec l'état physico-chimique du Cr, le Cr des sels chromiques étant plus retenu que le Cr des chromates.

Enfin, une troisième expérimentation portant sur la contamination par le Cr du riz irrigué par submersion a montré que le chrome se concentre essentiellement dans les racines et à la base des chaumes. La contamination des grains, dans ces conditions, est insignifiante. Cette étude a montré en outre, sans qu'on puisse l'expliquer, que l'enrichissement de l'eau d'irrigation en Cr stable accroît le transfert du  $^{51}\text{Cr}$ .

2. Transferts des produits d'activation aux organismes d'eau douce  
( collaboration de la Division de Biologie d'Euratom à Ispra ) -

Une étude limitée au radiozinc a montré que le niveau de contamination des poissons par le Zn radioactif variait avec l'espèce, la taille, la nature des aliments, la teneur en Zn de ces aliments, la présence d'autres métaux lourds et de substances complexantes dans l'eau.

3. Transferts de la contamination au cours des processus de production et de transformation des produits alimentaires -

Cette étude réalisée avec la collaboration du laboratoire de Biologie Végétale du CEN de Grenoble, a montré que la préparation de farines pour bébés ne modifiait pas les teneurs initiales en Sr, Cs, Ba, La, Sc, Fe, Co et Zn des matières premières.

4. Transferts des pollutions associées aux pollutions radioactives  
( collaboration du CERBOM à Nice ) -

Le programme de 1971 comportait l'étude des transferts

des métaux lourds ( Cu, Zn, Cr, Pb, Hg ) à travers une chaîne trophodynamique marine du type pélagique. Les facteurs de transfert entre les différents maillons de la chaîne ont été déterminés. Une interaction des autres polluants tels que l'eau d'égoût, l'acide humique, les détergents, les complexants sur la contamination du plancton par les métaux lourds a, d'autre part, été mise en évidence.

B

Projet N° 4 -

Etude des paramètres de transfert de la contamination déposée dans les sols -

M. LEHR.

RESULTATS -

1. Etude du comportement du  $^{137}\text{Cs}$  dans les sols. ( collaboration de la Division d'Euratom à Ispra ) -

Le but est d'étudier l'influence des conditions édaphiques ( teneur en eau du sol, composition chimique de l'eau du sol, niveau de contamination, propriétés chimiques ) sur le transfert du radiocésium aux végétaux cultivés. L'étude de la variation des facteurs de transfert en fonction des niveaux de contamination du sol, réalisée dans une gamme d'activités variant de conditions proches des niveaux dus aux retombées aux niveaux utilisés couramment en conditions contrôlées a montré qu'elle était négligeable. L'étude de l'influence de la teneur en eau du sol nécessite un équipement spécial en cours de mise au point.

Les facteurs de transfert sol-plantes ont été déterminés pour différents types de sols et pour les différentes parties de la plante. La variabilité en fonction du type de sol est très large et peut atteindre un facteur 100.

2. Etude de la contribution de l'horizon superficiel du sol à la contamination des prairies par le radiostrontium et le radiocésium ( collaboration du Département de Radiobiologie du CEN de Mol ) -

Cette étude a été achevée en 1971 et a montré pour les deux radionucléides étudiés que le coefficient de transfert du sol à l'herbe est différent suivant que le dépôt est récent ou ancien. Il existe donc une période transitoire pendant laquelle le dépôt récent n'est pas encore en équilibre avec le complexe absorbant de sol, et se trouve de ce fait dans un état de plus grande disponibilité pour les végétaux. Il en résulte un accroissement temporaire du facteur de transfert sol-plantes. L'importance de cet accroissement dépend de la teneur en matière organique et en argile du sol et de la nature de cette argile. Pour des sols de composition moyenne, la contamination de l'herbe se trouve ainsi majorée d'une valeur variant entre 1/10 et 1/6 du dépôt atmosphérique retenu par contamination directe. Pour des sols sableux ou riches en matière organique, l'accroissement peut atteindre des valeurs nettement plus élevées.



PUBLICATIONS DE L'ANNEE 1971

---

- BITTEL R., LACOURLY G.      Essai d'évaluation des transferts de la pollution radioactive dans les chaînes alimentaires océaniques et marines  
Revue Intern. Océanogr. Méd. 1971, XXI, 75-83.
- BITTEL R., LACOURLY G.      Méthode d'approche pour l'évaluation des niveaux de pollution chimique des milieux marins et des chaînes alimentaires marines  
Revue Intern. Océanogr. Méd., 1971, XXI-XXIII 129-142.
- LACOURLY G., SAVY C., LEHR J., KIRCHMANN R.  
Relations entre la contamination de la viande de bovin et celle du lait par le radiocésium -  
Health Physics, 1971, 21 (6), 793-802.
- BEQUE H., VAN PUymbROECK S., JAUMIER J., BITTEL R., VAN DER BORGHT O.  
Initial biological availability of the heavy metal ruthenium in freshwater - In Influence of salts, animal species, and temperature under controlled conditions  
Environmental Physiology, 1971, 1, 37-50.
- LACOURLY G.                      Les pollutions radioactive. Que faut-il en penser ?  
Revue Forestière Française, 1971, XXIII, 331-343.
- BITTEL R.                          Contribution d'un modèle prévisionnel à l'établissement de formules de rejet d'effluents radioactifs dans les eaux  
Rome, Symposium International - La Radioécologie appliquée à la protection de l'homme et de son environnement ( commune N° 50 )  
7-10 septembre 1971. ( sous presse ).
- BITTEL R.                          Utilisation des informations des recherches radioécologiques relatives aux produits métalliques d'activation pour l'étude des transferts à l'homme de polluants chimiques métalliques ou organo-métalliques.  
Rome, Symposium International - La Radioécologie appliquée à la protection de l'homme et de son environnement ( commune N° 35 )  
7-10 Septembre 1971 ( sous presse ).

- BITTEL R. et al. Etude du transfert à l'homme, par les aliments, des radioisotopes du ruthénium, du cobalt et du zinc rejetés dans les eaux continentales Rome, Symposium International - La Radioécologie appliquée à la protection de l'homme et de son environnement, 7-10 Septembre 1971 ( commune N° 43 ) ( sous presse ).
- AUBERT M., BORELLI M., BITTEL R., DONNIER B., LAUMOND F. Recherche sur les facteurs de transfert de polluants métalliques dans les chaînes trophodynamiques marines - 5ème Colloque International d'Océanographie Médicale, Messine, 4-7 Octobre 1971 ( sous presse )
- GARNIER A., LANZOLA E. Charge osseuse résultant de l'ingestion alimentaire de  $^{90}\text{Sr}$ , chez les adultes - Discussion sur des récents résultats de mesures, et sur les paramètres de rétention nécessaires au calcul des niveaux admissibles. adr Société Française de Radioprotection, 5ème Congrès International, Contamination par radionucléides ostéotropes et Radioprotection, Rome, 1-5 Février 1971, pp 135-156.
- KARHAUSEN L., LANZOLA E., VACCA G., LEGOFF J. Première analyse des concentration de  $^{90}\text{Sr}$  dans les vertèbres des nouveaux-nés en Italie Société Française de Radioprotection Rome, 1-5 Février 1971, pp 118-134.

#### RAPPORTS EURATOM/C.E.A.

- BITTEL R., VAUBERT B. Analyse des problèmes de protection posés par le fluor et les composés fluorés, EUR 4669 f, BIB 200.
- RAPPORT ANNUEL 1969, 4546 f. EUR.
- BITTEL R., MERLINI M., MYTTENÅRE C., RAVERA O. Etude des paramètres du transfert du radiocobalt dans les écosystèmes continentaux aquatiques irrigués, EUR. 4628f, CEA-R 4157.
- RAPPORT ANNUEL 1970, EUR. 4700 f.
- KARHAUSEN L. Métabolisme de l'iode chez l'enfant et chez l'adolescent dans une région de la Communauté Européenne, EUR-CEA ( sous presse ).

1971 VERSLAG OVER ONDERZOEKWERKZAAMHEDEN

O76-BIAN

Institute of the Association EURATOM-ITAL  
Wageningen, the Netherlands

Hoofd van de onderzoekgroep(en): Dr.Ir. D. de Zeeuw

Algemeen thema van het verslag:

RADIATION PROTECTION

- Movement of radioactive pollutants in soils.
- Uptake of radioactive pollutants by plants.
- Radiation effects (physical, genetical,  
physiological).

# PROJECTVERSLAG

Onderzoekinstelling : ASSOCIATION EURATOM - ITAL  
 Projectnummer : 27  
 Projecttitel : Migration of fallout products in various soil types in Western Europe and their uptake by the crop

Registratie nr.:  
R-016 / 27

Onderzoeker(s) : M.J. Frissel, P. Poelstra  
 Projectleider :  
 Afdelingshoofd :

## Besteding over het afgelopen jaar (19 )

| Besteding in geld          | Tijdbesteding van direct bij het project betrokken personeel |
|----------------------------|--|
| Directe kosten-personeel f | Hoger personeel — mandagen                                   |
| „ „ -materieel f           | Middelbaar personeel — mandagen                              |
| Semi-directe kosten f      | Lager personeel — mandagen                                   |
| Omslag algemene kosten f   |  |
| Totaal f                   |  |
| Inkomsten f                |  |

### Beknopte weergave van achtereenvolgens

- A. Verslag afgelopen jaar (19 71) met vermelding van publicaties
- B. Plan komende jaar.

### A. Verslag over 19 71

#### 1. Transport of Strontium in soils

The investigations on the  $^{85}\text{Sr}$  transport in soil columns have been terminated with an experiment to investigate the influence of the properties of the top layer on the distribution pattern of  $^{85}\text{Sr}$  over the profile. The final experiment has been carried out because of the aberrant behaviour of strontium in the top layer in some last year's experiments.

Four different treatments were introduced in the experiment: top layer non treated, overgrowth removed from the top layer, top layer covered with a 3 cm layer of coarse sand and 3 cm of top layer removed. The experiments were carried out on a clay soil, taken from the forelands of the river Rhine (Oosterbeek). It appeared that the behaviour of  $^{85}\text{Sr}$  in these systems is independent of the properties of the top layer. Therefore, the aberrant Sr-behaviour observed last year has to be considered as an artefact.

The yearly sampling programme for the determination of  $^{90}\text{Sr}$  in different soil profiles has been carried out according schedule.

#### 2. Transport of Cesium in soils (M.J. Frissel, P. Poelstra, K. Schmierzchalska).

Movement of  $^{137}\text{Cs}$  in soil columns appeared to be negligible in all soils, except in peaty soils (see report 1965). Adsorption measurements were done to find out if some correlation exists between such determinations and the occasional transport of Cs.

Procedures, materials and methods as well as the extended results are described in an internal communication. The main results are presented here in the tables 1 to 4.

Table 1 shows the  $^{134}\text{Cs}$  adsorption as a function of the cation composition; the adsorption varies from 99.76% to 8.34%. The column experiments were carried out with 0.03 M Ca-Na (ratio 50-50) and 0.03 M Ca-Na-K (ratio 40-40-20); for the loess and clay the adsorption percentages under those circumstances vary from 99.85 to 98.38. Although those values are high, they are certainly not high enough to explain the negligible Cs-transport in the soil columns. Also in peat soil the adsorption is smaller than could be expected from the column experiments.

Therefore desorption measurements were performed; results are shown in the tables 2 and 3. From both tables it appears that (except for peat) the most common cations,

|  |                  |
|--|------------------|
| Onderzoekinstelling : Association Euratom-ITAL | Registratie nr.: |
| Projectnummer : 27                             |                  |

e.g. Na, Ca and Mg do hardly desorp Cs. This result fully explains the negligible transport in the soil columns.

The cations  $K^+$  and  $NH_4^+$ , which occasionally may be present in considerable quantities in the soil, cause indeed some desorption, but that transport might result from this desorption remains doubtful.

It is sometimes stated that K and Cs behave similarly in soil, although corrections with a so called selectivity coefficient are necessary. Results of the determination of the selectivity-coefficient for some of the soils and solutions used in this study are presented in table 4. The values of the presented data vary from 269 to 3.9 and therefore their use as correction-factors remains doubtful.

Table 1 - Adsorption of  $^{134}Cs$  in soils as a function of the cation-composition of the equilibrarian solution (in percentages of the dose added).

| Soils        | Concentration of the eq. solution | Treatments and cation ratios |                     |                                   |               |                             |
|--------------|-----------------------------------|------------------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------|-----------------------------|
|              |                                   | Ca-Na<br>50-50               | Ca-Na-K<br>40-40-20 | Ca-Na-NH <sub>4</sub><br>40-40-20 | Ca-K<br>40-60 | Ca-NH <sub>4</sub><br>40-60 |
| <u>Loess</u> | 0,005 N                           | 99,76                        | 99,59               | 97,83                             | 98,99         | 94,52                       |
|              | 0,03                              | 99,85                        | 98,44               | 92,59                             | 96,08         | 85,47                       |
|              | 0,1                               | 99,53                        | 93,53               | 77,40                             | 85,26         | 56,50                       |
|              | 0,3                               | 98,69                        | 81,65               | 53,89                             | 64,36         | 34,08                       |
| <u>Clay</u>  | 0,005 N                           | 99,32                        | 99,50               | 98,33                             | 98,99         | 95,59                       |
|              | 0,03                              | 99,75                        | 98,38               | 91,54                             | 95,07         | 85,18                       |
|              | 0,1                               | 99,79                        | 94,53               | 77,84                             | 86,54         | 61,12                       |
|              | 0,3                               | 98,34                        | 83,89               | 57,13                             | 65,60         | 34,65                       |
| <u>Peat</u>  | 0,005 N                           | 96,13                        | 81,08               | 53,69                             | 62,23         | 42,16                       |
|              | 0,03                              | 75,83                        | 52,92               | 30,25                             | 40,67         | 20,09                       |
|              | 0,1                               | 67,30                        | 22,31               | 16,31                             | 18,52         | 11,05                       |
|              | 0,3                               | 85,42                        | 19,83               | 10,85                             | 11,73         | 8,34                        |

|                                      |                                    |                  |
|--------------------------------------|------------------------------------|------------------|
| Onderzoekinstelling<br>Projectnummer | : Association Euratom-ITAL<br>: 27 | Registratie nr.: |
|--------------------------------------|------------------------------------|------------------|

Table 2 - Removal of  $^{134}\text{Cs}$  from clay by various cations added to a soil-solution equilibrium system with an original concentration of 0,03 N - in percentage of the total amount of cesium-134 adsorbed.

| Final concentration of the solution | Composition of the extraction solutions - cation ratios |                     |                                   |               |                             |
|-------------------------------------|---|---------------------|-----------------------------------|---------------|-----------------------------|
|                                     | Ca-Na<br>50-50  | Ca-Na-K<br>40-40-20 | Ca-Na-NH <sub>4</sub><br>40-40-20 | Ca-K<br>40-60 | Ca-NH <sub>4</sub><br>40-60 |
| 0,11 N                              | 0,25  | 0,97                | 3,0                               | 6,9           | 17,5                        |
| 0,31 N                              | 0,50  | 2,17                | 6,3                               | 16,0          | 31,9                        |

Table 3 - Removal of  $^{134}\text{Cs}$  from soils by various cations at concentrations of 0,1 and 0,5 N - in percentage of the total amount of  $^{134}\text{Cs}$  adsorbed at the original equilibrium concentration of 0,01 N.

| Soils                    | Concentration of the cation solution | Cation in the extraction solution |      |      |      |                 |      |      |      |
|--------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|------|------|------|-----------------|------|------|------|
|                          |                                      | Na                                | K    | Rb   | Cs   | NH <sub>4</sub> | Ca   | Mg   | H    |
| Clay                     | 0,1 N                                | 0,2                               | 1,6  | 4,9  | 4,4  | 5,7             | 0,1  | 0,2  | 0,2  |
|                          | 0,5                                  | 1,2                               | 6,2  | 6,8  | 4,8  | 6,7             | 0,3  | 0,4  | 3,0  |
| Black earth              | 0,1                                  | 0,3                               | 3,5  | 6,1  | 3,5  | 6,2             | 0,1  | 0,2  | 0,9  |
|                          | 0,5                                  | 1,6                               | 8,0  | 7,3  | 3,6  | 9,2             | 0,3  | 0,5  | 2,4  |
| Peat                     | 0,1                                  | 10,3                              | 59   | 42,5 | 28,1 | 64              | 8,3  | 27,9 | 35,8 |
|                          | 0,5                                  | 45,5                              | 73   | 44,4 | 29,3 | 71              | 17,5 | 36,6 | 70   |
| Loess soil               | 0,1                                  | 0,6                               | 13,9 |      |      | 32,1            | 0,1  |      | 1,1  |
|                          | 0,5                                  | 1,7                               | 35,3 |      |      | 45,1            | 0,5  |      | 2,4  |
| Sandy soil<br>(Chyllice) | 0,1                                  | 2,1                               | 32,2 |      |      | 51              | 0,4  |      | 3,3  |
|                          | 0,5                                  | 6,6                               | 55   |      |      | 60              | 1,3  |      | 10,8 |

Table 4 - Selectivity coefficients for Cs/K as a function of the composition of the soil-solution equilibrium system.

| Concentration of the cations | Loess cation ratios |               | Clay cation ratios  |               | Peat cation ratios  |               |
|------------------------------|---------------------|---------------|---------------------|---------------|---------------------|---------------|
|                              | Ca-Na-K<br>40-40-20 | Ca-K<br>40-60 | Ca-Na-K<br>40-40-20 | Ca-K<br>40-60 | Ca-Na-K<br>40-40-20 | Ca-K<br>40-60 |
| 0,005 N                      | 269                 | 159           | 265                 | 257           | 13,9                | 6,9           |
| 0,03                         | 138                 | 88            | 161                 | 123           | 9,4                 | 6,4           |
| 0,1                          | 124                 | 72            | -                   | 96            | 7,8                 | 3,9           |
| 0,3                          | 64                  | 33            | 68                  | 42            | 8,1                 | -             |

# PROJECTVERSLAG

|  |   |
|--|---|
| Onderzoekinstelling : ASSOCIATION EURATOM-ITAL<br>Projectnummer : 23<br>Projecttitel : Kinetics of ion-uptake by intact plants | Registratie nr.:<br><b>R-016 / 23 b</b> |
| Onderzoeker(s) : G.R.M. Verfaillie<br>Projectleider :<br>Afdelingshoofd :  |   |

## Besteding over het afgelopen jaar (19 )

| Besteding in geld          | Tijdbesteding van direct bij het project betrokken personeel. |            |
|----------------------------|---|------------|
| Directe kosten-personeel f | Hoger personeel   | — mandagen |
| "    "-materieel f         | Middelbaar personeel  | — mandagen |
| Semi-directe kosten f      | Lager personeel   | — mandagen |
| Omslag algemene kosten f   |   |            |
| <br>Totaal f               |   |            |
| Inkomsten f                |   |            |

### Beknopte weergave van achtereenvolgens

- A. Verslag afgelopen jaar (19 71) met vermelding van publicaties  
 B. Plan komende jaar.

A. Verslag over 1971.

### Technical improvements.

The apparatus built at the Associations Institute for the study of the kinetics of ion-uptake by intact plants in a closed system and described in previous reports, has been modified. The improvements obtained by these modifications are:

- Larger space for the aerial parts, both in height and in diameter and better distribution of the air stream in the chamber.
- Constancy and homogeneity of the air temperature are notably increased.
- The maximum light intensity produced in the empty chamber has been increased from 30,000 lux up to 40,000 lux.
- Simplified air connections in the air chamber give more space for the rice plants, allowing the use of 24 plants instead of 20 for each experiment.
- Vibrational stirring of the nutrient solution in the culture vessel produces, at any point in this vessel, an average local stream velocity of 30 cm/sec, without harming the roots. Equivalent velocity obtained by the use of a circulation pump would require a flow-rate of 20 cubic meters per hour. It seems to be the best way to eliminate the film-diffusion problems in ion-uptake experiments.

The apparatus in its final version has, since October, been used in preliminary experiments, mainly to check its working and possibilities. Description and results of these experiments are given here.

### The rate of phosphate-uptake as a function of the phosphate concentration and the chemical composition of the nutrient solution.

#### Material and methods.

For each experiment, a batch of 24, six weeks old, intact rice plants (*Oryza sativa* L., cv Maratelli) has been used. Using the <sup>32</sup>P tracing method, the uptake of phosphate ions has been followed continuously during the exhaustion of the phosphate from a closed constant volume of nutrient solution. With each batch of plants, two different treatments have been applied, namely, feeding first with a pure KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> solution (1 ppm P) and, later on, with a complete nutrient solution having the same phosphate concentration as in the first treatment. The whole

Onderzoekinstelling : Association Euratom-ITAL  
 Projectnummer : 23

Registratie nr.:

series of observations has been repeated for each of five similar batches of plants. The results presented below represent average values. During all experiments, the plants have been kept under strictly controlled conditions. These conditions are:

|  |   |   |
|--|---|---|
| Temperature of the air                                   | : | $25^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  |
| Temperature of the solution                              | : | $25^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$  |
| Light intensity  | : | $20,000 \text{ lux} \pm 200 \text{ lux}$  |
| Rate of transpiration                                    | : | 27.7 g water per hour and per batch.<br>The variability was 1 g/h between batches and 0.2 g/h for a single batch in the course of one experiment. |
| Rate of photosynthesis                                   | : | 600 ml $\text{CO}_2$ (NPT) per hour and per batch.<br>Reproducibility better than 1 percent.  |
| Phosphate concentrations                                 | : | Continuous scanning from 1 ppm P down to 25 ppb P.  |
| pH   | : | $5.5 \pm 0,02$  |
| Composition of the matrix nutrient solution (when used): |   |   |
|  |   | K - Ca - Mg : 5 meq/l each.   |
|  |   | Nitrate : 12 meq/l  |
|  |   | Sulphate : 3 meq/l  |

#### Results and comments.

For both treatments, the variations of the uptake with the phosphate concentration are illustrated by the curves plotted in fig 1. A sudden change in the rate of uptake occurs in both treatments around 0.6 ppm P or 0.02 mM.

The enhancing effect of the matrix nutrient solution is obvious in fig 1 and it will be more precisely expressed by a factor defined as the ratio of the rate of uptake from a complete solution to that of the uptake from a pure  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  solution. This factor varies around a value of 2 depending on the concentration of the phosphate as it is shown in fig 2. According to these variations, besides 0.6 ppm, another threshold concentration might exist between 0.2 and 0.3 ppm. However, this preliminary information has to be confirmed by further experiments.

#### Rate of release of phosphate under natural conditions and after poisoning with DNP (2:4 - Dinitro-Phenol).

#### Material and methods

After the last uptake experiment described above, the root system of the radioactively tagged rice plants has been washed three times with demineralized water, and the release of  $^{32}\text{P}$  has been followed over 46 hours. During a first period of 18 hours, the light intensity has been kept at 20,000 lux, as for the uptake experiments. The air circuit was open, what means that the photosynthesis proceeded in normal air containing about 0.04 percent  $\text{CO}_2$ . Afterwards, the air circuit has been closed, forcing the photosynthesis to proceed at compensation (photosynthesis and respiration cancelling each other) during 4 hours. Finally, from the 22nd to the 46th hour, switching out of the light suppressed all photosynthetic activity but allowed the respiration to go on.

After again washing the root system, a  $3.10^{-4}\text{M}$  DNP solution has been fed to the plants, and the further release of  $^{32}\text{P}$  has been followed in darkness during 43 hours.

#### Results and comments.

The results of this experiment have to be considered as an introduction to further research and the comments must be taken with some reserves.

The thin line drawn in fig 3 represents the cumulated release of  $^{32}\text{P}$  plotted against the time, in absence of DNP. During the first phase of the experiment, when the photosynthetic conditions were normal, the efflux-rate of the radiophosphate was



|                                      |                                    |                  |
|--------------------------------------|------------------------------------|------------------|
| Onderzoekinstelling<br>Projectnummer | : Association Euratom-ITAL<br>: 23 | Registratie nr.: |
|--------------------------------------|------------------------------------|------------------|

nearly constant, with the exception of the possible existence of several small steps. At the end of this phase, the release of radiophosphorus had reached a value of 0.3 percent of the total activity previously taken up by the plants. Later on, when the plants were submitted to compensation conditions, the activity of the solution remained steady, indicating that the release of phosphate was also compensated by an uptake still going on. Finally, in the last phase, when the respiration was proceeding alone, the activity of the solution decreased exponentially or, in other words, with a rate proportional to the phosphate concentration in the solution. The latter fact is in complete agreement with interpretations of the uptake from very dilute solutions, whatever the formalism used for the kinetics. At the end of the experiment, the residual phosphate concentration in the solution was below the detection limit (0.02 ppm P) of the colorimetric method with extraction.

The heavy curve in fig 3 represents the cumulative release of <sup>32</sup>P resulting from the poisoning with DNP. The efflux appeared in two waves, the later one overlapping the earlier one 56 minutes after poisoning and increasing suddenly the rate of release by a factor of 11.2. During the first wave, the efflux-rate was increasing with time and concentration, while, for the second wave, it was decreasing exponentially. These facts show that the phosphate ions have been released from two different pools. The pool producing the first wave immediately after poisoning must be very close to the solution, thus in the roots, and its capacity is much smaller than that of the second pool. The exponential decrease of the efflux-rate during the second wave implies a diffusion process, the rate of which is proportional to the difference between the inner and the outer concentrations. When the efflux stops, the phosphate concentration in the solution must be equal to that in the roots. By colorimetric analysis, 1 ppm P was found as equilibrium concentration and the fraction of the radiotracer recovered was 15.1 percent of the amount initially absorbed. Furthermore, if diffusion is the process of the second efflux wave, the distance between the second pool and the solution must be long enough to explain the time-interval between the poisoning and the start of the second efflux wave. The passage from the first to the second wave is illustrated by fig 4 representing a detail of the experimental record on chart paper at the original scale.

Finally, it is worthwhile to mention that, if the <sup>32</sup>P has been released after poisoning with the same specific activity as under natural conditions, the phosphate concentration we were not able to measure by colorimetry (see above) in the first part of this experiment, would be equal to 12.3 ppb P.

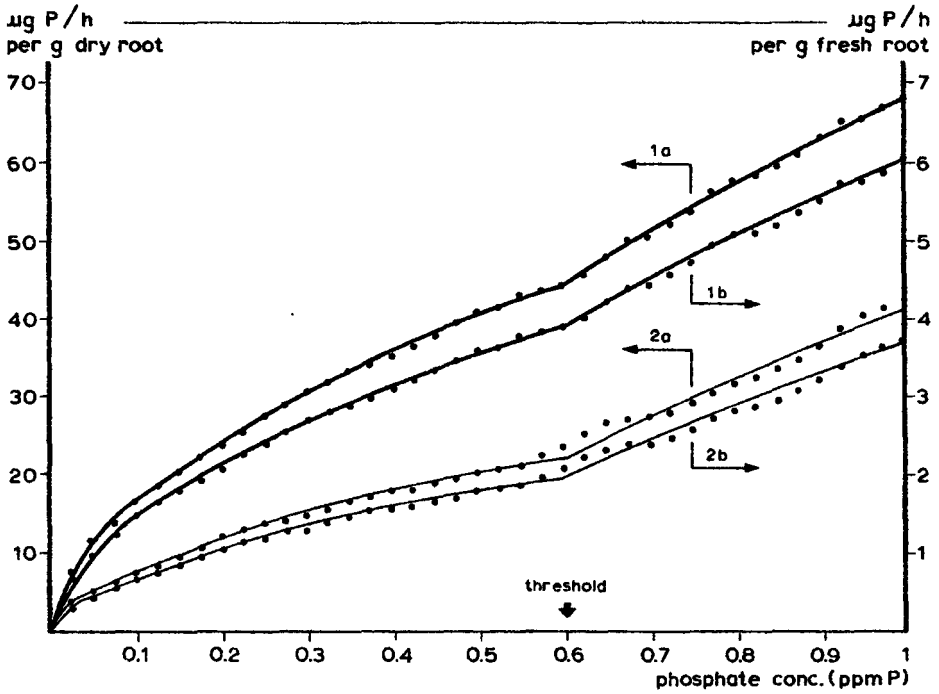


fig. 1

Rate of phosphate-uptake as a function of the phosphate concentration and of the chemical composition of the nutrient solution.

Numbering of the curves:

- 1 : uptake from complete nutrient solution
- 2 : uptake from a pure  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  solution
- a : rate based on dry root weights
- b : rate based on fresh root weights
- dots : experimental points as calculated from continuous recordings.

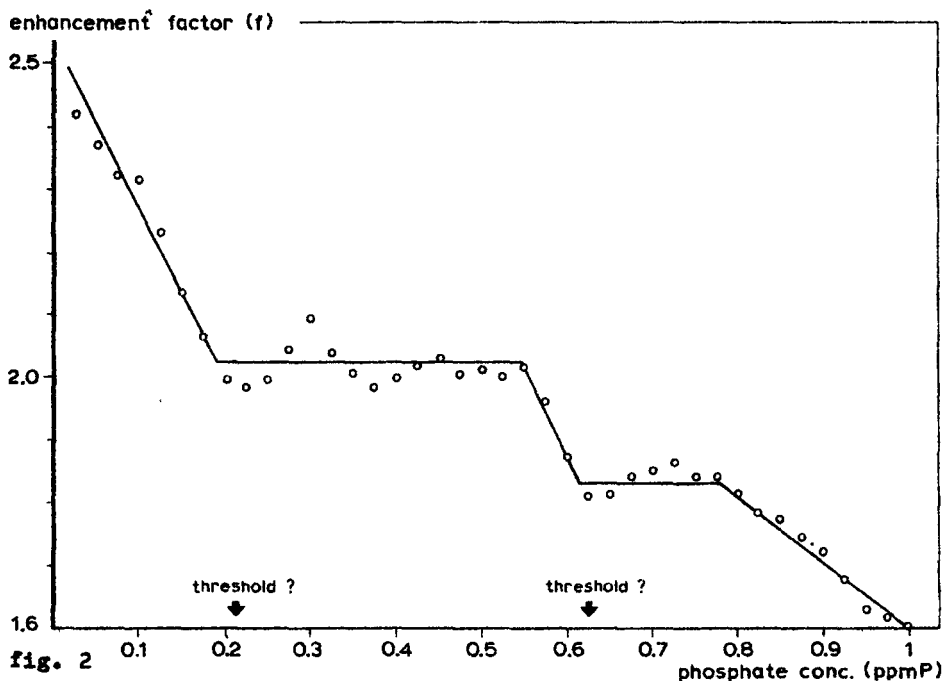


fig. 2  
 The enhancement factor ( $f$ ) of the matrix nutrient solution as a function of the phosphate concentration

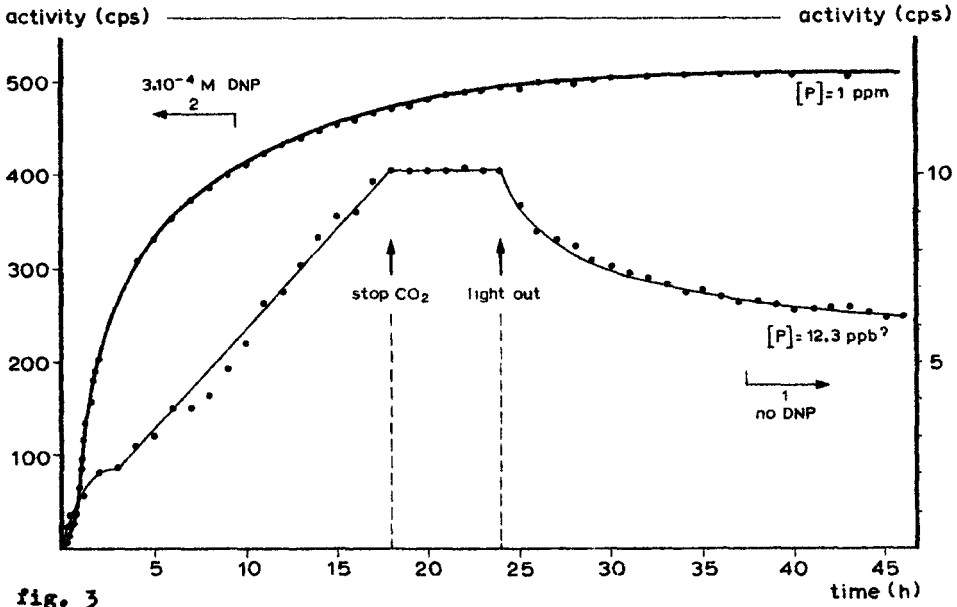


fig. 3  
 Activity of the nutrient solution due to the release of  $^{32}\text{P}$  by intact rice plants.  
 Thin line (1) : release under natural conditions  
 Heavy line (2) : release after poisoning with  $3.10^{-4}$  M DNP solution

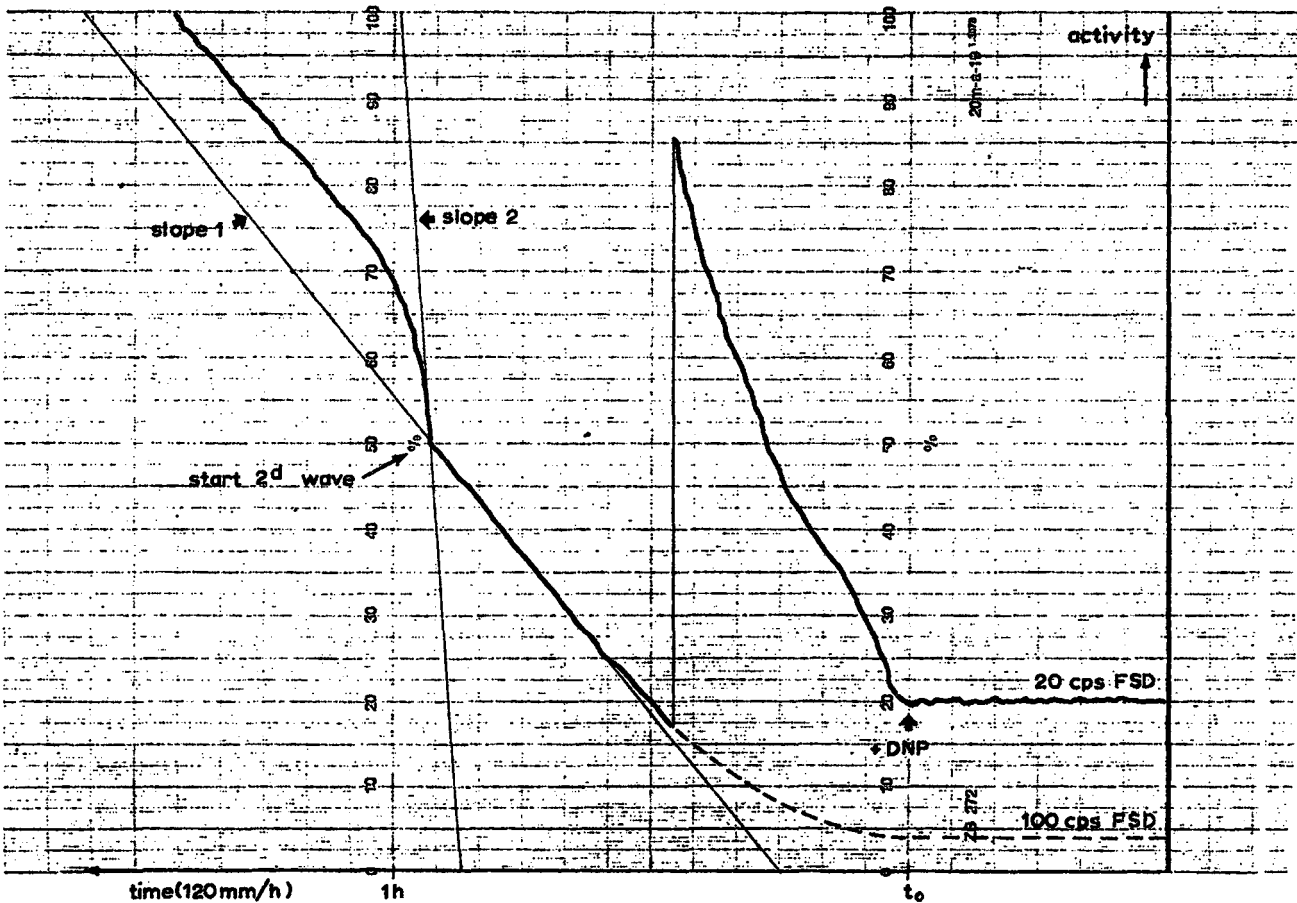


FIG. 4  
 Details of the beginning of the phosphate release after poisoning with DNP as actually recorded on the chart paper

# PROJECTVERSLAG

Onderzoekinstelling : ASSOCIATION EURATOM - ITAL  
 Projectnummer : 32  
 Projecttitel : Investigations on thermal neutron sensitivity of living organisms.

Registratie nr.:  
R-016 / 32

Onderzoeker(s) : R. Ecochard  
 Projectleider :  
 Afdelingshoofd :

## Besteding over het afgelopen jaar (19 )

| Besteding in geld          | Tijdbesteding van direct bij het project betrokken personeel. |
|----------------------------|---|
| Directe kosten-personeel f | Hoger personeel -- mandagen                                   |
| " " -materieel f           | Middelbaar personeel -- mandagen                              |
| Semi-directe kosten f      | Lager personeel -- mandagen                                   |
| Omslag algemene kosten f   |   |
| Totaal f                   |   |
| Inkomsten f                |   |

### Beknopte weergave van achtereenvolgens

A. Verslag afgelopen jaar (19 71) met vermelding van publicaties

B. Plan komende jaar.

A. Verslag over 19 71

### Previous results and general orientation of the Project.

During the past years, it was shown with *Vicia faba* L. and *Lycopersicon esculentum* Mill. that for several criteria (cytological, genetical and physiological) two nuclear reactions are the major sources of induced damages:  $^{14}\text{N}(n,p)^{14}\text{C}$  and  $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$ . Their effects are independent and additive, the former being prevalent, and both can be controlled by isotopic substitution.

One of the major conclusions of this work was that the real abundance at the sites of accumulation of the element in the cell, especially in the case of boron, is more important than its average abundance: a general RBE calculated for the boron reaction in the tissues is indeed highly underestimated, because boron is more concentrated at the cell periphery.

Therefore it would be desirable to demonstrate directly this uneven distribution by autoradiographic techniques, not only to substantiate the previous results, but for the general interest in plant physiology. This implicates that the alpha-lithium particles released by the  $^{10}\text{B}$  reaction can be discriminated from other traces, especially protons and gammas.

Another corollary is that sensitization of specific sites should be made possible by  $^{14}\text{N}$  or  $^{10}\text{B}$  incorporation at these sites in an otherwise  $^{15}\text{N}^{11}\text{B}$  containing tissue. It was suggested to attempt this in organisms and conditions where this method can reveal well defined radio-induced effects.

### 1971 results.

#### 1. Effects of boron on pollen tube growth.

Boron is said to play an important, but insufficiently elucidated, role in pollen-tube relationships. Some information might be obtained by estimating the influence on seed setting of a thermal neutron irradiation during pollen tube growth, when the two partners of a cross (in *Lycopersicon peruvianum* for instance) are grown, one in  $^{10}\text{B}$  and the other one in  $^{11}\text{B}$ . First results indeed indicated a stronger fertility reduction with "hot pollen" than in the reciprocal. More replications of this experiment are needed before concluding.

|                     |                            |                  |
|---------------------|----------------------------|------------------|
| Onderzoekinstelling | : Association Euratom-ITAL | Registratie nr.: |
| Projectnummer       | : 22                       |                  |

Effect of boron on the metabolic activity of Lemna minor.

Lemna minor L. (duck weed) was introduced in the experimentation because of its natural high boron content and because of the fact that it can be cultivated in sterile nutrient mineral solutions in an easy, fast and reproducible manner. In a first experiment, performed with Prof. Thellier (Laboratoire de Nutrition minérale, Rouen University) the effect of thermal neutron irradiation on the carbohydrate metabolism was studied after <sup>14</sup>C-bicarbonate incorporation, Lemna populations being grown on <sup>10</sup>B- and <sup>11</sup>B containing solutions comparatively. Results are not yet known.

A second experiment consisted in submitting Lemna populations, respectively grown on <sup>14</sup>N<sup>10</sup>B <sup>14</sup>N<sup>11</sup>B <sup>15</sup>N<sup>10</sup>B <sup>15</sup>N<sup>11</sup>B, to chronic thermal neutron radiation and comparing their growth curves. Figure 1 shows that, in contrast with all former results obtained in this Laboratory, the boron effect is now greater than the nitrogen effect. Such behaviour was expected on the basis of chemical composition, the Boron/Nitrogen ratio being 8 times greater in Lemna than in tomato pollen (Table 1).

Table 1 - Chemical composition of tomato pollen and Lemna (provisional data) expressed in percentage of the fresh tissues.

|     | <u>Tomato pollen</u> | <u>Lemna plants</u> |
|-----|----------------------|---------------------|
| C   | 46.07 percent        | 1.64 percent        |
| O   | 32.07                | 86.55               |
| H   | 7.31                 | 10.89               |
| N   | 9.28                 | 0.23                |
| B   | 0.00266              | 0.000546            |
| ash | <u>5.27</u>          | <u>0.69</u>         |
|     | 100                  | 100                 |

The definitive results of this experiment are now computed, to give a complete interpretation of them in radiobiological terms.

Boron localization by autoradiography.

Previous autoradiographic experiments did not result in clear determination of the alpha track distribution (n,<sup>10</sup>B reaction) for the following reason: the fog due to gamma contamination of the beam fixes an upper limit to the flux to be used, and consequently to the possible track frequency at the actual boron content in the tissues.

Trials to improve the ionographic technique used (see Project 31) failed to enhance its sensitivity.

But it has now been found that the neutron conducting tube built in the Saclay EL<sub>3</sub> Reactor by B. Farnoux reduced the gamma/neutron ratio by a factor of 50 (measurements performed by the dosimetry group of the Association. see table 2)

Onderzoekinstelling : Association Euratom-ITAL  
 Projectnummer : 32

Registratie nr.:

Table 2 - Comparative performance of Barn and EL<sub>3</sub> reactor for purity of the thermal neutron beam.

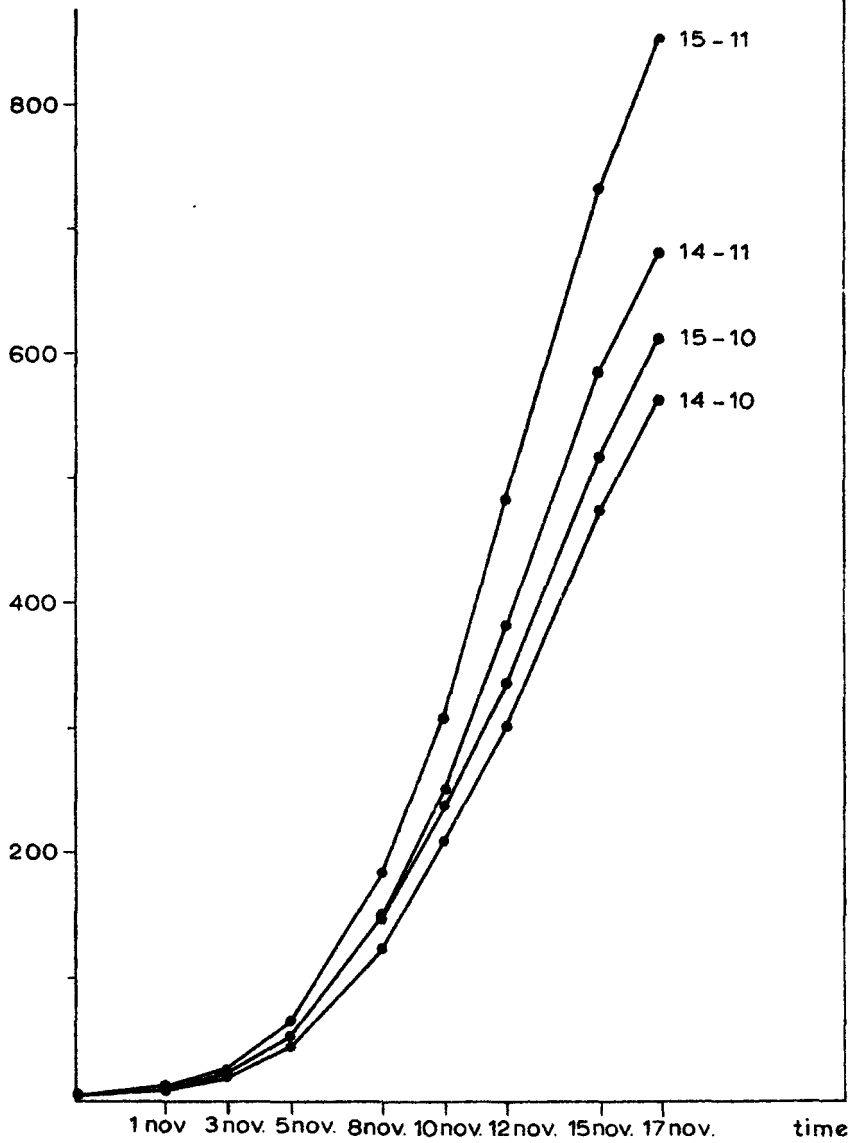
|                             | BARN                 | EL <sub>3</sub>   |                      |
|-----------------------------|----------------------|-------------------|----------------------|
|                             | (thermal column)     | without moderator | with moderator       |
| Flux density                | $5 \times 10^7$      | $5 \times 10^7$   | $29 \times 10^7$     |
| gamma contam.               | 40 R/h               | 0.8* R/h          | 4.6** R/h            |
| max. permissible gamma dose | 10 R                 |                   | 10 R                 |
| corresp. exposure           | 15 min               |                   | 2 h.                 |
| corresp. fluence            | $4.5 \times 10^{10}$ |                   | $210 \times 10^{10}$ |

\* Average of 3 measurements with various exposure times.

\*\* Estimated to be proportional with neutron flux density.

This revives the hope of solving the problem. Boron-10 enriched Lemna material was found to be very suitable also for methacrylate inbedding after freeze-substitution, and was prepared for being treated in Saclay in the beginning of 1972.

number individuals  
per population  
(average of 8 pop. per treatment)



Vegetative growth of LEMNA MINOR under continuous thermal neutron irradiation as affected by nitrogen and boron isotopic composition



# PROJECTVERSLAG

|                     |                              |                  |
|---------------------|------------------------------|------------------|
| Onderzoekinstelling | : ASSOCIATION EURATOM-ITAL   | Registratie nr.: |
| Projectnummer       | : 46                         | R-016 / 46       |
| Projecttitel        | : Applied Dosimetry.         |                  |
|                     |                              |                  |
| Onderzoeker(s)      | : K.H. Chadwick, K.J. Puite. |                  |
| Projectleider       | :                            |                  |
| Afdelingshoofd      | :                            |                  |

## Besteding over het afgelopen jaar (19 )

| Besteding in geld          | Tijdbesteding van direct bij het project betrokken personeel. |
|----------------------------|---|
| Directe kosten-personeel f | Hoger personeel - mandagen                                    |
| „ „ -materieel f           | Middelbaar personeel - mandagen                               |
| Semi-directe kosten f      | Lager personeel - mandagen                                    |
| Omslag algemene kosten f   |   |
| Totaal f                   |   |
| Inkomsten f                |   |

### Beknopte weergave van achtereenvolgens

A. Verslag afgelopen jaar (1971) met vermelding van publicaties

B. Plan komende jaar.

A. Verslag over 1971

### X-ray dose and dose distribution intercomparisons

For an assessment of late somatic effects of ionizing radiation in mammalian organisms, a joint project has been initiated by a group of institutes cooperating within the European Late Effects Project Group (EULEP). Because the standardization of methods is important for a coordination of these experiments intercomparisons of the absorbed dose and dose distribution for X-rays with effective energies of 30-150 keV (HVL 1-3 mm Cu) using mailed LiF thermoluminescent (TL) dosimeters have been performed.

