

STUDIA

UNIVERSITATIS BABEŞ-BOLYAI

BIOLOGIA

1

1992

CLUJ-NAPOCA

REDACTOR ȘEF: Acad. prof. I. HAIDUC

REDACTORI ȘEFI ADJUNCȚI: Prof. A. MAGYARI, prof. A. MARGA, prof. I. A. RUS

COMITETUL DE REDACȚIE AL SERIEI BIOLOGIE: Prof. N. COMAN, prof. S. KISS
(redactor coordonator), prof. I. POP, prof. B. STUGREN, conf. M. DRĂGAN-
BULARDA (secretar de redacție), conf. C. TARBA, cercet. șt. I. G. RACVIȚĂ

STUDIA

UNIVERSITATIS BABEȘ-BOLYAI

BIOLOGIA

1

Redacția: 3400 CLUJ-NAPOCA, str. M. Kogălniceanu, 1 • Telefon 11 61 01

SUMAR - CONTENTS - SOMMAIRE (A-H)

L. MOMEU, L. S. PÉTERFI, Flora algală a sfagnetelor de pe Muntele Semenic (România) • Algal Flora of the Peat Bogs Situated in the Semenic Mountains (Romania) 3

T. CEUCA, Variabilitatea în cadrul unor specii ale genurilor *Polydesmus* și *Brachydesmus* (*Polydesmida* — *Diplopoda*) din România • Variability among Some Species of the Genera *Polydesmus* and *Brachydesmus* (*Polydesmida* — *Diplopoda*) from Romania. 11

Z. MATIC, L. A. FLOCA, A. HUREZEANU, Deux espèces nouvelles pour la science du genre *Eupolybothrus* Verhoeff (*Lithobiomorpha*: *Ethopolinae*) • Two New Species for the Science in the Genus *Eupolybothrus* Verhoeff (*Lithobiomorpha*: *Ethopolinae*) 19

C. DOBROTĂ, M. TRIFU, Influența tratamentului complex cu radiații γ emise de Co^{60} , zinc și substanțe de creștere asupra dinamicii nutriției cu fosfor la porumb • Influence of the Complex Treatment with γ -Radiations Produced by ^{60}Co , Zinc and Growth Substances on the Dynamics of Phosphorus Nutrition in the Maize. 25

C. DELIU, A. NICOARĂ, C. MUNTEANU-DELIU, V. BERCEA, D. TIRNOVEANU, M. KEUL, Some Aspects of the Metabolism of *Berberis parvifolia* Cell Suspensions 29

G. LAZĂR-KEUL, M. KEUL, R. VINTILĂ, Phytotoxische Fusilade-Wirkungen auf Weizen- und Maiskeimpflanzen. II. Teil. Feulgen-cytophotometrische Analyse der Kern-DNS-Gehalte im Wurzelmeristem • Phytotoxic Effects of Fusilade upon Wheat and Corn Seedlings. Part II. Feulgen-Cytophotometric Analysis of Nuclear DNA Contents in the Root Meristem 37

M. KEUL, R. VINTILĂ, G. LAZĂR-KEUL, A. ANDREICA, Phytotoxische Fusilade-Wirkungen auf Weizen- und Maiskeimpflanzen. III. Teil. Wirkungen auf Zellwachstum und Cytoplasmaströmung • Phytotoxic Effects of Fusilade upon Wheat and Corn Seedlings. Part III. Effects on Cell Growth and Cytoplasmic Streaming. 47

N. COMAN, M. DORDEA, C. CRĂCIUNAȘ, D. MICLEA, Estimation of Mutagenic Effect of the Herbicide Illoxan Using the *Drosophila melanogaster* Test . . . 59

N. COMAN, D. MICLEA, C. CRĂCIUNAȘ, M. DORDEA, Estimation de l'effet mutagène de l'ester 2-éthyl-hexylique de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique utilisé comme herbicide • Estimation of Mutagenic Effect of the 2-Ethylhexyl Ester of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Utilized as Herbicide	65
N. COMAN, D. MICLEA, C. CRĂCIUNAȘ, M. DORDEA, Recherches sur l'éventuel effet mutagène du sel de monoéthyl-ammonium de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique utilisé comme herbicide • Researches on the Eventual Mutagenic Effect of the Monoethylammonium Salt of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Utilized as Herbicide	71
D. PAȘCA, R. CRIȘAN, V. MUNTEAN, G. MARIN, S. KISS, M. DRĂGAN—BULARDA, Activități enzimatică în solurile din Delta Dunării — Rezervația Biosferei • Enzyme Activities of Soils in the Danube Delta — Biosphere Reserve	77
L. CALANCEA, Effect of Dicyandiamide on the Efficiency of Fertilizer Urea Applied to Soils Sown with <i>Lolium multiflorum</i>	93
Recenzii — Book Reviews — Comptes Rendus — Buchbesprechungen	
D. Davidescu, L. Calancea, V. Davidescu, Protecția chimică în agricultură (S. KISS)	101
A. King, B. Schneider, Questions de survie. La révolution mondiale a commencé (A. FABIAN)	101

FLORA ALGALĂ A SFAGNETELOR DE PE MUNTELE SEMENIC (ROMÂNIA)

LAURA MOMEU* și LEONTIN ȘTEFAN PÉTERFI*

SUMMARY. — *Algal Flora of the Peat Bogs Situated in the Semenic Mountains (Romania).* The paper deals with the algal flora of the peat bogs situated in the Semenic Mountains, which are the most southern ones of Romania and have not yet been investigated for their algal floras. The communities consist of many interesting forms, mostly desmids and diatoms, and somewhat differ from the already described community types. They include mostly species inhabiting mesotrophic bogs, but also several forms which are characteristic for raised peat bogs or strongly acid subalpine bogs. Therefore, the peat bogs of the Semenic Mountains, according to their floras, are different from both bog types, namely those located in the Apuseni Mountains — Eastern Carpathians and those of the Southern Carpathians.

Studierea comunităților algale care se dezvoltă în mlaștinile de turbă constituie o preocupare mai veche a algologilor clujești [10, 11], respectiv a colectivului de algologie din Institutul de Cercetări Biologice Cluj-Napoca [5—8]. Astfel s-au efectuat studii complexe de floră dar și de structură a comunităților din mlaștinile de turbă situate în M-ții Apuseni [1, 3], M-ții Maramureșului [9], M-ții Retezat [6] și M-ții Sebeșului [5]. În ultimii ani am efectuat cercetări algologice în unele mlaștini de turbă situate în Carpații Meridionali, respectiv M-ții Parîng, M-ții Sebeșului și M-ții Semenic, mlaștini mai puțin sau deloc cunoscute din p.d.v. algologic.

În lucrarea de față prezentăm flora algală din mlaștinile de turbă cantonate pe platoul Semenicului, de unde sînt citate doar 8 specii de alge identificate de Ș. Péterfi din probele de mușchi colectate de I. Ciobanu [13].

Precipitațiile deosebit de abundente din zonă au favorizat formarea unor mlaștini acide în golul pseudoalpin al platoului aflat la limita superioară a fagului. Culmea masivului este un platou întins, cu depresiuni larg deschise, cu un relief moderat sculptat, depresiunile fiind pline de izvoare și mlaștini înconjurate de culmi domoale, ocupate de pășuni și finețe. Tinoavele din Semenic sînt grupate de Pop [13] într-o regiune aparte; ele nu sînt tipice din p.d.v. fizionomic (nu sînt bombate) și din flora lor lipsesc o serie de elemente oligotrofe caracteristice. Sfagnetele din Semenic sînt denaturate de pășunatul cu oi și de un turism intens ce se practică în regiune.

Material și metodă. În vara anului 1992 am cercetat trei din cele mai importante tinoave menționate de Pop [13]. Astfel, s-au prelevat probe de microfotobentos și metafiton din următoarele mlaștini:

1. „Ritul cel Mare”, care este o mlaștina acidă (pH = 3,7—4), cu o suprafață de aproximativ 15 ha, situată la vest de șeaua între Piatra Goznei și Piatra Nedei, fiind străbătută

* Institutul de Cercetări Biologice, 3400 Cluj-Napoca, România

de un piriu. Este puternic denaturată și poluată datorită lucrărilor de drenare și a construcțiilor efectuate în imediata apropiere.

2. „Ogașul de la Bâi”, are o întindere de numai 2 ha, la nord-est de Piatra Neceii, fiind puternic pășunată de oi.

3. „Tinovul de sub Gozna”, este foarte umed, fiind întretăiat de mai multe piraie; ocupă o suprafață de 4 ha, iar vegetația este deosebit de mozaică (mezotrofă cu enclave oligotrofe), în unele părțile apar pășuni masive de *Carex limosa*.

Materialul biologic a fost fixat în momentul colectării în formaldehidă 4%, determinarea speciilor de alge efectuându-se în laborator, cu ajutorul unui microscop optic NIPK. În final am selectat 8 diatomee, cele mai reprezentative esanționarea după cum urmează: din Rîul cel Mare, 4 și 5 din Ogașul de la Bâi și 6 și 8 din Tinovul de sub Gozna (Tabelul 1).

Structura comunităților algale din mlaștinile situate pe platoul Semele.

Tabel 1

Taxoni Habitat

CYANOPHYTA	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Anabaena solitaria</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>Chroococcus chroococcoides</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>C. marginatus</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>C. parvulus</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>Dactylococopsis linearis</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>Nostoc microscopicum</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>Oscillatoria angustumhalis</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>Sylocoecoccus aeruginosus</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
CORVISOPHYTA								
<i>Chrysothella paradoxa</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>Chrysoococcus fulvescens</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>Hippixis arctulus</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
XANTHOPHYTA								
<i>Chlorocystis gloeotheca</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>Chlorella cochlearis</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
BACILLARIOPHYTA								
<i>Achnanthes affinis</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>A. lanceolata</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>A. linearis</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>A. marginulata</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>Amphicoenion serrans</i> var. <i>brachystira</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>Symbella gracilis</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>C. laevis</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>C. microcephala</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>C. ventricosa</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>Diatoma hiemale</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>Eunotia crista</i> - galli	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>E. curvat</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>E. exigua</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>E. fallax</i>	+	+	+	0	0	0	0	0
<i>E. flexuosa</i>	+	+	+	0	0	0	0	0

Tabel 1 (continuare)

	1	2	3	4	5	6	7	8
CHLOROPHYTA - CHLOROPHYCEAE								
<i>Asterococcus superbus</i>	0	+	+	+	0	0	+	0
<i>Botryococcus braunii</i>	0	0	0	0	0	+	+	0
<i>Botryosphaera sudetica</i>	0	0	0	+	+	0	0	0
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>	0	0	+	+	0	+	0	0
<i>Draparnaldia plumosa</i>	+	0	0	+	0	+	0	0
<i>Enallax alpina</i>	0	0	0	+	0	+	0	0
<i>Eremosphaera viridis</i>	+	0	0	0	0	0	0	0
<i>Microspora flocculosa</i>	+	+	0	+	0	+	+	+
<i>M. pachyderma</i>	0	0	+	+	0	+	+	+
<i>M. tumidula</i>	0	+	0	+	0	+	0	0
<i>M. willeana</i>	+	+	0	+	0	+	0	+
<i>Oocystis solitaria</i>	0	+	+	+	0	+	+	+
<i>Palmodictyon varium</i>	0	0	0	+	+	0	0	0
CHLOROPHYTA - CONJUGATOPHYCEAE								
<i>Actinotaenium cucurbita</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Arthrodesmus dickei</i>	0	+	+	0	+	0	0	0
<i>A. incus</i>	0	+	+	0	0	0	0	0
<i>A. glaber</i>	+	0	0	0	+	0	0	0
<i>Bambusina brébissonii</i>	0	0	0	0	0	0	+	0
<i>Closterium dianae</i>	+	+	0	0	+	+	0	0
<i>C. leibleinii</i>	0	0	0	+	0	0	0	0
<i>C. libellula</i>	+	0	0	0	+	0	0	0
<i>C. lineatum</i>	0	0	0	+	+	0	0	0
<i>C. lunula</i>	+	0	0	0	+	+	0	0
<i>C. navicula</i>	+	+	0	+	+	+	0	0
<i>C. striolatum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. venus</i>	+	0	0	0	+	0	0	0
<i>Cosmarium botrys</i>	0	0	0	0	+	0	0	0
<i>C. caelatum</i>	+	+	0	+	+	+	0	0
<i>C. connatum</i>	0	0	0	+	+	0	0	0
<i>C. cucumis</i>	+	0	0	+	+	0	+	0
<i>C. difficile</i>	+	0	0	0	+	+	0	0
<i>C. elegantissimum</i>	+	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. granatum</i>	+	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. incertum</i>	0	0	0	+	+	+	0	0
<i>C. margaritatum</i>	+	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. nasutum</i>	+	0	0	0	+	0	0	0
<i>C. ochtodes</i>	0	0	0	+	+	0	0	0
<i>C. portianum</i>	+	+	0	0	+	+	0	0
<i>C. praemorsum</i>	+	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. punctulatum</i>	0	0	0	+	+	0	0	0
<i>C. quadratum</i>	0	0	0	+	+	+	0	0
<i>C. reniforme</i>	0	0	0	0	+	0	0	0
<i>C. subrenatum</i>	0	0	0	0	+	0	0	0
<i>Cylindrocystis brébissonii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. crassa</i>	+	+	+	+	+	0	+	0
<i>Euastrum ansatum</i>	+	+	0	0	+	+	0	0
<i>E. affine</i>	0	0	0	0	0	+	0	0
<i>E. bidentatum</i>	+	+	0	0	+	+	0	0
<i>E. binale</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. denticulatum</i>	0	0	0	0	+	+	0	0
<i>E. elegans</i>	0	0	0	0	0	+	0	0