Before starting the dose distribution intercomparison, measurements were carried out in cooperation with Dr. J.J. Broerse and B. Hogeweg at the Radiobiological Institute, Rijswijk using different exposure arrangements in order to study the effect of scattering on the dose distribution in a mouse phantom.

The results of these intercomparisons, which will be published in Phys. Med. Biol., have provided additional evidence on the usefulness of LiF TL dosimeters for postal X-ray dose intercomparisons. The reproducibility of the TL reading from one capsule was found to be  $\pm 1.2\%$ . The total uncertainty of the dose intercomparison was estimated to be  $\pm 3\%$ , while for the dose distribution intercomparison a total uncertainty of  $\pm 4.5\%$  was calculated. For only six out of fourteen institutes, the absorbed dose agreed to  $\pm 5\%$  relative to the standard value, whilst with regard to the dose distribution it has to be concluded that in only five out of thirteen institutes mice irradiations were performed in conditions of uniform irradiation. The results of the intercomparisons demonstrate the need for standardization of the X-ray dosimetry in order to allow a comparison of biological results.

Onderzoekinstelling : ASSOCIATION EURATOM-ITAL  
Projectnummer : 46

Registratie nr.:

### Fast neutron dosimetry using LiOH

LiOH powders from different commercial firms have been tested on their usefulness for measuring the proton recoil dose in a mixed fast neutron-gamma field. This material is almost tissue equivalent for gamma rays (Z value of 7) and it exhibits a high TL sensitivity for fast neutrons compared to gamma rays, as may be expected. However, the rapid fading (25 % during the first day after irradiation) of the 130°C TL peak and the low TL efficiency does not make LiOH an attractive dosimeter for fast neutron fields.

### Polymethylmethacrylate (PMMA) Dosimetry

The material used at the institute up to June 1971 for PMMA dosimetry has been altered by the manufacturer and is no longer useful for dosimetry. In order to bring the Institute into line with the U.K. and USA the HX-dosimetry perspex has been adopted and a programme was set up to calibrate and investigate the stability of this material.

The results of this experiment, in which calibration curves were also made for spectrophotometers from the Pilot Plant (for food irradiation and Gammaster plant for Sterilization of medical products), can be summarized as follows.

- the wavelength 314 nm was found to be more stable than the wavelength 305 nm normally used with HX perspex
- the calibration curves at 305 nm and 314 nm were identical for three out of the four spectrophotometers.
- the calibration curve at 305 nm for the 1 mm material was identical to that given by the U.K. Panel for Electron and Gamma irradiation. A discrepancy was found in the 3 mm material.
- the instability in the 305 nm results can be ascribed to a time and temperature dependent radical reaction.
- the dosimetry has a reproducibility over a wide dose range of  $\sim 1.5\%$ .

The results of this work are given in Internal Report 104 and were presented to the IAEA Panel on National and International Dose Inter-comparisons, Vienna, December 1971.

In connection with the Dutch-German Cooperation in food irradiation a German technician paid a 3 day visit to ITAL to study the use of the perspex dosimetry. This visit resulted in an improvement of the German reproducibility from 7 % to 1.5 % using the perspex.

# PROJECTVERSLAG

|                     |  |                  |
|---------------------|--|------------------|
| Onderzoekinstelling | : ASSOCIATION EURATOM-ITAL                                   | Registratie nr.: |
| Projectnummer       | : 47   | R-016 / 47       |
| Projecttitel        | : Primary radiation effects in biological matter.            |                  |
| Onderzoeker(s)      | : K.H. Chadwick, K.J. Puite, H. Leenhouts, W.F. Oosterheert. |                  |
| Projectleider       | :  |                  |
| Afdelingshoofd      | :  |                  |

Besteding over het afgelopen jaar (19 )

|   |  |
|---|--|
| Besteding in geld<br>Directe kosten-personeel <i>f</i><br>" " -materieel <i>f</i><br>Semi-directe kosten <i>f</i><br>Omslag algemene kosten <i>f</i><br><hr style="border-top: 1px dashed black;"/> Totaal <i>f</i><br>Inkomsten <i>f</i> | Tijdbesteding van direct bij het project betrokken personeel:<br>Hoger personeel - mandagen<br>Middelbaar personeel - mandagen<br>Lager personeel - mandagen |
|---|--|

Beknopte weergave van achtereenvolgens

A. Verslag afgelopen jaar (1971) met vermelding van publicaties

B. Plan komende jaar.

A. Verslag over 1971

## Polymethyl methacrylate (PMMA)

The relationship between the unstable optical density (OD) at 314 nm formed in polymethyl methacrylate on irradiation was correlated with the concentration of the typical nine (9) line free radical spectrum in a series of experiments.

- the dependence of radical concentration and unstable OD with gamma radiation dose gave a correlation coefficient of 0.995 with type P1.
- the correlation with fast neutron dose was 0.93 for P1 and 0.96 for P2
- the correlation with irradiation at a constant dose at different temperatures from -196 to 20°C gave correlation factors of 0.994 for P1 and 0.990 for P2.
- the fading of the electron spin resonance (ESR) signal and OD on storage in oxygen were identical except for the first 3-5 days. The fading rates were different in each type of PMMA.

Several general conclusions may be drawn from the work with PMMA up to now:

- the general radical concentration versus dose equation.

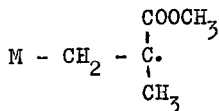
$$R = k (1 - e^{-\phi D})$$

also applies to the unstable OD induced in PMMA and the value  $\phi$  will be related to the annihilation probability of the radicals (Horan + Snipes 1967, 1969) the complete radical concentration versus dose is given by the equation

$$R = \frac{p\sigma N_0}{p-\sigma} (e^{-\sigma D} - e^{-\phi D})$$

where  $\sigma$  is the probability for the production of the radicals. (Henriksen 1966).

- the typical nine line ESR spectrum found after irradiation is caused by one radical, probably



Onderzoekinstelling : ASSOCIATION EURATOM-ITAL  
 Projectnummer : 47

Registratie nr.:

and the change in ESR spectrum found on heating is similar, through less obvious than that found in the photo-induced process, and is caused by the decay of this first radical into a second radical species which has a broad singlet spectrum.

- the photoinduced process is caused by a radical conversion and:
  1. the decay of the first radical occurs via a bimolecular diffusion-controlled process.
  2. the total radical concentration does not change.
  3. the new radical has an intense OD absorption at 300 nm.
  4. a stable product is formed which is identical to that found following gamma irradiation.
  5. the new radical has an ESR spectrum which resembles a broad singlet.
- the results have demonstrated that the use of two or more analytical techniques to investigate the radiation process can lead to a better understanding of the process, although a complete understanding of the photo-induced process would involve a multi-disciplinary approach involving organic and physical chemistry as well as physics.

Over a period of nine months a student from the Technical Physics Group of the Technical University, Eindhoven, has worked at the Associations Institute studying the dependence of the OD-dose relationship in PMMA on irradiation temperature using temperatures from  $-196^{\circ}\text{C}$  up to room temperature. The results will be analysed on the basis of the production and annihilation of radicals.

- the results have illustrated the advantages of combining two or more analytical techniques in order to obtain a better understanding of the processes which are occurring.

#### Thermoluminescence of collagen

The thermoluminescence (TL) signal from dry collagen (ex bovine tendon, Koch-Light Ltd, England), irradiated at liquid nitrogen temperature was studied. The glow curve shows three distinct maxima at 130, 210 and  $256^{\circ}\text{K}$ . Initial rise calculation for the dominant peak at  $210^{\circ}\text{K}$  resulted in a trap depth of 0.35 eV. Comparing these data with the TL data reported by Augenstine et al (1960) for all the constituent amino acids of collagen it follows that none of the traps present in these amino acids is found at  $210^{\circ}\text{K}$  with a trap depth of 0.3 - 0.4 eV. The TL data of collagen may be explained by the modification of the charge distribution of the amino acids leading to different trapping sites. Although, in general extremely high doses ( $10^7$  -  $10^8$  rad) are required to produce other detectable physical effects on dried samples of collagen (Cooper and Russell 1969) doses of 25 rad result already in a distinct TL response.

#### Luminescence decay in DNA

An important aspect in the interaction of ionising radiation with biological material is the kinetics of the electrons in the material after ionization. In order to investigate this aspect an experimental set-up has been built to study the radio- and photoluminescence decay in DNA.

A mechanical chopper provides a repeated short irradiation or illumination of the sample and the luminescence following is measured by a photo-multiplication tube; the signal is digitalised and fed into a multichannel analyser used in the time mode. The time base is controlled by the frequency of a frequency generator and started at a fixed time relative to the end of the exciting radiation pulse. This system permits the storing and addition of data from many excitation cycles in order to arrive at a reasonable accuracy. The decay times that can be measured, lie between 10 ns and 10  $\mu\text{s}$ .

Onderzoekinstelling : ASSOCIATION EURATOM-ITAL  
 Projectnummer : 47

Registratie nr.:

Figure 1 gives the results of the luminescence decay at 450 nm in DNA ex-thymus at a temperature of  $-160^{\circ}\text{C}$ . From the first experiments one can conclude:

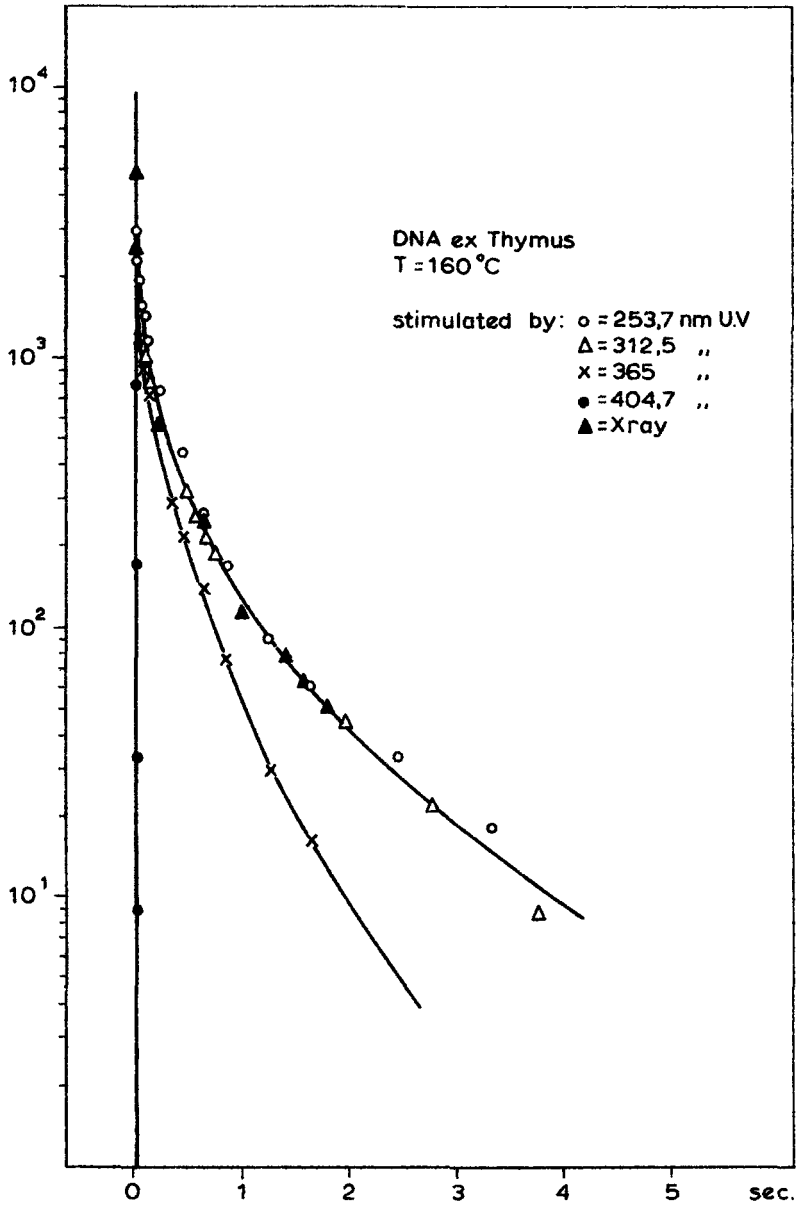
- The decay of radioluminescence and of photo-luminescence excited by U.V. with a wavelength lower than 300 nm is identical. The decay of photo-luminescence with U.V. larger than 300 nm is faster.
- The decay is non-exponential and it is difficult to analyse in a composition of two or three exponential decay times. This probably implies that energy or electron transfer processes are involved. An analysis in terms of a diffusion-controlled reaction looks very promising, but further experiments are needed to find more evidence for it.
- The radioluminescence spectra during excitation and in the 'afterglow' have the same shape within the experimental errors, this result constitutes further evidence for transfer processes. The photoluminescence spectra, however, are shifted to shorter wavelengths and the spectra during the 'afterglow' have different shapes. A more sensitive spectral measurement is needed to give better details.

#### The molecular target theory

A theory has been developed to explain the survival of biological units following radiation. Important aspects of the theory are that the original target is considered to be a molecular bond, that it contains parameters which take into account the physico-chemical, biochemical and biological processes of restitution and repair occurring during and after irradiation. The single-target theory gives an equation similar to that of Lea (1956) except that the exponent has a different interpretation. The double-target theory is used to explain the survival of biological cells and is based on the idea that there are in a cell many molecular targets which can be damaged by radiation, that the targets may be repaired, that for cell death two damaged targets must combine to give a lesion and that a number of lesions induce cell death.

#### References

- Horan and Snipes: Electron spin resonance studies of free radical turnover in gamma irradiated single crystals of alanine. *Radiation Res.* 30, 307-315 (1967).
- Horan and Snipes: Free radical destruction by gamma irradiation at  $77^{\circ}\text{K}$ . *Int. J. Radiat. Biol.* 15, 157-161 (1967).
- Henriksen: Production of free radicals in solid biological substances by heavy ions. *Radiation Res.* 27, 676-695 (1966).
- Lea: *Actions of Radiations on Living cells*. Cambridge University Press 1956.
- Augenstine L.G. et al: Radiation effects at the macromolecular level. *Radiation Res. Suppl.* 2, 19-46 (1960).
- Cooper D.R. and A.E. Russell: The decomposition of soluble collagen by  $\gamma$ -irradiation. *Biochem. J.* 112, 265-269 (1969).



# PROJECTVERSLAG

|                     |   |  |
|---------------------|---|--|
| Onderzoekinstelling | ASSOCIATION EURATOM - ITAL  | <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">                 Registratie nr.:<br/>                 R-016 / 54 b             </div> |
| Projectnummer       | 54  |  |
| Projecttitel        | Uptake and release of ions by subcellular structures, mainly chloroplasts and mitochondria. |  |
| Onderzoeker(s)      | A. de Ruyter, A. Ringoet, G. Sauer.   |  |
| Projectleider       |   |  |
| Afdelingshoofd      |   |  |

## Besteding over het afgelopen jaar (19 )

| Besteding in geld          | Tijdbesteding van direct bij het project betrokken personeel |
|----------------------------|--|
| Directe kosten-personeel f | Hoger personeel -- mandagen                                  |
| " " -materieel f           | Middelbaar personeel -- mandagen                             |
| Semi-directe kosten f      | Lager personeel -- mandagen                                  |
| Omslag algemene kosten f   |  |
| Totaal f                   |  |
| Inkomsten f                |  |

### Beknpte weergave van achtereenvolgens

- A. Verslag afgelopen jaar (1971) met vermelding van publicaties
- B. Plan komende jaar.

A. Verslag over 19 71.

## Ca uptake by isolated chloroplasts.

### Methodology and Materials

Spinach (*Spinacia oleracea* L., cv. Noorman) plants, used in these experiments were initially bought at the local supermarket.

Oat (*Avena sativa* L., cv. "Marne") and spinach plants later on were grown under controlled (climate and nutrient medium) conditions.

Aqueous (Nobel 1969) but also so-called "dry" chloroplast isolation methods have been applied to spinach- and oat leaves. In the former method, on the average, 60% of the isolated chloroplasts are of the Class I type (inner and outer membrane probably intact). Separation of the chloroplasts from the isolation or incubation medium can be done either by centrifugation (once or repeatedly) or by filtration. Normal centrifugation (1000 x g) is used in experiments which are not time-bound. In all other cases, e.g. time related Ca-uptake, an improved filtration technique is applied. Millipore filters (0.8 µm pore size and 13 mm diameter), pretreated with a 1% LaCl<sub>3</sub> solution to avoid Ca-adsorption, on filter holders are connected to a plexi-glass box with a vial in which the filtrates (isolation or incubation media) are collected under vacuum.

The chlorophyll content of the isolated chloroplasts is determined by the well-known Arnon method (1952). Starting from 60 g fresh weight samples of the mesophyll part of spinach leaves, the average total chlorophyll content of isolated chloroplast suspensions amount to 3900 ± 257 µg.

The chlorophyll content of the spinach-chloroplast suspensions of increasing concentration in relation to the spectrophotometric extinctions proves the reproducibility of the chloroplast isolation technique. The chlorophyll a/chlorophyll b ratio, as measured in a certain number of isolated spinach chloroplast samples, is very constant: 2.06 ± 0.04.

Ca- and Mg-content of the suspensions, the isolated chloroplasts and the leaves is measured by Atomic Absorption Spectrophotometry (A.A.S.).

Preliminary potassium and sodium data are obtained by a flame-photometric method (Van Schouwenburg 1970). Almost all uptake experiments reported here for spinach chloroplasts are done in a 0.3 M saccharose incubation medium buffered at pH 7.9 by Tris.HCl. In recent experiments this buffer has been replaced by the MOPS buffer, which has a better buffer capacity below pH 7.5 (pH of the cell sap of the spinach

|                     |                            |                  |
|---------------------|----------------------------|------------------|
| Onderzoekinstelling | : Association Euratom-ITAL | Registratie nr.: |
| Projectnummer       | : 54                       |                  |

leaves: 6.2) and which probably interferes less with the calcium binding process. The same medium is generally used for isolation of the chloroplasts. In all uptake experiments a <sup>45</sup>Ca label of 0,2 µCi <sup>45</sup>Ca/ml is applied. The experimental set-up has been improved by the use of a dark room and a better illumination device to avoid the variable day light and temperature interference with the calcium uptake process.

Results

1. Chlorophyll, dry matter and cation content of oat and spinach leaves.

Table 1 - Dry matter (% fresh weight), chlorophyll (µg/g fresh leaf) and cation content (mg/g dry leaf) of oat and spinach leaves.

|         | <u>Chlorophyll</u> | <u>Dry matter</u> | <u>Ca</u> | <u>Mg</u> | <u>K</u> | <u>Na</u> |
|---------|--------------------|-------------------|-----------|-----------|----------|-----------|
| Oats    | 1924               | 13.2              | 2.7-4.0   | 5.3       | 19.0     | 20.0      |
| Spinach | 1160               | 7.4               | 8.9-12.5  | 11.0      | 29.0     | 43.0      |

These preliminary results confirm some well known facts e.g. that the cation content is generally higher in dicotyledons (spinach) than in monocotyledons (oats). The Mg- content is not directly related to chlorophyll a and/or b content; Mg in oats is lower than in spinach, while the chlorophyll-content of oat leaves is higher than in spinach leaves. The total calcium content of the leaves shows much less variability than the Ca-content of the chloroplasts (see below).

2. Chlorophyll content of isolated chloroplast suspensions.

Chloroplast isolation being performed according to the same technique, starting from the same amount of leaf material, the chlorophyll contents of the chloroplast suspension are, respectively for spinach and oats, 355 and 240 µg/ml. Variation of these data due to the age of the plants is negligible. Correlating the number of chloroplasts (microscopic observation) with the chlorophyll content of the isolated chloroplast suspensions, it appeared that the chlorophyll content of oat-chloroplasts is higher than that of spinach chloroplasts. (See Table 1).

3. Cation content of isolated chloroplast suspensions.

Table 2 gives average values of the cation content of oat and spinach chloroplast suspensions (aqueous technique), as well as the relation of these data to the cation content of the whole leaf (see table 1). The growth conditions of the plant material are also indicated.



Onderzoekinstelling : Association Euratom-ITAL  
 Projectnummer : 54

Registratie nr.:

Table 2 - Cation-content of oat- and spinach-chloroplast suspensions and its relation to the cation content of the whole leaf.

| OATS    |                             |   |  |   |
|---------|-----------------------------|---|--|---|
| Cation  | Growth conditions           | $\mu\text{g}$ Cation per mg chlorophyll | $\mu\text{g}$ cation in chlorophyll of 1 mg dry leaf | cations in chloroplasts in % of cations in leaf |
| Ca      | growth chamber (see before) | 39                                      | 0,51   | 12,7  |
| Ca*     |                             | 43                                      | 0,84   | 30,5  |
| Mg      |                             | 47                                      | 0,76   | 14,4  |
| K       |                             | 2                                       | 0,03   | 0,2   |
| Na      |                             | 203                                     | 3,29   | 16,4  |
| SPINACH |                             |   |  |   |
| Ca      | market                      | 190                                     | 2,79   | 31,3  |
| Ca*     | market                      | 190                                     | 2,03   | 16,8  |
| Ca      | growth chamber              | 38                                      | 0,60   | 4,8   |
| Mg      | market                      | 64                                      | 0,81   | 7,4   |
| K       | market                      | 150                                     | 1,91   | 6,5   |
| Na      | market                      | 230                                     | 2,92   | 6,8   |

\* average value at a different period.

Although the Mg, K and Na data are preliminary ones, some information about these cations can be drawn from table 2. Magnesium per mg chlorophyll is somewhat (25%) higher in the spinach chloroplast suspensions; the K-content of the oat chloroplast suspensions is negligible as compared to its concentration in the spinach suspension. The Na-content of both suspensions is highly chlorophyll-bound. Mg per mg dry leaf is very similar in both species and the higher Mg-fraction (%) in the oat chloroplasts is related to the lower Mg-content of this leaf (table 1).

Oat chloroplasts bind relatively much less K than Na; this is, however, not true in spinach chloroplasts. In view of what follows about the calcium data we insist once more on the preliminary nature of this information concerning Mg, K and Na.

#### 4. Calcium content of isolated chloroplasts or their suspensions:

More data are available concerning the Ca-content of chloroplasts and their suspensions. The data concerning the Ca-content of chloroplast suspensions, show large variability (34-55  $\mu\text{g}$  Ca/mg chlorophyll in oats; 19-61  $\mu\text{g}$  Ca/mg chlorophyll in spinach). As shown before, neither variations in the chlorophyll content of the suspensions nor variations in the Ca-content of the leaves can be responsible for this variability. They may partly be explained by the origin of the spinach material: market spinach up to 613  $\mu\text{g}$  Ca/mg chlorophyll, growth chamber spinach 17-199  $\mu\text{g}$  Ca/mg chlorophyll. Variable contamination of the chloroplast suspension by Ca-oxalate crystals from the spinach cell-vacuole during isolation may be responsible to a certain extent (estimated at 6% of the measured Ca-content)

The variable Ca-content observed in the chloroplast suspensions has been the object of a great number of experiments, varying different factors:

Onderzoekinstelling : Association Euratom-ITAL  
 Projectnummer : 54

Registratie nr.:

- a. Neither the age of the plants, at least not within the growth stage selected for the experiments, nor the pH variation of the nutrient solution (4,8 - 6,3) and its calcium concentration (down to 1/10 of the normal concentration) did considerably affect the Ca-content of the isolated chloroplast suspensions.
- b. NaCl, (0,175 M) versus saccharose (0,3 M) isolation medium either with or without added known amounts of CaCl<sub>2</sub>. As already mentioned last year, the presence of Na in the isolation medium indeed reduced the Ca-content of the chloroplast suspension. When calcium is added to the medium the suspension itself shows - after subtraction of this known amount - a higher Ca-content (see e. below).
- c. The pH of the isolation medium:  
 The Ca-content of spinach chloroplast suspensions decreases at higher pH values of the isolation medium. The direct transfer of the chloroplasts from a medium at pH 6.2 (spinach leaf) to the isolation medium at pH 7.9 certainly reduces their Ca-content.
- d. Temperature of the isolation medium.  
 Non clean-cut conclusions can be drawn from the experiments at different temperatures of the isolation medium. (0, 20, 30 °C).
- e. Centrifugation and filtration of chloroplast suspensions.  
 Besides data concerning the Ca-content of the whole isolated suspension, by filtering on millipore or centrifugation information has also been obtained concerning calcium concentrations in chloroplasts and suspension liquid separately. On the average 70% of the total Ca in the suspension was found in the chloroplasts and 30% in the suspension liquid.  
 Therefore the number of ml to wash the chloroplasts after filtration, for removing the rest of the incubation or isolation medium, that might affect the measurement of the Ca-content, has been determined. One and a half ml is sufficient.  
 Repeated centrifugation of the suspension with renewal of the isolation medium leads to a progressive calcium depletion of mainly the chloroplasts but also of the suspension liquid. Desintegration microscopic observations of the chloroplasts after the third centrifugation results in a considerable increase of the calcium depletion. Chloroplasts treated in this way only show an initial rapid uptake (adsorption?) not followed by any further (metabolic?) uptake (see below).

These results suggest that the variability of the calcium content of the isolated chloroplasts (suspensions) is due to the interaction of a certain number of factors. Reduction of the variability can be obtained by strict control of the growth and isolation techniques. Furthermore these experiments brought the important initial release of calcium from the chloroplasts to our attention. Both aspects, variability of the Ca-content and the initial release, have generally been neglected in all ion-uptake studies using chloroplasts.

##### 5. Calcium uptake by isolated chloroplasts

- a. Chlorophyll content of the suspensions and Ca-uptake.  
 The uptake being expressed with respect to the chlorophyll content of the suspension, it is important to know if the relation between Ca-uptake at a certain concentration of the incubation medium and increasing chlorophyll-contents of the suspension is a linear one. This appeared not to be the case, probably due to the interference light-amount of chloroplasts with the uptake process. For this reason uptake experiments will have to be done with suspensions of very similar chlorophyll concentration.
- b. Ca-uptake at different Ca-concentrations in the incubation medium.  
 Most experiments were performed at 20°C, over periods from 15 sec up to 30 min in some cases. At each concentration, the uptake is characterized by a

|                     |                            |
|---------------------|----------------------------|
| Onderzoekinstelling | : Association Euratom-ITAL |
| Projectnummer       | : 54                       |

|                  |
|------------------|
| Registratie nr.: |
|------------------|

rapid initial process (generally within 15 sec, see fig. 3) followed by a slower one, which reaches a maximum after 20 - 30 min. It is accepted that the first process is due to adsorption, the second one perhaps being of metabolic origin (see below). Assuming that the adsorption occurs within an infinite short time, its correct value can be determined by extrapolation of the first part of the metabolic uptake curve to the Y-axis. Figure 1 reproduces adsorption data (mg per mg chlorophyll) obtained in this way in relation to the initial Ca-concentration (log scale) of the incubation medium (0.3 M Saccharose, pH 7,9). Besides a small irregularity in the curve between  $10^{-5}$  and  $10^{-4}$  M Ca, adsorption increases with concentration up to  $2 \cdot 10^{-3}$  M, where it reaches a maximum. From the first part of the metabolic uptake curves, starting at 15 sec, uptake rates at different Ca-concentrations have also been calculated. They are represented in fig. 2, with at the left the uptake rates (in % of the maximum rate observed) at low concentrations (log scale  $10^{-6}$  -  $10^{-4}$  M Ca) and at the right the rates at higher concentrations ( $10^{-4}$  -  $10^{-2}$  M Ca). The most characteristic result is the considerable increase of the uptake rate starting at approximately  $3 \cdot 10^{-4}$  M Ca. Again a small irregularity in the curve is found between  $10^{-5}$  and  $10^{-4}$  M Ca (see fig. 1). Another interesting fact is the drop in the uptake rate curve at concentrations higher than  $10^{-3}$  M Ca. At this stage a physiological interpretation of these first data is difficult.

c. Influence of the Ca-concentration of the medium, and its temperature on Ca-uptake.

To learn more concerning the nature of the second process in Ca-uptake by isolated chloroplasts this uptake was studied at 20 and 0 °C and at 20 °C using heated (70°C) chloroplasts. Two different calcium concentrations in the external solution were considered:  $10^{-6}$  and  $10^{-3}$  M Ca. One can suppose that at 0 °C in normal chloroplasts the metabolic uptake is suppressed; the same assumption can be made for heated chloroplasts.

At  $10^{-6}$  M Ca in the incubation medium and at 0 °C with normal chloroplasts or at 20 °C with heated chloroplasts there is indeed hardly any further uptake after the initial rapid adsorption (figure 3).

When the concentration in the external solution is  $10^{-3}$  M Ca (fig. 4) the uptake at 0 °C by normal chloroplasts and at 20 °C by heated chloroplasts is even higher than the uptake by normal chloroplasts at 20 °C.

This preliminary information indeed shows that, after the initial adsorption, a metabolic process is probably involved in the uptake of calcium by isolated chloroplasts. However, according to figure 4, this metabolic process, which occurs in the lower range of external Ca-concentrations, is completely masked at higher concentrations by a third process, that again, as the initial adsorption, is more of physical nature. This latter process is responsible for the important increase of the Ca-uptake rate at higher concentrations (see figure 2). New experiments with an improved experimental set-up, which will permit a better estimation of the adsorption and continuous control of the Ca-concentration during the uptake process, are now in progress.

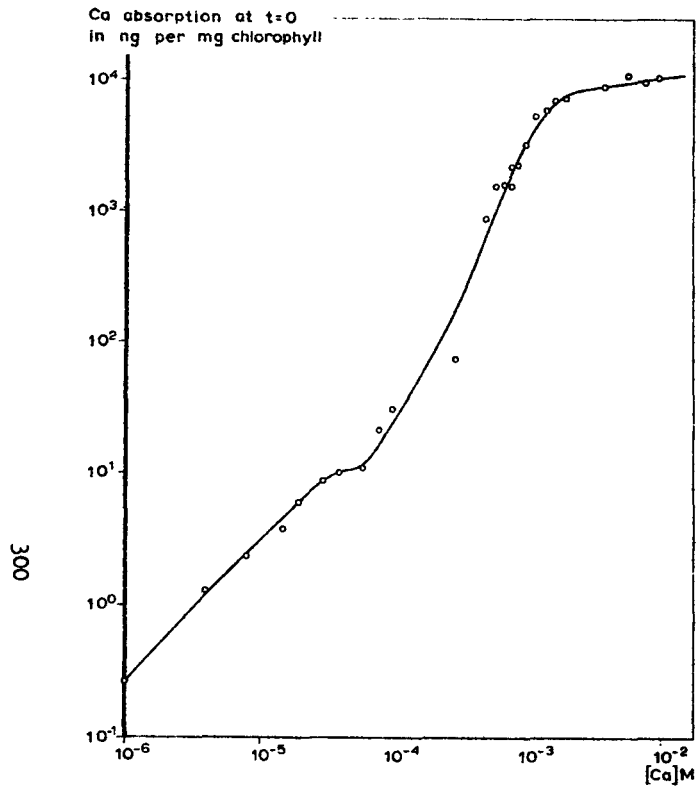


fig. 1  
Calcium adsorption (ng/mg chlorophyll) by isolated spinach chloroplasts in relation to the Ca-concentration of the incubation medium.

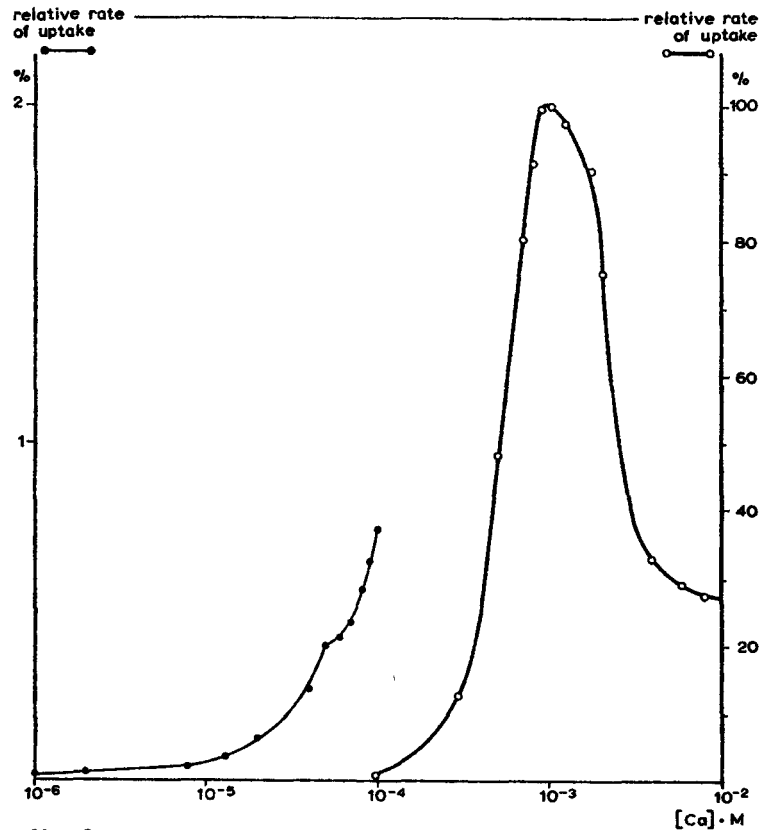


fig. 2  
Rate of calcium uptake (in % of maximum rate of uptake) by isolated spinach chloroplasts in relation to the Ca-concentration of the incubation medium.  
Different scale for low and high concentrations.

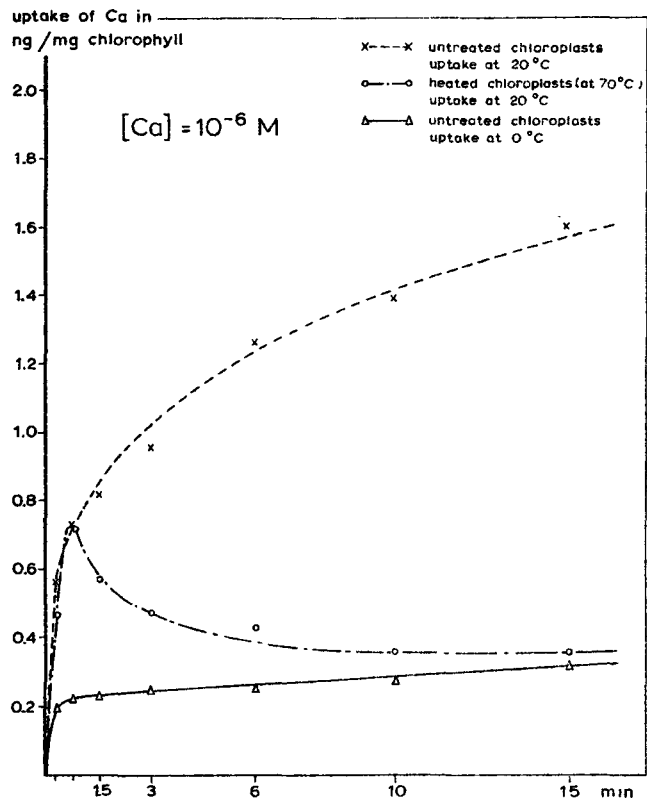


fig. 3

Total calcium uptake (ng/mg chlorophyll) by isolated untreated (0°C, 20°C) or heated (20°C) chloroplasts in relation to time and at  $10^{-6}$  M Ca-concentration of the incubation medium.

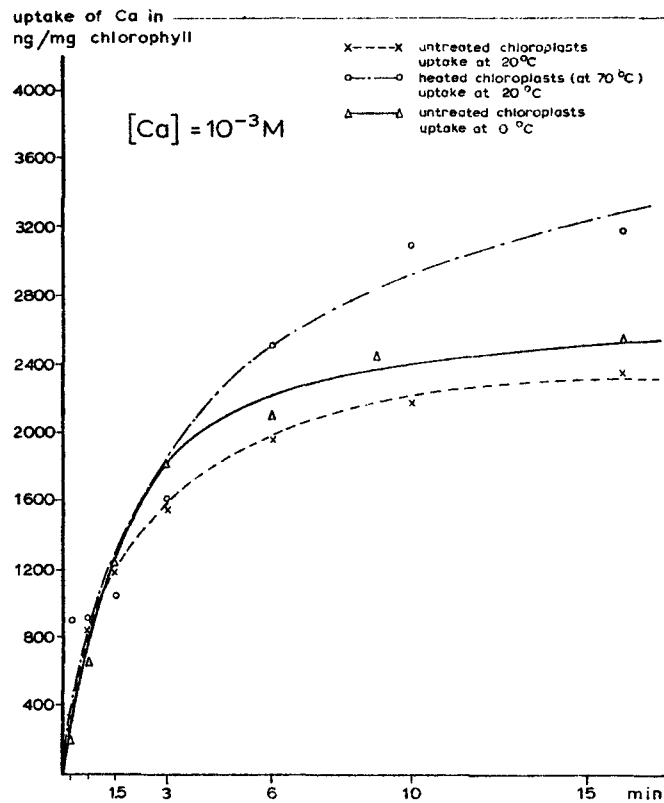


fig. 4

Total calcium uptake (ng/mg chlorophyll) by isolated untreated (0°C, 20°C) or heated (20°C) chloroplasts in relation to time and at  $10^{-3}$  M Ca-concentration of the incubation medium.

# PROJECTVERSLAG

|  |  |                                       |
|--|--|---------------------------------------|
| Onderzoekinstelling<br>Projectnummer<br>Projecttitel   | : ASSOCIATION EURATOM - ITAL<br>: 55<br>: Effects of hēta- and gamma-radiation from<br>radioactive fall-out and wate-out on plants   | Registratie nr.:<br><b>R-016 / 55</b> |
| Onderzoeker(s)<br>Projectleider<br>Afdelingshoofd  | : H.P. Leenhouts, C. Broertjes, S.C.v.d.Geijn, A. de Ruyter.<br>:<br>:   |                                       |
| Besteding over het afgelopen jaar (19 )  |  |                                       |
| Besteding in geld<br>Directe kosten-personeel <i>f</i><br>"      " -materieel <i>f</i><br>Semi-directe kosten <i>f</i><br>Omslag algemene kosten <i>f</i><br><br>Totaal <i>f</i><br>Inkomsten <i>f</i> | Tijdbesteding van direct bij het project betrokken personeel:<br>Hoger personeel     -                     mandagen<br>Middelbaar personeel -                   mandagen<br>Lager personeel     -                   mandagen |                                       |

**Beknopte weergave van achtereenvolgens**

- A. Verslag afgelopen jaar (1971 ) met vermelding van publicaties
- B. Plan komende jaar.

**A. Verslag over 1971**

**1. The radiation induced protective effect in Saint Paulia.**

The interphase chromosome volume of the cell nucleus has been measured before and after the small pre irradiation dose. The measurements were made immediately after an initial dose of 500 rad X-rays and 12, 24 and 120 hours later. No significant differences were observed.

**2. Penetration of β-rays of different energy in biological tissues.**

Information concerning this part of the programme has been reported in project 9.

The main part of this programme will start as soon as the responsible scientist is recruited by the Institute.

Contacts exist with Dr. Vredenberg (Center for Plantphysiological research, Wageningen) concerning radiation effects on unicellular organisms. Work on isolated chloroplasts is indirectly prepared by research in project 54.

# PROJECTVERSLAG

|  |   |                                       |
|--|---|---------------------------------------|
| Onderzoekinstelling :<br>Projectnummer :<br>Projecttitel : | ASSOCIATION EURATOM - ITAL<br><del>RX</del> 56<br>Radiation induction of gene instability and<br>paramutation activity. | Registratie nr.:<br><b>R-016 / 56</b> |
| Onderzoeker(s) :<br>Projectleider :<br>Afdelingshoofd :    | R. Ecochard<br>:<br>:   |                                       |

## Besteding over het afgelopen jaar (19 )

| Besteding in geld          | Tijdbesteding van direct bij het project betrokken personeel. |
|----------------------------|---|
| Directe kosten-personeel f | Hoger personeel - mandagen                                    |
| " " -materieel f           | Middelbaar personeel - mandagen                               |
| Semi-directe kosten f      | Lager personeel - mandagen                                    |
| Omslag algemene kosten f   |   |
| Totaal f                   |   |
| Inkomsten f                |   |

### Beknopte weergave van achtereenvolgens

A. Verslag afgelopen jaar (19 71) met vermelding van publicaties

B. Plan komende jaar.

A. Verslag over 1971 .

### Previous results and general orientation of the Project.

Project 17 was started in 1963. In its initial form ("radiogenetic studies on higher plants irradiated during the generative stage"), it was achieved this year. Its main results were assembled in a doctorate thesis, defended on the 29th June at Université de Paris-Sud. Work has now been concentrated on one aspect, initiated in chapter 5.3 of the above-mentioned dissertation, which is the study of radio-induced instability of gene expression.

It is assumed that, besides the heritable changes in gene structure, heritable changes in gene regulation represent an important part of the variability observed in mutagenic treated, or untreated populations. Especially it was felt that the radio-induced chlorophyll instability obtained in Lycopersicon esculentum Mill. and the spontaneous instability at the S locus of incompatibility in Lycopersicon peruvianum Mill (Project 35), are two aspects of a common basic mechanism.

Therefore both lines of investigation are now grouped in a common project (No. 56) centered on the nature of spontaneous and induced mutation.

### 1971 results.

1. The unstable chlorophyll mutations previously obtained at our laboratory were further analysed.

It was demonstrated for C<sub>11</sub>, by inducing rearrangement of the periclinal chimeric structure, that the green inner tissue is heterozygous, as expected, the sporogenic layer being homozygous recessive for the mutation. This confirms that somatic conversion, and not somatic crossing-over, is at the origin of the material. Revertant sectors had been obtained in 1970 by EMS and gamma treatment in the C<sub>11</sub> self-progeny. Unfortunately it was not possible to study the genetic transmissibility of this de-repressed state, because no homogeneous green, and at the same time fertile, shoot could so far be produced in this material. Trials are repeated. A series of ten chemical substances, chosen for their eventual de-repression effect on the mutation, was tried out on the C<sub>11</sub> progeny. They include base analogues, hydroxylamine, ethoxycaffeine and various alkylating agents. With dry seeds, no positive result, comparable to the previous one with EMS, was obtained.

Treatments are now repeated with pre-germinated seeds. Moreover, following a

Onderzoekinstelling : Associatie Euratom-ITAL  
 Projectnummer : 17

Registratie nr.:

suggestion by H. Heslot (Institut National Anronomique, Paris) new substances, active on chromosome protein, or on m-RNA, have been introduced.

2. With the mutant C<sub>6</sub>, where somatic conversion is permanent and transmissible, the fifth back-cross generation with Moneymaker was reached. The material is now genetically perfectly homogeneous, with a Moneymaker germplasm plus the instable gene. It thus allows a study of the developmental factors influencing the level of conversion capacity. A method was developed to estimate the correlation between its phenotypic expression (variegation intensity) and its genotypic expression (percentage of homozygous albino offspring).

First results indicate that the conversion capacity stabilized itself at ca. 70% between plants, this means that 70% of the heterozygous individuals manifest a variegated phenotype, whereas the conversion capacity soon reaches 100% in specific organs or tissues.

3. In C<sub>12</sub> as well as in C<sub>6</sub> progenies, the mutation in homozygous condition produces a completely albino and lethal phenotype. While trying to grow such seedlings in sterile medium (White and Street formula, in agar) supplemented with sugar and vitamins, an unexpected result has just been obtained: chlorophyll expression is completely (C<sub>12</sub>) or almost completely (C<sub>6</sub>) restored. This opens perspectives for studying the biochemical basis of the phenomenon involved. It might also be an indication that the "mutation" here also concerns gene regulation and not gene structure. Anyhow contacts were made during the year 1971 with relevant laboratories interested in developping biochemical investigations on this material, in connection with us (M. Guatti, University of Pisa, M. Lefort-Tran, Centre National de Recherche Scientifique, Gif-sur-Yvette). This aspect of the research may soon become essential.

4. The next important problem to study with the above mutations is their localization in the chromosomal map.

The fact that C<sub>6</sub>, C<sub>11</sub> and C<sub>12</sub> mutations interest three different loci was confirmed in 1971 on a larger scale. One of them, C<sub>11</sub>, was crossed with a set of testers, which represent a wide range of marker genes covering all linkage groups. The material is now in F<sub>1</sub>. In complement to this, a number of trisomics were introduced in our laboratory for similar purposes.

5. Inventorisation was done of laboratories working on unstable gene systems in various plant species, and working visits were made to some of them. It was recognized that the european potential is rather strong, the leading figure being Prof. J.R.S. Fincham, University of Leeds. A clear desire was generally expressed of promoting regular exchange of information, and it is suggested to create a working group with periodical meetings.



# PROJECTVERSLAG

Onderzoekinstelling : ASSOCIATION EURATOM - ITAL  
 Projectnummer : 59  
 Projecttitel : Transport of soil moisture.

|                                       |
|---------------------------------------|
| Registratie nr.:<br><b>R-016 / 59</b> |
|---------------------------------------|

Onderzoeker(s) : M.J. Frissel, P. Poelstra, G.H. Bolt, L. Stroosnijder, F. van Dorn  
 Projectleider :  
 Afdelingshoofd :

### Besteding over het afgelopen jaar (19 )

| Besteding in geld                 | Tijdbesteding van direct bij het project betrokken personeel. |
|-----------------------------------|---|
| Directe kosten-personeel <i>f</i> | Hoger personeel — mandagen                                    |
| " " -materieel <i>f</i>           | Middelbaar personeel — mandagen                               |
| Semi-directe kosten <i>f</i>      | Lager personeel — mandagen                                    |
| Omslag algemene kosten <i>f</i>   |   |
| Totaal <i>f</i>                   |   |
| Inkomsten <i>f</i>                |   |

#### Beknopte weergave van achtereenvolgens

- A. Verslag afgelopen jaar (19 71) met vermelding van publicaties
- B. Plan komende jaar.

#### A. Verslag over 19 71

It is expected that the soil moisture-column scanner will be operational in February 1972. Further no relevant news.

# PROJECTVERSLAG

Onderzoekinstelling : ASSOCIATION EURATOM - ITAL  
 Projectnummer : 60  
 Projecttitel : Transport of chromium and other heavy metals  
 (mercury excluded) in the soil

|                                       |
|---------------------------------------|
| Registratie nr.:<br><b>R-016 / 60</b> |
|---------------------------------------|

Onderzoeker(s) : M.J. Frissel, P. Poelstra  
 Projectleider :  
 Afdelingshoofd :

### Besteding over het afgelopen jaar (19 )

**Besteding in geld**

|                          |   |
|--------------------------|---|
| Directe kosten-personeel | f |
| „ „ -materieel           | f |
| Semi-directe kosten      | f |
| Omslag algemene kosten   | f |
| Totaal                   | f |
| Inkomsten                | f |

**Tijdbesteding van direct bij het project betrokken personeel.**

|                      |   |          |
|----------------------|---|----------|
| Hoger personeel      | - | mandagen |
| Middelbaar personeel | - | mandagen |
| Lager personeel      | - | mandagen |

**Beknopte weergave van achtereenvolgens**

- A. Verslag afgelopen jaar (1971) met vermelding van publicaties
- B. Plan komende jaar.

A. Verslag over 1971 .

The project has not yet been started.

P U B L I C A T I O N S \*

BECKING, J.H. The physiological significance of the leaf nodules of Psychotria. Plant and Soil, Special Volume, 361-374 (1971).

BECKING, J.H. Radiosterilization of nutrient media. Misc. Papers 9 Landbouwhogeschool Wageningen, The Netherlands, 55-87 (1971).

BROERTJES, C. Achimenes. Het verkrijgen van nieuwe variëteiten door bestraling. Vakblad v.d. Bloemisterij 36 (34) : 21 (1971).

BROERTJES, C. Possibilities of mutation breeding in ornamentals Proc. Eucarpia Meeting on Ornamentals : 7-15 (1971).

CHADWICK, K.H. Radiation effects and after effects in the clear polymethyl methacrylate dosimetry. Ph.D. thesis University of Utrecht. November 1971.

ECOCHARD, R. Altérations provoquées par les radiations ionisantes dans les cellules sexuelles des végétaux supérieurs, et manifestations génétiques de ces altérations. Thèse de Doctorat Es-Sciences Université de Paris-Sud 72 p. and 21 figures (1971).

ECOCHARD, R. Induced instability of genes for chlorophyll expression. TGC Report No. 21 p. 16 (1971).

EL-LIOUI, R. VAN BLADEL and H. LAUDELOUT. Etude de l'effet de quelques eaux d'irrigation en sol calcaire. Revue de l'Association Nationale des Améliorations Foncières de l'Irrigation et du Drainage "Hommes, Terre et Eaux", Maroc, no 1 45-52, 1971.

FRISSEL, M.J. Kwik bedreigt ons milieu, Waddenbulletin 1, p.2, 1971.

FRISSEL, M.J., A. SWAMY, J. SINNAEVE and H. LAUDELOUT. Simulation of the uptake of ions from a nutrient solution by a complex geometric root system. Presented at the AICA Symposium on Simulation of Complex Systems, Tokyo, 3-7 September 1971.

FRISSEL, M.J., P. POELSTRA, P. REINIGER. Onderzoek naar het transport van kwik en kwikproducten door de bodem. TNO nieuws, juli 1971.

GILBERT, M. and H. LAUDELOUT. Tactoids in Hydrogen Montmorillonite suspensions. J. Colloid and Interface Science, 35, 486-489, 1971.

LAUDELOUT, H. and Ph. VERDONCK. Analogue Simulation of an Ion Uptake Process. Nitrogen-15 in Soil-Plant Studies, I.A.E.A., Vienna, 115-118, 1971.

DE NETTANCOURT, D., P. DIJKHUIS, A.J.G. VAN GASTEL and C. BROERTJES. The combined use of leaf irradiation and of the adventitious bud technique for inducing and detecting polyploidy, marker mutations and self-compatibility in clonal populations of Nicotiana alata Link and Otto. Euphytica 20 : 508-521 (1971)

---

\* This list refers to the "Adaptations" part of EURATOM-ITAL's programme as well as to the "Radiation protection" part.

- OLIEMAN-V.D. MEER, A.W., R.L.M. PIERIK, S. ROEST.  
Effects of sugar, auxin and light on adventitious root formation in isolated stem explants of Phaseolus and Rhododendron. Mededelingen Fakulteit Landbouwwetenschappen Gen 6 (1); 511-518 (1971) (Publication 338 Department of Horticulture, Agricultural University, Wageningen).
- PUITE, K.J. Thermoluminescent Properties of manganese doped calcium fluoride. Applications in radiation dosimetry. Ph.D. thesis. University of Groningen. May 1971.
- PUITE, K.J. Thermoluminescent sensitivity of CaF<sub>2</sub> : Mn in a mixed neutron-gamma field. Health Phys. 20, 437-442 (1971).
- REINIGER, P., M.J. FRISSEL, P. POELSTRA and H. BEEK.  
A hierarchy of models for the behaviour of mercury in the ecosystem. IAEA Symposium on the use of nuclear techniques in the measurement and control of environmental pollution. Salzburg, Austria, p. 407-414.
- ROBEYNS, J., R. VAN BLADEL and H. LAUDELOUT. The effect of water activity on ion exchange selectivity. Soil Sci., 111, 211-213, 1971.
- ROBEYNS, J., R. VAN BLADEL and H. LAUDELOUT. Thermodynamics of singly charged ion exchanges in the trace regions on Camp Berteau Montmorillonite. J. Soil Sci., 22, 336-341, 1971.
- TANG VAN HAI and H. LAUDELOUT. Phosphate uptake and root electrical potential. J. Exp. Botany, 23, 830-836, 1971.
- TANG VAN HAI, N.K. FAÇERIA and H. LAUDELOUT. Root Electrical potential and phosphate uptake as determined by solution pH. IAEA-FAO Symposium "Soil/Plant Relationships", Vienna, 13-17 December 1971.
- TSIEN HSIEN CHYANG and H. LAUDELOUT. Changes in Cytochrome content and turnover number during growth of Nitrobacter. Arch. Mikrobiol., 75, 266-268, 1971.
- VERDONCK, PH., J. SINNAEVE, M.J. FRISSEL and H. LAUDELOUT.  
A comparative study of analogue and digital simulation of ion uptake by plants. J. Exp. Botany, 22, 852-862, 1971.

I N P R E S S

=====

- BROERSE, J.J. and K.J. PUITE. Comparisons of X-ray dosimetry for the coordination of late effects research in Europe. Paper presented at the IAEA Panel on National and International Dose Intercomparisons, Vienna, December 1971.
- BROERTJES, C. Mutation breeding of Achimenes. *Euphytica* 21 (1972).
- BROERTJES, C. Mutation breeding of Kalanchoë. *Euphytica* 21 (1972).
- CHADWICK, K.H. A comparison of the radical dose relationship in clear polymethyl methacrylate following gamma and fast neutron irradiation. Proceedings 3rd Euratom Symposium on Microdosimetry, Stresa, October 1971.
- CHADWICK, K.H. A discussion of the role of free radicals in the biological effect of different LET radiation. Proceedings 3rd Euratom Symposium on Microdosimetry, Stresa, October 1971.
- CHADWICK, K.H. The effect of light exposure on the optical density of irradiated clear polymethyl methacrylate. *Phys. Med. Biol.* 1972.
- CHADWICK, K.H., W.R.R. TEN BROEKE and D. RINTJEMA. An intercomparison of read out systems for the clear perspex dosimeter. Paper presented at the IAEA Panel on National and International Dose Intercomparisons, Vienna, Dec. 1971.
- ECOCHARD, R. New cases of somatic conversion (paramutation) in tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Theoretical and Applied Genetics*
- ECOCHARD, R. and G. MERCKX. A primary monosomic for chromosome 5 in the tomato *Caryologia*.
- FRISSEL, M.J., P. POELSTRA, P. REINIGER, H.A. DAS. Contamination of the soil with mercury. Presented at the Int. Symposium on Radioecology and the protection of mankind and his environment, Rome September 1971.
- FRISSEL, M.J. and K.J.A. WIJNANDS-STÄB. Computer Modelling of the Dynamics of Insect Populations. Proc. of a panel on "Computer models and applications of the sterile male technique, Vienna December 1971.
- KETEL, D.H., W.G. DIRKSE and A. RINGOET. Water uptake from foliar-applied drops and its further distribution of the oat leaf. *Acta Bot. Neerl.* (1972).
- LANGERAK, D.Is. The influence of irradiation and packaging on the keeping quality of fresh mushrooms. Proceedings VIIIth International Congress on Mushroom Science 1971.
- LEENHOUTS, H.P. Another failure of a commercial X-ray system. *Health Physics*, 1972.
- POELSTRA, P., M.J. FRISSEL, P. REINIGER. Behaviour of <sup>90</sup>Sr in the ecosystem. A study on 12 West-european pastures. Presented at the Int. Symposium on Radioecology and the protection of mankind and his environment, Rome September 1971.
- PUITE, K.J. and J. ARENDS. Trapping centers in CaF<sub>2</sub> : Mn from TL and TSEE measurements on undoped and doped CaF<sub>2</sub> samples. Proceedings Third Int. Conf. on Luminescence Dosimetry, Risø, October 1971.

PUITE, K.J., D.L.J.M. CREBOLDER, J.J. BROERSE and B. HOGEWEG. Intercomparisons of absorbed dose and dose distribution for X-irradiations using mailed LiF thermoluminescent dosimeters, Phys.Med. Biol. 1972.

REINIGER, P., D. YAALON, M.J. FRISSEL. Simulation of Cation exchange and movement in soils. Symposium on the use of isotopes and radiation in research on soil-plant relationships including applications in forestry, Vienna, December 1971.

SWAMY ALAGAR, TANG VAN HAI, M.J. FRISSEL, H. LAUDELOUT, A. RINGOET. Analysis of response curves to increased phosphate concentrations in intact rice and groundnut plants. Symposium on the use of isotopes and radiation in research on soil-plant relationships including applications in forestry. Vienna, December 1971.

VERFAILLIE, G.R.M. A method to study the kinetics of photosynthesis at constant rate of transpiration. Results obtained with rice plants (Oriza sativa L, cv. Maratelli). Journal of Experimental Botany.

WIJNANDS-STÄB, K.J.A. and M.J. FRISSEL. Computer simulation for genetic control of onionfly Hylemya antiqua (Meigen). Proc. of a panel on "Computer models and applications of the sterile male technique", Vienna, December 1971.

## Transport des radionuclides par les membranes biologiques

Contrat EURATOM-JCL n° 086-70-10 BIO B

---

Rapport annuel octobre 1970 à octobre 1971

En cette deuxième année de contrat, le groupe de recherche EURATOM a poursuivi son installation matérielle à l'Université de Louvain. L'accroissement de la participation financière de l'Université a permis l'engagement d'un scientifique et d'un technicien supplémentaires. L'équipement a également pu être complété; il reste néanmoins insuffisant et constitue actuellement le facteur limitant de notre recherche.

Du point de vue scientifique, une partie importante de notre activité a été consacrée à la mise au point de techniques de base indispensables à la poursuite de nos recherches: isolement de mitochondries isolées de levures, techniques permettant l'étude du transport de radionuclides par ces mitochondries isolées et techniques d'études cinétiques du transport du  $^{45}\text{Ca}$  et du strontium par les cellules entières de levures et par les chloroplastes d'épinard. Des résultats intéressants concernant l'action d'agents modificateurs de la perméabilité mitochondriale ont été obtenus. Nous reprenons ci-dessous une description détaillée de ces recherches qui ont conduit à un total de 7 projets de publications (voir annexe 1).

### I. Isolement de mitochondries fonctionnelles de levure et étude de leurs propriétés.

Pour les raisons décrites dans notre programme de recherche, nous sommes persuadés que les mitochondries de levure constituent un matériel particulièrement favorable pour l'étude des mécanismes de transport de radionuclides par les membranes biologiques. En réalité, l'isolement de mitochondries fonctionnelles de levures d'est révélé particulièrement délicat et a

demandé de nombreux mois de travail. Deux espèces de levures ont été utilisées à cet effet : Saccharomyces cerevisiae et Schizosaccharomyces pombe. Grâce à l'utilisation de l'extrait enzymatique d'escargot, nous avons finalement obtenu d'excellentes mitochondries isolées de S. cerevisiae avec un contrôle respiratoire supérieur à 3.0 pour l'oxydation du succinate. Ces mitochondries ont été utilisées principalement pour l'étude du mécanisme d'action d'un agent chélateur des cations lourds et des terres rares : le bis(diméthylthiocarbamate) de zinc. Les résultats actuels sont résumés dans l'annexe 2. Ils conduisent à l'hypothèse intéressante que ce complexant cationique inhibe spécifiquement la perméabilité de la membrane mitochondriale interne vis à vis d'anions bivalents.

Nous avons également entamé la mise au point de l'isolement des mitochondries de S. pombe dont l'étude génétique présente certains avantages par rapport à S. cerevisiae. Dans une première étape, nous avons développé une technique nouvelle d'obtention de sphéroplastes requérant successivement l'action du 2-déoxyglucose et celle de la glucosylase. Ces travaux sont résumés dans l'annexe 3.

A partir de ces sphéroplastes dont la respiration paraît intacte, nous tentons actuellement d'isoler des mitochondries actives de S. pombe. Il sera dès lors possible d'étudier le transport de calcium<sup>45</sup> et de strontium par les mitochondries isolées soit à partir de la souche sauvage, soit à partir de divers mutants qui sont en notre possession. L'obtention et l'étude génétique de ceux-ci, effectués en collaboration avec A.M. et C. Colson, a nécessité la mise au point de techniques génétiques originales qui sont résumées dans l'annexe 4.

La plupart des mutants ont une respiration déficiente et l'utilisation de ceux-ci fournira un moyen d'étudier des relations énergétiques et enzymatiques entre la respiration et le transport de radionuclides.

L'étude de la bioénergétique du transport mitochondrial des radionuclides a également été entamé par une autre approche : l'établissement artificiel chez des mitochondries isolées de S. cerevisiae d'un potentiel de membrane



obtenu en l'absence de respiration. A cet effet, nous avons mis au point les techniques enzymatiques de dosage d'ATP et réalisé le montage et la calibration d'électrodes spécifiques à cations.

## II. Aspects bioénergétiques du transport de calcium<sup>45</sup> et du strontium chez les cellules entières de levures.

La levure Candida lipolytica a été choisie pour ces recherches. Les techniques de mesure d'absorption de <sup>45</sup>Ca ont été mises au point et les premiers résultats indiquent la présence chez ces levures d'un transport actif de <sup>45</sup>Ca. Les conditions métaboliques influençant cette absorption sont actuellement à l'étude.

D'autre part des études de morphologie de cellules entières de S. Cerevisiae menées en collaboration avec les Dr. A. Claude et E. Mrena ont conduit à l'observation de structures "vacuolaires" très importantes chez cette levure. Ces structures dont l'importance et le rôle ne semblent pas avoir été pleinement reconnu jusqu'à présent sont actuellement en voie de caractérisations morphologique et biochimique. L'étude du rôle éventuel de ces structures dans le transport de radionuclides est envisagé.

## III. Fixation du <sup>45</sup>Ca par les membranes chloroplastiques d'épinard.

En raison des difficultés rencontrées dans le recrutement du personnel et de l'absence d'équipement adéquat, la collaboration avec les Drs. A. Ringoet et E. Carafoli s'est poursuivie à un rythme plus ralenti. Nous avons effectué deux séjours à ITAL (Wageningen) pendant lesquels nous avons participé à des expériences de cinétiques d'adsorption du <sup>45</sup>Ca par les chloroplastes isolés d'épinard. Un contact scientifique permanent est maintenu avec le groupe de Wageningen et sitôt que nous en aurons les possibilités financières, cette partie du programme pourra être relancée efficacement.

Annexe 1.

I. Publications parues entre le 1er octobre 1970 et le 1er octobre 1971.

1. Respiratory metabolism of a "petite-negative" yeast Schizosaccharomyces pombe 972h<sup>-</sup>.  
H. Heslot, A. Goffeau et C. Louis  
J. Bact. 1970, 104, 473
2. Segregational respiratory-deficient mutants of a "petite-negative" yeast Schizosaccharomyces pombe 972h<sup>-</sup>.  
H. Heslot, C. Louis et A. Goffeau  
J. Bact. 1970, 104, 482
3. Amino acids incorporation into proteins by chloroplasts isolated from anucleate fragments of *Acetabularia*.  
A. Goffeau  
Dans *Biology of Acetabularia*, ed. by J. Brachet et S. Bonoto, Academic Press 239, 1970.
4. Comments on the biosynthesis of the mitochondrial energy-transfer system.  
A. Goffeau  
Dans *Electron Transport Energy Conservation*, ed. by E. Slater, E. Quadriariello, S. Papa and J. Tager. Adriatica Editrice, Bari, 343, 1970.

II. Manuscripts soumis à la date du 31 décembre 1971

5. Action du Ziram sur les fonctions mitochondriales.  
M. Briquet  
Arch. Int. de Phys. et Bioch. 1972, 80, 1 (accepté)
6. Sequential use of 2-déoxyglucose and snail gut enzyme for spheroplast preparation in wild strain and respiratory deficient mutants of a "petite negative" yeast Schizosaccharomyces pombe 972h<sup>-</sup>.  
F. Foury et A. Goffeau  
J. Gen. Microbiology

7. Genetical alteration of mitochondrial membranes in a "petite negative" yeast.

A.M. Colson, C. Colson et A. Goffeau

Methods of Enzymology, Vol. 18 (manuscript accepté).

## Annexe 2.

Action du Ziram sur les fonctions mitochondriales.

M. BRIQUET.

Le bis(dimethyldithiocarbamate) de zinc ou Ziram appartient à une série d'homologues chimiques ayant une action fongicide dont la spécificité est liée à la nature de l'ion métallique complexé.

Le mécanisme d'action biologique du Ziram est cependant imparfaitement connu bien qu'il soit utilisé en phytopharmacie.

A des concentrations de  $10^{-5}$  à  $10^{-4}M$ , le Ziram inhibe la croissance de la levure Saccharomyces cerevisiae D261 sur substrat respiratoire comme le glycerol, l'éthanol, l'acétate et le lactate.

Par contre à ces concentrations, il n'a pas d'action sur la croissance en milieu fermentescible.

La respiration des cellules de levure est cependant insensible au Ziram, de même que l'adaptation respiratoire par l'oxygène de cellules préalablement cultivées en anaérobiose.

La respiration des mitochondries isolées de S. cerevisiae mesurée en présence de phosphate inorganique et des substrats (state 4) :  $\alpha$ -cétoglutarate, pyruvate + malate, isocitrate, NADH, D- $\beta$ -hydroxybutyrate, succinate + phenazine methosulfate, D-lactate, L-lactate, ethanol, est sensible au fongicide à partir de  $1,5 \times 10^{-5}M$ . L'intensité de l'inhibition étant largement dépendante du temps de préincubation des mitochondries avec le Ziram.

Par contre, la respiration des mitochondries est moins affectée sur  $\alpha$ -glycerophosphate et ascorbate + TMPD.

La respiration découplée par le 2,4-dinitrophenol est nettement ralentie par le fongicide.

Aux concentrations utilisées, la respiration n'est plus stimulée par la présence d'ADP (état 3). Le contrôle respiratoire (respiration au stade 3/ respiration au stade 4) est donc inhibé. L'addition d'agents protecteurs des groupement sulfhydriques, comme le dithiothreitol ne peut réverser

complètement cette inhibition.

L'activité de l'ATPase mitochondriale est peu sensible (13 à 15% d'inhibition) à l'action du fongicide.

L'activation par le phosphate de la respiration des mitochondries, associée au transport du potassium induit par la valinomycine (Moore et Pressman, 1964) est supprimée par le Ziram.

Suite à ces expériences, il apparaît que le fongicide inhibe plus spécifiquement la stimulation de l'oxydation du succinate par l'ADP, le DNP et le système valinomycine +  $K^+$ , que l'oxydation du substrat lui-même.

Le Ziram inhibe le gonflement des mitochondries de S. cerevisiae en solution iso-osmotique de phosphate d'ammonium et de phosphate de sodium.

Sur mitochondries isolées de foie de rat et de coeur de boeuf, le produit n'inhibe pas le contrôle respiratoire en présence du succinate.

Ce travail a été subsidié par le Contrat EURATOM - UCL.

### Annexe 3.

Utilisation du 2-déoxyglucose et de l'enzyme d'escargot pour l'obtention de sphéroplastes de la souche sauvage et de mutants respiratoires d'une levure "petite négative" : Schizosaccharomyces pombe 972h<sup>-</sup>.

F. FOURY et A. GOFFEAU

Les effets de l'enzyme d'escargot et du 2-déoxyglucose (2-DG ont été étudiés chez S. pombe souche sauvage et 4 mutants respiratoires (COB5A, COB6, M53 et M126), dans le but d'obtenir des sphéroplastes ayant une capacité respiratoire intacte. Le 2-DG inhibe la croissance de toutes les souches exceptés COB6. 50% d'inhibition de la croissance de la souche sauvage nécessite l'addition de 100 ug/ml de 2-DG lorsque les cellules croissent en milieu glucose. La même inhibition en milieu glycerol ne requiert qu'1 ug/ml de 2-DG. Deux à trois heures après l'addition de 100 ug/ml de 2-DG à ces cellules en phase exponentielle de croissance sur glucose, les sphéroplastes apparaissent. En milieu glycerol, l'addition de 0.15% de glucose précédant celle de 100 ug/ml de 2-DG facilite grandement la formation de sphéroplastes. Cependant les traitements prolongés par le 2-DG inactivent la respiration.

Dans les conditions appropriées, la souche sauvage croissant en milieu glycerol, produit 95% de sphéroplastes après traitement par 2% d'enzyme d'escargot. La respiration de ces sphéroplastes est intacte. Cependant en milieu glucose, tous les mutants (à l'exception de COB6) sont beaucoup moins sensibles à l'enzyme d'escargot.

De courts prétraitements de cellules en pleine croissance, par 100 à 500 ug/ml pendant 10 à 30 minutes (selon les souches et les conditions de culture) rendent les parois cellulaires plus sensibles à l'hydrolyse par l'enzyme d'escargot, tout en laissant la respiration intacte. Dans les conditions optimales de concentration d'enzymes, de pH, de temps d'incubation et de concentration cellulaire, l'utilisation successive du 2-DG et de

l'enzyme d'escargot permet donc la préparation de sphéroplastés avec respiration intacte chez toutes les souches et dans toutes les conditions essayées.

Ces résultats suggèrent que les traitements courts de 2-DG préviennent la synthèse d'une couche superficielle de galactomannes permettant ainsi à l'enzyme d'escargot d'hydrolyser des glucanes d'une couche plus profonde de la paroi cellulaire.

#### Annexe 4

Altérations génétiques des membranes mitochondriales chez une levure petite négative.

A.M. COLSON, C. COLSON et A.GOFFEAU

##### 1. Enrichissement au 2-déoxyglucose

L'étude de mélanges artificiels d'un mutant respiratoire et du type sauvage de S. pombe a montré qu'un enrichissement de 1000 fois du mutant peut être obtenu par une incubation de 20 hr sur milieu glycerol additionné de 0,1% de glucose et incubée 4 hr avant l'addition de 400 ug/ml de 2-déoxyglucose. Alors que chez la souche sauvage les mutants respiratoires spontanés se présentent à une fréquence inférieure à  $10^{-5}$ , il est possible d'obtenir des populations contenant 20% de mutants respiratoires après traitement au 2-DG d'une culture mutagenisée à la nitrosoguanidine (10% de survie).

##### 2. Résistance au sulfate de cobalt

Sur boîtes gélosées 2 mM de  $\text{CoSO}_4$  inhibe peu la croissance de la souche sauvage. Toutefois plusieurs mutants respiratoires isolés par d'autres méthodes montrent des réponses du  $\text{CoSO}_4$  différentes de celle du type sauvage; soit une plus grande sensibilité ou une plus grande résistance, ou encore l'absence d'accumulation d'un pigment brun qui caractérise le type sauvage.

##### 3. Résistance au 2-déoxyglucose (2-DG)

L'addition de 400 ug/ml de 2-DG au milieu gélosé normal permet d'isoler des mutants résistants au 2-DG parmi lesquels environ 10% montrent une respiration déficiente.



#### 4. Résistance au tetrazolium (TTC)

L'addition de 25 ug/ml de TTC au milieu gélosé normal inhibe le type sauvage. Après 10 à 15 jours d'incubation à 30°C, les clones résistants se développent à une fréquence d'environ  $10^{-5}$ . Après purification, la plupart d'entre eux ont conservé la capacité de se multiplier sur glycérol et se colorent en rouge sur TTC. Environ 3% des clones résistants restent blancs sur TTC et ont perdu la capacité de se multiplier sur glycérol. Certains clones résistants au TTC isolés à 30°C sont sensibles au TTC à 35°C et résistants à 25°C. Toutefois après 5 jours d'incubation à 35°C en présence de TTC, des clones résistants apparaissent à une fréquence élevée ( $10^{-2}$  à  $10^{-3}$ ). Les clones analysés ont perdu la capacité de se multiplier sur glycérol.



GENETISCHE STRAHLENWIRKUNGEN

EFFETS HEREDITAIRES DES RAYONNEMENTS

EFFETTI EREDITARI DELLE RADIAZIONI

ERFELIJKE EFFECTEN VAN STRALINGEN

HEREDITARY EFFECTS OF RADIATION

Weitere Forschungsarbeiten zu diesem Thema werden auch in folgenden Jahresberichten beschrieben:

D'autres travaux sur ce thème de recherche sont également décrits dans les rapports annuels suivants:

Altri lavori di ricerca al riguardo vengono descritti anche nelle seguenti relazioni annuali:

Verdere publikaties over dit thema zijn ook in de volgende jaarverslagen opgenomen:

Further research work on these subjects will also be described in the following annual reports:

O76-BIAN

ITAL, Wageningen (De Zeeuw)

A Contract No. 052 - 65 - 2 BIAN

The Department of Radiation Genetics of the University of Leiden.

Group 1: Studies on factors modifying the dose-mutation relationship in *Drosophila* including repair and radiosensitivity.

Scientists: Prof. Dr. F.H. Sobels  
Dr. D. Grace  
Drs. P. Kieft  
Mr. D. Mendelson M.Sc. \*  
Dr. E. Muñoz \*  
Dr. C. Prudhommeau \*  
Dr. K. Sankaranarayanan  
Dr. A. Schalet

Group 2: Gene function, genetic recombination and replication of DNA of bacteriophage and the effect of radiation on these processes.

Scientists: Prof. Dr. B. de Groot  
Drs. L. van Minderhout  
Drs. R. Okker  
Dr. E. Pees  
Drs. P. Poorter-de Goede

Group 3: Studies on the regulatory mechanisms of somatic cells in vitro; the induction of chromosome aberrations and mutations in mammalian cell cultures.

Scientists: Drs. P.P.W. van Buul \*  
Drs. M. van Diggelen-Cornelissen  
Dr. J.W.I.M. Simons  
Drs. H. van Steenis  
Dr. A.D. Tates \*  
Ir. A. van Zeeland

A

\* In 1971 Drs E. Muñoz and C. Prudhommeau finished their terms.

On November 1st Mr. D. Mendelson from Israel and Drs. P.P.W. van Buul joined the *Drosophila* and Cell Culture groups, respectively.

Dr. A.D. Bates moved from the *Drosophila* group to the Cell Culture group.

The programme carried out by the Department of Radiation Genetics is to a large extent concerned with the effect of ionizing radiation on the genetic material of the fruitfly, Drosophila melanogaster. The main results are summarized below:

Dose fractionation studies with females showed that fractionation reduces the frequency of exchanges in the proximal heterochromatin. The interest of these results lies in the fact that few if any of the exchanges generated deficiencies at the bobbed locus (coding for ribosomal RNA).

The study on the molecular nature of X-ray induced mutations in *Drosophila*, has advanced in that putative nonsense suppressors for polar mutations at the dumpy locus have now been recovered. A further analysis of fractional and complete mutations at specific loci after irradiation of spermatids in  $N_2$  or  $O_2$  suggested that with the exception of the dp locus, the evidence for the induction by radiation of fractional mutations is not convincing.

Experiments with chromatid interchanges in females and with dominant lethals in males provided confirmatory evidence that the differences in radiosensitivity between stage 14 and stage 7 oocytes on the one hand, and between mature spermatozoa and late spermatids on the other, are determined by differences in the degree of oxygenation under normal conditions in air.

To examine whether the fate of breaks induced in spermatids in pupae is different from that in the adult, a number of dose fractionation experiments were carried out. They showed that, contrary to the results published in the literature, breaks in spermatids of 48-hour pupae remain open until after fertilization.

The determination of a dose-effect curve for the induction of attached - X chromosomes in sperm was very much hampered by their unexpectedly low frequency of induction. A fine-structure analysis of recessive lethals induced by 3 MeV neutrons revealed no evidence for high frequencies of clusters, as had been postulated before by Muller (1954) to explain the lower effectiveness of neutrons in comparison to X-rays. The extensive study on the ultrastructure of the developing spermatogenic cells has now been completed. Experiments on the effect of pretreatment with sodium fluoride failed, to yield positive results when translocations and recessive lethals in a rod-X chromosome were used as endpoints, in contrast to our earlier results with the ring-X chromosome.

A

Structural heterozygosity, leading to asynapsis, resulted in higher frequencies of recessive and dominant lethals in early oocyte stages. This increase is not due to a general property of the altered genotype, but specifically related to defective splinting of the chromosome covered by an inversion in its homologue.

In dose rate studies with stage 7 oocytes, a marked reduction of the dominant lethal frequency was observed with protracted doses. In contrast, recessive lethals do not respond to changes in dose rate.

For the use of translocations in insect eradication programmes, it is of interest to note that out of 135 autosomal translocations tested, about 38 % were viable in homozygous condition.

Studies on marker rescue in T-even bacteriophages were carried out by means of crossing a heavily irradiated T4 derivative with unirradiated T2 helper phage. The helper phage was T2 mutated in the  $\alpha$ -glucosyltransferase gene and unable to be propagated in restrictive bacteria. Progeny selected from restrictive hosts had rescued the  $\alpha$ gt<sup>+</sup> marker from the irradiated parent. The  $\alpha$ -glucosyltransferases induced by the progeny strain were genetically deviating from T4 and T2 wild-type enzymes. The distinction between the substrate specificities of the two enzymes within the class of viable progeny provided an extremely sensitive method for the detection of mutations which do not affect the essential function of the gene product concerned. Until now, this viable-to-viable mutation frequency in the  $\alpha$  gt gene studied appears to be more than 100 %.

The studies with mammalian cells in vitro which have been performed in the past year have resulted in the detection of radiation-induced 8-azaguanine resistant clones in a diploid human cell strain and in a mouse strain. Initially the phenomenon of metabolic cooperation appeared to severely hamper the selection of these mutants. With respect to the work with Potorous tridactylis cells it could be established that marked differences in radiosensitivity exist between the chromosomes during the S phase of the cell cycle.



B Project No. : 1./1.1./1.1.1./1.1.2./1.1.3./

Titel :

1.1. Further analysis of the nature of X-ray induced genetic changes.

1.1.1. Studies on the spontaneous and X-ray induced exchanges in the heterochromatic region of the X chromosome in females.

1.1.2. Specific loci.

1.1.3. Small deletions.

Naam van de onderzoeker:

Dr. A. Schalet.

1.1.1. A new project has been initiated with experiments designed to examine the nature of spontaneous and X-ray induced exchanges in the proximal heterochromatic region of females with free X chromosomes. A wide spectrum of oocyte stages, prior to, during, and after meiosis, was examined. Preliminary evidence strongly indicates that a fractionated X-ray dose induces fewer exchanges, in all stages studied, than an unfractionated dose. Few, if any of the induced exchanges involve asymmetric exchanges.

1.1.2. In the previous report, under project 1.1.2. specific loci, it was proposed to examine the question whether the oxygen dependent repair process in early spermatids operated on intragenic changes at the white, dumpy, and rosy loci where genetic tests are available to define such changes with some degree of confidence. But difficulties were encountered in synthesizing the appropriate multiply marked tester stock and consequently this project had to be abandoned.

1.1.3. In the previous report, project 1.1.3. proposed to examine the question whether the high frequency of X-ray induced small deletions involving the heterochromatic region of the  $sc^8$  inversion X chromosome was subject to the oxygen dependent repair process that occurs following treatment of early spermatids. Accordingly, 24 hour male pupae were irradiated with 1500 R, under anoxia, post-treated with  $N_2$  or  $O_2$ , the  $F_1$  offspring scored for small deletions and the  $F_2$  scored for sex-linked recessive lethals. Unfortunately, 4 experiments yielded only a relatively small number of tested chromosomes. In total,  $F_2$  lethal tests gave 5.2%

## B

(65/1261) for N<sub>2</sub> post-treatments and 3.0% (50/1645) for O<sub>2</sub> post-treatments. F<sub>1</sub> small deletions (loss of the markers y<sup>+</sup> and/or su(f)<sup>+</sup>) were 0.58% (19/3257) for N<sub>2</sub> post-treatments and 0.48% (20/4158) for O<sub>2</sub> post-treatments. Losses of the y<sup>f</sup> marker alone represented 70% of all losses. However, there were in addition 3 proven cases of translocation between the y<sup>+</sup> tip of the inverted X chromosome and the Y chromosome. This indicated that among the scored chromosomes some must have been in the spermatocyte stage at the time of irradiation. Consequently, some of the apparent y<sup>+</sup> losses may in fact have really been exchanges between the X and Y chromosomes rather than small deletions.

B Project No. : 1./1./1.1.4.

Titel :

1.1. Further analysis of the nature of X-ray induced genetic changes.  
1.1.4. Identification and analysis of putative suppressors of polar mutations (protein chain terminators ) and the identification of a specific type of genetic damage caused by X-rays and chemicals.

Naam van de onderzoeker :

Dr. D. Grace

1.1.4. This study is directed toward an identification of the molecular changes involved in the production of mutation by X-irradiation in a higher organism, such as *Drosophila*. Its ultimate aim is to define what kind of genetic lesions are susceptible to undergo post-radiation repair.

Alleles and pseudo-alleles at the dumpy locus are used for this investigation. They involve a cluster of functionally related mutants that can be distinguished by their spatial relationship and different phenotypic effects. These studies have progressed to a level where genetic lesions within the same gene can be defined, and their different properties compared. They show that different sites within the same gene are not all of equal importance to the function of that gene.

Special attention has been given to the detection and analysis of polar mutations which result from a highly specific change within the gene. Polar mutations act by terminating the synthesis of the protein chain. Their action can be suppressed by another mutation, in consequence of which the stop sign is not recognized and production of the protein chain thus continues. A selection technique for the detection of such suppressor mutations in *Drosophila* has now been developed. Although their recovery is fraught with difficulties, some have been obtained. The present work is directed toward a careful analysis of these mutants and their effects.

Project No. : 1./1.1./1.1.5.

Titel :

1.1. Further analysis of the nature of X-ray induced genetic changes.

1.1.5. Fractional and complete mutations following irradiation of *Drosophila* spermatids in nitrogen or in oxygen.

Naam van de onderzoeker :

Dr. E. Munoz.

1.1.5. The induction of complete and fractional mutations at the yellow, white, singed and dumpy loci has been studied in *Drosophila melanogaster* spermatids irradiated with 1000 R of X-rays in O<sub>2</sub> or in N<sub>2</sub>. This study has now been completed, and the results show that : a) the frequency of fractionals at the y, w and sn loci do not differ significantly from the spontaneous values and this is so irrespective of the gaseous atmosphere used during the irradiation; b) The Oxygen Enhancement Ratio (O.E.R.) for the induction of complete mutations at these loci is 3.1; c) at the dp locus the difference between the frequency of fractional mutations in the irradiated series and that in the controls is on the borderline of significance; d) at the same locus the O.E.R. for completes is high, being about 5.4.

The proportion of dp fractionals among dp mutations appears to decrease from 43.5% after 1000 R in N<sub>2</sub> to 26.2% after the same exposure in O<sub>2</sub>. While this observation may be interpreted as being consistent with the predictions of either the lethal-hit hypothesis or the repair hypothesis under certain conditions, the role of other factors that might cause a similar shift in the proportion must be taken into consideration.

The data on the induction of fractional and complete mutations at the dp locus considered in conjunction with the data of other loci from this study as well as those published by other investigators, suggest that the fractional and complete mutations detected after irradiation may have independent origins. With the exception of the dp locus, the evidence for the induction by radiation of fractional mutations at other loci investigated is not convincing.

The high O.E.R. of 5.4 estimated for the induction of dp completes is thought to result from the induction kinetics for these mutations, which, even at the exposure of 1000 R in O<sub>2</sub> may have a sizeable two-hit component.

Project No. : 1./1.2.

Titel :

1.2. Role of oxygenation in determining radiosensitivity of male and female germ cell stages.

Naam van de onderzoeker :

Dr. K. Sankaranarayanan.

1.2. This project was substituted in place of project 1.6. listed in the proposal for 1971 (Differential radiosensitivity and possible phenomena of repair in early meiotic stages of *Drosophila* females). In earlier work from this laboratory it was demonstrated that mature spermatozoa and stage-14 oocytes are, under normal conditions in air, more highly oxygenated than late spermatids and stage-7 oocytes, respectively. The criteria used to measure genetic damage were the induction of sex-linked lethals and autosomal translocations (in the case of mature spermatozoa and late spermatids) and dominant lethals (in the case of stage-14 and stage-7 oocytes). In an attempt to extend these findings to dominant lethals (male germ cell stages) and to chromatid interchanges (female germ cell stages), a series of experiments were started.

Mature spermatozoa and late spermatids were sampled from males which were 7 days and 0-4 hours old, respectively, at the time of irradiation. Irradiation was carried out either in air,  $N_2$  or in  $O_2$  following a 20 minute pre-treatment with the respective gasses. The data show that, at each exposure level studied, the frequencies of dominant lethals induced in mature spermatozoa under conditions in air were only slightly lower than those after irradiation in  $O_2$ ; on the other hand, in late spermatids, these frequencies after irradiation in air were much lower than those obtained after irradiation in  $O_2$  and only slightly higher than those observed after irradiation in  $N_2$ .

Similar experiments with stage-14 oocytes (sampled from 4-day-old females) show that after irradiation in air, the frequencies of chromatid interchanges were only slightly lower than those obtained in  $O_2$  but much higher than those obtained after irradiation under anoxia. The experiments with stage-7 oocytes (sampled from 0-4 hrs old females) conducted thus far show a pattern similar to that observed for late spermatids mentioned in the preceding paragraph. As a whole the above results provide confirmatory evidence for differences in oxygenation contributing to radiosensitivity

B

differences between mature spermatozoa and late spermatids on the one hand and stage-14 and stage-7 oocytes on the other.

Project No. : 1./1.3.

Titel :

1.3. Dose-fractionation studies with different stages of spermatogenesis.

Naam van de onderzoeker :

Prof. Dr. F.H. Sobels.

- 1.3. Earlier dose-fractionation studies indicated that a considerable fraction of the breaks produced in the spermatids of the adult testis stay open until after fertilization. Earlier work by Oster (1955) and Falk (1961) suggested that, on the contrary, breaks in spermatids of 48-hour pupae reconstitute before the formation of mature spermatozoa. To examine whether the fate of breaks induced in pupal spermatids is different from those in the spermatids of the adult, a number of further fractionation experiments were carried out with pupae of different ages. The first radiation exposure of 500 R was given to spermatids in the pupa; the second fraction of 1000 R to the same cells, as mature spermatozoa in the inseminated females. In a second series only pupae were irradiated with 500 R, and in a third group only spermatozoa in the females were exposed to 1000 R. The yield in the fractionated group was compared with that expected on the basis of additivity or of interaction between breaks induced by the single fractions. Following irradiation of spermatids in 48-hour pupae the translocation frequency in the fractionated group was significantly higher than the sum of the yields of the separate fractions. This result is in line with our observations on the fate of breaks in spermatids of adults. After irradiation of 24-hour pupae, additivity was observed in two experiments and interaction in a third. Experiments with 0-hour pupae are underway to examine whether the transition of additivity to interaction occurs in spermatids of pupae between 0 and 24 hours old.

B

Project No. : 1./1.4.

Titel :

1.4. Isochromosome induction by X-rays in male germ cells.

Naam van de onderzoeker :

Dr. A. Schalet.

1.4. In the previous report under project 1.4., isochromosome induction by X-rays in male germ cells, it was mentioned that compound-X chromosomes could be induced in the spermatozoa of males with an  $X.Y^S$  chromosome but not in males with a regular X chromosome. For 1500 R the respective frequencies were 11/5000 and 0/14500. In order to find support for the preferred model of isochromosome induction which requires a break on either side of the centromere to produce a new compound-X chromosome, an attempt was made to obtain a dose-effect curve. On the model a two hit curve was expected.

Unfortunately, this project was frustrated by the unexpectedly low incidence of compound-X induction. From treatments of mature spermatozoa with  $X.Y^S$  chromosome, the following frequencies were obtained: 4000 R - 1/3700; 2700 R - 3/2500; 2000 R - 3/8400; 1000 R - 0/5400; control - 2/11000. Tests of 8 of the newly arisen compound-X chromosomes showed that 4 were lethal as  $\hat{X} \hat{X}/0$  females and 1 was bobbed as  $\hat{X} \hat{X}/0$  female. These results suggest that most compound-X chromosomes are derived from interchromatid exchanges involving the two bobbed loci located on either side of the centromere in the  $X.Y^S$  chromosome. Such an hypothesis would explain the earlier data of Neuhaus who found that spontaneous compound-X chromosomes arose 36 times more frequently in  $X.Y^S$  than in  $X.Y^L$  chromosomes, 66/40000 vs. 2/44000. Although  $Y^L$  is longer than  $Y^S$ , the former does not carry a bobbed locus. The possibility that the spontaneous frequency of compound-X formation will differ in  $X.Y^S$  chromosomes of different origin has been suggested earlier and the difference between the frequency reported here and the frequency reported by Neuhaus appears to confirm such differences. Likewise, the difference between the induced frequency reported by Leigh (11/5000 for 1500 R given above) and the frequencies in our treatments may be referable to the same cause. Since females for the present experiments were of different genotype than those used by Leigh, there is the alternative possibility that the recovery of induced attached X-chromosomes was affected by female genotype.



Project No. : 1./1.5.

Titel :

1.5. Fine structure analysis of neutron induced sex-linked lethals in mature *Drosophila* sperm.

Naam van de onderzoeker :

Dr. E. Muñoz.

1.5. The work with fast neutrons which was introduced in section 1.5. of the previous annual report has practically been completed and Dr. Munoz who performed the experiments has returned to Argentina. The motivation for performing these studies, as well as the results, and the interpretation of the findings are briefly summarized in the following paragraphs of this section.

As early as 1938, Zimmer and Timoféeff-Ressovsky found that neutrons have only about two-thirds the efficiency of X-rays in producing sex-linked recessive lethal mutations in *Drosophila melanogaster* spermatozoa. This low relative biological effectiveness (RBE) of neutrons compared to X-rays, was later confirmed by several authors. RBEs higher than one have also been reported for neutrons of different energies and sources; however, these latter results have been interpreted as due to the sampling of mixed mature sperm with late spermatids of lower sensitivity to X-irradiation (Sobels 1970). Zimmer and Timoféeff-Ressovsky interpreted their findings as follows: one ionization within or close to the gene is sufficient to induce a mutation, therefore the greater clustering of ionizations resulting from the secondary protons in the neutron irradiation, will make one out of three ionizations superfluous.

Muller challenged this interpretation and proposed that neutrons produce separable mutations very close to each other. However, since only one of them is detected and the others lost to view with the standard methods used, the consequence would be the apparent lower effectiveness of neutrons. Muller based his hypothesis on the finding that X-or gamma-rays induced visible mutations at the yellow (y), white (w) and forked (f) loci are viable, while when neutron induced, one third or more are lethals, although no cytological change can be demonstrated. Thus he concluded that both a visible and lethal mutation localized close together had been induced.

He postulated that the same should be true for lethals (i.e. they may occur in groups). If this is so, allelism tests should make it possible to establish if the lethals detected in a given chromosomal region, consist of single lethals or groups of them close to each other. The experiments that will be described in the following paragraphs dealt with the detailed analysis of neutron induced sex-linked recessive lethals.

Wild type seven-day-old virgin males (Oregon-K stock) were irradiated with mono-energetic neutrons of 3 MeV energy produced through the D-D reaction, using the Van de Graaff electrostatic accelerator (400 kV, 250 uA) of the Radiological Institute TNO at Rijswijk. Following irradiation, the males were individually mated overnight to 1 or 2 Muller-5 females, and a standard sex-linked recessive lethal test was carried out.

Three experimental series were run and the mean absorbed doses were 2210, 2100 and 2200 rads which induced 9.8% (48/491), 6.8% (355/5245) and 9% (490/4977) of sex-linked recessive lethals, respectively. The frequency of spontaneous lethals observed was 0.22% (14/5899). All lethals found were tested for coverage by : a) a Y chromosome carrying the most proximal portion of the X chromosome, which includes the normal alleles of sw, mal and su (f), ( $mal^+.Y$  chromosome) and b) a  $y^+ v^+ dy^+.Y$  chromosome.

It was found that approximately 10% of all lethals induced are covered by the  $mal^+.Y$  chromosome, while only 5% is covered by the  $y^+ v^+ dy^+.Y$  chromosome. All lethals localized in each region were crossed to tester stocks and inter se to determine their relative positions and the extension of the damaged region. The results show that most lethals covered by the  $mal^+.Y$  chromosome, consist of large deficiencies and only few of them involve single complementation units; a result consistent with what has been reported for X-ray induced lethals in this region. About 70% of these lethals have been mapped in the right half of the map published by Lifschytz and Falk.

In contrast to the results just mentioned, only few large deficiencies were found among the lethals covered by the  $y^+ v^+ dy^+.Y$  chromosome; most of these lethals consist of single or a few complementation units. However, since the region has not yet been saturated, the size ascribed to the lethals has to remain tentative at present.

The occurrence of clusters of lethals (two or more lethals very close to one another is low for both regions tested (less than 10 % of all lethals ). It should be pointed out that even if X-rays did not induce clusters of lethals at all (which, at least for the  $mal^+$ .Y covered region is not the case according to Lifschytz and Falk) the proportion of clusters induced by neutron irradiation, is not high enough to explain the reported low RBEs of neutrons with Muller's hypothesis alone. Thus, it seems reasonable to postulate that either Muller's hypotheses based on his results with visible mutations does not hold for lethals, or that the frequencies of sex-linked recessive lethals detected after neutron irradiation are the consequence of the interaction of the two proposed mechanisms : a) saturation of the mutational sites (Zimmer and Timoféeff-Ressovsky) and b) induction of clusters of mutations (Muller).

Project No. : 1./1.6.

Titel :

1.6. Studies on the ultrastructure of the developing male germ cells of *Drosophila*.

Naam van de onderzoeker :

Dr. A.D. Tates.

1.6. The study on the ultrastructure of the developing spermatogenic cells of *Drosophila melanogaster* has now been completed and the results have been published in the form of a thesis. For most developmental stages, descriptions have been given of the following cellular components: nucleus, nucleolus, Golgi complex, centriole, mitochondria, ribosomes, endoplasmic reticulum and a few less well-known structures such as multivesicular-, lamellar-, spongy-, and irregular bodies, as well as microtubuli and endocytosis vacuoles.

The study revealed that most of these components undergo remarkable changes in ultrastructure, form, location, and number. Many of these changes have been illustrated in electron micrographs accompanying the descriptions. In addition, schematic drawings (drawn to a uniform scale) have been prepared which provide a panoramic view of the developing sequences and facilitate a quick comparison between the various stages.