Tabel 1 (continuare)

	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>E. humerosum</i>	+	0	0	+	+	+	0	0
<i>E. incrassatum</i>	+	0	0	0	+	0	0	0
<i>E. montanum</i>	+	0	0	0	+	0	0	0
<i>E. oblongum</i>	+	0	0	0	+	0	0	0
<i>Hyalotheca mucosa</i>	+	0	0	+	+	+	0	0
<i>Mesotaenium macrococcum</i>	+	0	0	0	+	+	+	0
<i>Micrasterias rotata</i>	+	0	0	0	+	+	0	0
<i>M. papillifera</i>	+	0	0	0	+	+	0	0
<i>M. truncata</i>	0	0	0	+	+	0	0	0
<i>Mougeotia parvula</i>	+	+	0	+	0	+	0	0
<i>M. viridis</i>	0	0	0	+	+	+	+	0
<i>Netrium digitus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>N. oblongum</i>	+	0	0	0	0	+	+	0
<i>Penium cylindrus</i>	+	0	0	+	+	+	0	0
<i>P. polymorphum</i>	0	+	0	0	0	0	+	0
<i>P. spirostriolatum</i>	+	0	0	+	+	+	0	0
<i>Sphaerososma granulata</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Spirotaenia condensata</i>	+	0	0	0	+	+	0	0
<i>Staurastrum alternans</i>	+	0	0	+	+	0	0	0
<i>S. margaritaceum</i>	0	0	0	0	0	0	+	0
<i>S. mucicatam</i>	+	0	0	+	0	0	0	0
<i>S. pileolatum</i>	0	0	0	+	+	+	0	0
<i>S. polytrichum</i>	+	0	0	+	+	+	0	0
<i>S. punctulatum</i>	+	0	0	+	+	+	0	0
<i>S. sexcostatum</i> var. <i>productum</i>	0	0	+	0	+	+	+	+
<i>S. scabrum</i>	0	0	0	0	+	0	0	0
<i>S. sinonyi</i>	0	0	0	0	0	0	+	0
<i>S. subavicularia</i> var. <i>nigrae-silvae</i>	+	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. etmenorus</i> brébissinii	+	+	+	+	+	0	0	0
<i>T. granulatus</i>	+	0	0	+	+	+	0	0
<i>T. laevis</i>	0	0	0	0	+	0	0	0

EUGLENOPHYTA

<i>Calycimonas physaloides</i>	0	0	0	+	+	+	0	0
<i>Distigma proteus</i>	0	0	0	0	0	+	+	0
<i>Euglena mutabilis</i>	+	0	0	+	0	+	0	0
<i>Trachelomonas volvocina</i>	0	0	+	0	+	0	+	0
<i>T. volvocinopsis</i>	0	+	0	0	+	+	0	0

DINOPHYTA

<i>Gloeodinium montanum</i>	+	+	+	+	0	0	+	+
-----------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---

GLAUCOPHYTA

<i>Glaucoecystis nostochinearum</i>	0	0	0	+	+	+	0	0
-------------------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---

Rezultate și discuții. Din materialul biologic colectat, s-au identificat un număr de 174 taxoni, aparținând următoarelor grupe sistematice: *Cyanophyta* (5 taxoni), *Xanthophyta* (2 taxoni), *Bacillariophyta* (72 taxoni), *Chlorophyta-Chlorophyceae* (13 taxoni), *Chlorophyta-Conjugatophyceae* (69 taxoni), *Euglenophyta* (5 taxoni), *Dinophyta* (un taxon) și *Glaucoephyta* (un taxon).

Remarcăm numărul mare de diatomee (72 taxoni) și desmidiacee (69 taxoni), comparativ cu celelalte grupe de alge, unde s-au înregistrat între 1 (dinofite și glaucofite) și respectiv 13 taxoni (clorofite).

Prezentăm în cele ce urmează o scurtă caracterizare a principalelor grupe de alge care contribuie la alcătuirea florei algale a sfagnetelor situate pe platoul Semenic.

Algele albastre sînt reprezentate printr-un număr mic de specii (8), dar dintre acestea doar una — *Noctoc microscopicum* — are un spectru ecologic larg, celelalte fiind elemente sfagnobionte. Unele dintre acestea formează populații bogate în microfitorizontul sfagnetelor (*Chroococcus turgidus*, *C. minutus*, *Synechococcus aeruginosus*, *Dactylococcopsis linearis*). Menționăm că aceste specii apar în toate sfagnetele oligo- și mezotrofe cercetate în țara noastră [1—7, 9, 10].

Crizofitele și xantofitele sînt reprezentate doar prin cîte 2 specii fiecare, specii euritope, cu largă toleranță ecologică, răspindite și în alte tipuri de habitate acvatice sau chiar terestre (*Chlorobotrys gloeothecae*).

Populațiile de diatomee din sfagnetele cercetate se caracterizează printr-o diversitate specifică deosebită, dar și prin numărul mare, uneori deosebit de mare de indivizi în cadrul unor specii care se dezvoltă în microfitorizontul unora dintre mlaștinile cercetate. Datorită condițiilor orografice de formare a mlaștinilor, precum și influențelor antropice (turism și pășunat excesiv), flora de diatomee este alcătuită atît din elemente euritope, cu largă toleranță ecologică, cît și din elemente acidofile specifice mlaștinilor, oligotrofe și de trecere, precum și din specii stenotopie mai rare. La acestea se adaugă speciile reofile, catarobe, care habitează în porțiunile străbătute de pîraie, precum și elementele cenoxene care au apărut odată cu dezvoltarea pe scară largă a turismului și pășunatului intensiv care se practică în zonă. Dintre diatomeele cosmopolite, euritope, care apar și în mlaștini, dar care au optimul lor ecologic în alte tipuri de habitate acvatice, menționăm: *Cymbella ventricosa*, *Gomphonema parvulum*, *Neidium affine*, *Nitzschia palea*, *Stauroneis anceps*, *S. phoenicenteron*, *Pinnularia mesolepta*, *Tabellaria fenestrata* etc. Elementele sfagnofile și sfagnobionte care își au optimul de dezvoltare în mlaștini slab acide, mezotrofe sînt: *Anomoeoneis sertans* var. *brachysira*, *Cymbella gracilis*, *Pinnularia abaujensis*, *P. biceps* f. *petersenii*, *P. microstauron*, *P. viridis* și *Tabellaria flocculosa*. Aceste specii formează în general populații bogate, deseori fiind dominante sau subdominante. Dintre speciile sfagnofile care apar frecvent în sfagnetele de trecere, dar nu formează populații masive, menționăm *Melioria distans* var. *alpigena*, *M. italica*, *M. islandica*, *Neidium bisulcatum*, *Pinnularia major*, *P. rupestris*, *P. nobilis*, *P. streptoraphe* și *P. subcapitata*. Elementele acidobionte oligo-distrofe care se dezvoltă în special în molhașurile tipice, unde formează deseori populații bogate, sînt *Eunotia curvata*, *E. exigua*, *E. fallax*, *E. sudetica*, *E. tonella*, *E. crustulii*, *Frustulia rhomboides* var. *saxonica*, *Navicula subtilissima*, *Pinnularia brevissonii* și *P. hilseana*. Dintre speciile mai rare, considerate în general drept elemente nordic-alpine amintim: *Eunotia eristhigalli*, *E. flexuosa*, *E. microcephala*, *E. pectinatis*, *E. septentrionalis*, *E. parva* și *Pinnularia appendiculata*. Aceste alge apar în general în număr redus de indivizi, fiind semnalate în țara noastră [1, 2, 4, 6, 9].

din sfagnetetele oligo-distrofe tipice. Dintre speciile caracteristice sfagnetetelor acide de altitudine de tip carpatin menționăm: *Navicula höfleri* (citată din țara noastră doar din mlaștinile Retezatului [6]) și *Surirella delicatissima*. Elementele reofile semnalate, care își au optimul de dezvoltare în ape curgătoare unde formează populații masive, sînt *Achnanthes linearis*, *A. marginulata*, *Meridion circulare*, *Diatoma hiemale* var. *mesodon*, *Melosira varians*, *Fragilaria construens*, *F. pinnata*, *Synedra rumpfens*. Speciile reofile, cenoxene, cunoscute ca fiind alfa- și beta-mezosaprobe, semnalate din sfagnetetele Semeniceului sînt *Achnanthes affinis*, *A. lanccolata* și *Navicula cryptocephala*.

Algele verzi sînt reprezentate doar prin 13 specii, dintre care doar *Asterococcus superbis*, *Botryosphaera sudetica* și *Eremosphaera viridis* sînt elemente sfagnofile mezotrofe, restul fiind cenoxene (*Dictyosphaerium pulchellum*, *Palmodyction varium*, *Draparnaldia plumosa*) sau cenofile (specii de *Microspora* și *Oocystis solitaria*).

După diatomee, conjugatoficeele reprezintă grupul cel mai numeros de alge (69 taxoni). Menționăm și în acest caz prezența speciilor cu toleranță ecologică mai largă, cum sînt *Closterium diana*, *Cosmarium botrytis*, *Euastrum oblongum*, *Hyalotheca mucosa*, *Mougeotia viridis* și *Staurastrum muricatum*. Dintre elementele acidofile și acidobionte mai frecvențe care dau clooritul specific mezotrof amintim *Closterium libellula*, *C. lineatum*, *C. strioliatum*, *Cosmarium connatum*, *C. portianum*, *Euastrum affine*, *E. binale*, *E. denticulatum*, *E. humerosum*, *Micrasterias rotata*, *M. truncata*, *Penium polymorphum* și *Staurastrum polytrichum*. Aceste specii sînt caracteristice nu numai pentru mlaștinile mezotrofe din țară, respectiv din Mții Apuseni [1, 2, 7], Mții Maramureșului [2, 4, 12], Carpații Orientali [9, 10], Mții Retezat [6], dar și pentru cele din Europa Centrală [14, 15]. Elementele oligo-distrofe, de tinov autentic, identificate în sfagnetetele situate pe platoul Semeniceului, apar mai ales în stațiunile cu *Carex limosa*. Acestea sînt: *Actinotaenium cucurbita*, *Cylindrocystis crassa*, *Netrium oblongum*, *Penium polymorphum*, *Staurastrum margaritaceum* și *S. simonyi*. Speciile caracteristice sfagnetetelor acide de altitudine (de tip carpatin), semnalate în Mții Retezat, Paring și Sebeșului, sînt: *Penium cylindrus*, *Euastrum incrassatum*, *E. montanum* și *Staurastrum subavicula* var. *silvagnigrae*.

Euglenofitele sînt reprezentate doar prin 5 specii dintre care numai *Calycimonas physaloides* este sfagnobiontă, restul sînt elemente eurtope.

Cele două specii reprezentînd dinofitele și glaucofitele, *Gloecodinium montanum* și *Glaucocystis nostochinarum* sînt sfagnobionte tipice, frecvent întîlnite în tinoave și sfagnete de trecere din țară [1-5, 7, 9, 11, 12].

Concluzii. Mlaștinile de turbă situate pe platoul Semenice se constituie din p.d.v. al florei algale într-un tip aparte față de cele cunoscute din țara noastră, prezentînd o serie de caractere care le diferențiază de acestea. Astfel, în flora algală a tinoavelor cercetate apar, pe lîngă unele elemente caracteristice sfagnetetelor mezotrofe tipice din etajul molidului și fagului, altele specifice tinoavelor (oligotrofe) tipice, mai ales în stațiunile cu *Carex limosa* (*Actinotaenium cucurbita*, *Cylindrocystis crassa*, *Netrium oblongum*, *Penium polymorphum*, *Staurastrum margaritaceum*, *S. simonyi*). La acestea

se adaugă cîteva specii caracteristice mlaștinilor acide de altitudine de tip carpatin (*Penium cylindrus*, *Euastrum incrassatum*, *Staurastrum subavicula* var. *silvace-nigrae*, *Navicula höfleri*, *Surirela delicatissima*). Datorită acestui fapt tinoavele de pe Muntele Semenic, fiind și cele mai sudice din țara noastră se deosebesc nu numai de cele din Munții Apuseni, Mții Maramureșului și Carpații Orientali, dar și de cele din Carpații Meridionali, respectiv Mții Sebeșului și Mții Retezat.

BIBLIOGRAFIE

1. Momeu, L., Péterfi, L. Ș., *Structura și organizarea comunităților algale sfagnofile din Molhașul cel Mare de la Izbuç, Padiș-Tâmasca și Valea Vadului*, „Contrib. Bot.” (Cluj-Napoca), 1983, 3—15.
2. Momeu, L., Péterfi, L. Ș., *Comunitățile algale sfagnofile din mlaștinile oligotrofe și de trecere situate în M-ții Maramureșului*, „Contrib. Bot.” (Cluj-Napoca), 1985, 3—12.
3. Momeu, L., Péterfi, L. Ș., *Comunitățile algale sfagnofile din molhașurile de pe Muntele Dobrinu (M-ții Apuseni)*, „Ocot. Nat. Med. Înconș.” (București), 38 (2), 1989, 113—118.
4. Momeu, L., Péterfi, L. Ș., *Structura comunităților algale sfagnofile din tinoul „Tâu de la Hoteni”*, „Contrib. Bot.” (Cluj-Napoca), 1990, 39—44.
5. Péterfi, L. Ș., *Alge din bazinul superior al râului Sebeș*, „Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Ser. Biol.”, (1), 1963, 13—33.
6. Péterfi, L. Ș., *Contribuții la cunoașterea algoflorei Parcului Național Retezat*, „Contrib. Bot.” (Cluj), 1971, 19—31.
7. Péterfi, L. Ș., *Studii comparative asupra comunităților de alge din unele mlaștini de turbă din Mții Apuseni*, „Contrib. Bot.” (Cluj), 1973, 17—39.
8. Péterfi, L. Ș., *Structure and pattern of desmid communities occurring in some Romanian ombrophilous peat bogs*, „Nova Hedwigia”, 25, 1974, 651—664.
9. Péterfi, L. Ș., Momeu, L., *Composition and structure of algal communities of the Moșoș, Luci and Poiana Stampei peat bogs*, „Rev. Roum. Biol., Sér. Biol. Vég.” (București), 21 (2), 1976, 75—85.
10. Péterfi, Ș., *Über einige Staurastrum-Arten des Gyalver-Gebirges*, „Múz. Füzetek”, 7(3), 1943, 183—203.
11. Péterfi, Ș., *Contribuții la cunoașterea vegetației de alge a sfagnetelor situate în Mții Oașului și ai Maramureșului*, „Contrib. Bot.” (Cluj), 1958, 31—44.
12. Péterfi, Ș., Péterfi, L. Ș., *Alge tușficole din Munții Călimani*, „Contrib. Bot.” (Cluj), 1962, 1—37.
13. Pop, E., *Mlaștinile de turbă din Republica Populară Română*, Ed. Acad. Rom., București, 1960.
14. Růžička, J., *Die Zieralgen der Insel Hiddensee*, „Arch. Protistenk.”, 114, 1972, 453—485.
15. Růžička, J., *Die Zieralgen des Naturchutzgebietes „Režabinec” (Südböhmen)*, „Preslia” (Praha), 45, 1973, 193—241.

VARIABILITATEA ÎN CADRUL UNOR SPECII ALE GENURILOR
POLYDESMUS ȘI *BRACHYDESMUS* (*POLYDESMIDA-DIPLOPODA*)
 DIN ROMÂNIA

TRAIAN CEUCA*

SUMMARY. — Variability among Some Species of the Genera *Polydesmus* and *Brachydesmus* (*Polydesmida* — *Diplopoda*) from Romania. The author describes variability of the gonopodial tibiotarsus in Romanian populations of *Polydesmus transsylvanicus* Daday, 1889, *Polydesmus griseoalbus* Verhoeff, 1898, *Brachydesmus troglobius* Daday, 1889 and *Brachydesmus superus bulgaricus* Verhoeff, 1923.

În urma unei revizuirii parțiale din colecția mea de diplopode ale unor specii din genurile *Polydesmus* și *Brachydesmus*, m-am oprit asupra unor forme, de dimensiuni relativ mici, în general de culoare albă sau albă cenușie de pe teritoriul țării noastre. Referirile și menționările le voi face asupra gonopodelor, știindu-se că în cadrul acestor genuri și nu numai al lor, conformația tibiotarsului gonopodial este partea cea mai importantă în aprecierea determinării unei specii sau a alteia.

Oricât de importante ar fi aceste conformații gonopodiale, ele nu sînt și nu pot fi perfect asemănătoare cu cele ale indivizilor altor populații din alte stațiuni, sau chiar (uneori) în cadrul indivizilor aceleiași populații, acestea rămînînd doar variații intraspecifice.

În cele ce urmează voi arăta diferitele aspecte sub care pot să apară conformațiile tibiotarselor gonopodiale la unii indivizi din diferite populații ale acestor specii.

Polydesmus transsylvanicus Daday, 1889

Este o specie endemică, relativ rară, în fauna țării noastre, care a fost menționată, pînă acum, doar de la Deva, Hațeg și Timișoara. Eu am mai întîlnit-o la Cluj-Napoca, Cheile Turzii și Scărișoara—Belioara.

Dacă se face o comparație între aspectul gonopodial al unui exemplar ♂ de la Scărișoara—Belioara din Munții Apuseni (Fig. 2) — care după părerea noastră reprezintă forma tipică — și figura cam simplă, dată de D a d a y [4] (Fig. 1), se poate observa că există unele diferențe în conformația tibiotarsului gonopodial. Aici, capătul terminal, care de regulă este bont, este figurat ușor excavat, cu două virfuri ascuțite; de asemenea, pe fața concavă, subterminală a tibiotarsului este figurat un pinten, tot bifurcat, precedat de un mic spin [4]. În realitate, acest pinten are aspectul unui virf de lance, de pe care se desprinde, cam de la jumătatea lui, un „dinte” evident (Fig. 2). Spinul de pe partea convexă este situat, nu supraterminal, ci mai mult sau mai puțin, medial (Fig. 2). Nu cred că

* Universitatea „Babeș-Bolyai”, Catedra de zoologie, 3400 Cluj, România

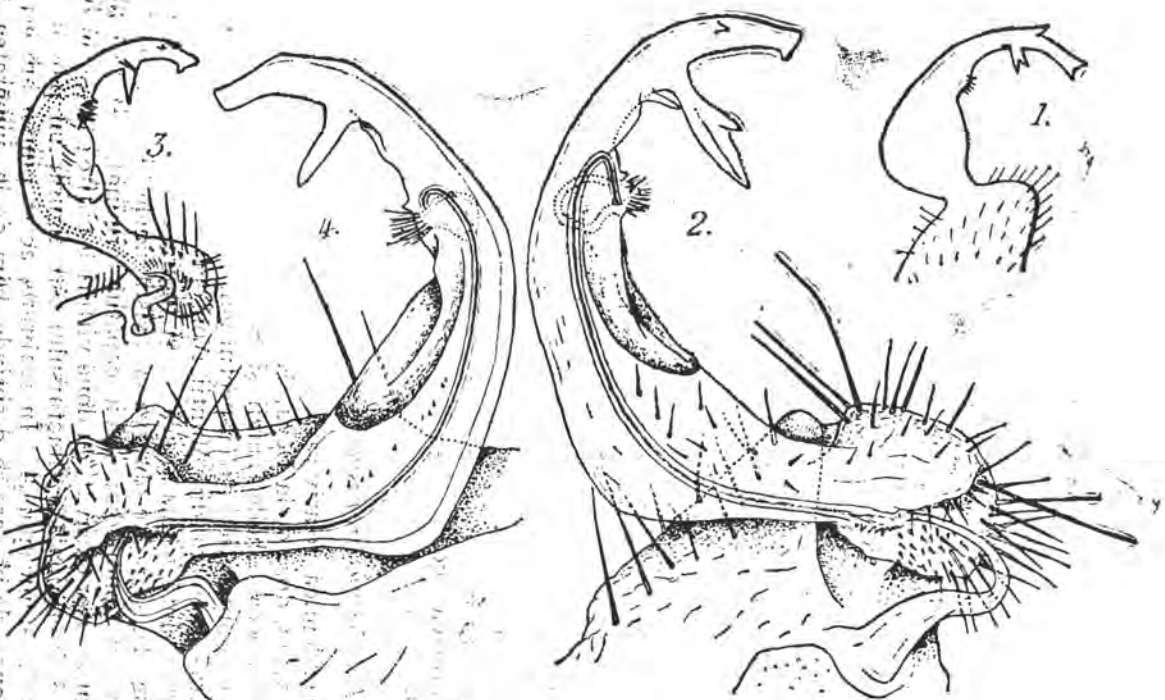


Fig. 1—4. *Polydesmus transsylvanicus* Daday, 1889.
 1 — Gonopodul sting (după Daday). 2 — Gonopodul sting al unui exemplar de la Scărișoara—
 Belloara (orig.). 3 — Gonopodul sting (după Attems). 4 — Gonopodul drept al unui exemplar
 de la Cheile Turzii (orig.).

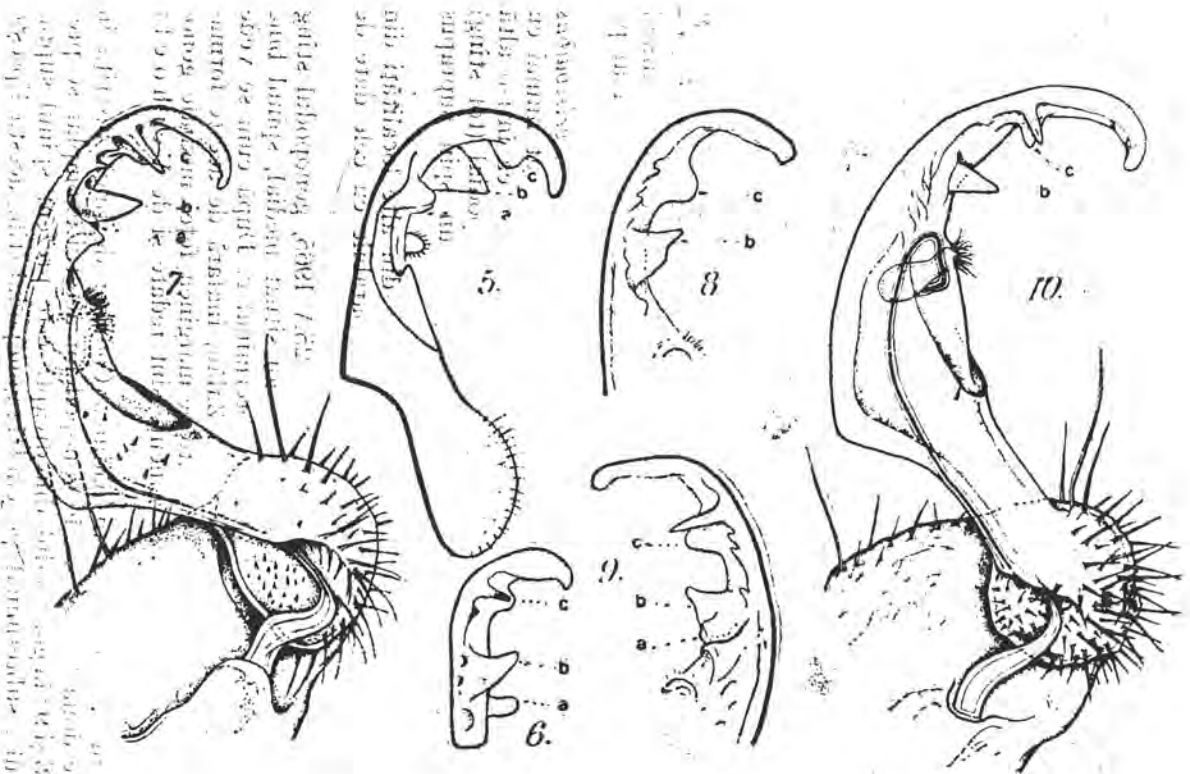


Fig. 5-10. *Polydesmus griseoalbus* Verhoeff, 1898.