Extensive comparisons have been made between the ultrastructure of the spermatogenic cells of *Drosophila* and that of similar cells in the silkworm, the mouse, the rat, the rabbit, the guinea pig, and the golden hamster (information on spermatogenesis in man has also been taken into consideration). These animals were selected because their germinal cells exhibit a pattern of radiosensitivity which is often very similar to that observed in *Drosophila melanogaster*.

Project. No. : 1./1.7.

Titel :

1.7. Effects of sodium fluoride on X-ray induced translocations, recessive lethals and dominant lethals in mature *Drosophila* sperm.

Naam van de onderzoeker :

Dr. C. Prudhommeau.

- 1.7. In the previous report (section 1.8.) it was indicated that experiments had been started to examine the effects of pre-treatment with NaF on the frequencies of autosomal translocations in mature spermatozoa. These studies have been performed and completed by Dr. Prudhommeau, who returned to Paris on April 1st. Two types of experiments were carried out.
- In one, 7-day-old males (homozygous for st and bw) were injected with either 0.7% NaCl or  $10^{-3}$  molar NaF in 0.7% NaCl and after two hours irradiated with 2000 R. In the other, the injected flies were irradiated under anoxia (20 min. in  $N_2$ ) and then post-treated for 25 minutes with either oxygen or nitrogen. Following the various treatments the males were individually mated, for 18 to 24 hrs, with one or two females (homozygous dp, e). Induced translocations between chromosomes II and III were scored in the  $F_2$  generation. In some experiments sex-linked lethals and dominant lethals have also been scored. The results of the first set of experiments show that there is no significant difference between the frequencies of II - III translocations induced in the NaCl and the NaF experiments.
- That the absence of an effect is not due to decomposition of the NaF prior to irradiation is indicated by the fact that the NaF treated males showed a significantly larger amount of sterility than males which had been injected with saline.
- The second set of experiments also gave negative results, not only for II - III translocations, but also for sex-linked recessive lethals in a rod-X chromosome.
- The studies on the effects of NaF were concluded by two parallel experiments on the induction of dominant lethal mutations. In these two experiments four types of treatments were given: 1) NaCl injection and two hours later 2000 R; NaCl injection without radiation; NaF injection and two hours later 2000 R; NaF injection

without radiation. The results obtained indicated that the radiation induced equal amounts of dominant lethal mutations in the NaCl and NaF groups.

In conclusion, all experiments mentioned in this section of the report indicated that injections with NaF, when compared with NaCl injections, did not modify radiation induced damage measured as II - III translocations, dominant lethal mutations and sex-linked recessive lethal mutations in a rod-X chromosome. These results are clearly at variance with results of earlier studies by Mukherjee and Sobels (*Mut. Res.* 6, 217, 1968) which showed that pre-treatments with NaF led to a consistent and highly significant increase in the frequency of sex-linked recessive lethal mutations in a ring-shaped X chromosome. Thus, all data taken together seem to indicate that pre-treatments with NaF can only interfere with sex-linked recessive lethals in ring-X chromosomes. The reasons for this discrepancy are not understood, unless one assumes that only the ring chromosome specifically responds to the enhancing effect of NaF.

Project No. : 1./1.8.

Titel :

1.8. Asynapsis and mutability in female *Drosophila*.

Naam van de onderzoeker :

Dr. K. Sankaranarayanan.

1.8. The relationship between structural heterozygosity, asynapsis and mutability was examined by comparing the radiosensitivity of structurally heterozygous (genotype: SM5/+; SM5 is a multiply-inverted second chromosome) and structurally normal (+/+) females with respect to (a) radiation-induced dominant lethality and (b) recessive lethals induced in the wild-type (+) second chromosomes. The germ cell stages examined in this respect were (a) stage-14 oocytes (metaphase-I); (b) stage-7 oocytes (prophase-I) and (c) oocytes in early cross-over stages.

The results show that in stage-14 oocytes, dominant and recessive lethal frequencies are nearly identical irrespective of the genotype of the irradiated genomes; in stage-7 oocytes however, the dominant lethal frequencies are significantly higher in the SM5/+ females than in the +/+ females, but the recessive lethal frequencies are identical. On the other hand, in early cross-over stages, both the dominant and recessive lethal frequencies in the heterozygous females are significantly higher than in the +/+ females.

In an independent set of experiments, the possibility that the enhanced radiosensitivity of the early cross-over stages of SM5/+ females is not a general property of the genome itself, but specifically related to the presence of the SM5 inversion was examined. This was done by scoring for sex-linked lethals induced in SM5/+ and +/+ females in germ cells at early cross-over stages. These frequencies were similar, irrespective of the presence or absence of the SM5 inversion.

The results are consistent with the expectation based on the following considerations: In early cross-over stages, lack of pairing for exchange can lead to increased radiosensitivity (because the "splint-effect" due to intimate pairing of the homologous chromosomes is absent) in the SM5/+ females, with the

consequence that chromosome breaks are less likely to undergo restitution. This in turn, will be reflected in increased dominant lethality and/or increased recessive lethal frequencies in the *SM5/+* females (relative to the *+/+*) depending on the proportion of breaks that actually contribute to each of these kinds of genetic damage.

In stage-7 cells (which are temporally separated from the early cross-over stages by several days) the pairing relationships are somewhat different. On the "Distributive-pairing model" of Grell, it may be assumed that chromosomes that have not paired for exchange for one reason or another, undergo a second type of pairing subsequent to exchange pairing, one that is not dictated by homology, but by chromosome length. Since the chromosomes that undergo exchange pairing are held together by chiasmata and those that undergo distributive pairing are not, the association in the latter situation can be presumed to be somewhat less intense. Nonetheless, the intensity may be sufficient for the proposed splint-effect to operate. This means that the induced chromosome breaks may reconstitute almost as efficiently as under conditions where exchange pairing is obtained and consequently the recessive lethal frequencies in the structurally normal and heterozygous genomes are not expected to be different. However, since any induced exchange between the *SM5* and its homologue will generate dominant lethality in the *SM5/+* and not necessarily in the *+/+* females, the frequencies of dominant lethals in the heterozygous females are expected to be higher than in the *+/+* females.

In stage-14 cells, the chromosomes are in metaphase-I and expected to be in a highly condensed state. Consequently, the proposed splint-effect either is unimportant or operates to the same extent in both kinds of females (if it operates at all). The finding of no difference either in dominant or recessive lethals is in accordance with this hypothesis.



Project No. : 1./1.9.

Titel :

1.9. Studies on dose-rate effect in stage-7 oocytes.

Naam van de onderzoeker :

Dr. K. Sankaranarayanan.

1.9. Experiments were conducted in which the X-ray induction of autosomal and sex-linked lethals in stage-7 oocytes was studied; a radiation exposure of 3000 R of X-rays was delivered either in about one minute or protracted over a period of either 20 or 60 minutes. In parallel experiments with the same germ cell stage, the induction of dominant lethals was studied following the same radiation exposure delivered either in one minute or in 10, 20, 40 or 60 minutes. The results indicate that there is no dose-rate effect for the induction of recessive lethals, confirming the earlier observations of Markowitz referred to in the 1970 report. This lack of a dose-rate effect for the induction of recessive lethals in this germ cell stage is puzzling and remains an unsolved problem. No satisfactory interpretation is available at present unless it is assumed that the breakage component of recessive lethals is very small at the exposure level of 3000 R (which seems unlikely) and that the induction kinetics for recessive lethals is linear (which also appears unlikely in the light of Parker's earlier results).

For the induction of dominant lethals however, a clear-out dose-rate effect is obtained, with the frequencies decreasing with increasing exposure times. This result is entirely to be expected from what is known about the kinetics of induction of this class of genetic damage and from the demonstrated fractionation effect for both dominant lethals and chromatid interchanges as well as from the post-treatment effects.

Project No. : 1./1.10.

Titel :

1.10. The viability of II-III translocations in homozygous condition.

Naam van de onderzoeker :

Prof. Dr. F.H. Sobels

- 1.10. For insect eradication programmes the possible advantages of partial sterility resulting from translocations (over complete sterility, as achieved by the sterile male technique) are now being considered. Since in these species, inversions for balancing translocations are not readily available, large scale breeding of individuals with translocations depends on their homozygous viability. With the exception of Ytterborn's (D.I.S. 45, 1970, 158) data, little is known about the viability of translocations in homozygous condition.

For that reason homozygous viability of a number of translocations that had been obtained in experiments on the interaction of breaks induced in different stages of spermatogenesis was determined. Males heterozygous for a II-III translocation, and the markers *bw* and *st*  $p^P$  were mated to females of the genotype  $yw^- spl sn^2; Ly /TM3 Sb Ser$ . The presence of  $p^P$  in TM3 enabled recognition of the desired genotypes, so that flies heterozygous for the translocations and the third-chromosome balancer could be mated to each other. In total 256 different translocations were tested, out of which only 135 could be bred through the successive generations required for the test. Out of these, 84, that is 62.2% were lethal when homozygous. The weighted mean for the induced translocation frequency in these experiments was 7.0%. On the basis of earlier results (Sobels, *Mutation Res.* 8, 1969, 111) this translocation frequency would correspond to 7% recessive sex-linked lethals, and it is assumed that about four times as many lethals are induced in the major autosomes. This would mean then that about 28% of the lethality can be

attributed to recessive lethals in the second and third chromosomes and little over one half of the total lethality observed, results from the translocations per se. This observation suggests that either deletions, or breaking up the contiguity of gene clusters or linked genes and relocating them to different sites, results in some kind of recessive lethal position effects (Muller and Altenburg, *Genetics* 15, 1930, 287). These findings correspond remarkably well to those obtained by Ytterborn after an exposure of sperm to 2000 R, which induced a comparable frequency of translocations as observed in our experiments. Ytterborn noted that out of 35 translocations, 66% were lethal in homozygous condition. Assuming that 27% results from recessive lethals, 53% of the lethality can be ascribed to that of translocations per se.

For the possible applications of induced translocations it is of interest to conclude that at doses inducing 6.5 - 7% 11-111 translocations, about 53% are sufficiently fertile to be of further use and that out of these roughly 36%, or about one fifth of the total number of induced translocations, are viable in homozygous condition.

Project No. : 2./2.1./2.2./2.3.

Titel :

- 2.1. Marker rescue in T-even bacteriophage.
- 2.2. Radiation-sensitive mutants.
- 2.3. Exclusion in crosses between T-even phages.

Naam van de onderzoekers :

Prof. Dr. B. de Groot

Drs. L. van Minderhout

Drs. R. Okker

Dr. E. Pees

Drs. P. Poorter-de Goede

- 2.1. Studies on marker rescue were continued employing progeny strains of crosses between an ultraviolet-irradiated derivative<sup>ive</sup> of T4 (D41) and unirradiated T2 mutants, selected for intragenic recombination in the gene for  $\alpha$ -glucosyltransferase (agt). Earlier results were confirmed showing in vitro agt enzyme activity of progeny to be intermediate between those of the standard types T4 and T2. The lengths of rescued fragments in the agt gene appeared to be much greater than those of the agt itself, and included genes 47 and 55 of T4. The phenomenon of rescue of more linked T4 markers in one progeny particle suggested that the intermediated agt enzymes might be non-recombinant in nature. This might result from mutations in the standard-type T4 agt gene. The mutant enzymes should have such a minor effect on expression of the gene as to alter the substrate specificity, but not to abolish the function essential for survival of infection of the restrictive bacterial hosts.

The hypothesis has been tested with crosses between UV-irradiated and an unirradiated genetical hybrid with glucoseless DNA, containing most of the early genes of T2 and a mutated T4 agt gene. The construction of this hybrid strain was facilitated employing mutants of T4 which did not exclude regions of early genes in T2. The system has been designed such that only T4 agt genes are present in the cross. The agt enzymes, induced by progeny obtained from this marker-rescue experiment,

did not show the in vitro characteristics of the standard-type T4 agt enzyme. The activities of these enzymes showed similar substrate specificity as those from progeny of crosses between D41 and T2.

This system indicated an extremely high frequency of mutation per gene (100% or more) due to UV-irradiation. Support for this assumption comes from earlier observations on altered urea and heat sensitivities of "intermediate" enzymes and the observation of intermediate activities induced by spontaneous pseudorevertants of T4 agt mutants. In this system viables are selected from a majority of lethals, i.e. the unirradiated mutant helper phage. Within the group of viables, genetical variations can be distinguished in this system with respect to in vitro activity of the T4- or the T2 type. Probably, lethals are only a small minority of mutants appearing under the selective condition of restrictive bacterial hosts.

2.2. Studies were started to examine the in vitro excision of thymine dimers from irradiated T4 DNA. Enhanced ratios of excision of thymine dimers over thymine were obtained in the presence of the T4 v<sup>+</sup> gene product. It appears, however, that the reproducibility of the system needs improvement; probably a better control is required of the release of thymine by other nucleases.

Two out of the 16 radiation sensitive mutants, isolated so far, showed the sensitivity of T4 x and y mutants, but showed a greater photoreactivable sector than x and y mutants. Localization experiments with one of the two (UVS 52) meet the same problems as the mapping of y. Survival curves of lysates from crosses do not show the expected composition of the curve: a deep and a flat part reflecting the sensitivities of the two genotypes present in the lysate. Survival curves of individual plaques are not unambiguous either, to represent them as characterizing one or the other of the parental types. Recently, crosses were made to study the influence of the bacterial host on radiosensitivity of the progeny and the possibility of a multiple mutant nature of UVS 52 and y.

2.3. Research on exclusion will be continued outside the framework of the Association Contract from 1972 onwards. In the report period, more mutants of T4

## B

were found that failed to exclude T2 genes from the progeny of crosses between the two strains. At present, five loci have been found in T4, each of which determines exclusion of T2 genes in one particular region which is insensitive to the influence of the other four exclusion factors. Probably the exclusion factors are enzymatic effects, the exclusion genes being completely dominant over their mutants.

The production of T2 dCTPase by gene 56 which is very sensitive to exclusion by T4, decreased tenfold in crosses with T4. In crosses with a mutant of T4 which does not exclude gene 56, dCTPase production by T2 is still decreased, although T2 gene 56 frequency in the progeny of crosses is between 30 and 40%. The sensitivity of T6 genes to exclusion by T4 is essentially the same as that of T2, so that this investigation was not continued any further.

The contents of bacteria soon after simultaneous infection with T4 and T2 was studied by means of sucrose gradient centrifugation. In contrast to reports in the literature, no break down of T2 DNA was observed.

Project No. : 3./3.1./3.2./3.2.1./3.2.2./3.2.3./3.2.4.

Titel :

- 3.1. The selection of mutations from diploid mammalian cell cultures.
- 3.2. Radiation induced chromosome aberrations in somatic and germinal cells of various species of mammals.
  - 3.2.1. Differential radiosensitivity of chromosomes of *Potorous tridactylis* in cell cultures.
  - 3.2.2. Correlation between chromosome aberrations induced in somatic and germinal cells of mice.
  - 3.2.3. Studies on "in vitro" growth and development of human testis.
  - 3.2.4. Banding patterns of chromosomes.

Naam van de onderzoekers :

Drs. P.P.W. van Buul  
 Drs. M. van Diggelen-Cornelissen  
 Dr. J.W.I.M. Simons  
 Drs. H. van Steenis  
 Dr. A.D. Tates  
 Ir. A. van Zeeland

- 3.1. A system has been developed for the selection of 8-azaguanine resistant mutants from a diploid human cell strain. The selection of mutant cells is largely influenced by a phenomenon, known as metabolic cooperation, which turns mutant cells into phenotypically wild-type cells. As a consequence mutant cells cannot be selected above a certain cell density. Reconstruction experiments in which mutant cells were mixed with wild-type cells and mutant feeder cells showed that a reasonable recovery of mutant cells was only obtained at a density of about 190 wild-type cells per square cm. Under these conditions HGPRT (hypoxanthine - guanine - phosphoribosyl - transferase) deficient clones were obtained from a diploid human fibroblast strain and from a mouse skin fibroblast strain. In order to improve the selection system the mechanism of metabolic cooperation should be understood.

Namely, whether metabolic cooperation is due to cell to cell contact or to factors mediated by the medium. Experiments designed to examine this problem showed that when mutant cells and wild-type cells were separated by a fibrin layer, metabolic cooperation did not occur.

3.2.1. Potorous cells synchronized by 5-aminouracil and irradiated during the S phase gave low yields of cells in mitosis. In order to enhance the amount of dividing cells, mitotic indices were calculated at various times after seeding different amounts of cells. It was found that the best results were obtained  $53 \pm 2$  hours after seeding 25.000 cells per ml. An irradiation experiment under these conditions revealed that, in contrast to earlier findings mentioned in the 1970 report, the X chromosome in early, mid and late S showed more breaks than expected on the basis of its length. The same phenomenon was observed for the 2nd chromosome in mid S. Finally, in late S, chromosome 2 was less sensitive to breakage, whereas chromosome 3 proved to be more sensitive.

Labeling experiments with  $H^3$  thymidine showed that the chromosomes in mid S were more heavily labeled than in early and late S. The labeling pattern per chromosome varied between early, mid and late S. In contrast to earlier findings (Euratom report 1970) an indication for a correlation between the labeling pattern and the chromosome breakage pattern was obtained.

3.2.2. In order to obtain a better estimate of radiation hazards caused by chromosomal aberrations, an investigation was started to find out if a correlation can be found between radiation induced chromosomal aberrations in somatic and germinal cells of the mouse (in vivo). To learn the technique of scoring reciprocal translocations in male meiotic cells one of us stayed three months with Dr. A. Léonard in Mol (Belgium) at the SCK/CEN Genetics Laboratory.

3.2.3. Pilot experiments have been initiated to find the optimal conditions that will permit culturing of human testis.

3.2.4. Great advances have recently been made in the area of human cytogenetics; techniques are now available that permit unambiguous identification of all of the



**B**

human chromosomes; some of these techniques have been adopted to the study of chromosomes in different kinds of cell lines currently used in our laboratory.

## PUBLICATIONS.

1. GRACE, D. Genetic analysis of the dumpy region in Drosophila: its multigenetic composition. *Mut. Res.* 10, 489-496 (1970).
2. GRACE, D. Structure and function of a pseudoallelic mutant series in Drosophila melanogaster. *Genen en Phaenen* 14, 15-16 (1970).
3. GRACE, D. Genetic identification of polar mutations at the dumpy region in Drosophila melanogaster. *Genetics* 68, 524 (abstract) (1971).
4. GRACE, D. Genetic regulation of a gene cluster in Drosophila melanogaster. Second European Drosophila Research Conference, Zürich, Switzerland, 1971.
5. GROOT, B. de. A bacteriophage T4 mutant with altered expression of the  $\beta$ -glucosyl transferase gene. Abstract European Phage Meeting 1971.
6. LEIGH, B. Interaction of chromosome breaks in spermatids and spermatocytes of Drosophila melanogaster. *Mut. Res.* 12, 211-213 (1971).
7. PEES, E. Bacteriophage T4 mutants unable to exclude T2 genes from the progeny of crosses. Abstract European Phage Meeting 1971.
8. SCHALET, A. Temperature sensitivity of complementation at the marconlike eye color locus in Drosophila melanogaster. *Molec. Gen. Genetics* 110, 82-85 (1971).
9. SCHALET, A. Some observations on the proximal euchromatic-heterochromatic region of the X chromosome in Drosophila melanogaster. *Genen en Phaenen* 14, 16-17 (abstract) (1970).
10. SOBELS, F.H. Radiation as a tool in fundamental and applied genetics. Fifty Years of Genetics 1, 17-26 (1969; published in 1971). Ed. Oliver and Boyd, Edinburgh, Scotland.
11. SOBELS, F.H. and B. LEIGH. The induction by X-rays of double mosaics involving the Y chromosome, supporting first cleavage segregation in Drosophila melanogaster. *Mut. Res.* 12, 100-101 (1971).
12. STEENIS, H. Van. Differences in radiosensitivity of the chromosomes of rat kangaroo (*Potorous tridactylis*) cells in vitro. *Mut. Res.* 11, 445-447 (1971).
13. TATES, A.D. Cytodifferentiation during spermatogenesis in Drosophila melanogaster (an electron microscope study). Thesis, Dep. Radiation Genetics, Leiden, the Netherlands, 1971.
14. ZEELAND, A.A. van, M.C.E. van DIGGELEN, and J.W.I.M. SIMONS. The role of metabolic cooperation in selection of HGPRT deficient mutants from diploid mammalian cell strains. *Mut. Res.* (in press).

A Contract No. 052-65-2 BIAN

Laboratory of Molecular Genetics, State University Leiden, The Netherlands  
(in cooperation with the Medical Biological Laboratory TNO, Rijswijk Z.H.).

Title: IDENTIFICATION OF THE PRIMARY LESIONS INDUCED BY  
IONISING RADIATION

Summary:

Until recently research on the primary radiation lesions in DNA was mainly concentrated on the free DNA base adenine. At present the destruction by radiation of adenine incorporated in DNA is being investigated. To this end bacteriophage T7 as well as its purified DNA is irradiated in aqueous solution. After irradiation the DNA is degraded enzymatically, and the elementary building blocks (nucleotides) obtained are investigated for destruction of adenine.

In the past radiation research paid attention only to the direct interaction between ionising radiation and DNA and to the reaction of radiation-induced free water radicals with DNA. In a living cell also organic radicals will contribute to the inactivation of DNA. Such reactions are being investigated in collaboration with the Biophysics Department of the Free University in Amsterdam, by irradiating biologically active DNA in the presence of organic compounds, for example amino acids. DNA proved to be inactivated by various organic radicals. Damage inflicted by amino acid radicals were shown to be partly repaired by a bacterial repair system which is also responsible for repair of damage induced by ultraviolet light.

In order to gain more insight into the reactions of sensitizing and protecting substances with irradiated cell components, a so-called rapid-mixing apparatus was urgently needed. In such an apparatus a solution of DNA, for example, is irradiated and subsequently, within a few msec, mixed with another solution, containing for example a radioprotector. A rapid-mixing apparatus has been constructed (plate 1) and in collaboration with the Interuniversitair Reactor Instituut, Delft, which has the disposal of a Van de Graaff machine (plate 2), some preliminary experiments have been performed already.

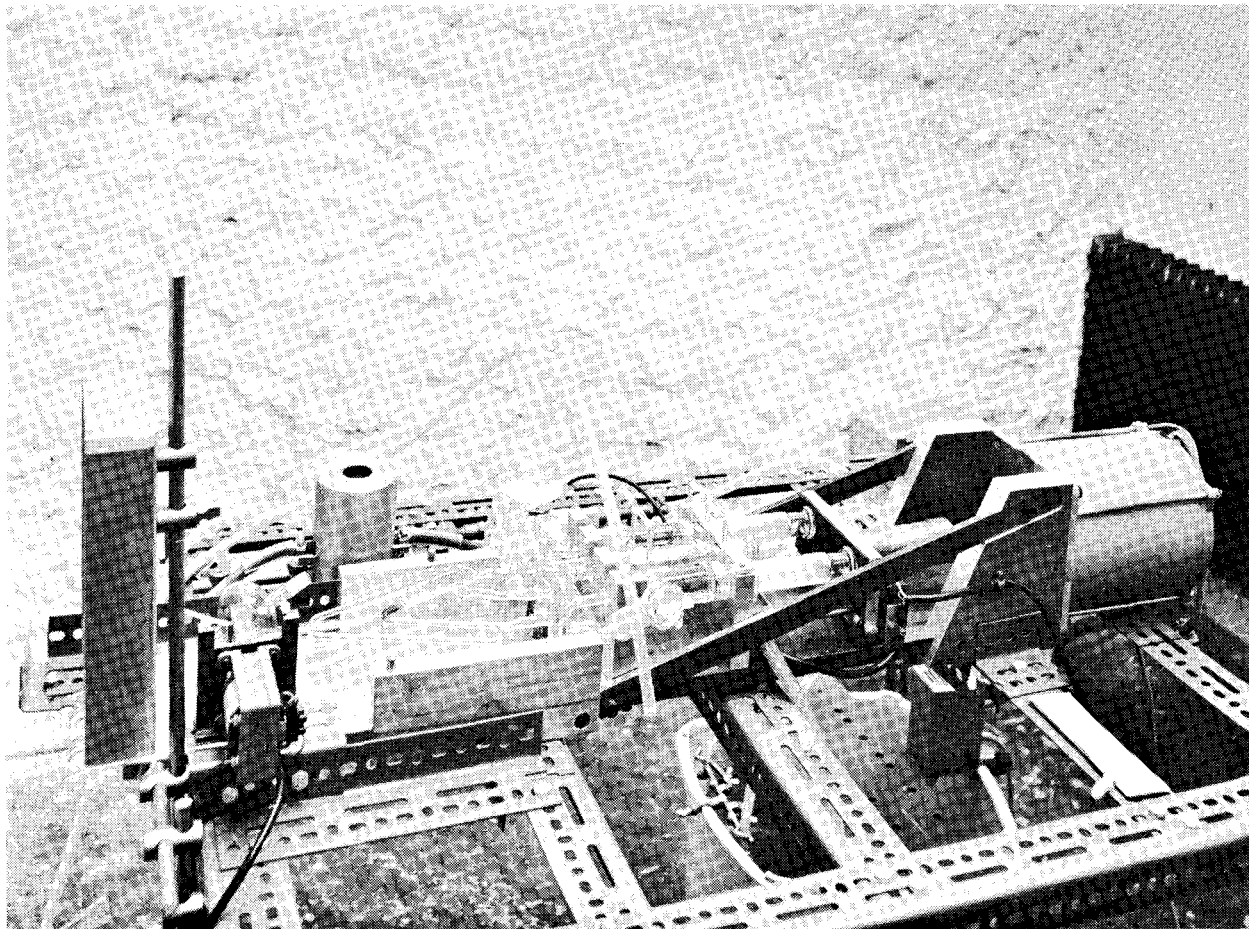


Foto 1. Overzicht van het snelmeng-apparaat. Rechts is de motor te zien, waarmee de zuigers in de cylinders (midden) worden gedrukt. De vloeistof in de cylinders wordt daardoor gestuurd door het buizensysteem (links)

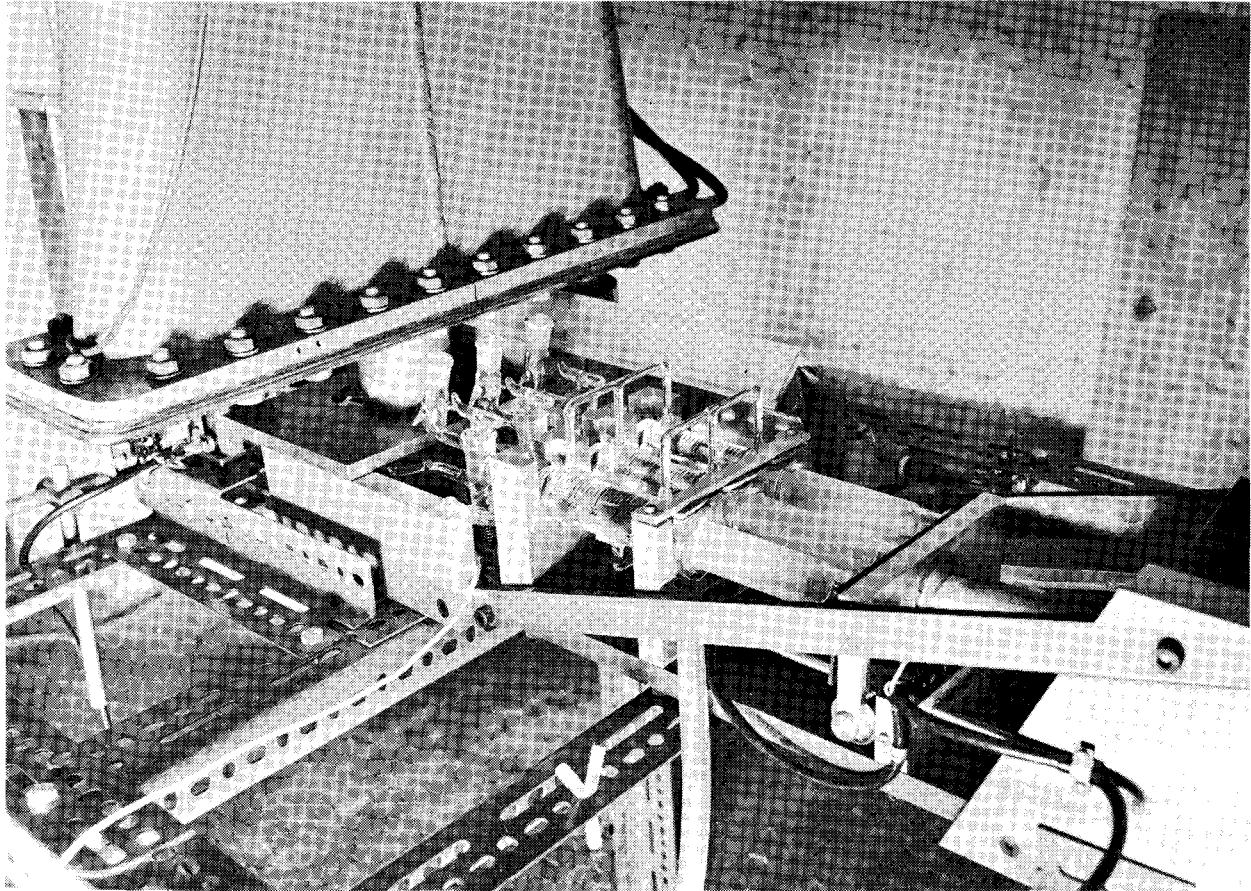


Foto 2. Het snelmeng-apparaat in de bestralingsopstelling.

Besides lethal damage radiation also induces damage resulting in mutations in the progeny of a cell. In investigations of the induction of mutations by ionising radiation in bacteriophage  $\Phi$ X174 it could be shown that adenine can be damaged in such a way that in progeny particles the adenine base has been replaced by guanine. Under certain circumstances this transition is favoured by the presence of oxygen. Other possible transitions of bases by radiation are presently under investigation.

B Project No. MBL C 71-80

Title: Induction of mutations in bacterial and mammalian cells and viruses and in biologically active DNA by physical and chemical agents

Research workers: Ir. J.F. Bleichrodt, Drs. J. Vreeswijk, Prof. Dr. A. Rörsch, Dr. R.A. Oosterbaan

Progress report:

Investigations on the induction of mutations in bacteriophage  $\Phi X174$  by  $\gamma$ -irradiation were continued. The efficiency of induction of pseudo wild type particles in a population of amber mutants of  $\Phi X174$ , which amounts to about  $6 \times 10^{-7}$  revertants per lethal hit per phage particle, remained the same when the phage was irradiated in the presence of radioprotective SH compounds.

An ochre mutant of  $\Phi X174$  contains a triplet TAA in its DNA, whereas an amber mutant contains TAG and an opal mutant TGA. By irradiating an ochre it is possible to measure the induction of amber and opal mutants and thus the induction of the transition of adenine into guanine. Since no ochre mutant with a sufficiently low spontaneous background of revertants was available, the amber codon in the amber mutant am 9 was converted into an ochre codon by mutagenesis with nitrous acid. The ochre mutant oc-9.299 obtained, was reverted by  $\gamma$ -rays to pseudo wild type, i.e. to particles able to grow on an E. coli strain containing no nonsense suppressor, with an efficiency of about  $2 \times 10^{-7}$  revertants per lethal hit per phage particle. This is a factor of 3 lower than the efficiency with which am 9 is reverted.

When irradiated oc-9.299 was plated on a bacterium containing an opal suppressor, no induction of opals was observed. This is probably due to the particular amino acid that is substituted by the opal suppressor used at the "opal site" in the protein, giving a non-functional protein and thus a non-viable virus particle.

The efficiency of induction of ambers in oc-9.299 appeared to be dependent on the presence of oxygen during irradiation. The fraction of ambers in the spontaneous background of ambers and pseudo wild types, i.e. of all possible mutations in the ochre codon, amounted to  $0.164 \pm 0.016$ . The fraction of ambers induced by  $\gamma$ -rays under nitrogen was found to be  $0.081 \pm 0.011$ , and under oxygen  $0.288 \pm 0.025$ .

Other transitions and transversions of bases due to radiation can be studied with amber, ochre or opal mutants mutated in the coat protein of  $\Phi X174$ . By analyzing the amino acid constitution of the mutant and its radiation induced revertants,

knowledge about the DNA base changes induced by the  $\gamma$ -rays can be obtained. Analysis would be greatly facilitated if mutants were available in a small coat protein. According to some authors am 14 is mutated in a coat protein of molecular weight 5000, whereas others doubt the involvement of am 14 in a coat protein mutation. Analysis of am 14, grown on bacteria with different suppressors, on polyacrylamide gels showed a small but consistent difference in mobility of the mutant as compared with wild type  $\Phi$ X174, indicating that am 14 carries a mutation in a coat protein.

B Project No. MBL C 71-81 and C 71-82

Title: Chemical and physical identification of lesions in nucleic acids

Research workers: Drs. J. de Jong, Drs. W. J. Kleijer, Dr. P. H. M. Lohman,  
Drs. A. C. van der Drift, Dr. G. P. van der Schans, Drs. J. J. van  
Hemmen, Ir. J. F. Bleichrodt

Progress report:

1) The test for the biological activity of DNA of bacteriophage PM2 was modified in order to increase the yield of phage further. By adding DEAE or protamine sulphate to the system a yield of about  $5 \times 10^8$  phage particles per  $\mu\text{g}$  of PM2 DNA can be obtained.

To investigate the primary lesion in PM2 DNA induced by ionizing radiation, the various components of the irradiated DNA have to be separated. This can be achieved a.o. by using membrane filters. Double-stranded DNA passes through the filters, whereas single-stranded DNA is retained. The single-stranded DNA is obtained by alkaline denaturation at a pH where PM2 DNA containing no single-strand breaks remains native.

For these experiments the DNA has to be labeled radioactively. Attempts to incorporate  $^{32}\text{P}$  into the DNA did not lead to satisfactory DNA preparations due to induction of breaks by the  $^{32}\text{P}$  radiation. Incorporation of  $^3\text{H}$ -thymidine gave better results, although very high concentrations of  $^3\text{H}$ -thymidine had to be handled to obtain a sufficiently high specific activity of the DNA.

Experiments were begun in which whole phage particles were irradiated and subsequently the viability of the phage and the biological activity of its DNA was determined. A problem encountered in these experiments was that part of the phage ejected its DNA during irradiation. This effect was smallest in "nutrient broth", in which



irradiation with 500 krad resulted in 30% loss of particles due to ejection. Inactivation of viability in this medium occurred with a  $D_{37}$  of  $200 \pm 16$  krad, whereas the inactivation of the biological activity of the DNA as isolated from the irradiated phage, showed a 3 to 4 times lower sensitivity. The contribution of double-strand breaks to inactivation of DNA amounted to about 10%, indicating that single-strand breaks and/or nucleotide damage are responsible for the main part of the DNA inactivation. The production of double-strand breaks per 100 eV dissipated in the DNA was found to be more than 3 times smaller than found previously in experiments with bacteriophages T4 and T7. In contrast to this remarkable result, the production of single-strand breaks was found to be comparable to that obtained previously.

2) In collaboration with the Research Unit in Radiobiology at Northwood, England, a number of systems were investigated by pulse radiolysis.

a) The reaction of a number of well-known radiation sensitizers with components of DNA have been studied, in order to deepen insight into the sensitizing action of oxygen. The electron-adducts of bases, nucleosides and nucleotides were shown to react very fast with and donate their electron quantitatively to sensitizers like para-nitroacetophenon, N-ethylmaleimide, menadion and benzophenon.

b) Methionine, an amino acid that contains a sulphur atom bound to two carbon atoms, gives, in contrast to SH protectors, no sulphur radicals when irradiated under  $N_2O$ . Just as with other aliphatic amino acids, radicals located at a carbon atom are obtained. These radicals can be "repaired" by SH compounds. Amino acids with a branched carbon chain were found to be repaired by different "repair" processes.

c) Preliminary experiments concerning radiation damage in adenine were performed using pulse radiolysis techniques. It is hoped to continue these experiments at the Interuniversitair Reactor Institute, Delft.

d) At the Interuniversitair Reactor Institute also the rapid-mixing experiments will be continued, which were started at Northwood. It was already shown that mixing of radiation-induced radicals of the DNA of bacteriophage  $\Phi X174$  with para-nitroacetophenon or cysteamine influences the survival of the biological activity of the DNA.

3) The sensitizing action of compounds like  $O_2$  and para-nitroacetophenon is explained a.o. by the so-called "direct action model." It is assumed in this model that

the sensitizer abstracts the electron formed by direct ionization of the biomolecule, leaving a lethal positive charge. In the absence of the sensitizer recombination of the positive and negative charges may lead to a "repair" of the initial damage. This model was tested experimentally by irradiating freeze-dried  $\Phi$ X174 or PM2 DNA in the absence and in the presence of para-nitroacetophenon and measuring inactivation of biological activity. From the absence of an influence of para-nitroacetophenon it is concluded that the direct action model does not hold in this system.

4) Investigations of the influence of amino acid radicals on biologically active DNA of phage  $\Phi$ X174 have been continued. Phenyl-alanine-OH, phenylalanine-H and phenylalanine-OH, O<sub>2</sub> (formed in the presence of oxygen) all inactivate single-stranded DNA. Only a minor fraction of the lethal lesions can be ascribed to breaks in the sugar-phosphate back-bone of the DNA, i.e. most of the lethality is due to nucleofide damage.

Phenylalanine-OH radicals can be oxidized by traces of para-nitroacetophenon and reduced by traces of cysteamine. In this way reaction of phenylalanine-OH radicals with DNA is prevented. Besides neutralizing phenylalanine radicals cysteamine and para-nitroacetophenon also react with DNA radicals originating from reaction of water radicals with DNA.

When DNA is irradiated under anoxic conditions in the presence of histidine or tryptophan also secondary reactions of amino acid radicals with DNA occur. This is concluded from the protecting action of traces of cysteamine and para-nitroacetophenon.

Besides inactivating single-stranded DNA phenylalanine radicals also attack double-stranded replicative form DNA of  $\Phi$ X174. The damage inflicted in this DNA can be repaired partially by repair enzymes in the host bacterium which are also responsible for repair of damage sustained by ultraviolet light. This is concluded from the difference in "survival" of the RF DNA found when the biological activity is tested with spheroplasts of Uvr<sup>+</sup> and Uvr<sup>-</sup> bacteria and with Pol<sup>+</sup> and Pol<sup>-</sup> strains.

5) Radiation products of adenine in irradiated DNA are being studied using highly <sup>3</sup>H-adenine labeled DNA of phage T7.

Analysis of <sup>3</sup>H-T7-DNA irradiated under O<sub>2</sub> or N<sub>2</sub> by Sephadex G-20 chromatography shows various radiation products, one of which is free adenine. Formation

of free adenine shows no oxygen effect. The other products will be characterized in the near future.

If after irradiation the DNA is degraded by treatment with pancreas DNAase I and with snake venom phosphodiesterase more irradiation products of adenine are obtained.

6) During an investigation of the induction of protein-DNA cross-links by  $\gamma$ -rays between DNA and chymotrypsin, which was labeled with a fluorescent label at the active site, it was found that the transfer of energy between tryptophan and label in the enzyme differed from the expected behaviour. Further experiments showed that fluorescence of tryptophan in the labeled enzyme is due to only one tryptophan residue and that the fluorescence of this residue and that of the label are destroyed by one radiation hit. Since the fluorescing tryptophan and the label are not located close together, this indicates that transfer of radiation energy occurs.



A Contract No. 052-65-2 BIAN

Laboratory for Molecular Biology, State University of Leiden, The Netherlands (in collaboration with the Medical Biological Laboratory TNO, Rijswijk Z.H.)

Title: STUDY ON THE MECHANISM OF MUTATION IN ANIMAL AND HUMAN CELLS

Summary:

Research on the UV sensitivity of cells cultured from Xeroderma pigmentosa (XP) patients is being carried out at the Medical Faculty of Rotterdam in collaboration with the Medical Biological Laboratory TNO. The results obtained so far have clearly shown that UV-irradiated XP cells are deficient in the excision of thymine dimers. Although it has not yet been proved, it is believed that the XP-deficiency involves loss or defectiveness of a specific enzyme, the UV-specific endonuclease.

Genetically oriented research in the radiobiological research program is concerned mainly with the determination of linkage groups on the human chromosome. For this purpose use is made of human-Chinese hamster cell hybrids from which during prolonged culturing human chromosomes are gradually lost. Bearing in mind that the iso-enzymes of man and hamster are separable by electrophoretic techniques, the loss of human chromosomes can be correlated to the simultaneous loss of an enzyme. In this way it has been possible to establish the linkage of 4 enzymes on the human X-chromosome.

In the past year a number of new techniques for the identification of chromosomes have been developed. Such techniques have also been used in the study of radiation induced chromosomal aberrations. Thus a biological dosimeter has been created which can and has been successfully used to determine the activity of chemical agents.

B Project No. MBL C 71-12

Title: The induction of chromosome aberrations by chemical and physical agents and the automation of the scoring of these abnormalities.

Research workers: Drs. H. Heering, Drs. W.G. Burgerhout, Ir. J.F. Anthoni, Prof. Dr. D. Bootsma, Dr. S. Bacchetti

Progress Report:

a) The effects of physical agents. The dose-effect relationship for 250 kV, 15 mA irradiated human blood lymphocytes has been determined at 37°C as well as at room temperature. The small lymphocytes were transformed by phytohaemagglutinine into lymphocytes either one hour before irradiation or 2 or 16 hours after irradiation. It was found that there was no difference in the results obtained when the cells were incubated at room temperature of 37°C. Preliminary results show a good correlation with those found in the literature. Further experiments are necessary to establish if our results are reproducible.

b) The effects of chemical agents. The cells were exposed to various concentrations of DDVP (dimethyl 2,2 dichlorovinyl phosphate) for different periods (1, 2, 4 and 20 hours) before PHA stimulation. The culture time was 52, 57, 60, 63, 77, 87, 97 and 112 hours. The concentration of  $10^{-3}$  M DDVP proved to be toxic as after 4 hours exposure no mitosis appeared. Only in one case significant numbers of chromosomal aberrations were induced. This was when cells were exposed to  $10^{-4}$  M DDVP for 20 hours. More experiments are necessary in order to evaluate the effect of DDVP upon chromosomal aberrations. The results must be compared with those obtained with well characterized agents such as EMS and MMS.

c) The automatisation of chromosomal analysis. The Giemsa staining techniques which produce a specific banding pattern in chromosomes have been tested on lymphocytes, Chinese hamster cells and hybrid cell lines. Although some measure of success has been had, experiments are in progress to improve the clarity and reproducibility of these banding patterns. With regard to the computerization of the scoring of results, some progress has been made in determining "orientation points" necessary for scanning identification.

B Project No. MBL C 71-13

Title: Repair of radiation damage in mammalian cells

Research workers: Dr. G. Veldhuisen, Dr. P.H.M. Lohman, Drs. W. J.

Kleijer, Dr. S. Bacchetti, Dr. R.A. Oosterbaan, Dr. P.H. Pouwels,

Prof. Dr. D. Bootsma,

Progress report:

1) Cell cultures were established from skin biopsies of some new Xeroderma pigmentosum (XP) patients. Repair replication after UV was almost undetectable in a severe case of XP found in Groningen. Cells of the mother of this patient (heterozygous for XP) showed normal repair replication.

The study of repair replication of cells from patients suffering from the De Sanctis Cacchione syndrome (a very severe case of XP) was extended, including the cells of the father of the patient. Cells of the mother were cloned and they all showed repair replication, though at a lower rate when compared with normal cells. These results suggest that the Xeroderma gene is not X-linked.

In collaboration with the Department of Cell Biology of the Medical Faculty in Rotterdam the study of the genetics of the XP syndrome was continued. XP cells were fused with De Sanctis Cacchione cells; it was confirmed that after UV irradiation of the fused population many binuclear cells showed repair replication. This suggests that the XP gene and the De Sanctis Cacchione gene are different and that complementation is possible between the different cells. The hybrid character of the binuclear cells is under study now.

Cells from patients suffering from Epidermodysplasia verruciformis (a hereditary disease, causing the growth of numerous warts and predispose patients for tumors) were shown not to be blocked in their repair replication.

2) Normal cells are able to repair radiation damage (both UV and ionizing radiation). How the repair mechanism works is not known. It could be shown that thymine dimers are removed from UV irradiated normal cells but remain present in XP cells. Quantitative studies showed that excision of dimers still occurs at 12-24 hours after irradiation. From other experiments it was concluded that repair replication (measured by autoradiography) is already finished after 4-6 hours. It will be checked whether the technique used is responsible for this contradiction.

The removal of thymine dimers might be initiated by an incision step. However, studies on the DNA of UV irradiated cells did not show any evidence for the existence of UV induced enzymatic breaks. The possibility was considered that those breaks are present but do not become manifest due to subsequent fast repair reactions. In an attempt to accumulate the supposed incision breaks, a number of inhibitors was added to the cells after UV irradiation. It was shown that cyanide, EDTA, dinitrophenol and iodoacetic acid inhibit the repair of breaks caused by ionizing radiation. Addition of these compounds to UV irradiated cells did not lead to accumulation of breaks. Also addition of more specific inhibitors like hydroxyurea, fluorodeoxyuridine and dideoxythymidine was negative. These experiments were carried out using UV doses of 100-250 ergs/mm<sup>2</sup>. Irradiation of the cells with 5000 erg/mm<sup>2</sup> at 0°C resulted in breaks immediately after irradiation. Those breaks are most probably non-enzymatic. Irradiation of HeLa cells with 500-1000 ergs/mm<sup>2</sup> resulted in degradation of DNA after 3-6 hr incubation. This effect was not present in primary fibroblasts.

Cells were irradiated with light of 360 nm in the presence of psoralen. The damage inflicted upon the cells in this way did not evoke repair reactions.

Attempts to show the presence of a UV specific endonuclease in mammalian cells were negative. In one of the methods biological active lambda DNA was used. It was shown that incubation of UV irradiated lambda DNA with purified UV endonuclease from *Micrococcus luteus* or with an extract from *Micrococcus luteus* results in reactivation of the DNA, measured on hcr<sup>-</sup> protoplasts. However, with extracts from mammalian cells (BSC, HeLa) no reactivation was found. The results were also negative using  $\Phi$ X-RF I-DNA as a substrate.

In another method UV irradiated mammalian DNA was used as a substrate. A very small number of breaks in DNA was observed after incubation with mammalian cell extracts, as compared with the unirradiated control. However this degradation occurred to the same extent using HeLa or XP cell extracts.

A very sensitive technique to detect nuclease activity was set up. It uses the fluorescence of DNA-ethidium bromide complexes in polyacrylamide gels.



B Project No. MBL C 71-14

Title: Genetic studies on in vitro cultured human and mammalian cells

Research workers: Dr. A. Westerveld, Drs. H. van Someren, Dr. S. Bacchetti,  
Drs. H. Heering, Drs. W. Burgerhout

Progress report:

Chinese hamster mutant cell lines were fused with diploid human fibroblasts or lymphocytes. The hybrid clones derived from these fusions showed a preferential loss of human chromosomes. Since most of the homologous enzymes of man and hamster are electrophoretically distinguishable it is possible to establish linkage groups. The association of genetic markers can be established by their simultaneous retention or loss; the presence or absence of specific phenotypes and specific chromosomes presumes the linkage of a particular gene to a particular chromosome.