- 5 - Gonopodul sting al unui exemplar de la Dej (după Verhoeff). 6 - Tibiotarsul gonopodial sting al unui exemplar de la Braşov (după Verhoeff). 7 - Gonopodul sting al unui exemplar de la Zalău (orig.). 8 - Tibiotarsul gonopodului sting al unui exemplar din pădurea Codrişor-Bistriţa (orig.). 9 - Tibiotarsul gonopodial drept al aceluiaşi exemplar (orig.). 10 - Gonopodul sting al unui exemplar de la Sîngiorz-Băi (orig.). a, b, c - Lobuli.

Fig. 5-10. *Polydesmus griseoalbus* Verhoeff, 1898. 5 - Gonopodul sting al unui exemplar de la Dej (după Verhoeff). 6 - Tibiotarsul gonopodial sting al unui exemplar de la Braşov (după Verhoeff). 7 - Gonopodul sting al unui exemplar de la Zalău (orig.). 8 - Tibiotarsul gonopodului sting al unui exemplar din pădurea Codrişor-Bistriţa (orig.). 9 - Tibiotarsul gonopodial drept al aceluiaşi exemplar (orig.). 10 - Gonopodul sting al unui exemplar de la Sîngiorz-Băi (orig.). a, b, c - Lobuli.

este necesar să mai fac referiri la modul cum este figurat restul gonopodului, de către D a d a y [4].

Referitor la modul în care este redat gonopodul acestei specii de către A t t e m s [1], mai bine reprezentat decât de către D a d a y [4], se poate observa că pintenul subterminal, de pe partea concavă a tibiotarsului gonopodial, aici este simplu, ca un cui (Fig. 3). Celelalte componente ale configurației gonopodiale sînt aproape asemănătoare, cu mențiunea că pe partea convexă, supraterminală a tibiotarsului, A t t e m s [1] figurează doi mici spini.

În fine, la un alt exemplar ♂, de la Cheile Turzii, tibiotarsul gonopodial se prezintă (Fig. 4) simplu, doar cu pintenul de pe partea concavă a lui, cu aspect de cui.

Bineînțeles că aceste aspecte ale tibiotarsului gonopodial reprezintă diferite variații, sub care poate apare, acesta, la unii indivizi din diferitele populații ale acestei specii.

Polydesmus griseoalbus Verhoeff, 1898

În ceea ce privește această specie (subspecia tipică), endemică în fauna țării noastre, se poate spune că ea se prezintă, ca și celelalte specii menționate în această lucrare, de culoare albă slab cenușie (de unde și numele), cunoscută numai de la Dej și Brașov (excepție fac subspeciile *P. g. motași* Jawl., 1933 și *P. g. dumitrescui* Tabacaru & Negrea, 1968). Deși V e r h o e f f [5] menționează existența acestei specii și la Cheile Turzii, numai după un individ ♀, acesta lipsește de acolo, eu negăsind la Chei numai pe *P. transsylvanicus*.

V e r h o e f f [5] dă o figură a unui gonopod stîng de *P. griseoalbus* de la Dej (Fig. 5) în care tibiotarsul gonopodial este reprezentat numai cu cei trei lobuli (*a*, *b* și *c*) de pe partea concavă a lui, pentru ca într-o altă figură (Fig. 6) să fie reprezentat numai tibiotarsul gonopodial (tot stîng) al unui exemplar de la Brașov în care este figurat și un spin suprapus pe lobulul distal *c*.

Studiind gonopodele altor exemplare colectate din alte localități din Transilvania, am găsit următoarele aspecte comparabile cu cele date de V e r h o e f f [5].

La un individ colectat de la Zalău în 25.V.1965, gonopodul stîng al acestui exemplar (Fig. 7), ca și cel drept au situat medial, spinul bine dezvoltat, suprapus peste lobulul distal subterminal *c*. După cum se vede în figura gonopodului exemplarului de la Zalău, înafară de aceste formațiuni, mai există mici proeminențe situate pe marginea feței mediale gonopodiale; de altfel, aceste mici proeminențe sînt redată și de V e r h o e f f [5] în Fig. 6.

La un alt individ, colectat în pădurea Codrișor de lingă Bistrița în 20.III.1988, cele două tibiotarse ale gonopodelor acestui exemplar se prezintă ca în Fig. 8 și 9: la gonopodul din dreapta este prezent spinul suprapus peste lobulul *c* subterminal, pe cînd la gonopodul stîng acesta lipsește complet.

De asemenea, la un alt individ, colectat la Singiorz-Băi în 4.VIII.1960, cele două tibiotarse ale gonopodelor se prezintă mai simplificate, lipsind

lobulul *a*. Și aici trebuie menționat că spinul suprapus peste lobul *c* este prezent numai la tibiotarsul gonopodului stîng (Fig. 10), la cel drept lipsind. Cele câteva mici proeminente, mai sus menționate, pe fața medială a tibiotarsului gonopodial, lipsesc, la exemplarul de la Sîngiorz-Băi, acestea, probabil, nefiind importante.

După cum s-a putut vedea pe Fig. 5—10, precum și din textul de mai sus, spinul suprapus, peste lobulul distal *c*, de pe fața concavă a tibiotarsului, uneori poate lipsi chiar și în cadrul celor două gonopode ale aceluiași individ — probabil, el neavînd un rol important, fiind totuși un caracter specific.

Brachydesmus troglobius Daday, 1889

Și în cadrul acestei specii, descrisă inițial ca o specie troglobiontă din Ungaria — Peștera Abaliget — care este prezentă și în sud-estul țării noastre, atît în peșteri cît și înafara lor, se pot observa evidente variații în aspectul gonopodelor lor. În general, vîrfurile tibiotarsului scurt este mai mult sau mai puțin bont; alături de el se desprinde ramura seminală (solenomeritul), mai scurtă, ca un lob triunghiular, relativ subțire. Spinul care se desprinde de pe fața medială a solenomeritului la exemplarele de la Cazane (Fig. 12) este îndreptat paralel cu solenomeritul, pe cînd la exemplarul de la Armeniș (de lângă Caransebeș) acesta își are originea aparentă tocmai între tibiotars și solenomerit (Fig. 11), fiind îndreptat în sens distal. Uneori, acest spin poate să lipsească, ca în figura, foarte simplă, dată de D a d a y [4], precum și în Fig. 1 din lucrarea mea din 1959 [2] unde a fost considerat ca o specie nouă (pentru lipsa spinului) și apoi ca o subspecie *B. t. jeanneli* [3], forme care nu-și au nici o justificare, acestea intrînd în sinonimii. Interesant este faptul că A t t e m s [1] menționează existența a doi spini!

Spinul subpulvilar (de sub pernița de peri) este totdeauna prezent, bine dezvoltat, situat la formele de la Armeniș lângă cavitatea spermatică (Fig. 11), iar la formele de la Cazane evident mai jos (Fig. 12).

Femurul, în care pătrunde cornulețul coxal, este cînd globulos (Fig. 11) cînd mai mult sau mai puțin ovoidal (Fig. 12). De asemenea, zona, care reprezintă limita dintre femurul și prefemurul gonopodial, este evident mai scurtă la formele de la Cazane și mult mai alungită la formele de la Armeniș.

Aceste mici deosebiri între indivizii diferitelor populații nu par suficiente pentru a justifica existența unor subspecii [2, 3], ele reprezentînd doar variații intraspecifiche. Uneori, unele din aceste mici diferențieri pot apărea, în cadrul unor specii, și din cauza unghiului sub care sînt privite gonopodele.

Brachydesmus superus bulgaricus Verhoeff, 1928

Descrisă inițial din Bulgaria, această subspecie a fost semnalată și la noi în țară doar la Botoșani, fiind deci o formă rară (Fig. 13).

Într-o populație cu mulți indivizi femeli și mai cu seamă imaturi, am întîlnit un singur individ mascul (Fig. 14) într-un crîng de la Tohanul-

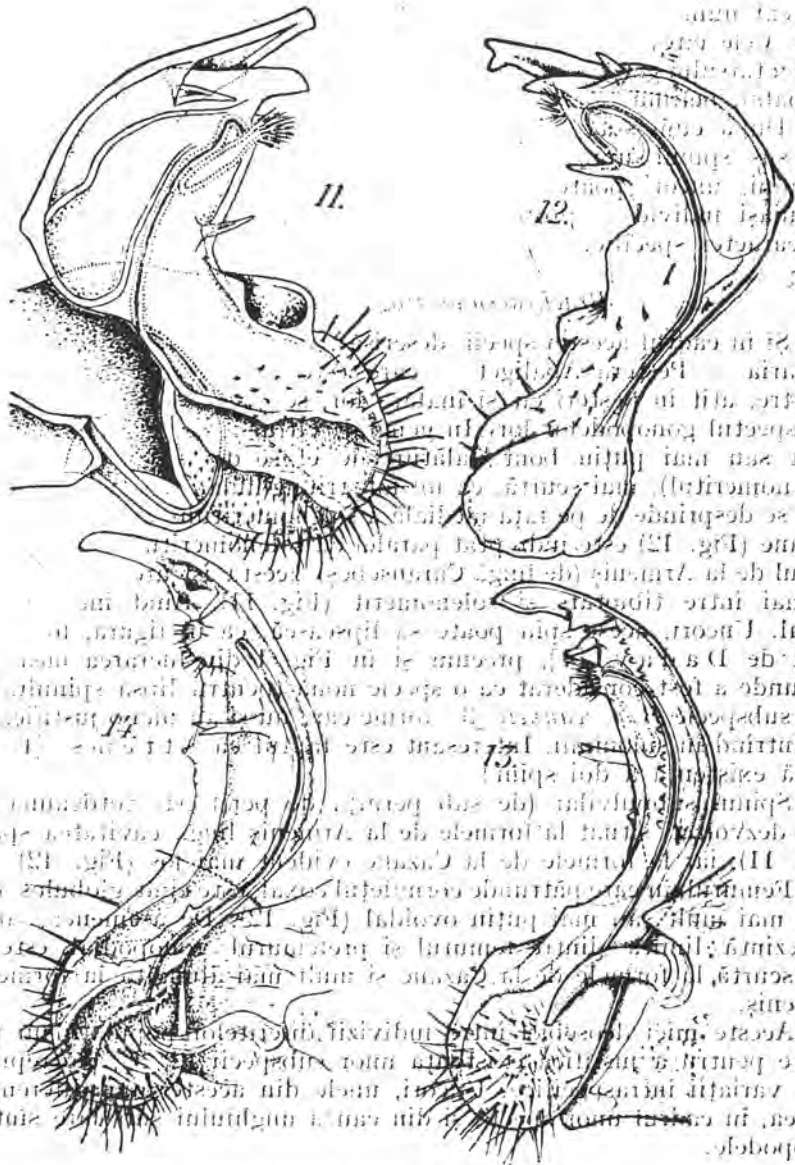


Fig. 11-12. *Brachydesmus troglobius*, Daday, 1889.

11 - Gonopodul stîng al unui exemplar de la Armenis (orig.). 12 - Gonopodul drept al unui exemplar de la Cazane (orig.).

Fig. 13-14. *Brachydesmus superus bulgaricus*, Karhoeffel, 1928.

13 - Gonopodul drept al unui exemplar de la Botosani (orig.). 14 - Gonopodul drept al unui exemplar de la Tohanul Vechi (orig.).