It was shown that in man besides the loci coding for glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase (HGPRT), 3-phosphoglycerate kinase (PGK) also the locus for  $\alpha$ -galactosidase ( $\alpha$ -gal) is situated on the X-chromosome.

Studies on glutamic-pyruvic transaminase (GPT) from human erythrocytes and the man x Chinese hamster hybrid cells indicate that there are at least three gene loci (GPT A, GPT B and GPT C) in the human genome coding for the enzyme GPT. Segregation patterns of human GPT B and human GPT C in the hybrid cells suggest that these two genes are located on two separate autosomes. Evidence is obtained that the locus for GPT B is linked with the loci coding for lactic dehydrogenase B (LDH B) and peptidase B (pep B), whereas presumably the GPT C locus is linked with the LDH A locus.

The evidence that the loci coding for 6PGD and PGM (phosphoglucomate mutase) are located on the same chromosome has been extended.

The technique by which HL-A transplantation antigens can be detected in cultured fibroblasts has been used in the hybrid cells in combination with the isozyme markers. Until now no evidence is present that the HL-A locus is associated with one or more loci codings for enzymes.

Two techniques can be applied for the identification of human chromosomes, namely the fluorescent staining with quinacrine mustard and the differential staining with Giemas of native and denatured DNA. The two techniques are presently

used in the localization studies of a particular gene to a particular chromosome.

The third possibility by which the human chromosomes can be identified in the hybrid cell is the *in situ* DNA-DNA or DNA-RNA hybridization technique. Experiments have been performed to isolate human repetitive DNA and to hybridize it *in situ* with the chromosomes of the hybrid cell. Since the radioactive DNA obtained by labeling cells in culture had a specific activity ( $1.2 \times 10^6$  dpm/ $\mu$ g) not high enough to detect significant amounts of localized radioactivity after short term autoradiography, unlabeled repetitive DNA was used as a template for the *in vitro* synthesis of complementary RNA. Using *E. coli* RNA polymerase and three highly labeled triphosphate precursors, a complementary RNA of specific activity  $8.7 \times 10^7$  dpm/ $\mu$ g has been isolated. Control experiments of hybridization of this RNA with human and mouse DNA's immobilized on filters have shown that the RNA is specific for human DNA. The highly labeled material has now been hybridized with human and Chinese hamster chromosomes in cytological preparations.

A Contract No. 052-65-2 BIAN

Laboratory for Molecular Genetics, State University Leiden, The Netherlands  
(in collaboration with the Medical Biological Laboratory TNO, Rijswijk Z.H.)

Title: THE IDENTIFICATION OF ENZYMES AND GENES WHICH ARE  
INVOLVED IN THE REPAIR OF RADIATION DAMAGE IN BACTERIAE

Summary:

The study of repair processes in bacteriae may form a useful source of information on repair processes in general. Under investigation are the processes in E. coli which are able to repair the damage caused by irradiation with UV- and X-rays.

Biochemical studies were performed on the disturbed repair processes in a number of UV-sensitive mutants (*uvrA*, *uvrB* and *uvrE*) of E. coli. It is remarkable that the *UvrE* mutant besides its UV-sensitivity exhibits a highly pronounced spontaneous mutation rate.

Efforts were directed to the isolation and biochemical identification of the products coded by the *uvrA* and *uvrB* genes. The interest was also focussed on the biochemical background of the UV-sensitivity and the disturbed recombination ability in the *recA*, *recB* and *recC* mutants of E. coli.

The isolation of deletion mutants will facilitate greatly the search for a gene product. Therefore much attention has been paid to the mutator phage  $\mu$  which integrates at random in the chromosome and causes a variety of deletions.

Very successful were the experiments devoted to the repair in vitro of UV damage in DNA by means of a number of purified enzymes.

An integrating part of the studies mentioned above form the extension of the collection of mutants and the phenotypical and genotypical characterisation of the mutants.

B Project No. MBL C 71-70

Title: Studies *in vitro* to elucidate the mechanism of repair processes

Research workers:

Dr. R.A. Oosterbaan, Drs. A. Hout, Ir. B. van Dorp, Drs. H.L. Heijneker,  
Ir. C.A. van Sluis, Dr. P. van de Putte, Dr. P.H. Pouwels

Progress report:

1) The hypothetical mechanism through which UV-induced damage in DNA is repaired by the successive actions of UV-specific endonuclease, Kornberg's polymerase (pol I) and polynucleotide ligase has been successfully imitated *in vitro*. As a biological test system the *B. subtilis* ( $hcr^-$  strains) transformation system was chosen since this system is sensitive for both the presence of thymine dimers as well as single-strand breaks in the transforming DNA. Treatment with UV-specific endonuclease removes any residual transforming activity present in UV-irradiated transforming DNA. However, if this treatment is followed by incubation with purified DNA polymerase and ligase the biological activity of the DNA for unlinked markers increases by 1.5 to 2 times the value obtained for untreated DNA. If coupled markers are used (indol and tyrosine) biological activity increases by a factor 2 to 3 above those found with untreated DNA. This increase in biological activity appears to be directly related to the loss of thymidine dimers from the DNA.

2) The important function of the ATP-dependent nuclease in recombination and repair in *E. coli* stimulated research concerning the properties of a related enzyme in *Micrococcus luteus* (formerly *M. lysodeikticus*). Bacteriophage T7 DNA was chosen as substrate since it is well characterized. In the first place, there is a great discrepancy (especially in the early phase of the nucleolytic degradation) between the percentage of "difficult to sediment" DNA and "acid soluble" DNA. From sucrose gradient centrifugation patterns it must be concluded that the DNA molecules are broken down one at a time; both strands simultaneously. This must occur extremely quickly since no partially degraded DNA molecules are found. The possibility that the formation of the enzyme-DNA complex is the rate limiting step is being investigated.

So far it has been found that in the presence of magnesium ions the enzyme firmly bounds to double-stranded DNA molecules of the rod type only. The DNA part of this preformed DNA-enzyme complex is preferentially degraded after addition

of ATP.

3) Much attention is being focused on the further characterization of the E. coli recA gene product which has already been reported to exhibit an inhibitory control over the ATP-dependent nuclease. From recA strain extracts heated to 80°C an inhibitory product has been isolated and conditionally characterized as single-stranded DNA of a low molecular weight. This conclusion is further supported by the fact that as the molecular weight decreases the inhibitory effect increases.

However more recent studies indicate that in the test system used the observed activities of the ATP nuclease is differently influenced by DNA-substrate dilution by the DNA present in the crude extracts. Compared to the DNA of the wild type the more heterogeneous DNA of the RecA mutant seems a less favourable substrate for the ATP-nuclease. This causes probably an apparent increase of the activity compared to the activity in the wild type extract.

4) It has been suggested that besides Kornberg's polymerase (pol I), a second polymerase (pol II) could fill a number of repair and recombinational functions. Thus a number of radiation-sensitive mutants are being screened for the presence of pol II. The presence of pol II has been substantiated in uvrE (formerly uvrD) mutants, dna-b<sup>-</sup> mutants and highly probably in recA strains.

B. Project No. MBL C 71-71 and C 71-72

Title: Identification of gene products determining radiation-sensitivity of bacteria

Research workers: Dr. P. van de Putte, Dr. I.E. Mattern, Drs. A. Hout, Dr. F. Palitti, Ir. C.A. van Sluis, Drs. H.L. Heijneker, B.W. Glickman, M.Sc.

Progress report:

It was tried to characterize the gene products of the *uvrA* and *uvrB* genes. For this investigation a mutant where phage Mu-1 is inserted in the *uvrA* gene, an *inmuvrA* mutant, was isolated and the double lysogen  $\lambda$ - $\Phi$ 80 C1-857  $S^-$  /  $\Delta$ C1-857  $S^-$  -  $\Phi$ 80 *dbio*<sup>+</sup> *uvrB*<sup>+</sup>. The *inmuvrA* will give no gene product of *uvrA*<sup>+</sup> and the *uvrB*<sup>+</sup> strain is expected to give more of the *uvrB* product on induction.

For characterization wild type and mutant cells were labeled with respectively <sup>3</sup>H-leucine and <sup>14</sup>C-leucine and subsequently fractionated together on DNA-cellulose columns followed by polyacrylamide-gel electrophoresis. Until now no differences in membrane-composition or soluble enzymes that bind to DNA are found between the *Uvr*<sup>+</sup> and *Uvr*<sup>-</sup> strains.

Under study now is the isolation of membranes with the RF I of  $\Phi$ X174 bound to it in order to study the conversion of RF I to RF II after UV-irradiation on the membranes. Further it is tried to measure the survival of phage lambda in *Hcr*<sup>+</sup> and *Hcr*<sup>-</sup> strains under conditions where the phage cannot bind to the membrane to see whether membrane-binding is essential for the *Hcr* system to work.

The *UvrE*<sup>-</sup> mutant was further biochemically characterized. It was found that the number of breaks and the breakdown of DNA after UV-irradiation are smaller in the mutant than in the wild type. The excision of thymine dimers is also slower in the mutant than in the wild type.

The *uvrE* mutation causes a strongly enhanced mutation frequency for bacterial genes. Whether it also enhances the mutation frequency in infecting phages is under investigation.

B. Project No. MBL C 71-73

Title: The isolation of well defined multiply marked mutants of Escherichia coli K12

Research workers: Prof. Dr. A. Rörsch, Dr. P. van de Putte, Dr. I. E. Mattern, B.W. Glickman, M.Sc.

Progress report:

Mutants of the original E. coli K12  $F^+$  strain were isolated by introducing the desired genetic markers via transduction. Thus the strains are never brought into direct contact with mutagens and the genetic quality of the strains can be ensured. In this way several hundred strains containing auxotrophic markers have been isolated. Furthermore, into a number of these strains, various mutations have been transferred which effect radiation sensitivity. With the exception of the small section of chromosomal DNA which is introduced by the transduction, the so isolated radiation-sensitive and radiation-resistant strains form strict isogenic partners. The following radiation-sensitive and radiation-resistant partner strains were isolated in 1971.

| Radiation marker | Strain no. | "Isogenic" partner strain no. | Other markers                       | Parent strain | Marker selected              |
|------------------|------------|-------------------------------|-------------------------------------|---------------|------------------------------|
| rec C22          | 1379       | 1378                          | bio87 serA101 his108                | KMBL 1046     | thy <sup>+</sup>             |
| rec C22          | 1470       | -                             | his108 bio87 endoA101               | KMBL 1048     | thy <sup>+</sup>             |
| rec C22          | 1481       | 1482                          | thyA305 metE72 bio87 pheA97 endA101 | KMBL 1476     | arg <sup>+</sup>             |
| rec C22          | 1487       | 1488                          | argA103 metE72 bio87 pheA97 endA101 | KMBL 1476     | thy <sup>+</sup>             |
| rec C38          | 1352       | 1351                          | bio87 serA101 phenA97               | KMBL 1045     | thy <sup>+</sup>             |
| rec C38          | 1354       | 1353                          | bio87 pheA97 endoA                  | KMBL 1047     | thy <sup>+</sup>             |
| rec C38          | 1358       | 1357                          | bio87 his108 endoA                  | KMBL 1048     | thy <sup>+</sup>             |
| rec C38          | 1360       | 1359                          | bio87 serA101 ilvA106               | KMBL 1073     | thy <sup>+</sup>             |
| pol A101         | 1067       | 1068                          | thyA301 bio87 endA101               | KMBL 1060     | met <sup>+</sup>             |
| pol A101         | 1356       | 1069                          | thyA301 bio87 pheA97 endA101        | KMBL 1069     | met <sup>+</sup>             |
| pol A101         | 1361       | 1362                          | thyA301 bio87 EndA101               | KMBL 1060     | met <sup>+</sup>             |
| pol A101         | 1457       | 1458                          | thyA301 proC65 cysB125 purA202      | KMBL 1455     | met <sup>+</sup>             |
| ror A101         | 1464       | 1463                          | bio87 his108 endA101                | KMBL 1048     | thy <sup>+</sup>             |
| ror A101         | 1372       | -                             | thyA303 endoA                       | KMBL 1064     | thyA (aminopterin treatment) |
| ror A101         | 1374       | -                             | bio87 serA101 met120 ilvA106 his108 | KMBL 1305     | thy <sup>+</sup>             |
| ror A101         | 1377       | 1376                          | bio87 serA101 met120 his108 ilvA106 | KMBL 1374     | tsx, str <sup>r</sup>        |



| Radiation marker | Strain no. | "Isogenic" partner strain no. | Other markers                        | Parent strain | Marker Selected              |
|------------------|------------|-------------------------------|--------------------------------------|---------------|------------------------------|
| uvr A6           | 1052       | 1053                          | thyA301 galT101 endoA101             | KMBL 1028     | malB <sup>+</sup>            |
| uvr B506         | 1054       | 1056                          | thyA301 endA                         | KMBL 1022     | galT-101 <sup>+</sup>        |
| uvr B506         | 1055       | 1057                          | thyA301 serA101                      | KMBL 1021     | galT-101 <sup>+</sup>        |
| uvr B506         | 1062       | 1063                          | thyA301 metE72 endA101               | KMBL 1060     | bio <sup>+</sup>             |
| uvr D101         | 1465       | 1466                          | thyA301 bio87 endA101                | KMBL 1060     | met <sup>+</sup>             |
| uvr D101         | 1467       | 1468                          | thyA301 bio87 pheA97 endA101         | KMBL 1069     | met <sup>+</sup>             |
| uvr E502         | 1380       | -                             | thyA301 bio87 endoA101               | KMBL 1060     | met <sup>+</sup>             |
| uvr E507         | 1381       | -                             | thyA301 bio87 endoA101               | KMBL 1060     | met <sup>+</sup>             |
| uvr E507         | 1382       | -                             | thyA301 bio87 endoA101               | KMBL 1060     | met <sup>+</sup>             |
| uvr E508         | 1383       | -                             | thyA301 bio87 endoA101               | KMBL 1060     | met <sup>+</sup>             |
| uvr E509         | 1384       | -                             | thyA301 bio87 endoA101               | KMBL 1060     | met <sup>+</sup>             |
| uvr E502         | 1385       | -                             | thyA301 Bio87 metE116 endA101        | KMBL 1380     | metE                         |
| rec A36          | 1368       | 1367                          | thyA301 bio87 serA101                | KMBL 1045     | pheA <sup>+</sup>            |
| rec B21          | 1058       | 1059                          | endoA                                | KMBL 1022     | thy <sup>+</sup>             |
| rec B21          | 1371       | -                             | thyA302 bio87 endoA                  | KMBL 1066     | thyA (aminopterin treatment) |
| rec B21          | 1479       | 1480                          | thyA305 metE72 bio87 pheA97 endA101  | KMBL 1476     | arg <sup>+</sup>             |
| rec B21          | 1485       | 1486                          | argA103 metE116 bio87 pheA97 endA101 | KMBL 1476     | thy <sup>+</sup>             |

| Radiation marker | Strain no. | "Isogenic" partner strain no. | Other markers                          | Parent strain | Marker selected    |
|------------------|------------|-------------------------------|--|---------------|--------------------|
| ror A101         | 1483       | 1483                          | thyA305 metE72 bio87 pheA97<br>endA101 | KMBL 1476     | arg <sup>+</sup>   |
| ror A101         | 1489       | 1490                          | argA103 metE72 bio87 pheA97<br>endA101 | KMBL 1476     | thy <sup>+</sup>   |
| ror A101         | 1491       | 1491                          | thyA305 metE72 bio87 pheA97<br>endA101 | KMBL 1483     | (λ <sup>++</sup> ) |
| rep 3            | 1370       | 1369                          | thyA301 cysB125 proC65                 | KMBL 1451     | ilvA <sup>+</sup>  |

## PUBLICATIONS

SV40-transformation of Xeroderma pigmentosum cells.

Veldhuisen, G. and P.H. Pouwels

The Lancet, 1970, 529-530

Celhybridisatie, fusie van gekweekte cellen van zoogdieren en de mens.

Westerveld, A. en D. Bootsma

Natuur en Techniek, 39, 2-11, 1971

Cell cycle of multinucleate cells after cell fusion.

Westerveld, A. and Maria A. Freeke

Exp. Cell Research, 65, 140-144, 1971

Infection of spheroplasts of Pseudomonas with DNA of bacteriophage PM2.

Schans, G.P. van der, J.P. Weyermans and J.F. Bleichrodt

Mol. Gen. Genetics, 110, 263-271, 1971

Induction of mutations in bacteriophage  $\Phi$ X174 by ionizing radiation.

Bleichrodt, J.F., Mrs E.R. Berends-van Abkoude and Miss W. S. D. Verheij

Proc. Kon. Ned. Akademie Wetenschappen, Ser. C, 74, 172-182, 1971

On the degradation of DNA by heat.

Hoff, A. J.

Proc. Kon. Ned. Akademie Wetenschappen, Ser. C, 74, 167-171, 1971

The influence of oxygen on the E. S. R. spectrum of a radiosensitizing nitroxide.

Hoff, A. J. and R. Deen

Int. J. Radiat. Biol., 19, 499-501, 1971

De berekening van de specifieke activiteit van radioactief gemerkte nucleinezuren geïsoleerd uit "in vitro" gekweekte menselijke cellen.

Lohman, P.H.M. and M. Wijnans

Informatie, 6, 293-294, juni 1971

The decomposition of adenine by ionizing radiation.

Hemmen, J. J. van, and J. F. Bleichrodt

Radiation Res., 46, 444-456, 1971

Gene linkage in man and Chinese hamster studied in somatic cell hybrids.

Westerveld, A.

Thesis, Rotterdam, September 29, 1971

A class of UV-sensitive mutants of E. coli K12 that show a high spontaneous mutation frequency.

Mattern, Ina E.

First European Biophysics Congress, Baden, Austria, September 14-17, 1971

Eds. E. Broda, A. Locker and H. Springer-Lederer, Verlag der Wiener

Medizinische Akademie

Repair of DNA damaged by UV- and X-irradiation in cultivated normal human Xeroderma pigmentosum and Bloom cells;

Kleyer, W. J. and D. Bootsma

Ibid., p. 129-133

6-amino-8-hydroxy-7,8-dihydropurine: Radiation product of Adenine.

Hemmen, J. J. van

Nature, 231, 79-80, 1971

Properties of radiation sensitive mutants and repair in vitro (abstract).

Putte, P. van de

Int. Coll. on recent advances in molecular genetics,

Dubrovnik, Yugoslavia, September 27 - October 1, 1971

Evidence for linkage between glucose t-phosphate dehydrogenase and hypoxanthine-guanine-phospho-ribosyl transferase loci in Chinese hamster cells.

Westerveld, A., R. P. L. S. Visser and M. A. Freeke

Biochem. Genetics, 5, 591-599, 1971

Loss of human genetic markers in man-Chinese hamster somatic cell hybrids.

Westerveld, A., P. Meera Khan, R. P. L. S. Visser and D. Bootsma

Nature New Biology, 234, 20-24, 1971

Induction of mutations in bacteriophage  $\Phi$ X174 by ionizing radiation (abstract).

Bleichrodt, J. F.

Int. J. Radiat. Biol., 20, 184, 1971

Inactivation of biologically active DNA by radiation induced amino acid radicals (abstract).

Jong, J. de, H. Loman and Joh. Blok

Int. J. Radiat. Biol., 20, 191, 1971

"Repair", by sulphhydryl compounds of radicals from methionine and some other amino acids (abstract).

Hemmen, J. J. van, and G. E. Adams

Int. J. Radiat. Biol., 20, 190, 1971

In vitro excision-repair of ultraviolet-irradiated transforming *Bacillus subtilis* DNA.

Heijneker, H. L., H. Pannekoek, R. A. Oosterbaan, P. H. Pouwels, S. Bron, F. Arwert and G. Venema

Proc. Natl. Acad. Sci USA, 68, 2967-2971, 1971

De effecten van microgolffstraling.

Heering, H. and P. M. M. van Osch

Ned. Milit. Geneesk. Tijdschr., 24, 257-265, 1971

The isolation and characterization of an X-ray sensitive UV-resistant mutant of *Escherichia coli*.

Glickman, B. W., H. Zwenk, C. A. van Sluis and A. Rorsch

Biochim. Biophys. Acta, 254, 144-154, 1971

## IN THE PRESS

Radical oxidation mechanisms in cellular radiosensitisation. I. Electron transfer in the pulse radiolysis of aqueous nucleotide solutions.

Adams, G. E., C. L. Greenstock, J. J. van Hemmen and R. L. Willson  
Radiation Research

The repair of damage due to  $^{32}\text{P}$ -decay in  $\lambda$  by various radiation-sensitive strains of *E. coli* K12.

Glickman, B. W., K. J. Walker and A. Rörsch  
Mutation Research

The influence of 5-bromo-deoxyuridine on the induction of breaks in the deoxyribonucleic acid of cultivated human cells by X-irradiation and ultraviolet light.

Lohman, P. H. M., D. Bootsma and A. H. Hey  
Radiation Research

Evidence for linkage between human loci for 6-phospho-gluconate dehydrogenase and phosphoglucomutase 1 in man-Chinese hamster somatic cell hybrids

Westerveld, A. and P. Meera Khan  
Nature

X-linkage of human phosphoglycerate kinase confirmed in man-mouse and man-Chinese hamster somatic cell hybrids.

Meera Khan, P., A. Westerveld, K. H. Grzeschik, B. F. Deijis, O. M. Carson and M. Siniscalco  
Am. J. Human Genetics

Evidence for linkage between 3-phosphoglycerate kinase, hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase and glucose-6-phosphate dehydrogenase loci in Chinese hamster cells studied by using a relationship between gene multiplicity and enzyme activity.

Westerveld, A., R. P. L. S. Visser, M. A. Freeke and D. Bootsma  
Biochem. Genetics



PROGRESS REPORT ON THE RESEARCH ACTIVITIES PERFORMED  
UNDER CONTRACT 052-65-2 BIAN AT LEIDEN UNIVERSITY 1971.

(Laboratory for Physiological Chemistry, Laboratory for Applied  
Enzymology and Radiobiology)

In confirmation with the working programme 1970-1973, submitted  
and accepted in 1970, this report comprises the following sections:

1. Influence of radiation on the DNA of tumorigenic viruses.
2. Mutagenic properties of DNA polymerase.
3. Modification of DNA by specific methylation.

Besides studies in molecular radiation biology the institutes  
continued research on proteinbiosynthesis in bacterial and mammalian  
cells.

A progress report of these other activities is presented in annex I.

B.N. Bachra  
A.J. van der Eb  
W. Möller  
A. de Waard

## B

### Project No. 1

Title: Influence of radiation on the DNA of tumorigenic viruses.

Scientists: P.J. Abrahams, A.J. van der Eb, F.L. Graham, S.O. Warnaar.

Description of results:

#### a. The effect of radiation on the oncogenic potential of viruses.

In this project, the influence of UV-irradiation on the transforming ability of adenovirus type 1, is being investigated. The adenoviruses can be subdivided into two categories: the oncogenic types and the non-oncogenic types. The adenoviruses of both groups are able to transform cells morphologically in culture, but only cells transformed by the oncogenic types are transplantable in the isologous host. It has been shown by Dr. Van der Noordaa (University of Amsterdam) that rat cells, transformed by UV-irradiated adenovirus type 1, are transplantable, suggesting that the non-oncogenic adenovirus type 1 can be "converted" to an oncogenic virus by radiation. This phenomenon is being investigated further. Experiments will be carried out to determine whether the transplantable and the non-transplantable cells both contain the viral genome.

#### b. Replication of adenovirus DNA.

The replication mechanism of the DNA of adenovirus type 5 was investigated in productively infected KB cells, using pulse-labeling techniques and sedimentation analysis. Replicative intermediates of the viral DNA have been isolated, which are presently being characterized with the electron microscope.

#### c. Infectivity of adenovirus DNA.

Using the DEAE-dextran method the DNA of adenovirus type 5 has been shown to be infectious for KB cells. It was also demonstrated that BSC-1 monkey cells, infected with adeno 5, synthesize large quantities of infectious viral DNA, whereas only small amounts of infectious viral particles are formed. The possibility that infectious adeno 5 DNA can transform rat cells in culture is being investigated.



d. Repair of irradiated viral DNA in mammalian cells.

In order to obtain a better understanding of the repair mechanism of UV-damage in mammalian cells, an investigation was started on the kinetics of UV-inactivation of viral DNA in mammalian cells. It was suggested from earlier work that the infectivity of single-stranded polyoma virus DNA is much more sensitive towards UV-irradiation than that of double-stranded DNA. This result suggested that a process, similar to excision repair in bacteria, is operating in mouse cells (A.J. van der Eb, Thesis, Leiden 1968). Because polyoma host cells, defective in repair of UV-damage were not available, more information on the nature of the repair mechanism could not be obtained. Recently however, human cells with an increased UV-sensitivity have become available (from xeroderma pigmentosum patients). Therefore, a similar investigation has been started, using single- and double-stranded SV40 DNA and monkey and human cells as host cells.

e. Virus-specific RNA synthesis in SV40 infected cells.

In BSC-1 cells, infected by the tumorigenic SV40 virus, two homogeneous RNA species have been demonstrated, which probably represent the "early" and "late" SV40 RNA's. In addition, a virus-specific heterogeneous RNA fraction has been found, which has a considerably higher molecular weight than that which would be expected from transcription of the SV40 genome alone. There is evidence that these large RNA molecules are transcribed from host cell genes, and that the synthesis is induced by the infecting virus.

f. Temperature sensitive mutants of SV40.

Preparative work is being carried out for the isolation of temperature sensitive mutants of SV40. Using the cell fusion technique, a SV40 virus stock is being isolated from transformed mouse cells as a starting material.

## B

### Project No. 2

Title: Mutagenic DNA polymerase.

Scientists: F.A.J. de Vries, A. de Waard.

#### Description of results:

An analysis has been made of the type of replication errors made by a defective DNA polymerase induced by bacteriophage T4.

A suitable approach was found in studying the nature of base conversions in a known gene (specifying the structure of the phage head protein) by an altered DNA polymerase known to participate in the replication of bacteriophage T4 DNA. An amber mutant in the head protein was allowed to revert by the action of the mutagenic DNA polymerase. Sixty revertants were analysed with the following result: 38 had reverted through a transversion  $CG \rightarrow AT$  or  $CG \rightarrow GC$ ; 21 had reverted by undergoing a transition  $AT \rightarrow GC$  and one single revertant had occurred by  $AT \rightarrow CG$ . Base conversions of the middle symbol of the amber triplet were not detected. In an attempt to formulate rules for the specificity of the induced replication errors attention was given to the nature of the neighbouring bases. It was noted that a TA base pair with T on the sense strand was stable towards the mutagenic polymerase while a similar pair with A on the sense strand could undergo mutational changes.

**Project No. 3**

**Title:** Structural elucidation of a nucleotide sequence recognized by the restriction/modification system of E coli B.

**Scientists:** H. van Ormondt, A. de Waard.

**Description of results:**

In order to analyse specific nucleotide sequences a study was made of the fragments which are formed by the action of micrococcal DNase on the DNA of E coli and of bacteriophage fd. This analytical study served in the elucidation of some methylated oligonucleotides formed from fd DNA methylated in vitro by purified modification methylase of E coli B in the presence of [<sup>3</sup>H-methyl] adenosylmethionine. A number of methylated oligonucleotides was identified suggesting that the base sequence recognized by the modification enzyme contains the order A-meA-C. Preliminary results have suggested that this order represents the 3' terminal sequence of the recognition site; further studies are designed to establish whether the recognition site is a symmetrical sequence (hexa- or octanucleotide) residing on both strands of fd DNA.

PUBLICATIONS:

F.L. Graham and G.F. Whitmore

The effect of 1- $\beta$ -D-arabinofuranosylcytosine on growth, viability,  
and DNA synthesis of mouse L-cells.

Cancer Res. 30, 2627 (1970) .

J.M. Jordan, A.J. van der Eb and J. Vinograd

Complex forms of mitochondrial DNA in cells in culture.

Fed. Proc. 29, 725 (1970) .

R.A. Weinberg, S.O. Warnaar, E. Winocour

Isolation and characterization of SV40 RNA.

Submitted for publication.

F.A.J. de Vries, Ch.J.H. Swart-Idenburg and A. de Waard

An analysis of replication errors made by a defective T4 DNA polymerase.

J. Mol. Gen. Genetics, in press (1972) .

H. van Ormondt and J.W. Maagdenberg

Primary structure of micrococcal nuclease fragments of microbial DNA.

Biochim. Biophys. Acta, submitted for publication (1972) .

ANNEX I  
OTHER RESEARCH ACTIVITIES

Group: Dr. W. Möller, Drs. R. Amons, Dr. K. Kischka and Drs. C.P. Terhorst

1. Mechanism of translocation in protein biosynthesis

A general analogy between muscle contraction and translocation seems to exist. Both processes require the hydrolysis of nucleotide triphosphates (ATP or GTP), which trigger co-ordinated, relative displacements of distinct groups of macromolecules. Therefore it is interesting to have established in 50S ribosomes the presence of multiple copies of an acidic protein having the structural and functional properties of a contractile protein; this protein of molecular weight 12.000 is necessary for G-factor induced GTP cleavage and shows a remarkable analogy in structure with cilia, flagella and muscle proteins. In addition about half of these protein molecules is methylated at a specific lysine residue in the chain. This acidic protein occurs in the 50S ribosome in two closely related forms designated as A<sub>1</sub>- and A<sub>2</sub>-protein. The two forms differ only with respect to an additional acetyl group on the aminoterminal residue of the polypeptide chain of A<sub>1</sub>-protein. In conditions of logarithmic growth of the bacteria, the two types of protein occur in amounts corresponding to one copy of each per ribosome. However, in the late stationary phase, the ratio of A<sub>1</sub>- to A<sub>2</sub>-protein shifts in favour of the acetylated species which is much less active in the translocation GTPase assay system. This behaviour is consistent with a possible regulating mechanism for translocation in which a specific group of proteins is responsible for pulling the mRNA-peptidyl tRNA complex through the ribosome.

The primary structure of A<sub>1</sub>-protein is nearly completed in collaboration with Mrs. B. Wittmann-Liebold (Berlin) and Dr. R.A. Laursen (Boston). On the N-terminal site of the molecule, there is a large hydrophobic part which is mainly negatively charged, followed by a more positively charged section, which may constitute the  $\alpha$ -helical part of molecule.

2. Ribosomal RNA regions resistant against nuclease action are also protected against chemical modification by formaldehyde in the intact particle. This reinforces the idea that RNA fragments obtained by nuclease treatment of unfolded ribosomes represent the actual protein binding sites in situ.

Reductive methylation of single, 30S ribosomal proteins, bound specifically to 16S ribosomal RNA is used as a probe to characterize the RNA-protein binding sites in situ.

Publications:

1. K. Kisch, W. Möller and G. Stöffler  
Reconstitution of a GTPase activity by a 50S ribosomal protein from E.coli .  
Nature New Biology 233, 62 (1971) .
2. W. Möller and R.A. Garret  
"The ribonucleic acids of the bacterial ribosome".  
Advances in Protein Biosynthesis, chapter 6, Ed. E. McConkey, Marcel Dekker,  
Inc. New York 1971.
3. W. Möller, A. Groene, C.P. Terhorst and R. Amons  
50S Ribosomal proteins. Purification and partial characterization of two  
acidic proteins, A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub>, isolated from 50S ribosomes of E.coli .  
Eur. J. Biochem. 25, 5 (1972) .
4. C.P. Terhorst, Mrs. B. Wittmann-Liebold and W. Möller  
50S Ribosomal proteins. Peptide studies on two acidic proteins, A<sub>1</sub> and  
A<sub>2</sub>, isolated from 50S ribosomes of E.coli .  
Eur. J. Biochem. 25, 13 (1972) .
5. R. Amons and W. Möller  
On the mode of reaction of formaldehyde with ribosomes.  
Biochim. Biophys. Acta, in press (1972) .

## 1. Mechanism of collagen biosynthesis

1.1 The extraction and purification of collagen synthesized overnight by cultured fibroblasts were improved by using hot buffered SDS and gelchromatography. This procedure did not cause breakdown of the collagen to small peptides. The ratio of  $\beta$  and  $\alpha$  forms will be determined by gelchromatography and SDS polyacrylamide gelelectrophoresis of radioactive extracts. These techniques will be applied to normal and genetically deficient cells. Further attempts are being made to purify the collagen from the extracts by precipitation of the contaminating mucopolysaccharides and mucoproteins with cetyl pyridinium chloride.

## 1.2 Mechanism of cross-link formation

Partially purified lysine oxidase was prepared from embryonic chick cartilage and calf aorta and the radioactive substrates for this enzyme from embryonic chick cartilage and aorta.

An ultramicro assay for lysine and hydroxylysine derived aldehydes formed by the enzyme was adapted to the problem requirements.

In co-operation with the Laboratory of Organic Chemistry collagen-like peptides containing lysine will be tested as possible substrates in an attempt to obtain information on the specificity requirements of the enzyme and the possible bearing of this on genetic defects.

## 1.3 Messenger RNA for collagen

Further attempts were made to isolate and characterize mRNA for collagen from 3T6 mouse fibroblasts by methods recently developed for such work on the messenger of silk fibroin. Upon purification by repeated sucrose density fractionation and ethanol precipitation rapidly labeled RNA fractions were obtained which showed reproducible sedimentation characteristics and no breakdown on processing. The material showing the sedimentation rate of the messenger, however, had a DNA-like base composition. This may be due to contamination of the small amount of labeled collagen messenger present in this system with large amounts of other messengers, so that the expected high G + C content was not found.

In recent experiments freshly isolated fibroblasts from embryonic chick tendons are used which are known to synthesize collagen as over 50% of total protein synthesized.

## 2. Mechanism of tissue calcification

No experimental work was performed on this subject during 1971.

### Publications:

#### Ad 1 B.N. Bachra and D. Brouwer

Some aspects of the regulation of  $\alpha$ -chain synthesis during collagen biosynthesis in tissue culture.

Isr. J. Med. Sci. 7, 456 (1971) .

### In press:

B.N. Bachra

Calcification in vitro of demineralized bone matrix.

Electronmicroscopic and chemical aspects.

Calc. Tissue Res. (1972) .

B.N. Bachra

Nucleation in biological systems, chapter in:

I. Zipkin (Ed.), Biological Mineralization, Wiley, New York (1972) .

B.N. Bachra and G.A. van der Meulen-van Harskamp

The effect of tetracycline and oxytetracycline on the formation of biological apatite.

Calc. Tissue Res. (1972) .



Contrat

EURATOM - UNIVERSITE LIBRE DE BRUXELLES

007-61-10 BIAB

Projet n° 1.

EFFETS PRIMAIRES DES RAYONNEMENTS SUR LES ACIDES NUCLEIQUES

A. Bertinchamps, S. Gregoli, M. Olast, M. De Vré.

Nous avons montré au cours de travaux précédents, que dans les complexes de nucléotides et dans l'ADN, les radicaux libres induits par irradiation gamma migrent, à la faveur de l'empilement, des bases puriques vers les bases pyrimidiques. Ces dernières représentent donc les points de convergence du dommage radiologique et la première continuation logique de notre travail a consisté à étudier comment ce dommage se partage entre ces points de convergence : dTMP et dCMP. Nous avons ainsi montré que, parmi les divers radicaux induits sur dTMP, seul le radical d'addition hydrogène peut être transféré sur dCMP.

Suivant ce mécanisme, le spectre EPR de l'ADN devrait consister uniquement en la superposition de composantes pyrimidiques. Inversement, à partir de composantes pyrimidiques seulement, il devrait être possible de reconstruire le spectre de l'ADN. Dans le but de démontrer cette hypothèse, nous nous sommes d'abord efforcés d'isoler les composantes des spectres de dTMP et de dCMP. Tandis que le spectre de dCMP se comporte comme une seule entité, le spectre de dTMP consiste en la superposition de trois composantes que nous avons appelées  $\bar{C}_1$ ,  $\bar{C}_2$  et  $\bar{C}_3$ . Ces diverses composantes furent isolées en soumettant d'abord les dérivés pyrimidiques à des changements systématiques de la dose d'irradiation, de la puissance microonde, de la durée entre l'irradiation et la mesure et du pH de la solution avant lyophilisation. Cette manière de procéder visait à favoriser sélectivement certains radicaux par rapport aux autres. Un traitement mathématique nous a ensuite permis à partir de ces données expérimentales d'obtenir séparément chaque composante spectrale.

Pour démontrer que les composantes pyrimidiques sont effectivement les seuls éléments constitutifs du spectre de l'ADN, nous avons ensuite, après normalisation, effectué au calculateur un grand nombre de combinaisons linéaires de ces composantes suivant la formule :

$$\Delta = h_1\bar{C}_1 + h_2\bar{C}_2 + h_3\bar{C}_3 + kC,$$

la valeur des coefficients  $h_1$ ,  $h_2$ ,  $h_3$  et  $k$  passant progressivement de 0 à 100 par intervalles de 5 et en respectant la condition  $h_1 + h_2 + h_3 + k = 100$ . Les 1.807 combinaisons possibles furent ainsi effectuées et constituent un atlas de spectres reconstruits qui consistent donc tous en la superposition pondérée des mêmes composantes pyrimidiques. D'après notre hypothèse de départ, il devrait être possible pour n'importe quel spectre expérimental d'ADN, de trouver un spectre reconstruit correspondant. De nombreux spectres d'ADN obtenus par nous dans des conditions expérimentales diverses ou recueillis dans la littérature furent soumis avec succès à ce test. Le pourcentage des quatre composantes spectrales peut être ainsi obtenu par simple comparaison. La concentration relative des radicaux pyrimidiques peut en être déduite par un calcul simple. Cet atlas doit donc permettre d'identifier les diverses populations radicalaires qui sont induites dans l'ADN par irradiation. Ces populations présentent une grande variabilité selon une série de paramètres expérimentaux qui sont maintenant à l'étude.

#### Publications.

Free Radical Distribution in gamma-irradiated DNA.

S. GREGOLI et A. BERTINCHAMPS.

Accepté pour publication dans : Int. J. Radiat. Biol.

Computer Analysis and Reconstruction of ESR spectra of gamma-irradiated DNA.

S. GREGOLI et A. BERTINCHAMPS.

Accepté pour publication dans : Int. J. Radiat. Biol.

Computed DNA spectra.

An Atlas of ESR spectra of gamma-irradiated DNA.

S. GREGOLI, R. MEELHUYSEN et A. BERTINCHAMPS.

Edité par la Commission des Communautés européennes.

A Distribution scheme for radiation damage in DNA.

S. GREGOLI, M. OLAST et A. BERTINCHAMPS.

dans "Magnetic Resonances in Biological Research".

Edité par Cafiero Franconi, Gordon and Breach Pub. 1971.

#### Communications.

The EPR spectrum of DNA after gamma irradiation.

A. BERTINCHAMPS et S. GREGOLI.

First European Biophysics Congress

1971, Baden - Vienna, Austria.

Free Radicals Distribution in gamma-irradiated DNA.

S. GREGOLI et A. BERTINCHAMPS.

8th Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology.

Basko Polje, Yougoslavia, 1971.



Rapport d'activité 1971

Réparation du DNA de phage  $\lambda$  irradié aux rayons  $\gamma$  par les divers systèmes de la bactérie et du phage\*

(B.S. Srivastava et G. Maenhaut-Michel)

Nous avons établi que les fonctions recA et d'avantage la fonction uvr participent à la réparation du DNA de bactériophage  $\lambda$  quand le virus est irradié aux rayons  $\gamma$  dans des milieux protecteurs (bouillon, histidine 0.02 M), alors qu'elles interviennent relativement peu lorsqu'il s'agit de milieu tamponné. Ceci pourrait résulter d'une différence dans la nature ou dans la quantité relative des diverses lésions induites dans les différents milieux. Par contre, la fonction red du phage intervient plus efficacement que la fonction bactérienne rec, quel que soit le milieu d'irradiation, mais surtout si le phage est protégé.

Contrairement à ce qui avait été trouvé pour l'irradiation UV, les systèmes uvr et rec ne fonctionnent pas de manière coopérative et, d'une manière générale, les systèmes de réparation bactériens sont plutôt moins efficaces dans le cas des phages irradiés aux  $\gamma$ <sup>1</sup>.

Protection par la proflavine du bactériophage  $\lambda$  ou de son DNA\*

(G. Maenhaut-Michel)

La proflavine (PF) protège efficacement le pouvoir infectieux du bactériophage  $\lambda$  ou de son DNA, irradiés par les rayons  $\gamma$  dans un milieu tamponné ou dans un bouillon de culture (celui-ci diminuant considérablement les effets indirects ; le facteur de réduction de la  $D_{37}$  des phages ou du DNA en absence de PF quand ils sont irradiés en tampon ou en bouillon est d'environ 0,7 à 0,6). La radioprotection est totale jusqu'aux doses de 40 krad pour un rapport PF/nucléotide de 50 : 1. Il est vraisemblable que, dans les conditions utilisées, la PF agit à la fois comme piège de radicaux diffusibles (PF libre), comme stabilisateur macromoléculaire (PF fixée extérieurement au DNA), comme protecteur contre les effets directs (PF intercalée dans le DNA)<sup>2</sup>.

\* Programme du Contrat Euratom-ULB

\*\* Programme du Contrat Etat Belge - ULB

Mécanismes de l'U.V. réactivation et de la mutagénèse du bactériophage  $\lambda$ \*  
(P. Caillet-Fauquet et M. Defais)

Les fonctions de recombinaison bactérienne (recA mais pas le gène recB) et la fonction lex (ou exr) sont indispensables pour l'UV réactivation d'un phage lui-même irradié aux UV (survie accrue lorsque la bactérie hôte est irradiée), pour l'UV mutagénèse et également pour l'induction du prophage.<sup>3</sup> Ces mêmes fonctions interviennent également dans la réparation des lésions provoquées par les radiations ionisantes ; mais dans ce dernier cas, les lésions sont plus complexes et moins bien définies, c'est pourquoi il est logique de commencer par les UV. Les dimères de pyrimidines formés dans le DNA de la bactérie (dont une proportion importante peut être éliminée par la lumière visible après des temps variables après l'infection) induisent chez cette dernière un mécanisme sensible au chloramphénicol, donc probablement une synthèse protéique nécessaire à l'UV réactivation et vraisemblablement aussi à l'UV mutagénèse et à l'induction du phage. Le mécanisme d'UV réactivation pourrait constituer un 3ème mécanisme de réparation à côté des systèmes d'"excision - resynthèse" et de recombinaison ; il serait contrôlé par recA mais indépendant du système de réparation par recombinaison puisque l'exonucléase ATP dépendante nécessaire à ce dernier n'est pas nécessaire (UV réactivation normale chez les bactéries recB).<sup>4</sup> La polymérase I nécessaire pour la resynthèse du DNA après excision de dimères (ou pour la réparation des ruptures de chaînes provoquées par les rayons X) ne semble pas indispensable pour l'UV réactivation ni pour l'UV mutagénèse, contrairement aux résultats obtenus par d'autres. La contradiction résulte du fait qu'aux fortes doses utilisées par ces auteurs les phages irradiés se développent moins efficacement, ce qui masque les deux phénomènes<sup>5</sup>.

## Réplication et transcription du DNA de phage $\lambda$ <sup>\*,\*\*</sup>

(M.F. Bourguignon-Van Horen, N. Henry-Van der Loo et J. Mercenier-Leys)

Si les grandes lignes des mécanismes de réplication et de transcription du DNA de phage  $\lambda$  sont connues du point de vue génétique, il reste beaucoup d'inconnues du côté de l'analyse biochimique, tant des mécanismes enzymatiques que de leur régulation. Nous étudions, à température relativement basse, la cinétique d'attachement du DNA de  $\lambda$  à la membrane bactérienne où il se réplique et la configuration de la molécule (ce qui a nécessité de longues mises au point techniques). A 25°, la réplication débute vers 40 minutes après l'infection, alors que dans les conditions généralement utilisées (42°), elle débute dès la 5ème minute. D'après la proportion de DNA retrouvé sous forme circulaire fermée par liens covalents (forme I) et ouverte (au moins une cassure dans l'une des deux hélices, forme II), il est vraisemblable que c'est dans cette dernière configuration que se fait la réplication. La cinétique de la formation des RNA messagers précoces et tardifs de  $\lambda$  est actuellement bien connue aux températures de croissance habituelles<sup>6,7</sup>. Le même type d'analyse (hybridation moléculaire des mRNA sur l'une ou l'autre fibre du DNA, moitié gauche ou droite du DNA, etc...) permet d'aborder l'étude de la transcription des différents gènes précoces (régulation :  $c_{II}$   $c_{III}$  cro, N, Q) en fonction de la structure moléculaire du DNA et de son attachement à la membrane cellulaire, de manière notamment à préciser le rôle du produit du gène N. Les relations entre les produits de N de  $\lambda$ , 21hy et 21 sauvage seront également étudiées. Les premiers résultats indiquent que, à 25°, déjà avant que le DNA ne commence à se répliquer, apparaissent des mRNA de type tardif, qui ne deviennent, dans les conditions expérimentales normales, décelables qu'après la réplication du DNA. Il faut donc supposer que le ralentissement à basse température atteint à des degrés différents la réplication et la transcription. Nous pensons que ce type d'analyse peut conduire à mieux comprendre non seulement les mécanismes de réplication et de transcription, mais éventuellement ceux de réparation dont la régulation est vraisemblablement étroitement coordonnée avec celle de la réplication<sup>8</sup>.

## Mécanismes de réparation dans les cellules de mammifères<sup>\*,\*\*</sup>

(J. Rommelaere, M. Brunfaut, M. Suskind, A. Miller-Faurès)

Au cours des cycles de multiplication cellulaire, le DNA

- a) se réplique
- b) subit des dommages qui sont corrigés par des mécanismes de réparation, ce qui assure la stabilité de son information
- c) est le siège de mutations, sources de l'évolution.

Ces deux derniers aspects constituent le cadre de notre travail. Les travaux réalisés sur les microorganismes semblent indiquer que le mécanisme de recombinaison joue un rôle essentiel, et pour la réparation, et pour la mutagénèse ; aussi, nous sommes-nous attachés à l'essai de détection de recombinaisons somatiques dans des cultures établies de cellules de hamster chinois.

1) Des expériences biochimiques en gradients de CsCl (réplication réparatrice ou "repair replication") et cytologiques par autoradiographie (synthèse de DNA déphasée ou "unscheduled DNA synthesis") ont permis de quantifier le niveau de réparations par excision chez le hamster : ce type de réparation y est particulièrement réduit, sauf après substitution du DNA à la bromodeoxyuridine avant l'irradiation, ce qui y induit des ruptures de chaînes comparables à celles produites par les radiations ionisantes.

2) La comparaison des courbes de survie des cellules diploïdes et des syncaryons sub-tétraploïdes, provenant de leur fusion, éventuellement en présence de caféine, indique cependant que ces cellules possèdent un mécanisme de réparation inhibé par la caféine, agissant surtout aux faibles doses et dont l'efficacité semble accrue par la polyploïdie, ce qui suggère qu'il pourrait s'agir d'un mécanisme de réparation du type recombinaison.<sup>11</sup>

3) Nous avons cherché à déceler l'existence de recombinaisons somatiques et avons abordé l'étude de l'effet des rayons UV sur leur fréquence ;

- a. au niveau cytotologique, par autoradiographie : nous avons observé un accroissement en fonction de la dose d'UV de la fréquence d'échanges



entre chromatides (cellules diploïdes-simple marquage) et chromosomes (cellules tétraploïdes-double marquage). Ceci suggère qu'il existe une analogie entre échanges et recombinaisons et que ces recombinaisons sont induites par les sites lésés du DNA.<sup>9,10</sup> Nous essayons de mieux localiser les régions échangées en utilisant des techniques d'isolement, de séparation et de déroulement partiel des chromosomes.

b. au niveau moléculaire :

-approche biochimique : l'analyse en gradients de densité, du DNA extrait de syncaryons obtenus par fusion entre une population cellulaire légère et une population dont le DNA a été alourdi par incorporation de bromodeoxyuridine, a permis la détection de molécules de DNA de densité intermédiaire ; les UV accroîtraient ce phénomène<sup>8,9</sup>;

-approche autoradiographique : l'examen au microscope optique du DNA extrait de syncaryons issus de deux populations parentales marquées différemment est en cours (technique de Cairns).

Etude des relations entre mutagénèse et réparation dans les cellules de mammifères<sup>\*\*</sup> (M. Brunfaut, M. Susskind)

- Caractérisation de lignées cellulaires radiosensibles
- Synchronisation des cellules par des procédés physiologiques (déblocage de l'inhibition de contact) en vue d'étudier au cours du cycle cellulaire la coordination éventuelle de la réparation et de la mutagénèse.

## Etude conformationnelle d'un dipeptide (M. Meert)\*\*

Lors de l'étude de la variation des formes de raies du spectre de R.M.N. de la di-alanine en fonction de la température, nous avons pu mettre en évidence l'échange entre différents états conformationnels pour le proton  $H_{\alpha}$ . L'élargissement des raies que nous avons observé vers les températures comprises entre  $-110^{\circ}\text{C}$  et  $-155^{\circ}\text{C}$  indiquait clairement un ralentissement de la vitesse d'échange. Vers  $-150^{\circ}\text{C}$ , nous observons une variation du "chemical shift" assez importante qui semble indiquer que nous approchons de la température de coalescence.

Cependant, la résolution des spectres dans ce travail est insuffisante, de sorte que les résultats obtenus doivent être considérés comme une estimation de l'ordre de grandeur des barrières de rotation autour des liens  $C_{\alpha}-C'$  et  $N-C_{\alpha}$ . Nous nous sommes donc intéressés à améliorer cette résolution. Nous avons fait un essai en utilisant le complexe tris (dipivalomethanato) Europium qui interagit magnétiquement avec les protons et produit des shifts importants de ceux-ci donnant au spectre résultant l'apparence d'un spectre beaucoup plus résolu. C'est, en effet, ce que nous avons observé sur un mélange de di-alanine et de tris (DPM) Eu, mais en faisant des mesures à basses températures, la superposition des deux cinétiques (rotations autour des liens  $C_{\alpha}-C'$  et  $N-C_{\alpha}$  et complexation des molécules de di-alanine et du tris (DPM)<sub>2</sub>Eu) rend le spectre trop confus.

Les résultats, à température ordinaire, sont encourageants et nous avons voulu voir si ce mélange : molécule à étudier + tris (DPM)Eu peut être utilisé pour étudier des problèmes d'échange, à condition de rester à des températures plus élevées.

Nous avons donc pris une substance modèle, la diméthyl-acétamide  $(\text{CH}_3)_2\text{NCO}(\text{CH}_3)$  dont la barrière a été mesurée par de nombreux auteurs en utilisant la méthode de la R.M.N. Ici aussi, nous avons une superposition de deux cinétiques, mais en faisant des extrapolations qui nous semblaient justifiées, nous avons pu mesurer la variation de la vitesse d'échange en fonction de la température en se basant sur la largeur de raies à basse température et en utilisant la méthode par

moindre carré aux températures proches de la coalescence ou supérieures.  
Nous avons ainsi obtenu une droite d'Arrhenius par régression qui nous donnait une énergie d'activation.

$$\begin{aligned} E_a &= 19,969 \quad \pm 0,295 \text{ kcal/mole} \\ \Delta G &= 17,866 \quad \pm 0,054 \text{ kcal/mole} \\ \Delta H &= 19,427 \quad \pm 0,295 \text{ kcal/mole} \\ \Delta S &= 5,714 \quad \pm 0,885 \text{ kcal/mole} \end{aligned}$$

Ces valeurs sont très voisines de celles obtenues par les différents auteurs, sauf la différence d'entropie  $\Delta S$  qui est un peu trop élevée.

Ces résultats indiquent donc qu'on peut dans certains cas utiliser un mélange de ce type pour l'étude des barrières de rotation.

- 1) B.S. SRIVASTAVA et G. MAENHAUT-MICHEL,  
communication au 8th Annual Meeting of the European Society for  
Radiation Biology, Basko Polje (Yougoslavie) septembre 1971  
Inactivation of bacteriophage  $\lambda$  irradiated to  $\gamma$ -rays
- 2) G. MAENHAUT-MICHEL  
communication au 8th Annual Meeting of the European Society for  
Radiation Biology, Basko Polje (Yougoslavie) septembre 1971  
Protection of proflavine on  $\gamma$  irradiated  $\lambda$  phage DNA
- 3) M. DEFAIS, P. FAUQUET, M. RADMAN et M. ERRERA  
Ultraviolet reactivation and ultraviolet mutagenesis of  $\lambda$  in  
different genetic systems  
Virology 43, 495-503 (1971)
- 4) P. CAILLET-FAUQUET et M. DEFAIS  
communication au 8th Annual Meeting of the European Society for  
Radiation Biology , Basko Polje (Yougoslavie) septembre 1971  
et au Research Workshop "Repair and Radiosensitivity" de l'Euratom,  
Ispra, avril 1971  
UV-reactivation and mutagenesis of  $\lambda$  phage
- 5) P. CAILLET-FAUQUET et M. DEFAIS  
UV reactivation of  $\lambda$  phage in a polA mutant of E.coli  
Mutation Research (soumis à)
- 6) KOURILSKY, P., BOURGUIGNON, M.F., BOUQUET, M. et F. GROS  
Early transcription controls after induction of prophage  $\lambda$   
Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 35, 305-313 (1970)
- 7) KOURILSKY, P., BOURGUIGNON, M.F. et F. GROS  
Kinetics of viral transcription after induction of prophage  
"The bacteriophage  $\lambda$ " ed. Hershey pp 647-665 (1971)
- 8) J. ROMMELAERE, M. BRUNFAUT, C. CRIFO et M. ERRERA  
Essai de mise en évidence de recombinaisons somatiques dans les cellules  
de mammifères  
Arch. Internat. Physiol. Bioch., 79, 427-428 (1971)

- 9) J. ROMMELAERE  
communication faite au Research Workshop "Repair and radiosensitivity"  
de l'Euratom à Ispra, avril 1971  
Genome interactions in syncaryons
- 10) J. ROMMELAERE, M. SUSSKIND et M. ERRERA  
Chromosome and Chromatid Exchanges in Chinese Hamster Cells  
soumis à Chromosoma
- 11) J. ROMMELAERE et M. ERRERA  
The effect of caffeine on the survival of UV-irradiated diploid  
and tetraploid chinese hamster cells  
soumis à Int. J. Radiation Biology

PRINCIPAUX DEPLACEMENTS, CONGRES, CONFERENCES, COLLOQUES ...

M. Errera a participé :

- au Research Workshop "Repair and Radiosensitivity" de l'Euratom à Ispra
- à la 8th Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology à Basko Polje (Yougoslavie) (présentation d'un rapport et direction d'une journée de discussions "repair and mutagenesis")
- au colloque "Recent advances in Molecular Genetics" de Dubrovnik (présentation d'un rapport et présidence d'une séance)

Il a, comme EMBD lecturer, donné deux conférences aux Universités de Belgrade et Zagreb ; il a également donné une conférence aux Journées Médicales de Bruxelles et un séminaire à l'Institut Suisse de Recherches Expérimentales sur le Cancer de Lausanne (département de Biologie Moléculaire).

Il a participé aux travaux du Comité Consultatif de l'Euratom en matière de gestion de programmes "Biologie-Protection Sanitaire", ainsi qu'à ceux du groupe "repair and radiosensitivity", également de l'Euratom.

M. Brunfaut a assisté au 1er Colloque International sur la Différenciation Cellulaire à Nice.

J. Rommelaere a participé à la Third Harden Conference on Cell Nucleus à Ashford (Grande-Bretagne).

M. Defais, P. Caillet-Fauquet, M. Brunfaut, J. Rommelaere et B.S. Srivastava ont assisté au Research Workshop "Repair and Radiosensitivity" de l'Euratom à Ispra (présentation de communications).

G. Maenhaut-Michel, M. Defais, P. Caillet-Fauquet et B.S. Srivastava ont assisté à la 8th Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology à Basko Polje (présentation de plusieurs communications).

G. Maenhaut-Michel, M. Defais, P. Caillet-Fauquet, B.S. Srivastava, M. Brunfaut et J. Rommelaere ont assisté au colloque "Recent advances in Molecular Genetics" à Dubrovnik.

M.F. Bourguignon-Van Horen et N. Henry-Van der Loo ont assisté à la FEBS Summer School "Transcription of the gene : biochemistry and genetics" à Hintermoos (Autriche).

RAPPORT D'ACTIVITE POUR L'ANNEE 1971 - CONTRAT EURATOM-ULB

a) Rôle des facteurs génétiques dans la mutagénèse spontanée et induite  
(Dr. I. Pietrzykowska)

Mme Pietrzykowska a étudié le rôle de la fonction virale red (responsable de la recombinaison générale) et des fonctions bactériennes rec (recombinaison générale) et lex dans la mutagénèse spontanée et induite par différents agents physiques (rayons X et ultraviolets) et chimiques.

Le résultat de loin le plus important est, sans aucun doute, la démonstration de ce que la mutagénèse induite par la 5-bromouracile requiert l'intervention des mécanismes de recombinaison. On attribuait jusqu'ici la mutagénèse induite par les analogues de bases à des erreurs d'appariement des bases lors de la réplication du DNA. Le fait que l'effet mutagène de ces substances disparaisse pratiquement en l'absence de mécanisme de recombinaison fonctionnel est extrêmement difficile à concilier avec l'interprétation classique ; il rapproche, par contre, singulièrement la situation de celle de la mutagénèse induite par les radiations. L'hypothèse de travail est que la 5-bromouracile incorporée dans le DNA introduit des distorsions locales qui sont reconnues, au même titre que, par exemple, les dimères de pyrimidines, par l'appareillage cellulaire de radioprotection. Les lésions introduites dans la molécule de DNA lors de l'excision des segments indésirables, sont ensuite réparées, soit par le mécanisme qui ne commet pas d'erreurs, soit par recombinaison - processus dont on sait qu'il est mutagène.

Si cette hypothèse de travail est correcte, on doit s'attendre à ce que la 5-bromouracile accroisse la fréquence de recombinaison ; Mme Pietrzykowska a montré clairement que c'était bien le cas.

(I. Pietrzykowska, communications à la 8th Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology (Basko Polje, 1971) et au Colloque International "Recent advances in Molecular Genetics (Dubrovnik, 1971) ).

b) Facteurs génétiques de la dégradation du DNA viral dans les bactéries  
(J. De Lafonteyne)

Le DNA des bactériophages lambdaïdes contient l'information nécessaire à la synthèse d'un système de recombinaison autonome (gènes red), et de facteurs qui interagissent avec le système de recombinaison bactérien (en particulier, gène  $\chi$ ). La délétion de cette région du chromosome donne des phages viables, mais incapables de pousser sur les souches bactériennes  $rec_A^-$ . On sait que cette anomalie est liée à l'activité des gènes  $rec_B^+$  et  $rec_C^+$  de la bactérie, car les mutants viraux dont il vient d'être question poussent sur les doubles mutants  $rec_A^- rec_B^+$  ou  $rec_A^- rec_C^+$ .

De Lafonteyne a comparé la dégradation du DNA de phage  $\lambda$  normal et de différents mutants (de délétion ou ponctuels) après infection de souches bactériennes normales ou portant l'une des mutations  $rec_A^-$ ,  $rec_B^-$ ,  $rec_C^-$ . Le DNA des mutants  $red^- \chi^-$  (et les mutants de délétion privés de la région correspondante) est efficacement dégradé dans les souches  $rec_A^-$ , moins dans les souches normales, nullement dans les souches  $rec_B^-$  ou  $rec_C^-$ . Cette dégradation est évitée si la bactérie est infectée simultanément (ou, de préférence, antérieurement) par un phage  $\chi^+$ . Il paraît clair que le DNA viral est dégradé par la nucléase codée par les gènes  $rec_B^+$  et  $rec_C^+$ . Le produit de gène viral  $\chi$  et, dans une moindre mesure, celui du gène bactérien  $rec_A^+$ , interfèrent avec cette dégradation (J. De Lafonteyne, Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie de l'Etat, mémoire de licence spéciale en biologie moléculaire, Bruxelles 1972; manuscrit détaillé en préparation).

c) Rôles de l'immunité et des facteurs de régulation positive dans l'induction et le développement de provirus.

Approche génétique (Dambly, Couturier, Szpirer et Thomas) :

Les recherches menées au laboratoire au cours des années précédentes ont établi l'existence de mécanismes séquentiels de contrôle positif de l'expression des gènes lors du développement lytique des bactériophages tempérés. Les points suivants ont été établis depuis :



- Le régulateur positif N (une protéine codée par le virus) agit par interaction avec la subunité  $\beta$  de la RNA polymérase bactérienne (Ghysen et Pironio, J. Mol. Biol. sous presse).
- Le régulateur positif N lève spécifiquement une barrière de transcription localisée entre les gènes P (codant pour l'un des enzymes de réplication) et le gène Q (codant pour la protéine régulatrice de la transcription des fonctions tardives) (Spirer, Molec. Gen. Genetics, sous presse).
- La transcription de l'opéron des fonctions tardives peut se faire par deux mécanismes distincts :
  - l'un (majeur) est une activation de la transcription, à partir d'un promoteur localisé entre le gène Q et le premier gène tardif, S ; cette activation est réalisée par la protéine produite par le gène Q;
  - l'autre (mineur) n'est qu'une prolongation au-delà du gène Q de la transcription initiée dans la région responsable de l'immunité. Ces deux mécanismes sont régis par des mécanismes de contrôle entièrement distincts (Couturier et Dambly, Molec. Gen. Genetics, 113, 244-250, 1971).

Approche biochimique (Lecocq, Ghysen et Pironio) :

Lecocq s'est attaché à la détermination des fonctions des différentes sous-unités de la RNA polymérase du colibacille. Il a pu montrer que la subunité  $\beta'$  est impliquée dans la fixation au DNA (Lecocq, FEBS Letters, 16, 213-215, 1971). Il a isolé de nombreux mutants (résistants à la rifampicine, ou à la streptolydigne, ou encore, thermosensibles) affectant la subunité  $\beta$  de la RNA polymérase. L'étude in vitro de la sensibilité de la polymérase aux antibiotiques ou à la température a permis de montrer que, chez ces mutants, ce n'est plus l'attachement au DNA, mais bien l'attachement des nucléosides triphosphates qui est affecté.

Les effets de l'infection par des bactériophages tempérés sur le système de transcription est à l'étude (voir aussi à ce sujet le travail de Ghysen et Pironio, J. Mol. Biol. sous presse).

Approche logique :

Nous nous intéressons actuellement à la structure générale des systèmes complexes de régulation envisagés comme des circuits logiques (voir, par ex. Thomas : Current Topics in Microbiology and Immunology, 56, 14-39, 1971, et le chapitre "Control circuits" dans l'ouvrage "The bacteriophage  $\lambda$ " Hershey ed., 1971).

Cette approche se développe en collaboration étroite avec le laboratoire du Prof. Florinne (Faculté des Sciences Appliquées). Un travail de fin d'études (Monsieur Van Cauwenbergh) actuellement mené en parallèle dans les deux laboratoires vise à la simulation des mécanismes de régulation du bactériophage  $\lambda$ .

d) Etude des mécanismes d'intégration, d'excision et d'induction du bactériophage "mutateur"  $\mu$  (Toussaint et Faelen)

L'étude du bactériophage  $\mu$ , et, en particulier, de son mécanisme de recombinaison hétérodoxe, a été menée très activement par A. Toussaint et M. Faelen, en collaboration avec M. Howe (du laboratoire du Dr. Signer à Cambridge, Massachusetts) et A.I. Bukhari (du laboratoire de Cold Spring Harbor). L'isolement de nombreux mutants amber de ce bactériophage et de souches bactériennes lysogènes affectées par des délétions pénétrant plus ou moins profondément dans le prophage, ont permis l'identification de la plupart des gènes essentiels du virus et l'établissement de la carte génétique du prophage. L'insertion du virus en différents points du chromosome bactérien donne lieu à des cartes génétiques identiques plutôt que permutées : le prophage  $\mu$  s'insère donc en différents sites du chromosome de son hôte, mais par le même site de son propre génome (Toussaint et Faelen, en préparation).

D'autre part, le phage  $\mu$  peut aider un autre bactériophage, incapable de s'intégrer par lui-même (par exemple, un  $\lambda$ , défectif) à s'intégrer dans le génome bactérien (Faelen, Toussaint et Couturier, Molec. Gen. Genetics, 113, 367-370, 1971). Il semble que l'on pourra ainsi intégrer le bactériophage  $\lambda$  en tout point désiré du chromosome bactérien.

Le prophage  $\mu$  était connu comme un phage non-inductible par les radiations. A. Toussaint a réussi à intégrer ce prophage en différents sites du prophage  $\mu$  ; dans ces conditions, la levée de l'immunité du prophage  $\lambda$  par irradiation a pour résultat, surprenant mais parfaitement reproductible, la production d'un haut rendement de phage  $\mu$ . Ce phénomène est à l'étude.

Liste des publications sorties au cours de l'année écoulée ou  
actuellement sous presse

- Herzog, A., Ghysen, A. et Bollen, A.  
Molec. Gen. Genetics, 110, 211-217 (1971)  
Characterization of a nonsense mutation affecting the activity of the dissociation factor of E. coli ribosomes
- Lefèbvre, N. et Toussaint, A.  
J. Virol., 7, 281-288 (1971)  
Polar mutations in the left arm of bacteriophage  $\lambda$  i434
- De Lafonteyne, J.  
Arch. Internat. Physiol. Bioch., 79, 629-630 (1971)  
Breakdown of bacteriophage  $\lambda$  DNA in E. coli K12 rec<sup>-</sup> bacteria
- Herzog, A., Ghysen, A. et Bollen, A.  
Arch. Internat. Physiol. Bioch., 79, 632-633 (1971)  
Corrélation entre l'action de la streptomycine et les propriétés du ribosome
- Bollen, A. et Herzog, A.  
Arch. Internat. Physiol. Bioch., 79, 620-621 (1971)  
Caractérisation d'une substitution d'acide aminé entraînant la résistance à la spectinomycine chez E. coli
- Herzog, A., Ghysen, A. et Bollen, A.  
FEBS Letters, 15, 291-294 (1971)  
Sensitivity and resistance to streptomycin in relation with factor-mediated dissociation of ribosomes
- Lecocq, J.P.  
FEBS Letters, 16, 213-215 (1971)  
Differential action of trypsin on the  $\beta$  subunit of DNA-dependent RNA polymerase from E. coli

- Thomas, R.  
Current Topics in Microbiology and Immunology, 56, 14-39 (1971)  
Regulation of gene expression in bacteriophage  $\lambda$
- Herzog, A. et Bollen, A.  
FEBS Letters, 17, 21-22 (1971)  
Characterization of an amino-acid substitution leading to spectinomycin resistance in E.coli
- Thomas, R.  
"The bacteriophage  $\lambda$ " A.D. Hershey, ed. Cold Spring Harbor Lab.  
Control circuits, chapter 10, 211-220 (1971)
- Dambly, C. et Couturier, M.  
Molec. Gen. Genetics, 113, 244-250 (1971)  
A minor Q-dependent pathway for the expression of the late genes in bacteriophage  $\lambda$
- Faelen, M., Toussaint, A. et Couturier, M.  
Molec. Gen. Genetics, 113, 367-370 (1971)  
Mu-1 promoted integration of a  $\lambda$ -gal phage in the chromosome of E.coli
- Szpirer, J.  
Le contrôle du développement des bactériophages tempérés  
IV. Action spécifique du produit N au niveau d'une barrière de transcription  
Molec. Gen. Genetics (sous presse)
- Ghysen, A. et Pironio, M.  
Relationship between the N function of bacteriophage  $\lambda$  and host RNA polymerase  
J. Mol. Biol. (sous presse)

## Collaborations

Les recherches de l'année écoulée ont été menées en collaboration avec diverses autres institutions, et, en particulier, les laboratoires des professeurs :

Gros (Institut de Biologie Moléculaire, Paris)

Wittmann (Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik, Berlin)

Ochoa (School of Medicine, University of New York)

Signer (Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Mass.)

Bukhari (Cold Spring Harbor)

Dustin (Laboratoire de Microscopie Electronique de la Faculté de Médecine,  
U.L.B.)

Florine (Faculté des Sciences Appliquées, U.L.B.)

La Fontaine (Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie de l'Etat)

## Distinctions, conférences, séminaires, participation à des congrès, ...

R. Thomas a été désigné comme membre du Laboratory Scientific Advisory Committee de l'EMBO (European Molecular Biology Organization), du Conseil Supérieur du Cancer (groupe de travail sur la recherche cancérologique expérimentale) et du Collège Consultatif de Médecine Sociale (groupe de travail "malformations congénitales").

Il a participé au colloque "Recent Advances in Molecular Genetics", à Dubrovnik, comme modérateur de la discussion générale, et a été désigné comme "EMBO lecturer" à Belgrade et Zagreb (octobre 1971)

Il a donné un séminaire au Centre de Biochimie et de Biologie Moléculaire de Marseille et une conférence au symposium de la "Netherlands Biochemical Society" à Utrecht.

A. Bollen a obtenu le "Prix des Alumni" 1971 ; il a été invité au symposium de Grenade sur les mécanismes d'action des antibiotiques et a participé à la first Linderström-Lang conference à Aarhus (Danemark). Il a séjourné au Max-Planck Institut für Molekulare Genetik de Berlin, où il a donné en outre <sup>un</sup> séminaire ; il a également donné un séminaire à l'Institut de Biologie Moléculaire de Genève.

S. Mousset a participé à la deuxième réunion des Oncovirologistes de langue française à Bendor.

M. Couturier, M. Pironio, M. Faelen et A. Toussaint ont participé à la Spring Conference de Cologne.

C. Dambly et A. Toussaint ont assisté à l'European Phage Meeting de Berlin ; A. Toussaint y a présenté une communication.

Composition de l'équipe de chercheurs en 1971

Docteurs :

R. Thomas, Professeur ordinaire

|              |   |                           |
|--------------|---|---------------------------|
| M. Couturier | } | Chargés de recherche FNRS |
| S. Mousset   |   |                           |
| A. Bollen    |   |                           |
| C. Szpirer   |   |                           |

|              |   |                |
|--------------|---|----------------|
| C. Dambly    | } | Aspirants FNRS |
| J. Szpirer   |   |                |
| A. Toussaint |   |                |
| A. Ghysen    |   |                |

Doctorants :

A. Herzog , Assistant

J. De Lafonteyne, Inspecteur Ministère de la Santé Publique

M. Pironio, boursière Euratom

|              |   |                 |
|--------------|---|-----------------|
| M. Faelen,   | } | boursiers IRSIA |
| J.P. Lecocq, |   |                 |

Chercheurs étrangers :

Dr. I. Pietrzykowska (Varsovie)

G. Sabeur (Orléans)

Rapport d'activité scientifique du Laboratoire d'Embryologie et Cytologie moléculaires (J. Brachet).

Comme en 1970, le programme de recherches du laboratoire se subdivise en deux parties (projets A et B). Le projet A est la continuation d'études que le laboratoire poursuit, depuis plusieurs années déjà, sur les effets biochimiques des radiations sur les stades initiaux du développement embryonnaire des Amphibiens. L'objectif du projet B est de tenter de fusionner des cellules radiosensibles et radiorésistantes et de rechercher si, dans les hybrides somatiques ainsi obtenus, la radiosensibilité se comporte comme un caractère dominant ou récessif.

Ce travail de radiobiologie a, malheureusement, subi un retard marqué à cause d'un accident imprévu : la mise hors d'usage, à la suite d'une fausse manoeuvre, de la source de R.X. La réparation de l'appareil, d'origine américaine et d'un modèle assez ancien, a pris beaucoup plus de temps qu'on ne pouvait le prévoir.

## Projet A.

### 1. Effets des R.X. sur la maturation in vitro des oeufs d'Amphibiens (J. Brachet et E. Hubert).

Comme nous l'avons signalé dans le rapport précédent, on ignore encore si la maturation (rupture de la membrane de la vésicule germinative, formation du fuseau de maturation, élimination du 1er globule polaire) des oocytes de Batraciens est affectée par les radiations. La maturation, surtout chez l'espèce américaine de grenouille Rana pipiens, peut être obtenue in vitro en traitant, pendant 10 à 30 min., les oocytes mûrs par de la progestérone (10 ug/ml). Il est donc possible de faire agir les radiations soit avant, soit après l'addition de l'hormone.

Dans deux expériences, qui ont été analysées cytologiquement en détail, les effets des radiations (500, 1000 et 10.000 r) ont été examinés sur les matériels suivants : a) des oocytes non traités à la progestérone; b) des oocytes irradiés, puis traités immédiatement à la progestérone; c) des oocytes irradiés immédiatement après le traitement (30 min.) à la progestérone; d) des oocytes irradiés 2 h. après le traitement par l'hormone.

Des doses de 500 r et 1000 r n'exercent aucun effet cytologiquement visible sur les chromosomes des oocytes mûrs. Au contraire, une dose de 10.000 r altère profondément les chromosomes, qui se condensent tout en se vacuolisant. Dans l'un de ces oocytes fortement irradiés, la maturation s'est déclenchée spontanément, en l'absence de tout traitement hormonal, 29 h. après l'irradiation. De telles maturations spontanées n'ont été observées précédemment que dans un seul cas : celui d'oocytes traités par des concentrations élevées (2 à 5 mg/ml) d'hydroxyurée, agent qui inhibe la synthèse de l'ADN et qui provoque, comme les RX, une condensation des chromosomes. Ces maturations spontanées sont toutefois abortives : les chromosomes dégénèrent complètement avant de se placer sur un fuseau de maturation et il ne se forme jamais de globule polaire. C'est ce qui s'est produit aussi dans les cas présent.

Lorsqu'on combine les traitements par les RX et la progestérone, l'ordre des facteurs importe peu : dans les deux expériences, nous avons observé une nette accélération de l'entrée en maturation, que l'irradiation précède ou qu'elle suive l'addition de l'hormone.



Cette stimulation a été particulièrement nette dans l'une des deux expériences, où les oocytes témoins (non irradiés) n'avaient que médiocrement réagi à l'hormone : alors que le pourcentage de maturation de ces oocytes n'atteignait que 38% après 30 h., ce pourcentage variait entre 85 et 100% dans le cas des oocytes irradiés (quelle que soit la dose). La maturation des oocytes irradiés peut être presque complète, même après 10.000 r, avec formation d'un fuseau de maturation typique dans le cortex. Après 500 ou 1000 r, la maturation peut même être absolument complète (élimination du 1er globule polaire). Après 10.000 r toutefois, la maturation est, en règle générale, abortive : les chromosomes subissent une décondensation marquée, suivie de dégénérescence pycnotique.

L'interprétation des résultats de ces expériences demeure incertaine; on peut se demander, à titre d'hypothèse de travail, si les RX n'induiraient pas une synthèse réparatrice (repair synthesis) de l'ADN, qui exercerait une action favorable sur l'entrée en maturation.

## 2. Effets biochimiques des RX sur les oeufs de Batraciens.

(H. Alexandre, Y. Gerin, N. Hulin, A. Lievens et J. Brachet).

Des observations cytochimiques et autoradiographiques nous ont montré précédemment que la voie métabolique qui permet l'incorporation de l'uridine dans l'ADN paraît être particulièrement radiosensible (cfr. rapports précédents et publications de H. Alexandre). Des expériences récentes de N. Tondeur-Six ont montré que, au stade blastula, l'uridine s'incorpore dans la cytosine et, dans une beaucoup moindre mesure, dans la thymidine de l'ADN des oeufs de Batraciens.

L'analyse biochimique des embryons de Batraciens irradiés a permis à H. Alexandre d'aboutir aux conclusions suivantes :

a) l'irradiation ne modifie pas la teneur en ARN total des oeufs au cours de la segmentation; elle n'affecte pas non plus la composition du "pool" de ribonucléotides pendant cette période du développement. Les RX ne provoquent pas de destruction appréciable des ARN et des ribonucléotides qui préexistaient dans les oeufs vierges ou fécondés.

Par contre, à la gastrulation, c'est-à-dire au moment où la synthèse des ARN (en particulier celle des ARN ribosomiaux) devient importante, l'irradiation inhibe fortement la formation de nouvelles molécules d'ARN.

b) L'inhibition de la synthèse de l'ADN est modérée (de l'ordre de 30%), au cours de la segmentation des oeufs irradiés, lorsque le précurseur utilisé est la thymidine. Toutefois, l'ADN des embryons irradiés est partiellement dégradé : il devient, en effet, beaucoup plus acidolabile. Si le précurseur choisi est l'uridine, on observe une inhibition modérée de l'incorporation totale (dans l'ARN et l'ADN); mais l'inhibition devient très forte lorsqu'on examine, de façon spécifique, l'incorporation du précurseur dans l'ADN. L'uridine est, toutefois, un précurseur 10 fois moins efficace que la thymidine lorsqu'on veut suivre la synthèse de l'ADN.

c) dans les blastulas (donc, en fin de segmentation), l'irradiation inhibe fortement la synthèse de l'ADN, dont une partie est dégradée et devient acidosoluble. Cette inhibition est suivie d'une reprise de l'incorporation de la thymidine dans l'ADN, bien que le développement et l'activité mitotique soient bloqués : il s'agit donc, selon toute vraisemblance, d'une synthèse destinée à réparer les dommages subis par l'ADN à la suite de l'irradiation. A ce stade blastula, l'incorporation de l'uridine dans l'ADN est faible, mais elle est encore fortement radiosensible.

d) Au stade gastrula, les RX inhibent, aux doses utilisées, la synthèse de l'ADN à raison de 50%. A ce stade, 18% de l'ADN est encore synthétisé par la voie métabolique qui utilise l'uridine comme précurseur : comme aux stades précédents, cette voie métabolique est particulièrement radiosensible.

e) la production d'énergie par les embryons irradiés a été également étudiée : les RX inhibent modérément la consommation d'oxygène des oeufs de grenouille en voie de segmentation et ils empêchent l'augmentation de la respiration qui se produit normalement pendant la gastrulation. Des mesures de la teneur en ATP ont montré qu'il se produit une diminution de cette teneur pendant la gastrulation des embryons témoins; cette diminution se poursuit pendant la suite du développement, de telle sorte que les embryons témoins, peu avant leur éclosion, ne possèdent plus que 50% de la teneur en ATP de l'oeuf fécondé. L'irradiation provoque une diminution momentanée de la teneur en ATP, qui remonte ensuite : la chute de la teneur en ATP, qui caractérise la gastrulation ne se produit pas, sans doute parce que le ralentissement de la synthèse des acides nucléiques réduit l'utilisation de l'ATP.

Les effets des RX sur l'activité de la RNA polymérase des oeufs de Batraciens (cfr. rapport pour 1970) ont été analysés de plus près. Il a été possible d'isoler deux enzymes différents par centrifugation différentielle et trois fractions distinctes par chromatographie sur DEAE-cellulose. Toutes ces fractions diminuent d'activité lorsqu'on irradie des ovaires ou des embryons de Batraciens; la fraction qui correspond à la RNA polymérase I (localisée dans le nucléole et insensible à l' $\alpha$ -amanitine) est particulièrement radiosensible (A. Lievens).

L'ultrastructure des embryons irradiés a été décrite dans le rapport précédent. Le travail a été poursuivi avec l'objectif de parvenir à déceler l'apparition de lysosomes dans les embryons irradiés, en utilisant les réactions cytochimiques de la phosphatase acide. On sait, depuis un travail déjà assez ancien de M. Decroly, qu'il n'est pas possible d'isoler des lysosomes, par voie biochimique, à partir des oeufs de Batraciens. Le travail cytochimique actuel a confirmé cette conclusion et a montré qu'il n'est pas possible non plus de mettre en évidence la présence de lysosomes dans les embryons irradiés (H. Alexandre et Y. Gerin).

Enfin, le travail relatif aux effets des radiations sur la fixation d'actinomycine tritiée par les noyaux des embryons de Xénope peut être considéré comme terminé : dans les blastulas obtenues après l'irradiation d'oeufs au stade 4 blastomères, la fixation d'actinomycine (qui constitue un indice de l'activité génétique de la chromatine) est inhibée plus fortement dans l'ectoblaste que dans l'entoblaste; cette différence est probablement due au fait que l'activité mitotique est plus intense dans l'ectoblaste que dans l'entoblaste. Quand les oeufs irradiés au stade 4 blastomères atteignent le stade gastrula, on constate que la fixation d'actinomycine est diminuée, par rapport aux témoins, dans l'ectoblaste et le neuroblaste; les noyaux de l'entoblaste sont, au contraire, beaucoup plus radiorésistants. Lorsque le développement progresse plus loin, l'embryon devient de plus en plus radiorésistant : on ne décèle plus de différences, dans la fixation de l'actinomycine, quand on compare les noyaux des embryons irradiés à ceux des témoins, dans le cas des embryons irradiés (doses de 500 et 1.000 r) au stade de bourgeon caudal;

une dose beaucoup plus forte (10.000 r) provoque toutefois l'arrêt des mitoses et l'apparition de nombreuses pycnoses. Ajoutons qu'une diminution très appréciable de la fixation d'actinomycine<sup>3</sup>H a été observée 48 h. après l'irradiation de cellules de hamster chinois en culture. Cette diminution paraît être précédée par une augmentation initiale (1 h. 15 après l'irradiation) de la fixation d'actinomycine<sup>3</sup>H (N. Hulin et J. Brachet).

## Projet B.

### 1. Essais de fusion de cellules radiosensibles et radiorésistantes.

(S. Limbosch, V. Heilporn, F. Zampetti et R. Tencer).

Les expériences ont particulièrement souffert de l'accident survenu à l'appareil du générateur de RX, parce qu'il avait été prévu d'effectuer les expériences décisives en fin d'année. En effet, la première partie de l'année a été consacrée à sélectionner des souches particulièrement radiosensibles ou radiorésistantes et à réaliser la fusion de leurs cellules au moyen de virus Sendai inactivé. Les résultats suivants ont été obtenus :

- a) les cellules d'un neuroblastome cultivé in vitro sont plus radiosensibles que les fibroblastes de hamster.
- b) l'irradiation modifie la morphologie des fibroblastes et celle des cellules de neuroblastome : dans le cas de ces dernières, une dose de 100 r réduit le nombre des cellules possédant un axone, tandis qu'une dose de 200 r les fait réapparaître. Les RX semblent donc exercer, dans le cas du neuroblastome, un intéressant effet sur la différenciation cellulaire. Des essais, actuellement en cours, de fusion entre des fibroblastes et des cellules de neuroblastome pourraient apporter une contribution intéressante à cet important problème de différenciation cellulaire.
- c) deux souches de fibroblastes, dont la radiosensibilité est un peu différente, ont été fusionnées : la radiosensibilité des cellules hybrides n'est pas fortement modifiée par rapport aux deux souches parentales. Cette expérience devra être refaite, en utilisant des souches parentales dont la radiosensibilité est très différente.
- d) des cultures de lymphocytes humains ont été réalisées en présence et en absence de phytohémagglutinines. Si on fusionne un lymphocyte avec un fibroblaste irradié (250 r), il ne se forme qu'un seul nucléole dans le noyau du lymphocyte.
- e) des cellules de foie de rat ont été cultivées et soumises à des doses croissantes de RX. Leur radiorésistance est du même ordre de grandeur que celle des fibroblastes de hamster chinois.

D'autre part, une primoculture d'hépatocytes de jeunes rats a été obtenue et a été conservée en vie pendant plus de 3 semaines. Les cellules sont petites, peu colorables à l'Unna; les mitoses sont très rares ou absentes. Ces cellules adhèrent très fortement au verre si on les place pendant 1 h. à 4°, dans un milieu dépourvu de sérum. Des expériences préliminaires, où des cellules tuées ont été colorées au bleu Trypsan, indiquent une bonne résistance aux RX.

f) la fixation in vivo d'actinomycine<sup>3</sup>H a été étudiée dans 4 espèces différentes de cellules (neuroblastome, cellules gliales, cellules de foie de rat et fibroblastes de hamster chinois) en utilisant des concentrations allant de 1 à 0.01 µg/ml. L'autoradiographie a montré une bonne incorporation de l'actinomycine, accompagnée d'une tendance à la pulvérisation de la chromatine et d'une variation de l'index mitotique (qui augmente avec la concentration en actinomycine).

g) sur le plan biochimique, les techniques requises pour l'isolement et la caractérisation de l'ADN des fibroblastes en gradient de saccharose alcalin ont été mises au point.

## 2. Effets des radiations sur les cellules hématopoïétiques. (P. Malpoix et A. Lievens).

Les expériences effectuées en 1971 ont donné les résultats suivants:

a) une dose de 2.000 r inhibe la synthèse de l'ARN dans les cellules hématopoïétiques du foie embryonnaire en culture. L'addition de hème et d'érythropoïétine ramène le taux de la synthèse de l'ARN à sa valeur normale; ces substances exercent donc un effet radioprotecteur dans ce système biologique.

b) l'inhibition de la synthèse de l'ARN est, au moins en partie, due à une diminution de l'activité de la RNA polymérase: cette diminution a été observée, après irradiation, dans la moelle osseuse, le sang de l'embryon de poulet, le foie de l'embryon de souris et le foie de la souris adulte. L'érythropoïétine semble exercer, à nouveau, un effet radioprotecteur en empêchant l'inactivation de l'enzyme par les RX.

c) l'irradiation inhibe la synthèse de toutes les fractions protéiques (histones, protéines acides nucléaires, protéines cytoplasmiques). Cette inhibition est immédiate, mais temporaire : 24 h. après l'irradiation, on peut même observer une stimulation tardive des synthèses protéiques.

d) enfin, la synthèse de l'ADN est également inhibée après irradiation; l'addition de BUdR (bromodeoxyuridine) paraît augmenter le nombre des ruptures des deux chaînes polynucléotidiques (double strand breaks) induites par les RX.

1971.

Personnel scientifique.

Prof. J. Brachet, Professeur ordinaire U.L.B.  
Prof. A. Ficq, Professeur associé U.L.B.  
Prof. P. Van Gansen, " "  
Prof. M. Steinert, " "  
Dr. T. Vanden Driessche, chef de travaux U.L.B.  
Dr. R. Tencer, chef de travaux U.L.B.  
Mlle F. Hanocq, assistante U.L.B.  
Dr. N. Altorfer, chargée d'exercices U.L.B.  
Dr. E. Baltus, collaboratrice scientifique U.L.B.  
Dr. M. Boloukhère, assistante hors cadre.  
Dr. M. Decroly, collaboratrice scientifique F.R.F.C.  
Dr. J. Hanocq-Quertier, " "  
Mme Tondeur-Six, N. " "  
Mme G. Steinert " "  
Dr. S. Limbosch, collaboratrice scientifique Euratom  
Dr. V. Heilporn, " "  
Dr. A. Lievens, " "  
Dr. F. Zampetti, " "  
Dr. P. Malpoix, collaboratrice scientifique Etat.  
Dr. M. Geuskens, chercheur FNRS (a séjourné en 1971 dans le laboratoire  
du Professeur Bernhard, Paris).  
Dr. M. Janowski, chercheur FNRS (a séjourné en 1971 dans le laboratoire  
du Professeur Mc Carthy, U.S.A.).  
Dr. C. Thomas, boursier FNRS.  
M. H. Alexandre, boursier FNRS.  
M. Y. Gerin, boursier IRSIA  
M. E. Pays, boursier FNRS.  
Mme M. Kirsch-Volders, boursière IRSIA.  
Mlle A. Ronsse, boursière IRSIA.  
Mme N. Boogaerts, boursière IRSIA.  
M. P. Van Snick, boursier IRSIA.  
Mme J. Flamand, thésienne  
Mlle J. Thirion, thésienne  
Mme R. Laub-Kuperszteijn, thésienne.



M. A. Hetteema, assistant hors cadre.  
M. R. Hars, mémoire de licence  
Melle F. Henriët, mémoire de licence.  
Melle J. Hellin, mémoire de licence.  
Melle B. Doehard, mémoire de licence.

Personnel administratif et technique.

Melle A. De Schutter. (ULB)  
Mme M. Goldfinger (ULB)  
Mme A.M. Preumont (ULB)  
Melle S. Van Assel (ULB)  
M. L. Lateur (ULB)  
M. A. Stijns (ULB)  
M. A. Renard (ULB)  
Melle S. Michiels (ULB)  
Melle M. De Meyer (ULB)  
M. H. Van Belle (ULB)  
M. D. Franckx (ULB)  
M. J. Verhulst (F.R.F.C.)  
M. A. Weber (F.R.F.C.)  
Melle M. Havet (F.R.F.C.)  
Mme E. Hubert (Euratom)  
Mme A. Schram (Euratom)  
Mme N. Herremans (Euratom)  
Mme Guiot-Van Tournhout (Euratom)  
Mme J. Baltus, secrétaire (Euratom)  
Mme N. Hulin (Etat).  
Melle M. Laurent (Médecine tropicale).

### Distinctions.

Le Prix quinquennal des Sciences médicales fondamentales, décerné par l'Académie royale de Médecine de Belgique a été décerné à J. Brachet.

J. Brachet a été élu membre correspondant de l'Accademia delle Scienze dell'Istituto di Bologna.

M. Decroly a été élue Membre of the "International Society of Developmental Biologists.

### Déplacements.

J. Brachet a donné des conférences dans les Universités de Grenoble, Toulouse (France) et Zürich (Suisse).

- Il a donné une leçon à la Royal Society (London).
- Il a présidé une session du Symposium sur "Les acides désoxyribonucléiques des Eucaryotes" organisé par le C.N.R.S. à Port Cros (France).
- Il a été un des organisateurs du Cours Embo sur "les acides ribonucléiques messagers et la différenciation" et y a donné la leçon inaugurale (Bruxelles, Belgique).
- Il a donné des Symposia sur les systèmes amucléés (Mol - Belgique), au cours EMBO-OTAN "Biologie moléculaire et Embryologie" à Erice (Sicile) et au Colloque sur la différenciation cellulaire à Nice (France).

J. Brachet a été interviewé par la Radio-Télévision belge en collaboration avec la RAI.

N. Hulin a effectué un bref séjour à l'Hôpital universitaire de Turin (Novembre 1971) en vue de rencontrer les professeurs A. Pileri et P. Masera (discussions).

F. Zampetti a présenté une communication intitulée : "DNA synthesis during maturation of starfish oocytes" en collaboration avec G. Huez au "Seventh Meeting of the Federation of European Biochemical Societies" à Varna (Bulgarie).

- Elle a effectué un séjour de 15 mois au Laboratorio di Embriologia molecolare (CNR) Arco Felice, Napoli (Italie).

R. Tencer a assisté au Premier colloque international sur la différenciation cellulaire à Nice (France).

- Elle a participé au cours d'Embryologie organisé par l'UNESCO à Kotor (Yougoslavie).

- Elle a effectué un séjour du 15 janvier au 15 février et du 10 mai au 10 juin au Laboratorio di Embriologia molecolare (CNR) à Arco Felice - Napoli (Italie).

P. Malpoix a assisté au Colloque sur "Les interactions DNA-protéines et les nucléohistones" (Liège, Belgique).

- Elle a assisté à la Xème conférence internationale d'Embryologie à Glasgow (Angleterre), au Premier Colloque sur la Différenciation cellulaire (Nice, France) au 7ème Congrès de la "Federation of European Biochemical Societies" à Varna (Bulgarie) et au Symposium sur les cultures in vitro des cellules haemopoïétiques organisé à Rijswijk.

- E. Baltus a présidé un groupe de discussion sur l'Oogénèse à la 10ème Conférence internationale d'Embryologie à Glasgow et a assisté à la "Third Karden Conference "The Cell Nucleus" à Wye (Angleterre).
- J. Hanocq-Quartier et C. Thomas ont participé à la discussion sur l'oogénèse à la 10ème Conférence internationale d'Embryologie à Glasgow.
- C. Thomas a effectué un séjour de 2 semaines dans le laboratoire du Professeur J.E. Edström à Stockholm (Suède).
- M. Kirsch et F. Hanocq ont réalisé une démonstration à la 10ème Conférence internationale d'Embryologie à Glasgow (Angleterre). Elles ont effectué un séjour d'une semaine dans le laboratoire de Génétique moléculaire du Prof. G. Bernardi (Paris).
- P. Van Gansen a présenté deux communications : l'une au Colloque de la Société française de Microscopie électronique (Caen, France), l'autre à l'Université du Pays de Galles (Bangor). Elle a présenté également une communication à la 10ème Conférence internationale d'Embryologie à Glasgow.
- N. Tondeur-Six a effectué un séjour d'un mois au Laboratorio di Embriologia molecolare à Arco Felice (Napoli).
- T. Vanden Driessche a été invitée à donner une conférence et à participer aux discussions à l'Institut G. Roussy (Laboratoire du Professeur Tubiana) à Villejuif. Elle a été invitée à faire des séminaires à l'Université de Paris à Montrouge, à l'Ecole de Médecine de l'Université de Hannover (Allemagne) et à la Faculté de Médecine de Bruxelles. Elle a donné une conférence à l'Institut de Zoologie de l'Université de Göttingen (Allemagne). Elle a participé à la réunion annuelle du Group d'Etude des Rythmes biologiques (Paris) au "II Internat. Congress on Photosynthesis Research" à Stresa (Italie), à la "First International Conference on Cell Differentiation" à Nice (France), et à l'International Symposium on Biology and Radiobiology of anucleate systems" à Mol (Belgique).

Elle a participé aux travaux du Conseil et à l'assemblée générale du Groupe d'études des rythmes biologiques à Paris (France).

M. Steinert a participé au Colloque International sur les acides désoxyribonucléiques des Eucaryotes à Port-Gif (Var), France.

Il a assisté à "l'International Symposium on the Comparative Biochemistry of parasites" à Beerse (Belgique).

Il a participé à une discussion de travail avec les Drs. Borst et Newton au Molteno Institute for Biology and Parasitology à Cambridge (Angleterre).

Année 1971.

Liste des publications.