Vechi de lângă Brașov. Studiind gonopodele, de la prima vedere se observă existența spinului subpulvilar bifid, care atestă apartenența acestei forme subspeciei *B. s. bulgaricus* [5], dar de care se deosebește totuși prin următoarele: aspectul general gonopodial apare aici evident mult mai lat decât la forma tipică (din Botoșani). Spinul subpulvilar (bifid) apare situat mult mai apropiat de marginea medială, posterioară; lamela marginii externe, din acest motiv, apare, probabil, mult mai dezvoltată. Zona zimțată, evidentă la forma de la Botoșani, aici este abia schițată. Spinul medial situat deasupra perniței de peri este precedat de două proeminențe, paralele între ele, slab dezvoltate, care ar putea să înlocuiască pe cei doi pintenii subapicali care la forma de la Botoșani încadrează spinul medial (deasupra și dedesubtul acestuia).

În concluzie, din cele de mai sus arătate reiese că uneori putem ajunge în posesia unor indivizi, care să nu reprezinte — referitor la gonopode — chiar aspectul morfologic cel mai frecvent, datorită tocmai variabilității acestora. În consecință, atenție multă pentru a nu crea noi forme — subspecii, mai ales —, ci să le identificăm pe cele existente, de fapt, în natură, lucru care nu este totdeauna ușor!

BIBLIOGRAFIE

1. Attems, C., Polydesmoidea. III. „Tierreich“, Lief. 70, 1940, 58—98.
2. Ceuca, T., *Neue Höhlenpolydesmiden aus Rumänien*, „Zool. Anz.“, **162** (1—2), 1959, 56—61.
3. Ceuca, T., *Nachtrag zu Tr. Ceuca, Neue Höhlenpolydesmiden aus Rumänien*, Zool. Anz., Bd. 162, H. 1—2, 1959, S. 56—61, „Zool. Anz.“, **163** (7—8), 1959, 7.
4. Dadaş, J., *Myriapoda Regni Hungariae*, p. 126—127, Budapest, 1889.
5. Verhoeff, K. W., *Über Diplopoden aus Italien, namentlich Piemont*. 114. Aufsatz, „Zool. Jahrb. Syst.“, **59**, 1930, 387—446.

DEUX ESPÈCES NOUVELLES POUR LA SCIENCE DU GENRE
EUPOLYBOTHRUS VERHOEFF (*LITHOBIOMORPHA*: *ETHOPO-*
LINAE)

ZACHIU MATIC*. LIVIU A. FLOCA* et ARIADNA HUREZEANU*

SUMMARY. — Two New Species for the Science in the Genus *Eupolybothrus* Verhoeff (*Lithobio norpha*: *Ethopolinae*). Two new *Eupolybothrus* species (*E. osellai* and *E. ruffoi*) were described from the Italian Alpi Cozie and Alpi Apuane, respectively. The secondary sexual characteristics of the two new species differ from those of the other known *Eupolybothrus* species.

Les Chilopodes d'Italie ont fait l'objet de nombreuses recherches. Presque tous les myriapodologues européens ont publié des travaux contenant d'éléments faunistiques nouveaux d'un intérêt particulier. Mais, malgré cela, la faune de Chilopodes d'Italie est encore loin d'être bien connue, car elle est très différente, tant au point de vue systématique, qu'en ce qui concerne les éléments composants.

Dans ce travail, nous présentons deux espèces nouvelles pour la science. Le matériel étudié se trouve déposé dans la collection du Museo Civico di Storia Naturale di Verona.

Nous tenons à cette occasion aussi d'exprimer nos plus vifs remerciements à M. le Prof. G. Osella, qui a bien voulu nous confier pour l'étude cet important matériel.

1. *Eupolybothrus osellai* n.sp.

Matériel: 2 ♂♂, Alpi Cozie, Val. Chisone Rifugio jervis, alt. 1800 m, VII 1968; leg. G. Osella.

Derivatio nominis: Nous dédions cette espèce à notre collègue G. Osella, qui nous a envoyé le matériel.

Diagnose: Longueur 17–19 mm; antennes à 43–47 articles; 17–18 ocelles; coxosternum forcipulaire armé de 5 + 5 – 7 + 7 dents; tergites 9, 11 et 13 avec des prolongements; spinulation des pattes dans le Tableau 1; chez le mâle, le préfémur de p. 15 avec des conformations sexuelles secondaires; épines coxolatérales aux p. 14 et 15; griffe apicale de p. 15 simple; appendices génitaux courts, biarticulés.

Description: Longueur du corps 17–19 mm. Coloration jaune-fauve, plus claire sur le ventre et les membres. Téguments lisses, avec de très faibles punctuations [1].

Corps à côtes presque parallèles.

Tête un peu plus courte que large, à surface unie, présentant de faibles punctuations. Bourrelet marginal évident, fossé ocellaire et frontal évident.

* Université „Babeș-Bolyai”, Chaire de zoologie, 3400 Cluj, Roumanie

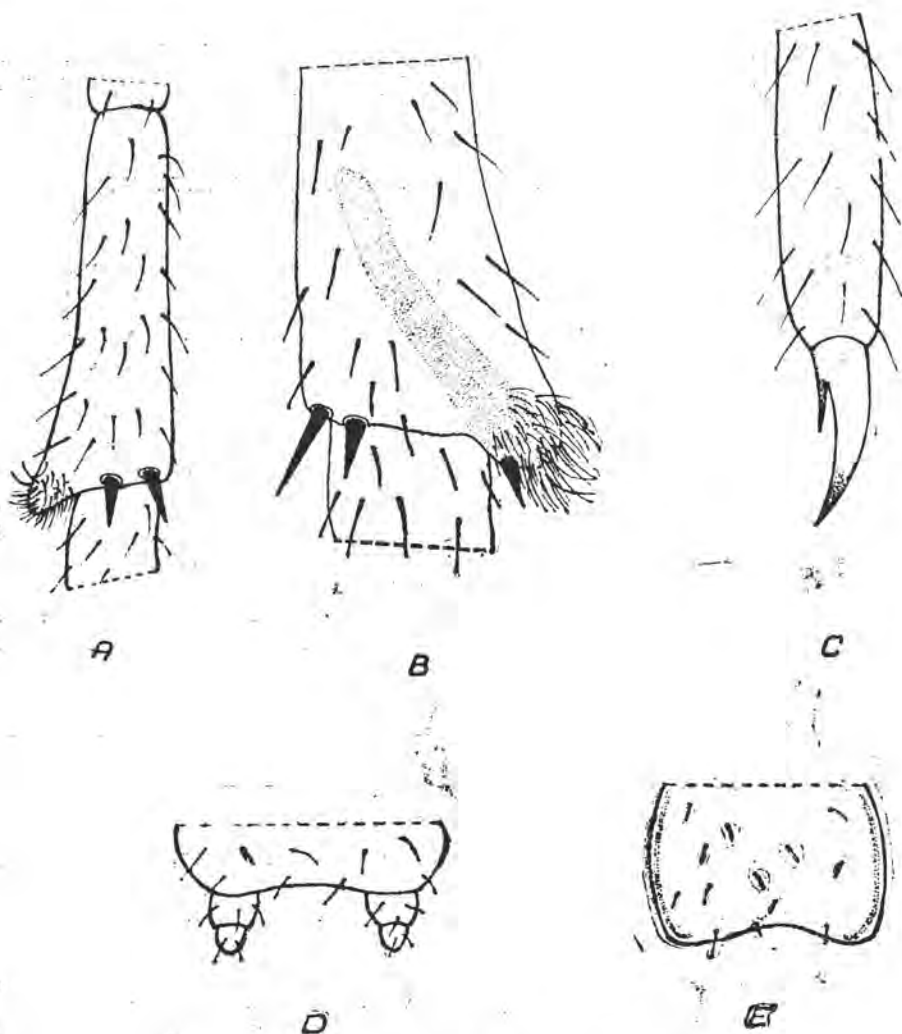


Fig. 1. *Eupolybothrus osellai* n.sp.

A, B — Préfémur de p. 15. C — Griffes apicales de p. 15. D — Gonopodes (♂). E — Tergite 16.

Antennes longues, formées de 43—47 articles, le dernier plus court que le premier. Organe de Tömösváry aussi petit qu'un ocelle voisin.

Forcipules puissants, faiblement courbés. Syncoxosternum forcipulaire à bord rostral large, subrectiligne, divisé par une petite encoche et armé de 5 + 5 — 7 + 7 dents. Porodontes évidents, dentiformes.

Des prolongements sur les tergites 9, 11 et 13. Bord caudal des grands tergites échancré à partir du tergite VIII (Fig. 1 E).

Pattes 14 et 15 très longues, mais pas sensiblement épaisses. Préfémur plus court que le fémur. Chez le mâle, le préfémur de p. 14 sans caractères sexuels secondaires. Préfémur de p. 15 renflé à sa partie distale (Fig. 1 A, B). Sur le même article, dans le tiers distal de la face postérieure (interne) il y a un champ de pores fins, ayant la forme d'une bande dirigée vers la protubérance poilue (Fig. 1 B).

Des épines coxolatérales aux hanches des p. 14 et 15. Sans épine ventrale sur le tarse. Griffes apicales de p. 14 double. Griffes apicales de p. 15 simple, mais fendue à la base (Fig. 1 C).

Spinulation des pattes dans le Tableau 1.

Tableau 1

Spinulation des pattes chez *E. osellain*, sp.

Nr.	Ventralement					Dorsalement					
	Pp.	Cx.	Tr.	Pf.	F.	T.	Cx.	Tr.	Pf.	P.	T.
1	—	—	—	mp	amp	amp	—	—	amp	a	a
2	—	—	—	amp	amp	amp	—	—	amp	ap	a
3	—	—	—	amp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
4	—	—	—	amp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
5	—	—	—	amp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
6	—	—	—	amp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
7	—	—	—	amp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
8	—	—	—	amp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
9	—	—	—	amp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
10	—	—	—	amp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
11	—	—	—	amp	amp	amp	(a)	—	amp	ap	ap
12	—	—	ni	amp	amp	amp	a	—	amp	ap	ap
13	—	m	—	amp	amp	amp	a	—	amp	ap	ap
14	a	m	—	amp	amp	am	a	—	amp	p	p
15	a	m	—	amp	am	a	a	—	am(p)	p	—

Abréviations. pp — paire de pattes. Cx — Coxa. Tr. — Trochanter. Pf. — Préfémur. F. — Fémur. T. — Tibia. m. — médian. a — antérieur. p — postérieur.

Pores coxaux de dimensions variables, plutôt petits, disposés en deux ou trois rangées irrégulières.

† Appendices génitaux du mâle plus courts, biarticulés (Fig. 1 D).

Note: La femelle est inconnue.

Écologie: Espèce pétricole (sous pierres), de haute altitude.

Distribution géographique: Espèce endémique.

2. *Eupolybothrus ruffoi* n.sp.

Matériel: 1 ♂, Alpi Apuane, Monte Altissimo, alt. 1400—1500 m, VII 1968; leg. G. Osella.

Dérivation nominis: Nous dédions cette nouvelle espèce à M. le Prof. S. Ruffo, directeur du Museo Civico di Storia Naturale di Verona, qui a encouragé nos recherches.

Diagnose: Longueur 23 mm; antennes à 52 articles; 20 ocelles; coxosternum forcipulaire armé de 7—8 dents; tergites 9, 11 et 13 avec des prolongements; spinulation des pattes dans le Tableau 2; avec des con-

formations sexuelles secondaires chez le mâle; avec épines coxolatérales au p. 15; griffe apicale de p. 15 simple; appendices génitaux courts, biarticulés [1].

Description: Longueur du corps 23 mm. Coloration jaune-rouge. Corps à bords parallèles, peu atténué en arrière. Téguments à surface inégale, mais sans rugosités.

Tête un peu plus large que longue, à surface unie, avec de faibles et très rares punctuations. Bourrelet marginal avec une légère saillie anguleuse sur la ligne dorso-médiane. Fossé frontal et ocellaire bien marqué.

Antennes très longues, atteignant presque la moitié de la longueur du corps, formées de 52 articles. Ocelles en nombre de 18–20, disposés en rangées irrégulières. Organe de Tömösváry petit, à peu près égal à un ocelle voisin.