488. Thomas, C. Ribonucleic acids and ribonucleoproteins from small oocytes of Xenopus laevis. Biochim. biophys. Acta 224, 99-113 (1970).
489. Netrawali, M.S. On the presence of histones in Euglena gracilis Var. Bacillaris. Exptl. Cell Res. 63, 422-426 (1970).
490. Ficq, A. RNA synthesis in early oogenesis of Xenopus laevis. Exptl. Cell Res. 63, 453-457 (1970).
491. Alexandre, Y. et Gérin, Y. Etude au microscope électronique de l'effet des rayons X sur l'évolution des structures nucléaires et cytoplasmiques au cours de la segmentation des oeufs de Pleurodeles Waltii. Exptl. Cell Res. 65 145-155 (1971).
492. Steinert, G. et Van Gansen, P. Binding of  $^3\text{H}$  actinomycin to vitelline platelets of amphibian oocytes. Exptl. Cell Res. 64, 355-365 (1971).
493. Vanden Driessche, T. Les rythmes circadiens, mécanisme de régulation cellulaire. La Recherche 2, 255-261 (1971).
494. Donotto, S., Puiseux-Dao, S., Kirchner, R., Brachet, J. Faits et hypothèses sur le contrôle de l'alternance morphogénétique : croissance végétative-différenciation de l'appareil reproducteur chez les Acetabularia mediterranea. C.R. Acad. Sci. Paris 272, 392-395 (1971).
495. Brachet, J. La régulation de l'activité protéique pendant les premiers stades du développement. Chap. III. (Dedie à la mémoire d'Albert Brachet). Ed. Leipzig.
496. Cohen, J. Influence of mating upon ribosomal RNA synthesis and egg production in Drosophila melanogaster. J. Insect Physiol. 17, 1061-1064 (1971).
497. Cohen, J. Influence of the RNA content on oogenesis in the bobbed mutants of Drosophila melanogaster. J. Embryol. exp. Morph. 25, 237-246 (1971).
498. Laurent, J., Van Assel, S., Steinert, G. Kinetoplast DNA; A unique macromolecular structure of considerable size and mechanical resistance. Biochem. biophys. Res. Comm. 43, 273-274 (1971).
499. Malpoix, P. Stimulation by erythropoietin of histone and non histone chromatin protein synthesis in disaggregated foetal mouse liver. Exptl. Cell Res. 65, 393-400 (1971).
500. Van Assel, S., Steinert, G. Nuclear and kinetoplastic DNA replication cycles in normal and synchronously dividing Crithidia luciliae. Exptl. Cell Res. 65, 353-358 (1971).
501. Brachet, J. Macromolecular syntheses and nucleocytoplasmic interactions in early development. Advances in Morphogenesis 9, 263 - 316 (1971).

502. Kram, R., Botchan, I. et Hearst, J.E. The occurrence of highly reiterated DNA sequences in the genome of Drosophila melanogaster. II. Kinetics of reassociation. Arch. intern. physiol. Bioch. 79, 419-420 (1971).
503. Gérin, Y. Etude par cytochimie ultrastructurale des corpuscules périnucléaires présents dans les jeunes oocytes de Ilyanassa obsoleta Say (Mollusca gastéropode). J. Embryol. exper. Morphol. 25, 423-438 (1971).
504. Brachet, J. Nucleocytoplasmic interactions in morphogenesis. Proc. roy. Soc. Lond. 178, 227-243 (1971).
505. Vanden Driessche, T. Possible diversity in basic mechanism of biological oscillations. J. Interdiscipl. Cycle Res. 2, 133-145 (1971).
506. Heilporn, V., Limbosch, S. Les effets du bromure d'éthidium sur Acetabularia mediterranea. Biochim. biophys. Acta 240, 94-108 (1971).
507. Geuskens, M., de Jonghe d'Ardoye, V. Metabolic patterns in Ilyanassa polar lobes. Exptl. Cell Res. 67, 61-72 (1971).
508. Geuskens, M. A study of the effects of ethidium bromide on the ultrastructure of sea urchin embryos. J. exper. Zool. 178, 247-286 (1971).
509. Alexandre, H. Etude de la radiosensibilité des voies métaboliques d'incorporation de la thymidine<sup>3</sup>H et de l'uridine<sup>3</sup>H dans les jeunes embryons de Batraciens. Arch. intern. physiol. Bioch. 79 (4) 817-818 (1971).
510. A. Ficq. RNA - dependent DNA polymerase : Possible role in the amplification of ribosomal - DNA in Xenopus oocytes. Proc. natl. Acad. Sci. 68, 2774 (1971).

Publications sous presse.

- J. Brachet, D. O'Dell, G. Steinert and R. Tencer. Cleavage nucleoli and ribosomal RNA synthesis in sea urchin eggs. *Exptl. Cell Res.*
- J. Brachet. Cytochemical studies on progesterone induced maturation in amphibian oocytes. Effects of inhibitors of protein and nucleic acid synthesis. *Dev. Biol.*
- J. Brachet. "Morphogenesis". *Natuur en Techniek.*
- J. Brachet. Studies on nucleocytoplasmic interaction during early amphibian development. II. Cytochemical analysis of inversion and centrifugation experiments. *Arch. Biol.*
- J. Brachet. The Role of the egg cortex in early morphogenesis. *Proc. 1st Intern. Confer. on Cell Differentiation.*
- J. Brachet. "The Cell" *Enciclopedia Italiana.*
- J. Brachet and J. Aimi. The effects of conditioned media on sea urchin egg development. *Exptl. Cell Res.*
- J. Brachet, E. Hubert and A. Lievens. The effects of  $\alpha$ -amanitin and rifampicin on amphibian egg development. *Rev. suisse de Zool.*
- P. Van Snick and J. Brachet. Essai de mise en évidence d'un inhibiteur de la synthèse des RNA ribosomiaux dans l'oeuf d'amphibien en voie de segmentation. *Arch. Biol.*
- J. Brachet, G. Steinert and M. Steinert. Easy detection of the nucleolar organizers in amphibian oocytes. *Caryologia.*
- F. Leroy, A.M. Preumont, P. Galand, J. Brachet. Increased chromatin and lability and actinomycin - D binding in endometrial cells under sex steroids action. *Journal of Endocrinology.*
- N. Tondeur-Six et J. Brachet. Effets biochimiques du bromure d'éthidium sur les oeufs de Pleurodèles en voie de développement. *Arch. Biol.*
- P. Masera, A. Pileri, J. Brachet and N. Hulin. Actinomycin binding capacity in human lymphoid cells. *Acta Haematologica.*
- G. Huez, F. Zampetti-Bosseler, J. Brachet. DNA synthesis maturation of starfish oocytes. *Nature.*
- A. Ficq. Early meiosis in Amphibians : Synthesis and role of proteins. *Exptl. Cell Res.*
- P. Van Gansen et A. Schram, A. Evolution of the nucleoli during oogenesis in *Xenopus laevis* studied by electron microscope. *J. Cell Sci.*
- R. Tencer. Quelques observations sur les hybrides létaux. *Arch. Biol.*
- C. Thomas. Correlation between ultrastructural aspects of nucleoli and inhibition of RNA synthesis in *Xenopus laevis* oocytes.
- F. Hanocq, M. Kirsch-Volders, E. Baltus and G. Steinert.\* DNA from the yolk platelets of ovulated *Xenopus laevis* oocytes.



- T. Vanden Driessche. Cycle cellulaire des cellules eucaryotes : phénomènes biochimiques. INSERM.
- T. Vanden Driessche. Differentiation and regulation in Acetabularia. Monography of Merrow Publ. C°.
- T. Vanden Driessche. Some photosynthetic activities of the chloroplasts of Acetabularia. Proc. internat. Symp. on Biology and Radiobiology of anucleate systems. Academic Press.
- T. Vanden Driessche and S. Bonotto, S. Effect of NAD on photosynthesis and carbohydrate synthesis in Acetabularia. Proc. II International Congress on Photosynthesis Research.
- Vanden Driessche, T. and Bonotto, S. In vivo activity of the chloroplasts of Acetabularia in continuous light and in light-dark cycles. Arch. Biol. (sous presse).
- T. Vanden Driessche and R. Hars. Circadian variations in the substructure of the chloroplasts of Acetabularia. Memorial Book of the Society for the Study of Biological rhythms meeting in Little Rock.
- T. Vanden Driessche and R. Hars. Variations circadiennes de la substructure des chloroplastes d'Acetabularia. II. Algues anucléées. J. Microscopie.
- T. Vanden Driessche, R. Hars, J. Hellin and M. Boloukhère. The substructure of the cytoplasm obtained from Acetabularia mediterranea. Exptl. Cell Res.
- T. Vanden Driessche and R. Hars. Substructure of the chloroplasts of Acetabularia and rate of physiological activities. Proc. 4th Internat. Biophysics Congress, Moscou.
- T. Vanden Driessche. Structural and functional rhythms in the chloroplasts of Acetabularia : molecular aspects of the system "Proceedings of the Biochronometry symposium".

Publications en préparation.

- J. Brachet. "Introduction to Molecular Biology". Ed. Springer Verlag.
- P. Van Gansen. Déterminisme de la polarité de l'oocyte de Xenopus laevis :  
Etude aux microscopes électroniques à balayage et à transmission.
- P. Van Gansen. Biologie générale, vol. II (Reproduction et Génétique).  
Presses universitaires, Bruxelles.
- A. Lievens et P. Malpoix. Metabolic effects of X-irradiation in normal  
and erythropoietin stimulated haemopoietic cells.
- P. Malpoix. Effects of bromodeoxyuridine on erythropoiesis.
- M. Decroly et M. Goldfinger. Etude de la dissociation des ribosomes  
de Xenopus laevis à différents stades du développement embryonnaire.
- M. Decroly et M. Goldfinger. Mise en évidence des sous unités natives  
au cours du développement embryonnaire de Xenopus laevis.
- M. Decroly et M. Goldfinger. Article qui sera publié dans "Molecular  
Biology of Early Amphibian Development" Ed. E. Davidson.

Université Libre de Bruxelles  
Laboratoire de Physiologie Animale

CONTRAT EURATOM - U.L.B.

Rapport d'activité durant l'année 1971

---

Les recherches du laboratoire effectuées dans le cadre du Contrat EURATOM-U.L.B. ont pour but une compréhension plus précise du fonctionnement d'un appareil immunocompétent reconstitué chez un animal irradié aux rayons X, par greffe de cellules d'origines diverses provenant d'un animal immunisé.

Les systèmes utilisés pour cette étude sont les suivants : cellules de rate, ganglions lymphatiques et moëlle osseuse, prélevés à divers stades de l'évolution de la réaction d'un lapin à l'injection du TMV ; cellules de rate et ganglions lymphatiques et moëlle osseuse d'un lapin immunisé contre le carbohydrate spécifique d'un Streptocoque hémolytique.

Diverses caractéristiques des anticorps produits par ces systèmes dans le donneur et dans le récepteur ont été choisies pour cette étude : déterminants allotypiques, constante d'association, mobilité électrophorétique, caractères chromatographiques, caractères idiotypiques, réactivité d'acides aminés des sites actifs, séquence des acides aminés N-terminaux des chaînes L.

Il a été fait état dans des rapports antérieurs des progrès effectués dans l'étude de l'évolution de toutes ces caractéristiques au cours d'une réaction immunitaire du donneur et des premières tentatives faites pour suivre cette même évolution dans le récepteur irradié.

La seconde partie du travail sera énormément facilitée par la mise en service à la fin de l'année 1971 d'une installation permettant l'irradiation des lapins au laboratoire de Rhode. Le présent rapport concerne les recherches effectuées sur les anticorps de l'animal irradié et greffé, ainsi que la poursuite de l'ensemble des travaux préliminaires destinés à connaître l'évolution de la réaction immunitaire des donneurs à l'injection des deux types d'antigène choisis.

Interaction cellulaire au cours de la réponse immunologique  
(A. Van Acker, G. Urbain-Vansanten, J. Urbain).

---

Le système immunocompétent est composé d'un nombre énorme de clones, chaque clone étant capable de synthétiser un seul type moléculaire.

Chaque cellule, posséderait sur sa membrane, des récepteurs qui dans l'hypothèse la plus simple sont les immunoglobulines que la cellule est capable de synthétiser.

L'interaction de l'antigène et des récepteurs déclencherait la prolifération cellulaire et la synthèse d'anticorps.

Une partie des cellules se transformerait en cellules de mémoire tandis qu'une autre partie se différencierait en cellule productrice, mourant après un nombre limité de divisions. Dans cette hypothèse, la cellule de mémoire et la cellule productrice dériveraient du même précurseur.

De nombreux travaux semblent indiquer qu'un tel modèle est beaucoup trop simple pour rendre compte de la complexité des phénomènes.

La culture de cellules immunocompétentes in vitro (voir plus loin) semble être une méthode idéale pour étudier de tels problèmes. Néanmoins les quantités d'anticorps synthétisés dans de telles cultures sont trop petites.

L'injection de cellules immunocompétentes à des animaux irradiés permet la culture de clones "in vivo". En effet, les lymphocytes injectés vont se loger dans la rate et initient des "foci" qui seront le centre de production des anticorps. Dans l'hypothèse la plus simple, chaque foyer serait l'équivalent d'un clone cellulaire.

Nous avons injecté des lapins irradiés d'allotype 3 de lymphocytes provenant de lapins immunisés ou non immunisés d'allotype 1. En même temps que les cellules, les lapins irradiés recevaient une injection d'antigène.

Les animaux qui ont reçu des cellules synthétisent des anticorps. Ces anticorps ont été caractérisés par des méthodes chimique et immunochimique. Le but de ces caractérisations est de connaître les parts respectives des génomes de l'animal donneur et de l'animal receveur dans la structure des anticorps synthétisés. Plusieurs expériences ont été réalisées portant sur un nombre de 25 lapins.

### de caractérisation

Les méthodes utilisées recouvrent : immunodiffusion linéaire et radiale, immunoélectrophorèse, électrophorèse sur gels de polyacrylamide des molécules entières, des chaînes séparées, électrofocusing des molécules entières, gradient de saccharose, affinités relatives.

Certains résultats déjà acquis dans des expériences préliminaire ont été confirmés de manière extensive. D'autres résultats sont nouveaux.

Les résultats peuvent être décrits de la manière suivante :

- Des immunoglobulines portant les marqueurs allotypiques du donneur apparaissent dans le sérum des animaux irradiés. Ces immunoglobulines disparaissent après la première semaine. Elles contiennent des anticorps anti-TMV. Néanmoins le gros de l'anticorps anti-TMV synthétisé porte les marqueurs allotypiques du receveur. Après une réinjection d'antigène, l'anticorps est exclusivement d'allotype du receveur.

L'anticorps de lapin donneur hyperimmunisé est extrêmement hétérogène. Par contre, l'anticorps des lapins irradiés ayant reçu les cellules des lapins hyperimmunisés montre, dans plusieurs cas une homogénéité remarquable (3 fines bandes en électrofocusing, ce qui en principe correspond à l'expression d'un seul clone).

Un fait remarquable est que dans le cas d'hétérogénéité restreinte, les quelques bandes d'électrofocusing sont toutes groupées dans le même endroit du spectre.

Chez les animaux qui ont reçu les cellules provenant de donneur hyperimmunisé, l'affinité moyenne des anticorps synthétisés par les receveurs est plus élevée que l'affinité moyenne des anticorps synthétisés par les receveurs ayant reçu des cellules provenant de donneurs non immunisés.

La démonstration de l'appartenance des anticorps de haute affinité à une classe spéciale a été démontrée par l'obtention d'un antisérum chez les cobayes rendus tolérants vis-à-vis des immunoglobulines de la classe IgG.

Cette classe correspond vraisemblablement à la classe IgE. L'utilisation de sérums anti idiotypiques dressés contre les anticorps synthétisés par le donneur semble indiquer que plusieurs anticorps synthétisés par les animaux irradiés portent les mêmes marqueurs idiotypiques que les anticorps du donneur.

Ces faits doivent être vérifiés en utilisant d'autres méthodes. L'ensemble de ces résultats peut être interprété de la manière suivante.

La reconnaissance de l'antigène et la mémoire immunologique sont liées à l'existence d'un clone de lymphocytes à longue durée de vie, se divisant peu ou pas en l'absence de l'antigène. Ces cellules prolifèrent sous l'action de l'antigène et transfèrent à des cellules "esclaves" l'information correspondant à la partie variable. Les cellules "esclaves" apporteraient l'information concernant la partie constante.

Une telle interprétation est tout à fait en accord avec un partage des différentes parties variables par les différentes classes et sous-classes de chaînes H et rend la régulation des classes et des sous-classes indépendante du contrôle de la maturation de la réponse immunologique.

## Etudes in vitro (Ch. De Vos-Cloetens).

Ainsi que nous l'avons écrit plus haut, il serait fort intéressant de pouvoir étudier au niveau cellulaire, in vitro, la nature du signal transmis par les cellules sensibles aux cellules productrices. Une hypothèse peut être proposée : la cellule sensible stimulée par l'antigène pourrait transférer à la future cellule productrice un segment d'ADN ou d'ARN contenant au moins les informations génétiques codant pour les parties variables des immunoglobulines. Afin de vérifier cette hypothèse, l'expérience idéale serait la suivante : des cellules sensibles provenant d'un animal donneur immunisé seraient mises en présence de futures cellules productrices d'un animal non immunisé ; les deux animaux étant porteurs d'immunoglobulines présentant des déterminants allotypiques différents. La culture est alors stimulée par l'antigène. Si l'hypothèse émise ci-dessus s'avère exacte, il devrait y avoir production d'anticorps de haute affinité et contenant des déterminants allotypiques caractéristiques des cellules productrices. Afin de réaliser cette expérience, de nombreuses mises au point techniques étaient indispensables.

Nous avons tout d'abord étudié les conditions d'immunisation de cultures de cellules lymphoïdes par les antigènes TMV et BSA. La première série d'expériences eut pour but de rechercher la dose d'antigène donnant lieu à une transformation blastique maximale des cellules lymphoïdes provenant d'animaux déjà immunisés. La transformation blastique a été mesurée par incorporation de thymidine tritiée. On a alors remarqué qu'il existait une dose optimale car si on stimule avec une dose d'antigène plus élevée ou inférieure la transformation blastique est plus faible.

Les cellules ayant montré une transformation blastique se mettent normalement à proliférer et à synthétiser des anticorps.

Nous avons alors essayé de mettre cette synthèse d'anticorps en évidence par adjonction d'acides aminés tritiés dans le milieu de culture. Ces essais furent positifs dans la mesure où il fut possible de mesurer l'affinité relative des anticorps produits de novo par les lymphocytes mis en culture. Différents essais



ont été réalisés afin de connaître la radioactivité minimale du milieu de culture permettant une bonne survie des cellules et une incorporation suffisante donnant lieu à un marquage mesurable au scintillateur. Les résultats que nous avons obtenus sont les suivants :

- les organes lymphoïdes (rate et ganglions) provenant d'animaux déjà immunisés synthétisent en réponse secondaire in vitro des anticorps dont l'affinité relative augmente au cours du temps.

- Par contre une suspension de cellules spléniques et ganglionnaires provenant d'un animal non immunisé ne répond pas à une stimulation primaire in vitro par le TMV. Mais si on ajoute à cette suspension de cellules 1/3 de cellules de moëlle osseuse provenant du même animal, on voit l'affinité des anticorps évoluer en augmentant au cours du temps. Si on stimule une seconde fois cette culture, on voit apparaître des anticorps de très haute affinité très rapidement. D'une part ces résultats sont en accord avec les travaux de Singhal et Richter (5) selon lesquels la moëlle osseuse serait la source des cellules sensibles chez le lapin, indispensables pour l'induction de la réponse primaire in vitro ; d'autre part, le fait de voir apparaître un schift d'affinité après une restimulation de la culture reflète exactement ce qui se passe in vivo (1).

- Les travaux d'Abdou et Richter (6) montrent que les cellules sensibles semblent quitter la moëlle osseuse très rapidement après le contact avec l'antigène. Afin de vérifier ce fait en ce qui concerne le TMV, un lapin a reçu une injection intraveineuse de TMV et 2 h. plus tard sa moëlle a été prélevée et mise en culture en présence de deux fois plus de cellules de rate et de ganglions provenant d'un animal non immunisé. On remarque alors que, pour une dose standard de TMV, il n'y a pas de réponse, tout se passe comme si la suspension cellulaire montrait une tolérance de zone basse car si on stimule cette même suspension de cellules par une dose 100 fois plus grande de TMV, on obtient une réponse anti-TMV normale. Tout se passe comme si les cellules sensibles portant les récepteurs de haute affinité pour le TMV étaient touchées les premières par l'antigène et quittaient la moëlle osseuse en moins de deux heures. Il ne resterait alors que des cellules ayant sur leurs membranes des récepteurs de

faibles affinités nécessitant une plus grande quantité d'antigène pour être stimulées.

Conclusions :

Ces résultats préliminaires paraissent fort encourageants. Il semble que des expériences concernant les problèmes de coopération cellulaire dans la réponse immunitaire ainsi que certains phénomènes de tolérance pourraient être envisagés dans un avenir proche.

## Evolution de l'hétérogénéité des anticorps au cours de la réponse immunologique (Leuwenkroon R. et Urbain J.)

---

Les propriétés des anticorps varient au cours du temps qui s'écoule après immunisation. Ces variations des propriétés sont fondamentales en immunologie et reflètent vraisemblablement le fait que les immunoglobulines n'ont pu être sélectionnées dans l'évolution sans la pression de facteurs constants. L'interprétation de ces variations requiert une étude détaillée des variations d'hétérogénéité des molécules synthétisées pendant une immunisation.

Des techniques d'"isoelectric focusing" semblent idéales pour étudier un tel problème.

Les premiers résultats indiquent que les anticorps de début d'immunisation sont remarquablement homogènes. Ce phénomène de dominance clonale au début de l'immunisation semble valable pour toutes les doses antigéniques étudiées.

Par contre, chez les animaux ayant reçu plusieurs injections, les anticorps synthétisés sont très hétérogènes.

Similitude entre les divers composants anticorps antistreptocoque de lapins électrophorétiquement homogènes. (M.Wikler, A.Vienne).

---

Grâce à leur remarquable homogénéité moléculaire, les anticorps anticarbohydrate de streptocoques ou pneumocoques de lapin, jouent un rôle déterminant dans l'étude des propriétés structurales et fonctionnelles des anticorps. L'étude de ces anticorps apportera sans doute également d'importants renseignements concernant l'origine de la spécificité.

Nous avons montré que les anticorps synthétisés chez les lapins hyperimmunisés à l'aide de streptocoques étaient dans tous les cas étudiés, distribués en un petit nombre de bandes électrophorétiquement homogènes. La position et l'importance variables de ces bandes diffèrent d'un sérum à l'autre. La restriction dans le nombre d'espèces moléculaires dominantes observée par électrophorèse fut confirmée par l'étude des séquences aminoterminales des chaînes légères d'anticorps. Avant même tout fractionnement des divers composants électrophorétiques, les anticorps synthétisés par les lapins individuels sont beaucoup plus restreints dans leur séquence des chaînes légères que ne le sont les immunoglobulines non spécifiques. Les séquences observées chez les lapins individuels appartiennent généralement toutes soit à la sous-classe Ala-Asp-Val, soit à la sous-classe Asp-Val-Val.

La suite du travail repose sur la comparaison des fractions dominantes d'anticorps anticarbohydrate de mobilités électrophorétiquement distinctes. Nous avons de plus comparé des fractions séparables par chromatographie à partir de composants de mobilité électrophorétique apparemment identique. En effet, on observe fréquemment que même les sérums ne possédant qu'une seule bande électrophorétique dominante montrent l'existence de 3 à 4 composants anticorps par chromatographie sur DEAE-cellulose.

Tous les composants isolés à partir d'un même sérum montrent une grande similitude : ils contiennent tous des chaînes légères du même sous-groupe, appartiennent au même allotype et leur affinité relative apparaît comme très similaire. De plus, pour deux composants d'une même bande électrophorétique, les 21 premiers acides aminés N-terminaux de la chaîne légère sont

identiques.

Il apparaît donc que les divers constituants synthétisés par un même lapin ont des traits communs. Il se pourrait donc que l'hétérogénéité apparente des anticorps produits par des animaux individuels, dissimule toutefois une origine génétique commune. Quelle pourrait être la relation entre les divers clones cellulaires sécrétant les divers anticorps structurellement et fonctionnellement semblables ?

Nos résultats sont en faveur de l'hypothèse d'un clone cellulaire commun, en quelque sorte ancestral aux différents anticorps synthétisés. L'on pourrait imaginer que la diversification du clone original ne se produirait qu'au cours de la prolifération cellulaire. Cette diversification pourrait avoir lieu, soit par l'expression successive de répliques voisines d'un même gène, soit encore par un processus de mutations somatiques associé à la division cellulaire.

Comparaison entre les caractéristiques d'anticorps homogènes anti-carbohydate, produits par un même animal, après des séries successives d'injections d'antigène, séparées par de larges intervalles de temps (M.Wikler, A.Vienne).

---

Le problème étudié pourrait être formulé de la manière suivante : la mémoire immunologique concerne-t-elle seulement la spécificité de l'anticorps produit, c'est-à-dire la nature de la région variable des chaînes lourdes et légères, ou l'ensemble de la molécule y compris les caractéristiques de la région constante de ces mêmes chaînes ? En d'autres termes, le produit d'un gène déterminant la spécificité peut-il être associé aux produits de gènes déterminant les portions constantes de diverses classes ou variantes existant au sein de ces classes ?

Lorsque nous faisons subir deux séries d'injections de streptocoques hémolytiques à des lapins, à 2-3 mois d'intervalle, les anticorps homogènes ou d'hétérogénéité très restreinte présents après le premier ou le deuxième cycle d'immunisation apparaissent de même mobilité électrophorétique pour un individu donné. De plus les sérums immuns purifiés sur DEAE-cellulose permettent d'observer chez les anticorps homogènes produits après un premier et deuxième cycle d'immunisations, des chromatogrammes identiques d'un cycle à l'autre, au sein d'un même lapin, mais différents d'un lapin à un autre. Les différentes expériences réalisées montrent qu'il n'y a apparemment pas d'évolution dans la réponse immunologique d'un cycle à l'autre, quant à la nature des anticorps. En effet, en plus des chromatogrammes qui sont ressemblants, les proportions relatives des anticorps dominants fractionnés ne varient pas d'un cycle à l'autre. De même, leur affinité de liaison est sensiblement proche. De plus, les acides aminés présents en position 1, 2 et 3 des chaînes légères des anticorps fractionnés du premier cycle ne se distinguent en rien des séquences obtenues pour les fractions homologues des sérums du second cycle d'immunisations. Il y a également conservation d'un cycle à l'autre, des caractères antigéniques liés à l'allotypie.

Les divers paramètres étudiés nous permettent de conclure que la mémoire immunologique fait réapparaître, à des longs intervalles de temps, des molécules d'anticorps dont les chaînes lourdes et légères, du moins dans leur partie variable, sont les mêmes. Le travail en cours vise à étendre ces conclusions à la portion constante des chaînes lourdes et légères.

Mise en évidence d'une tyrosine dans le site actif des anticorps anti-streptocoques homogènes. (D.De Sutter, M. Wikler).

---

L'étude du site actif des anticorps a été rendue difficile par l'hétérogénéité des anticorps dressés contre la plupart des antigènes connus. Mais depuis peu, l'obtention, chez le lapin, d'anticorps à la fois homogènes et abondants, dressés contre des carbohydrates spécifiques de la membrane de streptocoques ou de pneumocoques (Krause, 1970) ouvre la voie à l'analyse structurale précise du site actif.

Des recherches diverses ont fait soupçonner l'importance des résidus tyrosine dans le site actif des anticorps. Récemment, Szpirer et Jeener (1970) ainsi que Fuchs et Givol (1968), ont montré que le tétranitrométhane, réactif spécifique de la tyrosine, désactivait les anticorps anti-TMV ou anti-DNP par nitration d'une tyrosine du site actif.

Nous avons fait une série d'expériences destinées à rechercher, également dans les anticorps antistreptocoques, la présence d'une tyrosine essentielle à leur activité. Les expériences ont été effectuées sur des anticorps homogènes isolés, par chromatographie sur DEAE-cellulose, à partir de sérums de lapins hyperimmunisés. Les sérums utilisés présentaient par électrophorèse une ou plusieurs bandes d'anticorps de mobilité restreinte particulièrement abondants.

Six préparations d'anticorps homogènes provenant de lapins différents ont été soumises à la nitration.

Les résultats obtenus peuvent être résumés comme suit :

- 1) Un excès de 10 à 15 moles de réactif par mole d'anticorps permet de nitrer un résidu tyrosine dans chaque échantillon d'anticorps.
- 2) La modification de cette tyrosine s'accompagne de plus de 50 % de perte d'activité.
- 3) La présence de carbohydrate en quantité suffisante pour former un complexe soluble antigène-anticorps diminue cette nitration de 50 % environ par rapport au témoin, à une concentration donnée en réactif. D'autre part, à un même degré de nitration, la perte d'activité des anticorps protégés par le carbohydrate est réduite de 30 % par rapport au témoin non protégé.

Les données obtenues nous permettent de penser qu'il existe,

dans le site actif de ces anticorps, une tyrosine essentielle pour l'activité, aisément nitrable par le tétranitrométhane et qui peut être protégée du réactif par l'antigène spécifique. Nous avons cherché à localiser dans la molécule d'anticorps la tyrosine modifiée. Le rapport de la nitrotyrosine trouvée sur la chaîne légère et sur la chaîne lourde varie de 1/4 à 2/3 selon la préparation d'anticorps envisagée. Les chaînes lourdes ont été soumises à l'action du bromure de cyanogène, qui permet la préparation du peptide C 1 qui contient la région variable de la chaîne lourde. Ce fragment est enrichi en nitrotyrosine par rapport à la chaîne lourde car il contient les 2/3 du marquage total de cette chaîne.

Les cartes peptidiques obtenues à partir des hydrolysats tryptiques des fragments c 1 ont d'une part, confirmé la grande homogénéité des anticorps préparés, et d'autre part, montré que la totalité de la nitrotyrosine fait partie d'un peptide vraisemblablement de grande taille qui ne migre ni par chromatographie ni par électrophorèse sur papier.



Etude de l'évolution au cours de la réaction immunitaire de la réactivité au tétranitrométhane des tyrosines du site actif de l'anticorps anti-TMV. (R.Jeener).

---

Il a été montré dans des rapports antérieurs que les anticorps anti-TMV purifiés possédaient dans leur site actif une tyrosine hautement réactive, portée soit par la chaîne H, soit par la chaîne L. Cette extrême accessibilité d'une tyrosine du site n'existe que pendant une courte période suivant l'injection de l'antigène (~ 10 j.). La poursuite des recherches a conduit aux résultats suivants :

- 1- Une méthode permettant l'étude de la sensibilité au tétranitrométhane des anticorps anti-TMV sans purification préalable montre que la caractéristique décrite ci-dessus pour une fraction des anticorps correspondant à 12-15 % de la totalité est partagée par tous.
- 2- Le degré d'hétérogénéité électrophorétique des anticorps précoces (<10 j.) à haute sensibilité au tétranitrométhane est le même que celui des anticorps tardifs (>30 j.) où cette sensibilité n'existe pas.  
L'évolution de la caractéristique étudiée concerne donc l'ensemble des anticorps, quelle que soit leur classe, sous-classe, groupe ou sous-groupe (confirmation du résultat antérieur montre que les anticorps purifiés précoces IgG et IgM présentent une haute sensibilité au TNM).
- 3- L'affinité relative des anticorps précoces étudiés a déjà une valeur aussi élevée que celle des anticorps tardifs (>30 j.). Le passage d'une haute sensibilité du site actif au tétranitrométhane à une sensibilité faible ou nulle ne peut donc résulter d'une sélection des cellules productrices d'anticorps basée sur l'affinité relative de leurs récepteurs spécifiques.
- 4- La sensibilité au tétranitrométhane des sites actifs de l'ensemble des anticorps de toutes spécificités produite à la suite d'injections d'un extrait total de E-coli a été testée à des temps variables après injection.  
Bien qu'une très faible sensibilité au tétranitrométhane puisse être mise en évidence, il ressort de l'expérience que l'évolution de la sensibilité au tétranitrométhane des anticorps anti-TMV n'est nullement partagée par la majorité des anticorps de multiples spécificités dressés contre l'ensemble des antigènes d'un extrait total de E-coli.

## PUBLICATIONS

- C. DE VOS-CLOETENS : Apparition d'immunoglobulines non réactives au cours de la réponse immunologique. Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie, 79,1, 1971.
- C. DE VOS-CLOETENS, V.MINSART-BALERIAUX, G.URBAIN-VANSANTEN : Possible relationship between antibodies and non specific immunoglobulins simultaneously induced after antigenic stimulation. Immunology, vol.20, n°6, 1971.
- J. URBAIN, A.VAN ACKER, C. DE VOS-CLOETENS, G.URBAIN-VANSANTEN: Increase and decrease in binding affinity during the immune response. Hoppe -Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie 352, 25, 1971.
- M. WIKLER, Y.VALETTE-ROBIN : Studies on rabbit antistreptococcal carbohydrate antibodies. Hoppe Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie, 352, n°1, 25, 1971.
- C. SZPIRER : Comparison of the Cystein-Containing peptides from rabbit anti tobacco mosaic virus antibody and non specific IgG by peptide mapping. Immunology, vol.20, 1971.
- F. LOOR : Lack of Tolerance to the Tobacco mosaic virus. Hoppe Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie,452,1,1971
- F. LOOR : On the existence of Heterospecific antibodies in sera from rabbits immunized against tobacco mosaic virus determinants. Immunology, 21, 557, 1971.
- J.URBAIN : The homologous relationship between the variable and constant parts of immunoglobulins. Biochemical Genetics 6, 183, 1972.
- J. URBAIN, A.VAN ACKER, C. DE VOS-CLOETENS, G.URBAIN-VANSANTEN : Increase and decrease of binding affinity of antibodies during the immune response and a possible interpretation. Immunochemistry (sous presse).
- J. URBAIN, L. WYNS : Pseudosymmetrical sequences in protein. (soumis à l'éditeur).
- J. URBAIN, A. VAN ACKER, G. URBAIN-VANSANTEN, C. DE VOS-CLOETENS : Interactions between memory cells and antibody producing cells. (soumis à l'éditeur).
- M. WIKLER, A. VIENNE : Relationships between the multiple antibody components of hyperimmunized rabbits to streptococcal carbohydrates. (soumis à l'éditeur).
- D. DE SUTTER, M. WIKLER : Mise en évidence d'une tyrosine dans le site actif des anticorps anti-streptocoques homogènes. Archives internationales Physiol. Bioch. (sous presse)

Séjours à l'Etranger

Bourses accordées

- Jacques URBAIN - 1er Congrès Immunologie Washington  
du 1er au 8 août 1971.
- cours Embo à Bâle du 1er au 15 novembre 1971  
bourse Embo  
bourse Hoffmann-Laroche.
- Annette VAN ACKER
- Laboratoire d'Immunobiologie, Prof.F. DAGUILLARD,  
Québec, Canada, avril et mai 1971.  
bourse FNRS "séjour à l'étranger"  
bourse du Canada.
- Maurice WIKLER - 1er Congrès Immunologie Washington  
du 1er au 8 août 1971.  
bourse de l'Union Internationale des Sociétés  
Immunologiques.
- Christine DE VOS- CLOETENS
- Institut Pasteur, Dr. PANIJEL, Paris  
janvier, février, mars 1971.  
bourse Embo.



CONTRAT EURATOM-I.N.R.A. n° 67-67-1 BIO F

---

DEUXIEME RAPPORT SEMESTRIEL  
ET  
RAPPORT ANNUEL 1971

---

NOTE PRELIMINAIRE

Une erreur de manipulation a obligé le laboratoire à supprimer l'une des deux dernières expériences à 2000 r prévues pour le deuxième semestre de 1971.

En conséquence, le présent rapport ne comporte pas la synthèse de cinq expériences. Celle-ci est reportée au Premier Rapport Semestriel 1972, et l'on se contente, pour l'instant, de fournir toutes les données numériques des quatre premières expériences à 2000 r.

EFFETS DES RADIATIONS IONISANTES SUR DES CARACTERES QUANTITATIFS

CHEZ HABROERACON JUGLANDIS

I - Résultats sur Moyennes

Tableau 1.a. Variances Intrafamilles des Moyennes  
Journalières Individuelles, Expérience 1

| Génotypes   | Variances         | d.l. | Génotypes                    | Variances | d.l. |   |
|-------------|-------------------|------|------------------------------|-----------|------|---|
| Témoins (t) | 3.4               | 5    | Hétérozygotes (h)<br>(suite) | 3.0       | 5    |   |
|             | 6.7               | 5    |                              | 12.4      | 5    |   |
|             | 17.0              | 5    |                              | 1.4       | 5    |   |
|             | 2.2               | 5    |                              | 0.6       | 5    |   |
|             | 0.3               | 5    |                              | 10.8      | 5    |   |
|             | 7.1               | 5    |                              | 3.2       | 5    |   |
|             | 3.1               | 5    |                              | 4.2       | 5    |   |
|             | 22.7              | 5    | Homozygotes (r)              | 5.9       | 5    |   |
|             | 7.8               | 5    |                              | 36.3      | 5    |   |
|             | 1.0               | 5    |                              | 25.9      | 5    |   |
|             | 3.8               | 4    |                              | 1.5       | 5    |   |
|             | 1.0               | 5    |                              | 1.6       | 5    |   |
|             | 1.9               | 5    |                              | 4.3       | 5    |   |
|             | 1.8               | 4    |                              | 2.7       | 5    |   |
|             | 21.1              | 5    |                              | 58.3      | 5    |   |
|             | Hétérozygotes (h) | 20.2 |                              | 5         | 7.0  | 5 |
|             |                   | 8.3  |                              | 5         | 5.4  | 5 |
| 18.4        |                   | 5    | 3.8                          | 5         |      |   |
| 12.3        |                   | 5    | 3.5                          | 5         |      |   |
| 2.8         |                   | 5    | 1.1                          | 5         |      |   |
| 1.4         |                   | 5    | 0.7                          | 5         |      |   |
| 5.4         |                   | 5    | 3.9                          | 5         |      |   |
| 2.0         |                   | 4    | 1.9                          | 5         |      |   |
| 11.8        |                   | 5    | 3.0                          | 5         |      |   |
| 19.8        |                   | 5    | 11.9                         | 5         |      |   |
| 9.1         |                   | 5    | 5.5                          | 5         |      |   |
| 5.8         |                   | 5    | 10.3                         | 5         |      |   |
| 5.0         |                   | 5    | 9.9                          | 5         |      |   |
| 8.3         |                   | 5    | 0.7                          | 5         |      |   |
| 4.4         |                   | 5    | 5.0                          | 5         |      |   |
| 2.2         |                   | 5    | 4.3                          | 5         |      |   |
| 12.2        |                   | 5    | 27.1                         | 5         |      |   |
| 19.6        |                   | 5    | 13.4                         | 5         |      |   |
| 11.5        |                   | 5    | 1.1                          | 5         |      |   |
| 2.0         | 5                 | 1.4  | 5                            |           |      |   |
| 1.2         | 5                 | 2.0  | 5                            |           |      |   |
| 7.1         | 5                 | 2.0  | 5                            |           |      |   |
| 10.6        | 5                 |      |                              |           |      |   |

Tableau 1.b. Variances Intrafamiliales des Moyennes  
Journalières Individuelles. Expérience 2

| Génotypes   | Variances         | d.l. | Génotypes         | Variances       | d.l. |   |
|-------------|-------------------|------|-------------------|-----------------|------|---|
| Témoins (t) | 3.8               | 5    | Hétérozygotes (h) | 15.6            | 5    |   |
|             | 3.0               | 5    |                   | 17.4            | 5    |   |
|             | 20.3              | 5    |                   | 32.0            | 5    |   |
|             | 5.4               | 5    |                   | 17.9            | 5    |   |
|             | 13.9              | 5    |                   | 26.7            | 5    |   |
|             | 3.9               | 5    |                   | 13.9            | 5    |   |
|             | 19.9              | 5    |                   | 20.4            | 5    |   |
|             | 3.5               | 5    |                   | Homozygotes (r) | 20.8 | 5 |
|             | 0.6               | 5    | 24.7              |                 | 5    |   |
|             | 2.8               | 5    | 29.1              |                 | 5    |   |
|             | 6.7               | 5    | 29.2              |                 | 5    |   |
|             | 2.3               | 5    | 16.7              |                 | 5    |   |
|             | 47.1              | 5    | 4.3               |                 | 5    |   |
|             | 14.3              | 5    | 14.2              |                 | 5    |   |
|             | 23.5              | 5    | 5.4               |                 | 5    |   |
|             | Hétérozygotes (h) | 29.8 | 5                 |                 | 4.2  | 5 |
|             |                   | 10.3 | 5                 |                 | 7.4  | 5 |
| 23.8        |                   | 5    | 11.5              | 5               |      |   |
| 18.3        |                   | 5    | 2.4               | 5               |      |   |
| 9.1         |                   | 5    | 46.4              | 5               |      |   |
| 36.3        |                   | 5    | 9.1               | 5               |      |   |
| 15.6        |                   | 5    | 1.9               | 5               |      |   |
| 29.2        |                   | 5    | 5.1               | 5               |      |   |
| 4.3         |                   | 5    | 12.4              | 5               |      |   |
| 18.2        |                   | 5    | 19.8              | 5               |      |   |
| 17.9        |                   | 5    | 5.1               | 5               |      |   |
| 29.9        |                   | 5    | 7.0               | 5               |      |   |
| 15.1        |                   | 5    | 14.0              | 5               |      |   |
| 16.4        |                   | 5    | 19.8              | 5               |      |   |
| 7.5         |                   | 5    | 1.0               | 5               |      |   |
| 31.5        |                   | 5    | 29.1              | 5               |      |   |
| 19.4        |                   | 5    | 2.3               | 5               |      |   |
| 20.3        |                   | 5    | 3.2               | 5               |      |   |
| 9.1         |                   | 5    | 25.9              | 5               |      |   |
| 6.4         |                   | 5    | 6.3               | 5               |      |   |
| 7.5         | 5                 | 63.9 | 5                 |                 |      |   |
| 7.8         | 5                 | 10.2 | 5                 |                 |      |   |
| 21.1        | 5                 |      |                   |                 |      |   |

Tableau 1.c. Variances Intrafamiliales des Moyennes  
Journalières Individuelles. Expérience 3

| Génotypes   | Variances         | d.l. | Génotypes         | Variances | d.l. |   |
|-------------|-------------------|------|-------------------|-----------|------|---|
| Témoins (t) | 1.9               | 5    | Hétérozygotes (h) | 16.2      | 5    |   |
|             | 1.4               | 5    |                   | 35.5      | 5    |   |
|             | 9.5               | 5    |                   | 11.4      | 5    |   |
|             | 14.3              | 5    |                   | 3.5       | 5    |   |
|             | 2.8               | 4    |                   | 13.0      | 5    |   |
|             | 18.4              | 5    |                   | 32.7      | 5    |   |
|             | 21.2              | 4    | Homozygotes (r)   | 4.6       | 5    |   |
|             | 3.6               | 5    |                   | 2.7       | 5    |   |
|             | 25.6              | 5    |                   | 11.0      | 5    |   |
|             | 4.2               | 5    |                   | 25.0      | 5    |   |
|             | 41.9              | 5    |                   | 29.5      | 5    |   |
|             | 24.7              | 5    |                   | 8.6       | 5    |   |
|             | 11.9              | 5    |                   | 10.3      | 5    |   |
|             | Hétérozygotes (h) | 32.7 |                   | 5         | 3.5  | 5 |
|             |                   | 15.0 |                   | 5         | 7.8  | 5 |
| 11.6        |                   | 5    |                   | 3.8       | 5    |   |
| 2.3         |                   | 5    |                   | 18.7      | 5    |   |
| 18.6        |                   | 5    |                   | 3.0       | 5    |   |
| 10.2        |                   | 5    |                   | 14.8      | 5    |   |
| 13.1        |                   | 5    |                   | 4.3       | 5    |   |
| 7.5         |                   | 5    | 5.9               | 5         |      |   |
| 4.7         |                   | 5    | 7.8               | 5         |      |   |
| 3.8         |                   | 5    | 7.8               | 5         |      |   |
| 19.8        |                   | 5    | 6.3               | 5         |      |   |
| 3.0         |                   | 5    | 25.1              | 5         |      |   |
| 9.2         |                   | 5    | 11.9              | 5         |      |   |
| 2.2         |                   | 5    | 15.9              | 5         |      |   |
| 10.3        |                   | 5    | 26.3              | 5         |      |   |
| 10.3        |                   | 5    | 37.1              | 5         |      |   |
| 16.3        |                   | 5    | 15.5              | 5         |      |   |
| 12.3        |                   | 5    | 21.4              | 5         |      |   |
| 29.5        |                   | 5    | 3.1               | 5         |      |   |
| 6.2         |                   | 5    | 1.4               | 5         |      |   |
| 19.5        | 5                 | 15.5 | 5                 |           |      |   |
| 15.0        | 5                 | 3.4  | 5                 |           |      |   |
| 8.7         | 5                 | 3.8  | 5                 |           |      |   |
| 10.0        | 5                 |      |                   |           |      |   |



Tableau 1.d. Variances Intrafamiliales des Moyennes  
Journalières Individuelles. Expérience 4

| Génotypes   | Variances         | d.l. | Génotypes                    | Variances | d.l. |   |
|-------------|-------------------|------|------------------------------|-----------|------|---|
| Témoins (t) | 45.1              | 5    | Hétérozygotes (h)<br>(suite) | 21.1      | 5    |   |
|             | 24.7              | 5    |                              | 39.4      | 5    |   |
|             | 14.3              | 5    |                              | 27.5      | 5    |   |
|             | 29.8              | 5    |                              | 17.0      | 5    |   |
|             | 29.1              | 5    |                              | 32.7      | 5    |   |
|             | 32.7              | 4    | 8.2                          | 5         |      |   |
|             | 36.6              | 5    | 12.3                         | 5         |      |   |
|             | 6.7               | 5    | Homozygotes (r)              | 38.8      | 5    |   |
|             | 13.1              | 5    |                              | 36.0      | 5    |   |
|             | 28.3              | 5    |                              | 23.4      | 5    |   |
|             | 2.0               | 5    |                              | 24.6      | 5    |   |
|             | 55.9              | 5    |                              | 37.5      | 5    |   |
|             | 1.1               | 5    |                              | 44.0      | 5    |   |
|             | 24.4              | 5    |                              | 20.0      | 5    |   |
|             | 2.7               | 5    |                              | 20.8      | 5    |   |
|             | Hétérozygotes (h) | 17.1 |                              | 5         | 4.6  | 5 |
|             |                   | 10.4 |                              | 5         | 11.7 | 4 |
| 25.9        |                   | 5    |                              | 17.9      | 5    |   |
| 17.9        |                   | 5    |                              | 2.7       | 5    |   |
| 28.8        |                   | 5    | 36.2                         | 5         |      |   |
| 30.6        |                   | 5    | 20.2                         | 5         |      |   |
| 13.8        |                   | 5    | 25.9                         | 5         |      |   |
| 24.6        |                   | 5    | 3.8                          | 5         |      |   |
| 9.2         |                   | 5    | 9.9                          | 5         |      |   |
| 27.0        |                   | 5    | 29.9                         | 5         |      |   |
| 1.0         |                   | 5    | 8.7                          | 5         |      |   |
| 18.7        |                   | 5    | 73.4                         | 5         |      |   |
| 3.5         |                   | 5    | 9.8                          | 5         |      |   |
| 12.3        |                   | 5    | 11.4                         | 5         |      |   |
| 38.4        |                   | 5    | 31.1                         | 5         |      |   |
| 8.3         |                   | 5    | 24.7                         | 5         |      |   |
| 20.3        |                   | 5    | 26.4                         | 5         |      |   |
| 27.5        |                   | 5    | 3.5                          | 5         |      |   |
| 9.4         |                   | 5    | 18.7                         | 5         |      |   |
| 10.8        |                   | 5    | 8.3                          | 5         |      |   |
| 2.7         | 5                 | 15.0 | 5                            |           |      |   |
| 15.4        | 5                 | 7.0  | 5                            |           |      |   |
| 26.3        | 5                 |      |                              |           |      |   |

Tableau 2.a. Moyennes Individuelles Journalières/Famille.  
Expérience 1

|                   |       |       |       |       |       | Totaux | Moyennes non Pondérées |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------------------------|
| Témoins (t)       | 10.77 | 7.33  | 7.90  | 7.91  | 8.46  | 127.36 | 8.49                   |
|                   | 9.95  | 8.51  | 9.19  | 8.80  | 9.28  |        |                        |
|                   | 8.22  | 8.32  | 8.54  | 8.64  | 5.54  |        |                        |
| Hétérozygotes (h) | 8.91  | 9.12  | 6.84  | 6.31  | 9.91  | 242.33 | 8.08                   |
|                   | 8.37  | 7.80  | 9.06  | 7.54  | 9.08  |        |                        |
|                   | 6.05  | 6.97  | 7.79  | 8.75  | 6.09  |        |                        |
|                   | 7.64  | 5.98  | 8.60  | 9.16  | 8.24  |        |                        |
|                   | 9.99  | 8.03  | 8.34  | 8.15  | 7.21  |        |                        |
|                   | 8.87  | 7.66  | 9.34  | 7.04  | 9.49  |        |                        |
| Homozygotes (r)   | 10.69 | 7.18  | 6.54  | 7.74  | 10.85 | 261.26 | 8.71                   |
|                   | 8.46  | 10.16 | 8.48  | 6.94  | 10.78 |        |                        |
|                   | 6.67  | 7.31  | 8.64  | 10.42 | 9.40  |        |                        |
|                   | 9.72  | 10.16 | 6.37  | 10.25 | 6.50  |        |                        |
|                   | 5.26  | 10.43 | 11.30 | 10.01 | 6.51  |        |                        |
|                   | 7.03  | 8.64  | 8.75  | 10.00 | 10.07 |        |                        |

Tableau 2.b. Moyennes Individuelles Journalières/Famille.  
Expérience 2

|                   |       |       |      |       |       | Totaux | Moyennes non Pondérées |
|-------------------|-------|-------|------|-------|-------|--------|------------------------|
| Témoins (t)       | 7.68  | 9.57  | 8.28 | 5.89  | 6.34  | 119.12 | 7.94                   |
|                   | 6.30  | 5.66  | 8.37 | 9.01  | 8.83  |        |                        |
|                   | 9.40  | 9.03  | 7.92 | 8.14  | 8.70  |        |                        |
| Hétérozygotes (h) | 4.79  | 1.50  | 6.21 | 5.51  | 4.40  | 187.02 | 6.23                   |
|                   | 7.46  | 5.23  | 6.07 | 7.26  | 8.07  |        |                        |
|                   | 6.66  | 6.54  | 3.80 | 6.90  | 9.41  |        |                        |
|                   | 6.93  | 2.92  | 3.43 | 5.69  | 9.11  |        |                        |
|                   | 4.09  | 5.60  | 7.71 | 5.65  | 6.71  |        |                        |
|                   | 6.07  | 10.07 | 4.22 | 10.80 | 8.21  |        |                        |
| Homozygotes (r)   | 13.12 | 8.55  | 5.60 | 7.15  | 6.17  | 254.49 | 8.48                   |
|                   | 8.55  | 8.84  | 9.20 | 9.16  | 7.40  |        |                        |
|                   | 8.58  | 9.03  | 7.68 | 6.52  | 9.73  |        |                        |
|                   | 10.63 | 7.05  | 8.15 | 9.27  | 10.04 |        |                        |
|                   | 9.53  | 8.53  | 7.92 | 3.64  | 10.36 |        |                        |
|                   | 9.97  | 9.78  | 6.70 | 8.56  | 9.08  |        |                        |

Tableau 2.c. Moyennes Individuelles Journalières/Famille.  
Expérience 3.

|                   |       |       |       |       |       | Totaux | Moyennes non Pondérées |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------------------------|
| Témoins (t)       | 9.68  | 12.20 | 7.93  | 11.08 | 9.38  | 117.75 | 9.06                   |
|                   | 8.04  | 7.43  | 12.04 | 5.93  | 8.90  |        |                        |
|                   | 8.34  | 8.38  | 8.42  |       |       |        |                        |
| Hétérozygotes (h) | 6.73  | 5.89  | 11.72 | 7.47  | 8.40  | 247.94 | 8.26                   |
|                   | 8.29  | 8.57  | 8.12  | 9.22  | 11.09 |        |                        |
|                   | 8.26  | 8.85  | 8.93  | 9.19  | 10.19 |        |                        |
|                   | 7.66  | 9.35  | 5.62  | 6.61  | 8.50  |        |                        |
|                   | 7.55  | 8.41  | 7.28  | 8.93  | 5.07  |        |                        |
|                   | 7.71  | 4.95  | 8.97  | 11.17 | 9.24  |        |                        |
| Homozygotes (r)   | 11.05 | 9.63  | 8.37  | 8.72  | 9.40  | 281.45 | 9.38                   |
|                   | 11.41 | 9.47  | 10.70 | 11.32 | 9.01  |        |                        |
|                   | 4.54  | 11.92 | 8.06  | 11.53 | 9.22  |        |                        |
|                   | 11.70 | 9.07  | 9.45  | 10.29 | 10.91 |        |                        |
|                   | 7.54  | 7.97  | 5.69  | 9.13  | 8.63  |        |                        |
|                   | 11.64 | 9.86  | 6.32  | 10.93 | 7.97  |        |                        |

Tableau 2.d. Moyennes Individuelles Journalières/Famille.  
Expérience 4

|                   |       |       |       |       |       | Totaux | Moyennes non Pondérées |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------------------------|
| Témoins (t)       | 7.77  | 4.51  | 6.67  | 6.77  | 6.79  | 102.40 | 6.83                   |
|                   | 6.58  | 6.57  | 8.66  | 4.13  | 3.88  |        |                        |
|                   | 10.02 | 6.53  | 9.78  | 7.10  | 6.64  |        |                        |
| Hétérozygotes (h) | 6.09  | 3.86  | 8.94  | 8.94  | 6.18  | 240.27 | 8.01                   |
|                   | 11.11 | 10.53 | 12.71 | 7.28  | 11.47 |        |                        |
|                   | 10.16 | 3.15  | 11.38 | 9.09  | 6.79  |        |                        |
|                   | 2.61  | 8.13  | 5.92  | 10.39 | 2.85  |        |                        |
|                   | 10.91 | 3.34  | 7.70  | 9.01  | 8.66  |        |                        |
|                   | 6.76  | 4.41  | 8.36  | 12.81 | 10.73 |        |                        |
| Homozygotes (r)   | 5.58  | 5.18  | 4.29  | 8.25  | 9.62  | 234.41 | 7.81                   |
|                   | 7.62  | 7.14  | 3.89  | 10.15 | 9.27  |        |                        |
|                   | 7.64  | 11.23 | 4.15  | 3.36  | 9.90  |        |                        |
|                   | 8.21  | 9.45  | 9.11  | 8.17  | 8.10  |        |                        |
|                   | 10.93 | 2.12  | 8.76  | 9.35  | 8.84  |        |                        |
|                   | 10.14 | 8.73  | 7.84  | 8.81  | 8.58  |        |                        |

Tableau 3.a. Variances Intermoyennes Intragénotypes.  
Expérience 1.

| Génotypes         | $s^2$ | $\log s^2$ |
|-------------------|-------|------------|
| Témoins (t)       | 1.38  | 0.139 88   |
| Hétérozygotes (h) | 1.31  | 0.117 27   |
| Homozygotes (r)   | 2.96  | 0.471 29   |

Tableau 3.b. Variances Intermoyennes Intragénotypes.  
Expérience 2.

| Génotypes         | $s^2$ | $\log s^2$ |
|-------------------|-------|------------|
| Témoins (t)       | 1.68  | 0.225 31   |
| Hétérozygotes (h) | 4.52  | 0.655 14   |
| Homozygotes (r)   | 3.14  | 0.496 93   |

Tableau 3.c. Variances Intermoyennes Intragénotypes.  
Expérience 3

| Génotypes         | $s^2$ | $\log s^2$ |
|-------------------|-------|------------|
| Témoins (t)       | 3.29  | 0.517 19   |
| Hétérozygotes (h) | 2.74  | 0.437 75   |
| Homozygotes (r)   | 3.36  | 0.526 34   |

Tableau 3.d. Variances Intermoyennes Intragénotypes.  
Expérience 4

| Génotypes         | $s^2$ | $\log s^2$ |
|-------------------|-------|------------|
| Témoins (t)       | 3.20  | 0.505 15   |
| Hétérozygotes (h) | 9.01  | 0.954 72   |
| Homozygotes (r)   | 5.50  | 0.740 36   |

Tableau 4.a. Régression Linéaire Simple des Moyennes Individuelles Journalières sur le Nombre Total de Jours de Ponte. Expérience 1.

| Source de Variation                | d.l. | S.C.    | C.M.       |
|------------------------------------|------|---------|------------|
| <u>Individus témoins (t)</u>       |      |         |            |
| Totale                             | 87   | 641.59  |            |
| Régression                         | 1    | 103.99  | 103.99**   |
| Erreur                             | 86   | 537.60  | 6.25       |
| b = - 0.31 ± 0.08                  |      |         |            |
| <u>Individus hétérozygotes (h)</u> |      |         |            |
| Totale                             | 178  | 1453.51 |            |
| Régression                         | 1    | 29.49   | 29.49 N.S. |
| Erreur                             | 177  | 1424.02 | 8.04       |
| b = N.S.                           |      |         |            |
| <u>Individus homozygotes (r)</u>   |      |         |            |
| Totale                             | 179  | 1807.58 |            |
| Régression                         | 1    | 55.29   | 55.29*     |
| Erreur                             | 178  | 1752.29 | 9.84       |
| b = - 0.18 ± 0.07                  |      |         |            |
| N.S. : Non Significatif            |      |         |            |
| ** : Significatif à P.01           |      |         |            |
| * : Significatif à P.05            |      |         |            |

Tableau 4.b. Régression Linéaire Simple des Moyennes Individuelles Journalières sur le Nombre Total de Jours de Ponte. Expérience 2

| Source de Variation                | d.l. | S.C.    | C.M.       |
|------------------------------------|------|---------|------------|
| <u>Individus témoins (t)</u>       |      |         |            |
| Totale                             | 89   | 1030.40 |            |
| Régression                         | 1    | 46.22   | 46.22*     |
| Erreur                             | 88   | 984.18  | 11.18      |
| $b = - 0.16 \pm 0.08$              |      |         |            |
| <u>Individus hétérozygotes (h)</u> |      |         |            |
| Totale                             | 179  | 3488.31 |            |
| Régression                         | 1    | 59.33   | 59.33 N.S. |
| Erreur                             | 178  | 3428.98 | 19.26      |
| $b = N.S.$                         |      |         |            |
| <u>Individus homozygotes (r)</u>   |      |         |            |
| Totale                             | 179  | 2889.24 |            |
| Régression                         | 1    | 564.94  | 564.94**   |
| Erreur                             | 178  | 2324.30 | 13.06      |
| $b = - 0.39 \pm 0.06$              |      |         |            |

Tableau 4.c. Régression Linéaire Simple des Moyennes Individuelles  
Journalières sur le Nombre Total de Jours de Ponte.  
Expérience 3

| Source de Variation                | d.l. | S.C.    | C.M.      |
|------------------------------------|------|---------|-----------|
| <u>Individus témoins (t)</u>       |      |         |           |
| Totale                             | 75   | 1119.74 |           |
| Régression                         | 1    | 176.84  | 176.84**  |
| Erreur                             | 74   | 942.90  | 12.74     |
| b = - 0.36 ± 0.10                  |      |         |           |
| <u>Individus hétérozygotes (h)</u> |      |         |           |
| Totale                             | 179  | 2542.73 |           |
| Régression                         | 1    | 0.00    | 0.00 N.S. |
| Erreur                             | 178  | 2542.73 | 14.28     |
| b = N.S.                           |      |         |           |
| <u>Individus homozygotes (r)</u>   |      |         |           |
| Totale                             | 179  | 2457.39 |           |
| Régression                         | 1    | 0.54    | 0.54 N.S. |
| Erreur                             | 178  | 2456.85 | 13.80     |
| b = N.S.                           |      |         |           |

Tableau 4.d. Régression Linéaire Simple des Moyennes Individuelles  
Journalières sur le Nombre Total de Jours de Ponte.  
Expérience 4

| Source de Variation                | d.l. | S.C.    | C.M.  |
|------------------------------------|------|---------|-------|
| <u>Individus témoins (t)</u>       |      |         |       |
| Totale                             | 88   | 1950.00 |       |
| Régression                         | 1    | 12.53   | 12.53 |
| Erreur                             | 87   | 1937.47 | 22.27 |
| b = N.S.                           |      |         |       |
| <u>Individus hétérozygotes (h)</u> |      |         |       |
| Totale                             | 179  | 4507.80 |       |
| Régression                         | 1    | 0.83    | 0.83  |
| Erreur                             | 178  | 4506.97 | 25.32 |
| b = N.S.                           |      |         |       |
| <u>Individus homozygotes (r)</u>   |      |         |       |
| Totale                             | 178  | 4292.16 |       |
| Régression                         | 1    | 10.13   | 10.13 |
| Erreur                             | 177  | 4282.03 | 24.19 |
| b = N.S.                           |      |         |       |



II - Résultats sur Totaux

Tableau 5.a. Variances Intrafamilles des Totaux Individuels.  
Expérience 1

| Génotypes   | Variances         | d.l.     | Génotypes                    | Variances       | d.l.     |   |
|-------------|-------------------|----------|------------------------------|-----------------|----------|---|
| Témoins (t) | 3 181.0           | 5        | Hétérozygotes (h)<br>(suite) | 4 120.3         | 5        |   |
|             | 8 703.8           | 5        |                              | 16 367.6        | 5        |   |
|             | 21 059.0          | 5        |                              | 2 307.9         | 5        |   |
|             | 3 005.1           | 5        |                              | 924.4           | 5        |   |
|             | 330.6             | 5        |                              | 2 337.1         | 5        |   |
|             | 8 016.0           | 5        |                              | 4 462.8         | 5        |   |
|             | 3 171.0           | 5        |                              | 10 197.0        | 5        |   |
|             | 1 089.8           | 5        |                              |                 |          |   |
|             | 9 067.6           | 5        |                              | Homozygotes (r) | 5 667.1  | 5 |
|             | 1 028.6           | 5        |                              |                 | 30 280.7 | 5 |
|             | 4 506.2           | 4        | 30 181.9                     |                 | 5        |   |
|             | 1 387.4           | 5        | 1 404.3                      |                 | 5        |   |
|             | 2 995.8           | 5        | 1 357.6                      |                 | 5        |   |
|             | 3 286.3           | 4        | 5 115.6                      |                 | 5        |   |
|             | 24 799.4          | 5        | 3 344.7                      |                 | 5        |   |
|             |                   |          | 50 704.7                     |                 | 5        |   |
|             | Hétérozygotes (h) | 22 773.4 | 5                            |                 | 9 699.2  | 5 |
|             |                   | 5 970.2  | 5                            |                 | 6 012.6  | 5 |
|             |                   | 14 935.9 | 5                            | 4 868.3         | 5        |   |
|             |                   | 14 220.6 | 5                            | 3 824.0         | 5        |   |
| 3 759.8     |                   | 5        | 1 047.5                      | 5               |          |   |
| 1 758.7     |                   | 5        | 2 221.5                      | 5               |          |   |
| 6 918.6     |                   | 5        | 5 184.3                      | 5               |          |   |
| 1 660.2     |                   | 4        | 2 715.9                      | 5               |          |   |
| 4 807.1     |                   | 5        | 4 598.3                      | 5               |          |   |
| 8 055.2     |                   | 5        | 15 414.3                     | 5               |          |   |
| 15 113.5    |                   | 5        | 7 061.4                      | 5               |          |   |
| 11 259.1    |                   | 5        | 12 546.7                     | 5               |          |   |
| 10 270.7    |                   | 5        | 11 211.5                     | 5               |          |   |
| 9 113.5     |                   | 5        | 928.2                        | 5               |          |   |
| 5 972.0     |                   | 5        | 5 532.7                      | 5               |          |   |
| 10 472.8    |                   | 5        | 31 720.7                     | 5               |          |   |
| 14 382.6    |                   | 5        | 16 423.8                     | 5               |          |   |
| 29 006.6    |                   | 5        | 384.7                        | 5               |          |   |
| 1 481.6     |                   | 5        | 932.7                        | 5               |          |   |
| 10 519.9    |                   | 5        | 2 619.1                      | 5               |          |   |
| 480.7       |                   | 5        | 2 253.9                      | 5               |          |   |
| 3 495.1     |                   | 5        | 3 211.1                      | 5               |          |   |
| 15 169.4    |                   | 5        |                              |                 |          |   |

Tableau 5.b. Variances Intrafamilles des Totaux Individuels.  
Expérience 2

| Génotypes   | Variances         | d.l.     | Génotypes                    | Variances | d.l.    |   |
|-------------|-------------------|----------|------------------------------|-----------|---------|---|
| Témoins (t) | 4 454.7           | 5        | Hétérozygotes (h)<br>(suite) | 25 503.5  | 5       |   |
|             | 4 098.3           | 5        |                              | 17 821.9  | 5       |   |
|             | 17 239.5          | 5        |                              | 19 648.7  | 5       |   |
|             | 7 056.4           | 5        |                              | 39 954.7  | 5       |   |
|             | 17 121.5          | 5        |                              | 15 053.6  | 5       |   |
|             | 4 143.1           | 5        |                              | 24 162.2  | 5       |   |
|             | 25 552.6          | 5        |                              | 16 261.1  | 5       |   |
|             | 3 298.7           | 5        | Homozygotes (r)              | 2 104.7   | 5       |   |
|             | 963.9             | 5        |                              | 29 374.7  | 5       |   |
|             | 4 063.0           | 5        |                              | 34 030.3  | 5       |   |
|             | 6 930.3           | 5        |                              | 6 457.9   | 5       |   |
|             | 1 002.7           | 5        |                              | 20 827.0  | 5       |   |
|             | 4 571.8           | 5        |                              | 4 649.1   | 5       |   |
|             | 17 520.7          | 5        |                              | 9 115.0   | 5       |   |
|             | 27 927.1          | 5        |                              | 6 848.7   | 5       |   |
|             | Hétérozygotes (h) | 36 081.0 |                              | 5         | 959.5   | 5 |
|             |                   | 7 125.8  |                              | 5         | 8 660.3 | 5 |
| 26 999.9    |                   | 5        |                              | 13 829.5  | 5       |   |
| 22 204.6    |                   | 5        |                              | 2 178.4   | 5       |   |
| 9 879.5     |                   | 5        |                              | 6 528.7   | 5       |   |
| 43 956.8    |                   | 5        |                              | 6 406.7   | 5       |   |
| 18 798.3    |                   | 5        |                              | 1 873.1   | 5       |   |
| 35 348.3    |                   | 5        |                              | 5 838.3   | 5       |   |
| 4 722.3     |                   | 5        |                              | 14 732.8  | 5       |   |
| 19 888.0    |                   | 5        | 24 313.1                     | 5         |         |   |
| 20 803.5    |                   | 5        | 5 473.4                      | 5         |         |   |
| 37 276.3    |                   | 5        | 9 943.9                      | 5         |         |   |
| 19 132.3    |                   | 5        | 26 445.4                     | 5         |         |   |
| 20 513.1    |                   | 5        | 21 749.1                     | 5         |         |   |
| 7 213.1     |                   | 5        | 1 507.9                      | 5         |         |   |
| 39 376.6    |                   | 5        | 34 391.5                     | 5         |         |   |
| 24 388.7    |                   | 5        | 4 564.6                      | 5         |         |   |
| 24 832.7    |                   | 5        | 3 570.6                      | 5         |         |   |
| 11 697.4    |                   | 5        | 7 476.7                      | 5         |         |   |
| 24 623.1    |                   | 5        | 6 790.7                      | 5         |         |   |
| 11 697.4    |                   | 5        | 7 476.7                      | 5         |         |   |
| 24 623.1    |                   | 5        | 6 790.7                      | 5         |         |   |
| 7 959.8     |                   | 5        | 9 581.2                      | 5         |         |   |
| 8 713.6     |                   | 5        | 16 210.0                     | 5         |         |   |
| 8 354.6     |                   | 5        |                              |           |         |   |

Tableau 5.c. Variances Intrafamilles des Totaux Individuels.  
Expérience 3

| Génotypes   | Variances         | d.l.     | Génotypes                    | Variances | d.l.     |   |
|-------------|-------------------|----------|------------------------------|-----------|----------|---|
| Témoins (t) | 2 409.1           | 5        | Hétérozygotes (h)<br>(suite) | 13 343.1  | 5        |   |
|             | 613.1             | 5        |                              | 27 422.8  | 5        |   |
|             | 17 509.6          | 5        |                              | 13 324.2  | 5        |   |
|             | 8 962.6           | 5        |                              | 10 403.5  | 5        |   |
|             | 2 667.7           | 4        |                              | 7 980.7   | 5        |   |
|             | 22 170.3          | 5        |                              | 36 777.0  | 5        |   |
|             | 19 313.2          | 4        | Homozygotes (r)              | 2 067.1   | 5        |   |
|             | 3 129.1           | 5        |                              | 4 614.2   | 5        |   |
|             | 30 889.9          | 5        |                              | 2 924.3   | 5        |   |
|             | 3 454.4           | 5        |                              | 27 959.9  | 5        |   |
|             | 19 526.8          | 5        |                              | 43 520.0  | 5        |   |
|             | 19 571.6          | 5        |                              | 11 510.3  | 5        |   |
|             | 11 811.9          | 5        |                              | 9 816.6   | 5        |   |
|             | Hétérozygotes (h) | 40 027.4 |                              | 5         | 5 214.0  | 5 |
|             |                   | 17 494.8 |                              | 5         | 16 296.2 | 5 |
| 8 419.0     |                   | 5        |                              | 4 779.8   | 5        |   |
| 1 979.5     |                   | 5        |                              | 24 283.4  | 5        |   |
| 20 887.0    |                   | 5        |                              | 901.1     | 5        |   |
| 10 592.6    |                   | 5        |                              | 20 754.7  | 5        |   |
| 12 487.5    |                   | 5        |                              | 5 552.7   | 5        |   |
| 11 577.9    |                   | 5        |                              | 5 891.2   | 5        |   |
| 2 717.2     |                   | 5        | 4 675.0                      | 5         |          |   |
| 3 491.0     |                   | 5        | 6 829.5                      | 5         |          |   |
| 30 145.8    |                   | 5        | 8 405.0                      | 5         |          |   |
| 3 669.6     |                   | 5        | 19 316.7                     | 5         |          |   |
| 11 092.7    |                   | 5        | 17 768.8                     | 5         |          |   |
| 2 070.0     |                   | 5        | 13 409.9                     | 5         |          |   |
| 8 903.6     |                   | 5        | 32 178.7                     | 5         |          |   |
| 12 797.0    |                   | 5        | 43 099.4                     | 5         |          |   |
| 15 069.5    |                   | 5        | 12 615.5                     | 5         |          |   |
| 13 693.1    |                   | 5        | 24 635.0                     | 5         |          |   |
| 27 145.6    |                   | 5        | 1 966.7                      | 5         |          |   |
| 7 281.5     |                   | 5        | 1 531.5                      | 5         |          |   |
| 23 011.9    |                   | 5        | 12 292.3                     | 5         |          |   |
| 23 769.5    |                   | 5        | 5 054.2                      | 5         |          |   |
| 7 876.7     |                   | 5        | 4 157.8                      | 5         |          |   |
| 13 609.5    |                   | 5        |                              |           |          |   |

Tableau 5.d. Variances Intrafamilles des Totaux Individuels. Expérience 4

| Génotypes         | Variances | d.l.    | Génotypes                    | Variances       | d.l.     |
|-------------------|-----------|---------|------------------------------|-----------------|----------|
| Témoins (t)       | 30 717.5  | 5       | Hétérozygotes (h)<br>(suite) | 20 895.8        | 5        |
|                   | 14 053.8  | 5       |                              | 17 453.4        | 5        |
|                   | 18 127.9  | 5       |                              | 32 059.4        | 5        |
|                   | 29 743.8  | 5       |                              | 16 167.4        | 5        |
|                   | 18 016.3  | 5       |                              | 26 791.2        | 5        |
|                   | 26 150.3  | 4       |                              | 4 024.4         | 5        |
|                   | 27 576.6  | 5       |                              | 9 711.0         | 5        |
|                   | 6 287.5   | 5       |                              |                 |          |
|                   | 11 656.7  | 5       |                              | Homozygotes (r) | 25 486.6 |
|                   | 14 294.3  | 5       | 13 128.2                     |                 | 5        |
|                   | 893.1     | 5       | 15 280.6                     |                 | 5        |
|                   | 20 497.1  | 5       | 27 797.9                     |                 | 5        |
|                   | 5 160.8   | 5       | 26 046.7                     |                 | 5        |
|                   | 23 033.6  | 5       | 36 559.8                     |                 | 5        |
|                   | 3 075.4   | 5       | 22 655.4                     |                 | 5        |
|                   |           |         | 23 868.4                     |                 | 5        |
|                   |           |         | 5 157.1                      |                 | 5        |
|                   |           | 5 118.2 | 4                            |                 |          |
| Hétérozygotes (h) | 15 092.6  | 5       | 21 787.9                     | 5               |          |
|                   | 12 793.0  | 5       | 6 499.8                      | 5               |          |
|                   | 21 864.4  | 5       | 33 920.2                     | 5               |          |
|                   | 17 474.3  | 5       | 16 649.9                     | 5               |          |
|                   | 21 089.6  | 5       | 22 210.2                     | 5               |          |
|                   | 29 432.0  | 5       | 10 549.5                     | 5               |          |
|                   | 2 755.6   | 5       | 4 829.9                      | 5               |          |
|                   | 4 144.6   | 5       | 27 943.9                     | 5               |          |
|                   | 10 910.3  | 5       | 11 606.2                     | 5               |          |
|                   | 9 389.1   | 5       | 29 442.3                     | 5               |          |
|                   | 460.3     | 5       | 13 679.4                     | 5               |          |
|                   | 22 607.2  | 5       | 12 557.1                     | 5               |          |
|                   | 2 669.5   | 5       | 25 184.6                     | 5               |          |
|                   | 12 497.4  | 5       | 19 849.4                     | 5               |          |
|                   | 30 017.9  | 5       | 21 619.8                     | 5               |          |
|                   | 8 322.3   | 5       | 4 285.9                      | 5               |          |
|                   | 18 665.8  | 5       | 18 635.5                     | 5               |          |
|                   | 14 025.9  | 5       | 10 270.2                     | 5               |          |
|                   | 2 488.7   | 5       | 16 365.5                     | 5               |          |
|                   | 9 620.3   | 5       | 3 857.1                      | 5               |          |
|                   | 3 289.1   | 5       |                              |                 |          |
|                   | 16 102.2  | 5       |                              |                 |          |
|                   | 21 945.1  | 5       |                              |                 |          |

Tableau 6.a. Totaux par Famille de 6 Femelles.  
Expérience 1

|                   |                          | Totaux | Moyennes |
|-------------------|--------------------------|--------|----------|
| Témoins (t)       | 2143 1525 1595 1582 1777 | 25 821 | 1721.4   |
|                   | 1890 1787 1691 1848 1903 |        |          |
|                   | 1667 1747 1793 1732 1141 |        |          |
| Hétérozygotes (h) | 1817 1705 1300 1325 2071 | 47 419 | 1580.6   |
|                   | 1742 1639 1859 1462 1716 |        |          |
|                   | 1114 1233 1317 1785 1248 |        |          |
|                   | 1368 1255 1333 1740 1467 |        |          |
|                   | 2037 1526 1735 1712 1464 |        |          |
|                   | 1862 1608 1774 1458 1747 |        |          |
|                   |                          |        |          |
| Homozygotes (r)   | 2181 1444 1262 1587 2202 | 53 415 | 1780.5   |
|                   | 1353 1506 1815 2085 1965 |        |          |
|                   | 1776 2073 1492 1374 2263 |        |          |
|                   | 2042 2133 1204 2153 1353 |        |          |
|                   | 1078 2191 2294 2002 1348 |        |          |
|                   | 1463 1780 1802 2079 2115 |        |          |
|                   |                          |        |          |

Tableau 6.b. Totaux par Famille de 6 Femelles.  
Expérience 2

|                   |                          | Totaux | Moyennes |
|-------------------|--------------------------|--------|----------|
| Témoins (t)       | 1612 1953 1664 1230 1268 | 23 922 | 1594.8   |
|                   | 1316 911 1725 1892 1705  |        |          |
|                   | 1918 1760 1465 1694 1809 |        |          |
| Hétérozygotes (h) | 1001 257 1280 1151 916   | 38 068 | 1268.9   |
|                   | 1566 1040 1275 1502 1590 |        |          |
|                   | 1378 1354 790 1450 1929  |        |          |
|                   | 1351 604 706 1195 1886   |        |          |
|                   | 835 1170 1596 1142 1396  |        |          |
|                   | 1268 2055 852 1825 1708  |        |          |
|                   |                          |        |          |
| Homozygotes (r)   | 2139 1778 1136 1359 1271 | 50 487 | 1682.9   |
|                   | 1762 1723 1923 1796 1540 |        |          |
|                   | 1785 1896 1336 1317 1884 |        |          |
|                   | 2222 1446 1712 1937 1958 |        |          |
|                   | 1763 1766 1624 736 2051  |        |          |
|                   | 2053 1810 1394 1464 1806 |        |          |
|                   |                          |        |          |

Tableau 6.c. Totaux par Famille de 6 Femelles.  
Expérience 3

|                   |      |      |      |      |      | Totaux | Moyennes |
|-------------------|------|------|------|------|------|--------|----------|
| Témoins (t)       | 1917 | 2464 | 1530 | 2083 | 1969 | 23 529 | 1809.9   |
|                   | 1664 | 1471 | 2516 | 1203 | 1842 |        |          |
|                   | 1560 | 1626 | 1684 |      |      |        |          |
| Hétérozygotes (h) | 1339 | 1236 | 2203 | 1538 | 1579 | 48 371 | 1612.4   |
|                   | 1633 | 1706 | 1599 | 1770 | 2273 |        |          |
|                   | 1115 | 1806 | 1696 | 1920 | 1998 |        |          |
|                   | 1609 | 1899 | 1017 | 1242 | 1767 |        |          |
|                   | 1586 | 1388 | 1426 | 1876 | 1029 |        |          |
|                   | 1464 | 1039 | 1569 | 2200 | 1849 |        |          |
| Homozygotes (r)   | 2176 | 1955 | 1648 | 1796 | 1626 | 54 998 | 1833.3   |
|                   | 2361 | 1961 | 2076 | 2071 | 1829 |        |          |
|                   | 803  | 2324 | 1604 | 2410 | 1908 |        |          |
|                   | 2071 | 1832 | 1985 | 1863 | 2226 |        |          |
|                   | 1282 | 1418 | 1139 | 1552 | 1769 |        |          |
|                   | 2259 | 2002 | 1226 | 2153 | 1673 |        |          |

Tableau 6.d. Totaux par famille de 6 Femelles.  
Expérience 4

|                   |      |      |      |      |      | Totaux | Moyennes |
|-------------------|------|------|------|------|------|--------|----------|
| Témoins (t)       | 1352 | 631  | 1280 | 1307 | 1269 | 18 022 | 1201.5   |
|                   | 1065 | 1261 | 1724 | 652  | 652  |        |          |
|                   | 1833 | 927  | 1662 | 1158 | 1249 |        |          |
| Hétérozygotes (h) | 767  | 667  | 1752 | 1502 | 1050 | 42 437 | 1414.6   |
|                   | 1944 | 1854 | 2047 | 1413 | 1846 |        |          |
|                   | 2062 | 558  | 2139 | 1781 | 1208 |        |          |
|                   | 464  | 1277 | 1084 | 1942 | 422  |        |          |
|                   | 2150 | 541  | 1378 | 1577 | 1421 |        |          |
|                   | 1331 | 697  | 1572 | 2178 | 1813 |        |          |
| Homozygotes (r)   | 1049 | 383  | 601  | 1460 | 1750 | 41 868 | 1395.6   |
|                   | 1235 | 1385 | 720  | 1838 | 1769 |        |          |
|                   | 1490 | 1987 | 713  | 602  | 1733 |        |          |
|                   | 1388 | 1701 | 1640 | 1421 | 1328 |        |          |
|                   | 1957 | 430  | 1559 | 1673 | 1591 |        |          |
|                   | 1988 | 1702 | 1451 | 1780 | 1544 |        |          |

Tableau 7.a. Variances Intertotaux (6 Femelles) Intragénotypes.  
Expérience 1

| Génotypes         | $s^2$      | $\log s^2$ |
|-------------------|------------|------------|
| Témoins (t)       | 48 799.83  | 4.688 42   |
| Hétérozygotes (h) | 63 192.79  | 4.800 67   |
| Homozygotes (r)   | 138 657.75 | 5.141 94   |

Tableau 7.b. Variances Intertotaux (6 Femelles) Intragénotypes.  
Expérience 2

| Génotypes         | $s^2$      | $\log s^2$ |
|-------------------|------------|------------|
| Témoins (t)       | 88 594.62  | 4.947 41   |
| Hétérozygotes (h) | 173 535.03 | 5.239 39   |
| Homozygotes (r)   | 107 813.89 | 5.032 67   |

Tableau 7.c. Variances Intertotaux (6 Femelles) Intragénotypes.  
Expérience 3

| Génotypes         | $s^2$      | $\log s^2$ |
|-------------------|------------|------------|
| Témoins (t)       | 144 479.41 | 5.159 80   |
| Hétérozygotes (h) | 118 103.27 | 5.072 26   |
| Homozygotes (r)   | 148 170.00 | 5.170 76   |

Tableau 7.d. Variances Intertotaux (6 Femelles) Intragénotypes.  
Expérience 4

| Génotypes         | $s^2$      | $\log s^2$ |
|-------------------|------------|------------|
| Témoins (t)       | 139 957.14 | 5.145 99   |
| Hétérozygotes (h) | 312 479.00 | 5.494 82   |
| Homozygotes (r)   | 222 679.00 | 5.347 68   |

Tableau 8.a. Régression Linéaire par l'Origine des Totaux Individuels sur le Nombre Total de Jours de Ponte. Expérience 1

| Source de Variation                | d.l. | S.C.          | C.M.            |
|------------------------------------|------|---------------|-----------------|
| <u>Individus témoins (t)</u>       |      |               |                 |
| Totale                             | 88   | 7 827 950.00  |                 |
| Régression                         | 1    | 7 248 656.65  | 7 248 656.65**  |
| Erreur                             | 87   | 579 293.35    | 6 658.54        |
| b = 8.43 ± 0.25                    |      |               |                 |
| <u>Individus hétérozygotes (h)</u> |      |               |                 |
| Totale                             | 179  | 14 132 699.00 |                 |
| Régression                         | 1    | 12 844 706.20 | 12 844 706.20** |
| Erreur                             | 178  | 1 287 992.80  | 7 235.91        |
| b = 8.05 ± 0.19                    |      |               |                 |
| <u>Individus homozygotes (r)</u>   |      |               |                 |
| Totale                             | 180  | 17 913 423.00 |                 |
| Régression                         | 1    | 15 894 613.00 | 15 894 613.00** |
| Erreur                             | 179  | 2 018 810.00  | 11 278.27       |
| b = 8.70 ± 0.23                    |      |               |                 |



Tableau 8.b. Régression Linéaire par l'Origine des Totaux Individuels sur le Nombre Total de Jours de Ponte. Expérience 2

| Source de Variation                | d.l. | S.C.          | C.M.            |
|------------------------------------|------|---------------|-----------------|
| <u>Individus témoins (t)</u>       |      |               |                 |
| Totale                             | 90   | 7 294 908.00  |                 |
| Régression                         | 1    | 6 424 990.39  | 6 424 990.39**  |
| Erreur                             | 89   | 869 917.61    | 9 774.35        |
| b = 7.93 ± 0.31                    |      |               |                 |
| <u>Individus hétérozygotes (h)</u> |      |               |                 |
| Totale                             | 180  | 12 152 968.00 |                 |
| Régression                         | 1    | 8 225 761.50  | 8 225 761.50**  |
| Erreur                             | 179  | 3 927 206.50  | 21 939.70       |
| b = 6.27 ± 0.32                    |      |               |                 |
| <u>Individus homozygotes (r)</u>   |      |               |                 |
| Totale                             | 180  | 16 414 640.00 |                 |
| Régression                         | 1    | 14 049 451.10 | 14 049 451.10** |
| Erreur                             | 179  | 2 365 188.90  | 13 213.35       |
| b = 8.34 ± 0.26                    |      |               |                 |


Tableau 8.c. Régression Linéaire par l'Origine des Totaux Individuels sur le Nombre Total de Jours de Ponte. Expérience 3

| Source de Variation                 | d.l. | S.C.          | C.M.             |
|-------------------------------------|------|---------------|------------------|
| <u>Individus témoins (t)</u>        |      |               |                  |
| Totale                              | 76   | 8 007 628.00  |                  |
| Régression                          | 1    | 6 879 948.00  | 6 879 948.00**   |
| Erreur                              | 75   | 1 127 680.00  | 15 035.73        |
| b = 8.97 ± 0.42                     |      |               |                  |
| <u>Individus 'hétérozygotes (h)</u> |      |               |                  |
| Totale                              | 180  | 15 764 767.00 |                  |
| Régression                          | 1    | 13 267 054.40 | 13 267 054.40**  |
| Erreur                              | 179  | 2 497 712.60  | 13 953.70        |
| b = 8.22 ± 0.27                     |      |               |                  |
| <u>Individus homozygotes (r)</u>    |      |               |                  |
| Totale                              | 180  | 19 490 592.00 |                  |
| Régression                          | 1    | 17 176 484.10 | 17 176 484.10 ** |
| Erreur                              | 179  | 2 314 107.90  | 12 927.98        |
| b = 9.35 ± 0.26                     |      |               |                  |

Tableau 8.d. Régression Linéaire par l'Origine des Totaux Individuels sur le Nombre Total de Jours de Ponte. Expérience 4

| Source de Variation                | d.l. | S.C.          | C.M.             |
|------------------------------------|------|---------------|------------------|
| <u>Individus témoins (t)</u>       |      |               |                  |
| Totale                             | 89   | 5 124 315.00  |                  |
| Régression                         | 1    | 3 637 956.20  | 3 637 956.20 **  |
| Erreur                             | 88   | 1 486 358.80  | 16 890.44        |
| b = 6.76 ± 0.46                    |      |               |                  |
| <u>Individus hétérozygotes (h)</u> |      |               |                  |
| Totale                             | 180  | 13 689 105.00 |                  |
| Régression                         | 1    | 10 423 175.10 | 10 423 175.10 ** |
| Erreur                             | 179  | 3 265 929.90  | 18 245.42        |
| b = 8.02 ± 0.33                    |      |               |                  |
| <u>Individus homozygotes (r)</u>   |      |               |                  |
| Totale                             | 179  | 13 386 847.00 |                  |
| Régression                         | 1    | 10 003 703.10 | 10 003 703.10 ** |
| Erreur                             | 178  | 3 383 143.90  | 19 006.43        |
| b = 7.79 ± 0.34                    |      |               |                  |

Dijon, février 1972



Marc A. DALEBROUX



RELAZIONE DI ATTIVITA'

---

A

Contratto N° 084-70-4 BIOI .....

Organismo o Istituzione, Luogo, Paese  
Università di Pavia - Gruppo Euratom per le Radiazioni e la  
Citogenetica Umana  
Nome o Nomi

Prof. Marco Fraccaro

Tema, titolo

Ricerche di citogenetica umana rilevanti a problemi di  
protezione sanitaria.

Descrizione generale succinta dei lavori compiuti  
(1 pagina al massimo)

Il lavoro si è concentrato su tre linee principali:

- a) Ricerca di casi con siti specifici di discontinuità a livello di particolari cromosomi ed effetto di analoghi di basi e di radiazione da tritio sulla loro frequenza.
- b) Studio con la tecnica della fluorescenza di anomalie di numero e di struttura di cromosomi umani e di Drosophila melanogaster.
- c) Effetto della aflatoossina B su sistemi cellulari umani in vitro (in collaborazione con il servizio di Biologia del C. C. R. di Ispra).

## Relazione di attività

a) Sono stati individuati tre casi di discontinuità specifica "spontanea" nella zona paracentromerica del braccio lungo del cromosoma N°2. In alcune cellule è stata riscontrata duplicazione selettiva dell'intero braccio lungo a valle della discontinuità. Il microscopio elettronico ha dimostrato che la discontinuità non è completa e l'autoradiografia dopo somministrazione di timidina tritiata, che non vi è DNA marcato nei limiti del pag. L'anomalia, che è indipendente dal fenotipo, è associata con un difetto del controllo della replica. Il cromosoma con la discontinuità è risultato sensibile ad irradiazione "interna" da dosi in eccesso di timidina tritiata.

Lo stesso tipo di discontinuità è stato osservato nella regione paracentromerica di un cromosoma N°9 in una donna e nel figlio, dimostrando così l'"ereditarietà" del fenomeno. La frequenza delle cellule con l'anomalia varia nel tempo, come dimostrato con colture spaziate. Citidina-5'-trifosfato (nota per produrre rotture cromosomiche da sola e in azione sinergica con certi virus) non ha aumentato significativamente la frequenza delle rotture.

### Lavori pubblicati

- 1) Fraccaro M., Hansson K., Lindsten J., Tiepolo L.: Specific instability of the paracentric region of chromosome number 9 in a normal woman and her mongoloid son. Ann. Génét. 14, 149, 1971.
- 2) Fraccaro M., Lindsten J., Tiepolo L., Ricci N.: Instability of the paracentric region and selective reduplication of chromosome 2 in man. Chromosomes Today (in press).

b) La scoperta di nuove tecniche che permettono l'identificazione di ogni singolo cromosoma ha aperto una nuova era nella citogenetica sperimentale. La tecnica dell'analisi in fluorescenza dopo colorazione con chinacrina è stata applicata a problemi diagnostici esemplari, prima insolubili. Il fenomeno della fluorescenza differenziale lungo i cromosomi è senza dubbio legata allo stato funzionale ed alla struttura chimica del cro-

mosoma stesso. La conoscenza del fenomeno è prerequisito all'uso di questa tecnica per la ricerca e l'individuazione della suscettibilità differenziale ad agenti fisici e chimici. Sono state studiate in dettaglio due traslocazioni Y/autosomi in cellule somatiche di Drosophila melanogaster e si è ottenuta la dimostrazione che l'intensità della fluorescenza del cromosoma Y può variare quando specifici segmenti cromosomici vengano traslocati. Tale scoperta è di ovvio rilievo metodologico e concettuale.

#### Lavori pubblicati

- 1) Fraccaro M., Scappaticci S., Tiepolo L., Turpini R.: Identification of a structurally abnormal Y chromosome. Ann. Génét. **14**, 53, 1971.
  - 2) Fraccaro M., Tiepolo L., Zuffardi O., Barigozzi C., Dolfini S.: Fluorescence and Y translocation in XX males. Lancet, **i**, 858, 1971.
  - 3) Fraccaro M., Hultén M., Jayakar S. D., Lindsjö A., Lindsten J., Tiepolo L.: Additional G-like chromosome in a malformed boy. J. Med. Gen., **8**, 244, 1971.
  - 4) Severi F., Tiepolo L., Scappaticci S.: Identification of the Y chromosome by the fluorescence technique in an XY/XO gonadal dysgenesis. Acta Paed. Scand., **60**, 716, 1971.
  - 5) Zuffardi O., Tiepolo L., Dolfini S., Barigozzi C., Fraccaro M.: Changes in the fluorescence patterns of translocated Y chromosome segments in Drosophila melanogaster. Chromosoma, **34**, 274, 1971.
- c) Usando lo stesso sistema di coltura di sangue periferico umano che si è standardizzato per la dosimetria biologica dell'effetto delle radiazioni si è constatato che dosi da 5 a 10 gamma di aflatossina aumentano significativamente la frequenza di rotture cromosomiche. Il proseguimento di queste ricerche attende l'approntamento da parte del C. C. R. di Ispra di aflatossina marcata.

### **NOTICE TO THE READER**

All scientific and technical reports published by the Commission of the European Communities are announced in the monthly periodical "euro-abstracts". For subscription (1 year: B.Fr. 1025) or free specimen copies please write to:

**Sales Office for Official Publications  
of the European Communities  
P.O. Box 1003  
Luxembourg 1  
(Grand-Duchy of Luxembourg)**



## SALES OFFICES

All reports published by the Commission of the European Communities are on sale at the offices and at the price listed below. When ordering, specify clearly the EUR number and the title of the report which are shown on the front cover.

### OFFICE FOR OFFICIAL PUBLICATIONS OF THE EUROPEAN COMMUNITIES

P.O. Box 1003 - Luxembourg 1  
(Compte chèque postal N° 191-90)

#### BELGIQUE — BELGIË

MONITEUR BELGE  
rue de Louvain, 40-42 - B-1000 Bruxelles  
BELGISCH STAATSBLAD  
Leuvenseweg 40-42 - B-1000 Brussel

#### LUXEMBOURG

OFFICE DES  
PUBLICATIONS OFFICIELLES DES  
COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES  
Case Postale 1003 - Luxembourg 1

#### DEUTSCHLAND

VERLAG BUNDESANZEIGER  
Postfach 108 006 - D-5 Köln 1

#### NEDERLAND

STAATSDRUKKERIJ  
en UITGEVERIJBEDRIJF  
Christoffel Plantijnstraat - Den Haag

#### FRANCE

SERVICE DE VENTE EN FRANCE  
DES PUBLICATIONS DES  
COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES  
rue Desaix, 26 - F-75 Paris 15<sup>e</sup>

#### ITALIA

LIBRERIA DELLO STATO  
Piazza G. Verdi, 10 - I-00198 Roma

#### UNITED KINGDOM

H. M. STATIONERY OFFICE  
P.O. Box 569 - London S.E.1

Price (Vol. I and II): B.Fr. 1,000.—

Commission of the  
European Communities  
D.G. XIII - C.I.D.  
29, rue Aldringen  
L u x e m b o u r g