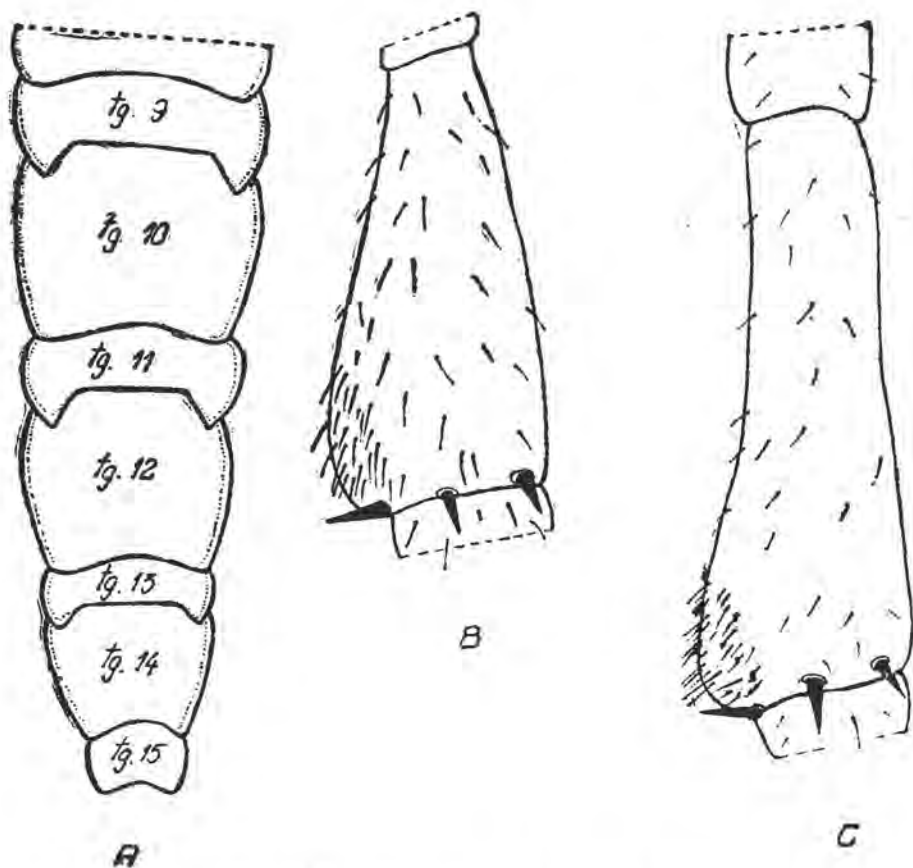


Fig. 2. *Eupolybothrus ruffoi* n. sp.
A — Tergites 9–16. B — Préfémur de p. 14. C — Préfémur de p. 15.

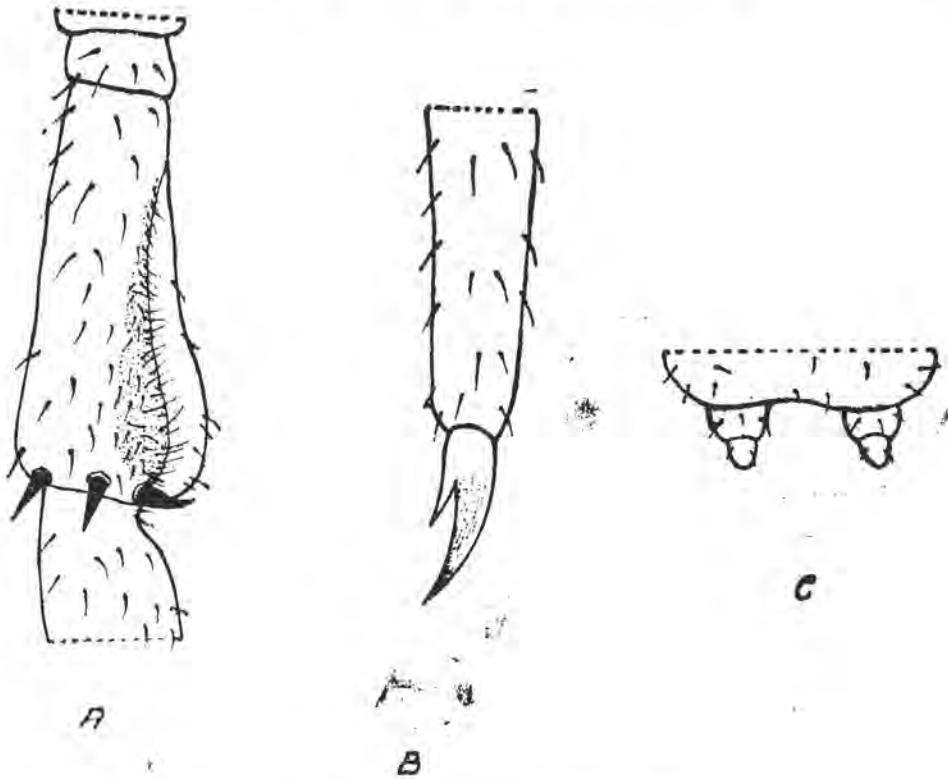


Fig. 3. *Eupolybothrus ruffoi* n. sp.

A — Préfémur de p. 14 (face postérieure). B — Griffe apicale de p. 15. C — Gonopodes (♂).

Forcípules puissants, faiblement courbés, avec de rares punctuations. Syncoxosternum forcipulaire à bord rostral large, subrectiligne, armé de 7–8 dents. Porodontes évidents, dentiformes. Encoche médiane petite.

Tergites 9, 11 et 13 avec des prolongements aigus. Bord caudal des grands tergites échancré à partir du 8-ème segment (Fig. 2 A).

Pattes de la 14-ème et 15-ème paire très longues et pas sensiblement épaisses. Chez le mâle, le préfémur de p. 14 renflé, avec l'arête dorso-postérieure gonflée progressivement vers l'extrémité distale; il est fortement comprimé latéralement et porte sur sa face postérieure interne) une grande fosse (excavation). Spinulation complète; D. Pf: amp (Fig. 2 A).

Épine postérieure en position anormale, perpendiculaire, orientée vers la face dorsale de l'article (Fig. 2 B).

Préfémur de p. 15 renflé lui aussi progressivement vers l'extrémité distale (Fig. 2 C). La spinulation est également complète et l'épine postérieure a la même conformation que celle du préfémur de p. 14. Sur l'enflure distale du préfémur de p. 14 et p. 15 il y a des soies denses (Fig. 2 B, C).

Des épines coxolatérales sur les hanches de p. 14 et p. 15. Griffes apicales de p. 14 double (Fig. 3 A). Griffes apicales de p. 15 fendue à la base (Fig. 3 B).

Spinulation des pattes dans le Tableau 2.

Tableau 2

Spinulation des pattes chez *E. ruffoi* n.sp.

Nr. PP.	Ventralement					Dorsalement				
	Cx.	Tr.	Pf.	F.	T.	Cx.	Tr.	Pi.	F.	T.
1	—	—	mp	amp	amp	—	—	amp	a	a
2	—	—	mp	amp	amp	—	—	amp	ap	a
3	—	—	mp	amp	amp	—	—	amp	ap	a
4	—	—	mp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
5	—	—	mp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
6	—	—	mp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
7	—	—	mp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
8	—	—	mp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
9	—	—	mp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
10	—	—	amp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
11	—	—	amp	amp	amp	—	—	amp	ap	ap
12	—	—	amp	amp	amp	a	—	amp	ap	ap
13	—	m	amp	amp	amp	a	—	amp	p	p
14	—	m	amp	amp	m	a	—	amp	p	p
15	a	m	amp	am	m	a	—	amp	p	—

Abbreviations. Voir Tableau 1.

Pores coxaux de dimensions variables ; subséries disposées en rangées irrégulières.

Appendices génitaux du mâle peu développés, biarticulés (Fig. 3 C).

Note : La femelle est inconnue.

Écologie : Espèce de moyenne altitude.

Distribution géographique : Espèce endémique.

BIBLIOGRAPHIE

- Matic, Z., Contribution à la connaissance des Lithobiides, Scutigérides et Cryptosides de grottes de l'Italie, „Fragm. Entomol. Ital.", 5 (1), 1967, 76 - 110.

INFLUENȚA TRATAMENTULUI COMPLEX CU RADIAȚII γ EMISE DE ^{60}Co , ZINC ȘI SUBSTANȚE DE CREȘTERE ASUPRA DINAMICII NUTRIȚIEI CU FOSFOR LA PORUMB

CRISTINA DOBROTĂ* și MIHAI TRIFU*

SUMMARY. — Influence of the Complex Treatment with γ -Radiations Produced by ^{60}Co , Zinc and Growth Substances on the Dynamics of Phosphorus Nutrition in the Maize. Results from field experiments in which growth substances, zinc and γ -radiations were applied to maize plants are presented and discussed. Their effects on growth, dry matter and phosphorus level were studied. The rate of phosphorus accumulation was strongly enhanced by irradiating the seeds with γ -radiations (4.10^2 rad) and treating them with solutions containing zinc (0.005%) and gibberellic acid (1 mg/l).

Din necesitatea obținerii unor producții de porumb sporite, generează încercările de a influența procesele de biosinteză utilă prin aplicări ale unor substanțe cu potențial stimulator.

Influența stimuloare a substanțelor minerale sau a regulatorilor de creștere asupra nutriției minerale a plantelor a fost evidențiată experimental în lucrările unor cercetători [1, 2, 4, 5, 7, 9–12].

Cercetările biologice efectuate pe diferite culturi radiostimulate au pus în evidență modificarea intensității proceselor metabolice esențiale vieții plantelor [3]. Au fost observate procese de oxidare a metaboliților de rezervă, îmbunătățirea absorbției sărurilor minerale, stimularea proceselor de creștere și dezvoltare.

În prezenta lucrare se urmărește acțiunea complexă a radiațiilor gama, microelementului zinc și a unor regulatori de creștere: acid β -indolilacetic (AIA) și acid giberelic (GA_3) în diferite combinații asupra dinamicii nutriției cu fosfor la porumb.

Material și metode. Cercetările s-au efectuat pe plante de porumb soiul HST-128. Experiențele au fost efectuate în câmp. Cariopsele în stare uscată au fost iradiate cu radiații gama emise de ^{60}Co timp de: 30 secunde (2.10^2 rad), 1 minut (4.10^2 rad) și 3 minute ($1.2 \cdot 10^3$ rad). După iradiere, cariopsele au fost îmbibate timp de 24 ore în apă distilată (proba martor) și respectiv în soluții de ZnSO_4 în concentrație de 0,005%, AIA în concentrație de 1 mg/l și GA_3 în concentrație de 1 mg/l. Sămânțele au fost puse la germinat în sol. Plantele au fost crescute pe un cernoziom ușor degradat cu pH-ul 6,8. În cursul experiențelor s-a determinat dinamica substanței uscate și dinamica conținutului în fosfor la frunzele de porumb. Fosforul a fost dozat după metoda [8].

Rezultate și discuții. Analizând rezultatele obținute privind acumularea substanței uscate ilustrate în Tabelul 1, se poate constata faptul că tratamentele aplicate, atât cele individuale cât și cele combinate și complexe, produc o stimulare a procesului de acumulare. Rezultatele cele mai spec-

* Universitatea „Babeș-Bolyai”, Catedra de biologie vegetală, 3400 Cluj, România

Tabel 1

Influența tratamentul complex cu radiații gama emise de Co^{60} , Zn și substanțe de creștere asupra acumulării substanței uscate la frunzele de porumb (HST-128)

Tratament	Substanța uscată (%)			
	Vîrsta plantelor în zile			
	45	60	75	90
Martor	7,13±0,17	8,23±0,40	8,37±0,52	8,45±0,38
Iradie 1 minut	7,52±0,24	8,49±0,12	8,90±0,44	9,10±0,43
Zn 0,005%	9,30±0,14	10,14±0,27	10,45±0,20	10,60±0,31
Iradie 1 min. + Zn	11,44±0,31	12,23±0,40	12,15±0,29	13,50±0,40
AIA	8,27±0,13	9,90±0,26	10,30±0,18	10,40±0,20
Iradie 1 min. + Zn + AIA	9,86±0,36	10,20±0,38	10,52±0,14	10,65±0,34
GA ₃	10,31±0,14	11,60±0,17	12,81±0,42	13,50±0,60
Iradie 1 min. + Zn + GA ₃	11,40±0,20	12,28±0,31	13,08±0,12	14,40±0,34

Tabel 2

Influența microelementului Zn și a radiațiilor gama emise de Co^{60} asupra conținutului în fosfor la frunzele de porumb (HST-128)

Tratament	P mg/g substanță uscată			
	Vîrsta plantelor în zile			
	45	60	75	90
Martor	16,94±0,29	17,80±0,53	15,92±0,12	14,63±0,63
Iradie 30 sec.	17,11±0,14	18,62±0,67	16,85±0,36	15,41±0,52
Iradie 1 min.	17,86±0,36	18,79±0,66	13,45±0,52	13,12±0,14
Iradie 3 min.	18,28±0,27	19,34±0,48	15,76±0,41	14,29±0,30
Zn 0,005%	18,12±0,31	19,06±0,12	16,34±0,33	15,24±0,52
Iradie 30 sec. + Zn	18,35±0,20	19,17±0,26	17,10±0,40	16,37±0,11
Iradie 1 min. + Zn	17,94±0,23	18,23±0,40	16,20±0,48	15,96±0,58
Iradie 3 min. + Zn	18,90±0,37	19,68±0,30	17,10±0,67	16,65±0,16

taculoase s-au obținut în cazul tratamentului complex cu zinc, radiații γ (4.10^2) și acid giberelic, variantă în care substanța uscată prezintă valori înalt ridicate cu 30–65% față de cele ale martorului.

Rezultatele cercetărilor efectuate privind dinamica fosforului sunt redate în Tabelele 2 și 3. Analizele efectuate la plantele de porumb în vîrstă de 45, 60, 75 și 90 de zile demonstrează că acestea au beneficiat de o cantitate suficientă de fosfor din sol în prima parte a perioadei de vegetație, fapt ilustrat de concentrația ridicată a fosforului la varianta martor.

Din datele incluse în Tabelele 2 și 3 se poate constata că nivelul fosforului este ridicat la plantele în vîrstă de 45 și 60 de zile. Concentrația fosforului scade treptat pe măsură ce planta înaintază în vîrstă.

În ceea ce privește acțiunea radiațiilor γ asupra absorbției și acumulării fosforului la porumb, se constată că dozele de radiații utilizate produc în

Tabel 3

Influența tratamentului complex cu radiații gama emise de Co^{60} , Zn și substanțe de creștere asupra conținutului în fosfor la frunzele de porumb (HST-128)

Tratament	P mg/g substanță uscată			
	Vârsta plantelor în zile			
	45	60	75	90
Martor	16,92 ± 0,29	17,82 ± 0,53	15,94 ± 0,12	14,61 ± 0,63
AIA	17,19 ± 0,61	17,93 ± 0,37	16,30 ± 0,51	15,40 ± 0,75
AIA + Zn	17,89 ± 0,32	18,41 ± 0,63	17,12 ± 0,35	15,80 ± 0,52
Iradiere 30 sec. + Zn + AIA	18,20 ± 0,53	18,50 ± 0,21	17,08 ± 0,41	15,92 ± 0,61
Iradiere 1 min. + Zn + AIA	18,51 ± 0,72	18,34 ± 0,75	17,82 ± 0,89	16,53 ± 0,83
Iradiere 3 min. + Zn + AIA	16,82 ± 0,26	16,75 ± 0,13	13,94 ± 0,52	13,30 ± 0,67
GA ₃	18,40 ± 0,18	19,36 ± 0,28	17,60 ± 0,18	17,14 ± 0,48
GA ₃ + Zn	18,33 ± 0,40	19,02 ± 0,32	17,12 ± 0,58	16,26 ± 0,44
Iradiere 30 sec. + Zn + GA ₃	18,81 ± 0,38	19,41 ± 0,67	17,50 ± 0,73	16,47 ± 0,20
Iradiere 1 min. + Zn + GA ₃	19,62 ± 0,41	19,92 ± 0,21	17,64 ± 0,12	16,39 ± 0,58
Iradiere 3 min. + Zn + GA ₃	17,64 ± 0,24	17,53 ± 0,12	15,83 ± 0,31	14,98 ± 0,63

general stimularea proceselor metabolice de-a lungul perioadei investigate. Pe măsură ce plantele înaintază în vârstă, efectul favorabil al radiațiilor γ se atenuează treptat.

Zincul în concentrație de 0,005%, aplicat atât în tratamentul individual cât și în tratamentul combinat cu radiații γ , produce o stimulare a acumulării fosforului. Este de remarcat faptul că nivelul fosforului la sfârșitul perioadei de vegetație este mai ridicat comparativ cu proba martor.

În Tabelul 2 pot fi observate efectele produse de tratamentul cu stimulatori de creștere și tratamentul complex asupra dinamicii fosforului în frunzele de porumb. Acidul β -indolilacetic are o acțiune stimulatorie atât în tratamentul individual cât și în cel combinat și complex, cu excepția variantei iradiată 3 minute. Acidul giberelic produce un efect stimulator mai accentuat față de acidul β -indolilacetic, în special în cazul tratamentului complex.

Din analiza rezultatelor se remarcă faptul că în cazul tratamentelor complexe, variantele expuse unei iradiere de 3 minute ($1,2 \cdot 10^3$ rad) înregistrează o scădere a acumulării de fosfor. Varianta optimă a tratamentului complex o reprezintă expunerea la o iradiere de 1 minut ($4 \cdot 10^3$ rad). Literatura de specialitate relevă faptul că radiostimularea conduce la importante modificări în sistemul hormonal al plantelor. La doze mari de radiații, micșorarea concentrației auxinelor duce la încetinirea sau inhibarea creșterii plantelor. La dozele radiostimulative se semnalează o augmentare a conținutului în auxine, ceea ce conduce la o stimulare accentuată a creșterii plantelor [3].

Rezultatele experimentului efectuat sugerează faptul că interacțiunea radiații—stimulatori de creștere vizează și aspecte legate de nutriția minerală a plantelor.

Tratamentul cu gibereline stimulează reacțiile de fosforilare, combinarea fosfaților anorganici cu diferiți compuși organici, biosinteza fosfolipidelor, fosforilarea oxidativă, formarea esterilor fosforici. Stimulând biosinteza fosfolipidelor, ele influențează metabolismul glucidelor și al lipidelor încorporate în membrana celulară [6].

Din cercetările întreprinse reiese că microelementul zinc are o acțiune sinergică față de fosfor, efectul lui fiind supus unor modulări în cazul tratamentului combinat și al celui complex.

În ceea ce privește acțiunea regulatorilor de creștere în dinamica fosforului se remarcă acțiunea acidului giberelic ce produce o acumulare mai accentuată a fosforului în frunze față de acidul β -indolilacetic.

Concluzii. Soiul de porumb HST-128 se caracterizează în general prin valori ridicate ale conținutului de fosfor și se pretează foarte bine aplicării unor tratamente stimulative. Varianta optimă o reprezintă tratamentul complex cu zinc 0,005%, acid giberelic 1 mg/l și radiații γ emise de Co^{60} ($4 \cdot 10^2$ rad) atât în ceea ce privește acumularea de substanță uscată cât și conținutul în fosfor al plantelor.

BIBLIOGRAFIE

1. Clarkson, D. T., *Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants*, „Annu. Rev. Plant Physiol.”, **36**, 1985, 77—115.
2. Clarkson, D. T., Hanson, J. B., *The mineral nutrition of higher plants*, „Annu. Rev. Plant Physiol.”, **31**, 1980, 239—298.
3. Drăgănescu, I., *Radiostimularea — o aplicație a tehnicilor nucleare în agricultură*, Ed. Științ. și Encicl., București, 1983.
4. Fredeen, A. L., Rao, M., Terry, N., *Influence of phosphorus nutrition on growth and carbon partitioning in Glycine max.*, „Plant Physiol.”, **89**, 1989, 225—230.
5. Matejovic, I., *Simultaneous study of NH_4^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , NO_3^- , SO_4^{2-} , (NO_2^-), H_2PO_4^- and Cl^- uptake by intact winter wheat seedlings in a single depletion experiment*, „Biol. Plant.”, **33**, 1991, 366—376.
6. Neamțu, G., Irimie, F., *Fitoregulatori de creștere*, Ceres, București, 1991.
7. Oscarson, P., *Nitrate assimilation in Pisum and Lemna*, Ph. D. Thesis, Stockholm, 1989.
8. Rinkis, G. Ia., *Oplimizācija mineralnogo pītanija rāstenij*, Izd. Nauka, Riga, 1972.
9. San Segundo, B., Casacuberta, J., Puigdomenech, P., *Hormonal and light regulation of multiple amylase isozymes during seed germination and in vegetative tissues of Zea mays*, „Plant Sci.”, **69**, 1990, 167—177.
10. San Segundo, B., Casacuberta, J., Puigdomenech, P., *Sequential expression and differential hormonal regulation of proteolytic activities during germination in Zea mays L.*, „Planta”, **181**, 1990, 467—474.
11. Trifu, M., *Influența unor microelemente asupra nutriției porumbului cu fosfor*, „Contrib. Bot.” (Cluj), 1975, 143—147.
12. Trifu, M., Osváth, T., *Influența tratamentului complex cu radiații gama emise de Co^{60} , microelemente și substanțe de creștere asupra nutriției cu fosfor a porumbului*, „Contrib. Bot.” (Cluj-Napoca), 1978, 277—281.

SOME ASPECTS OF THE METABOLISM OF *BERBERIS* *PARVIFOLIA* CELL SUSPENSIONS

CONSTANTIN DELIU*, ANA NICOLAE*, CORNELIA MUNTEANU-DELIU**, VICTOR
BERCEA*, DORINA TIRNOVEANU*** and MARTIN KEUL*

SUMMARY. — The *Berberis parvifolia* cell suspensions, cultured in the G a m - b o r g medium with 3% sucrose, 1-naphthaleneacetic acid and 6-benzylaminopurine, are characterized by a production of about 0.420 g/l total alkaloids. The maximum consumption of some nutrients (nitrate, phosphate and sucrose) takes place in the lag phase of the growth cycle, whereas the accumulation of metabolites (alkaloids, proteins and starch) occurs in the stationary phase. As to the interrelations between the primary and secondary metabolism processes, we have found: a) a direct link between phosphate consumption and the induction of the synthesis of protoberberine alkaloids, b) a negative correlation between the C/N ratio and the accumulation of alkaloids, and c) a relationship between the NO_3^- uptake per dry weight and the transition of the cell suspensions from the lag phase to the exponential one.

The use of plant cell cultures for obtaining secondary metabolites is important from both practical and theoretical points of view. Thus, the biosynthetic pathways of several secondary compounds, including protoberberine alkaloids have been studied in detail [1, 5, 23]. However, the studies concerning the interrelations between different metabolic processes occurring in cell suspensions producing berberine are significantly fewer [2, 7].

In this paper we describe the changes in the cell growth, the consumption of nutrients as well as the accumulation of primary metabolites (starch and proteins) and secondary ones (protoberberine alkaloids) in *Berberis parvifolia* cell suspension cultures.

Material and methods. Cell suspensions of *Berberis parvifolia* were induced from root of seedlings [4]. Cells were cultured at 24°C in the dark in liquid medium containing inorganic salts, according to G a m b o r g *et al.* [6], supplemented with sucrose (30 g/l), myo-inositol (100 mg/l), thiamine (5 mg/l), pyridoxine (1 mg/l), nicotinic acid (1 mg/l), 1-naphthaleneacetic acid (1.5 mg/l) and 6-benzylaminopurine (0.3 mg/l); pH 5.5. The inoculum used in each experiment was about 0.1 g dry weight per 300-ml Erlenmeyer flasks containing 40 ml of liquid medium. These cell suspensions were agitated at 98 rpm on a rotary shaker. The cell growth was measured by periodical weighing of the cell biomass obtained by filtration of the cell suspensions from 2–5 flasks per variant. The resulting biomass was dried at 50°C for 24 hours. From the samples, alkaloids, starch and proteins were determined, whereas sucrose, nitrate and phosphate were analyzed from the filtrate.

Alkaloids were extracted with methanol from the dry cell biomass, then the extract was filtered. Ammonium reineckate was used to precipitate the alkaloids in the filtrate and the resulting alkaloid reineckate was treated with ion exchange resin (Dowex 1 × 4, Cl⁻ form). This mixture was filtered and the eluate containing the alkaloids as chlorides and hydrochlorides was concentrated by distillation [18].

* Institute of Biological Research, 3400 Cluj, Romania

** Babes-Bolyai University, Department of Plant Physiology, 3400 Cluj, Romania

*** University of Medicine and Pharmacy, Department of Pharmacy, 3400 Cluj, Romania

The content of starch was determined according to Somogyi [21] and Nelson [17]. Total proteins were measured by the spectrophotometric method of Lowry *et al.* [15]. Phosphate was determined by photocolourimetry of the complex obtained from the reaction between ammonium molybdate and the phosphates from the medium, in the presence of a reducing agent [11]. Nitrates were measured by photocolourimetry of the complex obtained from the reaction between nitrates and phenol disulphonic acid, in the presence of NaOH [19]. All experiments were repeated at least 3 times and all assays were performed in duplicate.

Results and discussion It is well known that, in general, the plant cells cultured in a medium with limited nutrient sources undergo, during a certain period of time, a growth cycle that could be expressed graphically through a sigmoid curve with three main phases: lag, exponential and stationary [22]. *Berberis parvifolia* cell suspensions follow the same phases, but with certain characteristics. Thus, the lag phase is quite a long one (8 days); after a short exponential growth, the suspensions reach the stationary phase after 14–15 days of culturing (Fig. 1). The synthesis of alkaloids follows a similar curve, but with two distinct decreasing stages, one during the lag phase, the other at about the end of the culture period. The maximum of biosynthesis (about 2.7% total alkaloids on dry weight

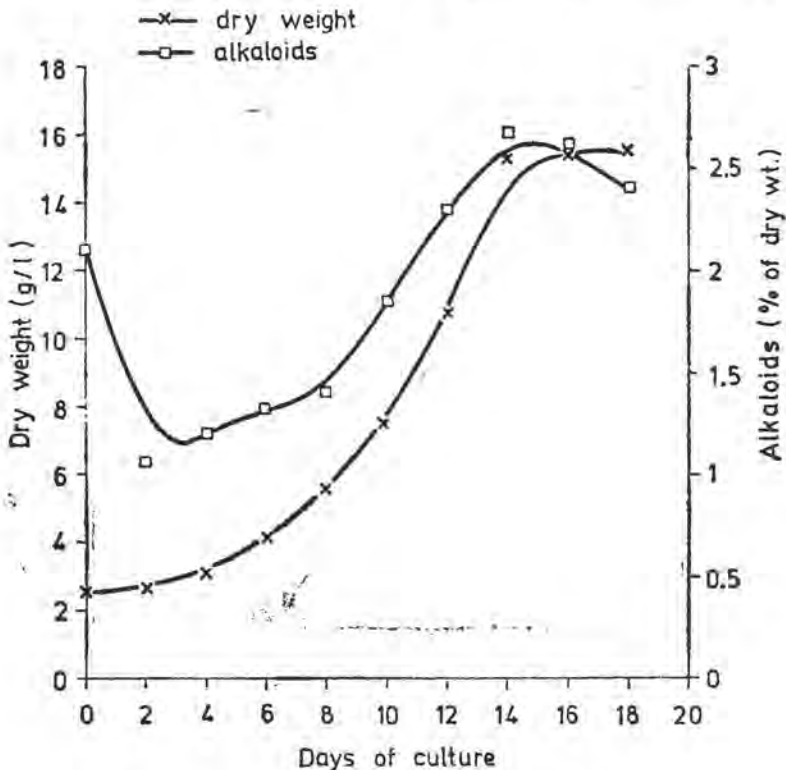


Fig. 1. Time-course of cell growth and protoberberine alkaloid accumulation in *B. parvifolia* cell suspensions. Mean of 3 repetitions.

basis) is reached at the beginning of the stationary phase, when cell division activity decreases. This phenomenon has already been noticed in other cell suspensions, and the reverse relation between growth and formation of secondary metabolites was minutely discussed by Lindsey and Yeoman [13].

During the cell cycle, there are also some other changes in metabolism. As far as uptake of certain nutrients by cells is concerned, it has been noticed that this consumption has different intensities at different periods. Phosphate ions are first consumed entirely (after 8 days). The maximum of this activity occurs after about 48 hours, and, probably, as shown by Knobloch *et al.* [10], after having been stored in vacuoles, phosphate would be successively distributed to the new cell populations resulted from divisions. Though sucrose is taken up more slowly, the cells consumed great quantities, so that after 6 days the consumption of this nutrient reached 26 mg/g dry weight/hour (Fig. 2). On the other hand, the uptake of NO_3^- is much slower, so that it could be still found in medium after 18 days. The results are in accordance with those from experiments with different cell suspensions, where during the lag phase, when cells are pre-

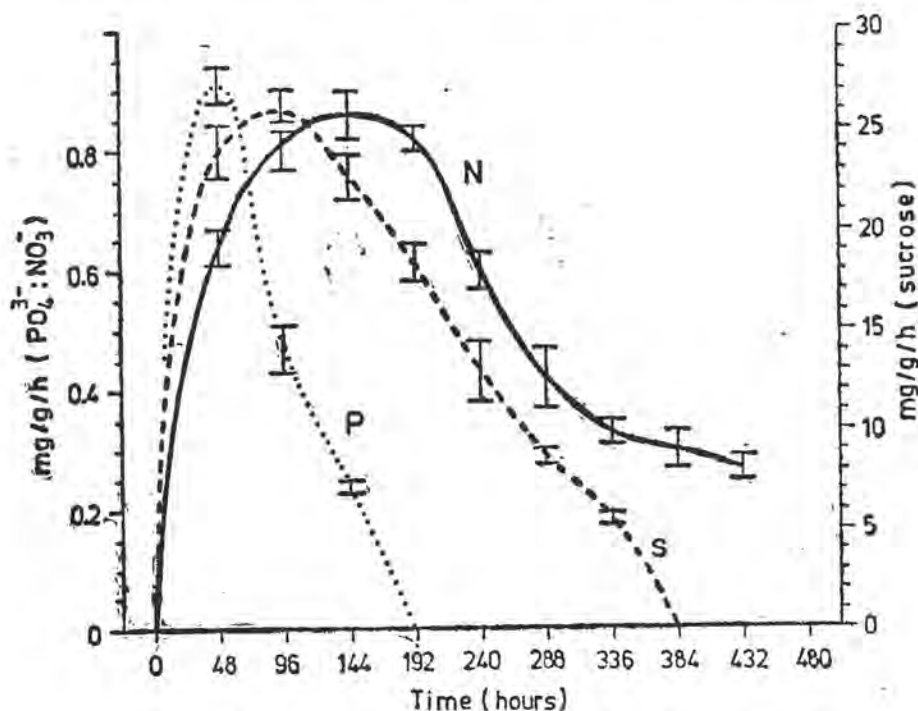


Fig. 2. Phosphate, sucrose and nitrate uptake (mg/g dry weight/hour) from the culture medium by *B. parvifolia* cell suspensions.

P - Phosphate. S - Sucrose. N - Nitrate. The bars represent mean \pm SD of 3 repetitions.

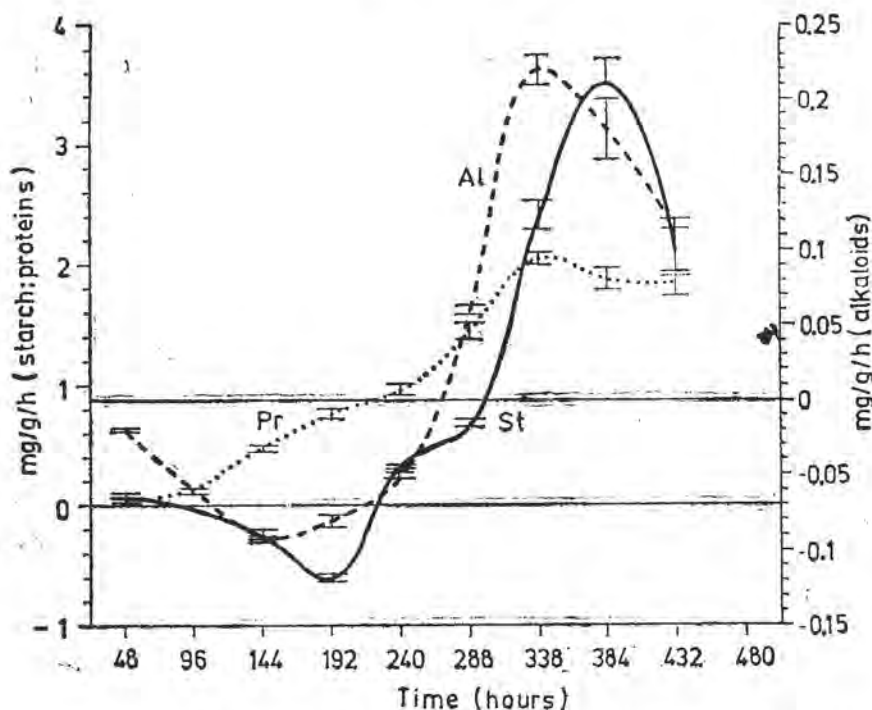


Fig. 3. Accumulation of proteins, starch and alkaloids (mg/g dry weight/hour) in *B. parvifolia* cell suspensions. Pr — Total proteins. St — Starch. Al — Total alkaloids. The bars represent mean \pm SD of 3 repetitions.

paring for new divisions, the uptake of nutrients is highest, and primary metabolites are synthesized above all [7, 14].

Consequently, in *B. parvifolia* cell suspensions there is an increase of protein synthesis during the first 8 days, going up to the 14th day (Fig. 3). During the first 48 hours, there is a slight accumulation of starch, but as soon as the cell division process starts (4th day), the amount of starch significantly decreases and reaches even negative values. We might suppose that during this phase the cells need much greater quantities of carbon sources than they are supplied with, after sucrose uptake. This is the reason why, as Cresswell *et al.* [3] noticed, some mobilization of carbohydrate reserves may also occur, being used both as energetic substratum and for the synthesis of cell constituents or of secondary metabolites. During the lag phase, the alkaloid quantity is strongly diminished. The explanation of the phenomenon is difficult, as there are extremely few data about the physiological role of secondary compounds in plant cells. Alkaloids are not inert substances, they undergo a series of enzymatic modifications, while they could be degraded or/and excreted.

The synthesis of the three metabolites (Fig. 3) is intensified during the exponential phase, but at different levels. Thus, starch is accumulated in greater quantities than are the other compounds, reaching 3 mg/g dry weight/hour, on the 16th day. Alkaloids and proteins reach the maximum biosynthesis on the 14th day, then during the stationary phase its intensity diminishes. At the same time, starch level decreases, maybe because of a remobilization of this source of carbohydrates, as a result of sucrose exhaustion from the medium.

Cell suspension productivity is strongly influenced by culture conditions, such as the medium nutrient composition. There are many data in this respect [1], proving that the synthesis of secondary metabolites could be significantly increased either by reducing the phytohormones or phosphate level, or by increasing or decreasing the amount of sucrose. In cell cultures of various *Berberis* species, there has been noticed that modification of nitrate or phosphate concentrations did not lead to stimulation of the synthesis of the protoberberine alkaloids [2, 8]. However, in *B. parvifolia* cell suspensions, as shown in Figs. 2 and 3, the synthesis starts when phosphate is entirely consumed. As a result of our experiments with *B. parvifolia* cell suspensions [4], we have also noticed that after decrease of PO_4^{3-} concentration the accumulation of total alkaloids increased by 35%. It is possible that in *B. parvifolia* cell suspensions there are processes similar to those in other cell cultures where enzymes that link primary to secondary metabolism are activated, while secondary products develop only when intracellular phosphate level decreases under inhibiting limits [9, 20].

The influence of the ratio between uptake of carbon source and nitrogen upon the secondary metabolism is still a controversial problem. The influence of nitrogen upon the production of secondary compounds is considered through its interaction with the carbon source (sucrose, glucose, fructose, etc.), so that a slight change of the C/N ratio could have a significant effect [12]. In *B. parvifolia* cell suspensions, there is an inversely proportional relation between the C/N ratio and the synthesis of alkaloids (Fig. 4). This relation may be the result of the fact that in Gamborg medium, nitrogen (respectively nitrate) level is much lower (25 mM) as compared to other media such as that of Murashige and Skoog (40 mM) [16]. At the same time, we used a greater quantity of sucrose (3%) in Gamborg medium than indicated by the authors [6]. The previous results with *B. parvifolia* cell suspensions also support this idea, since the increase of nitrate concentration to 35 mM led to enhanced synthesis of alkaloids by 18–20% [4].

We have also succeeded in finding a direct interrelation between the intensity of NO_3^- uptake and growth (Fig. 5). Therefore, beginning with the 8th culture day more cell biomass per nitrate consumed is formed than in the previous days, the cell suspensions passing from the lag phase to the exponential one. This relation was also confirmed by the experiments performed by Breuling [2] with *Berberis wilsoniae* cell suspension cultures.

Consequently, from the results mentioned above we may notice that in *B. parvifolia* cell suspensions metabolic processes are mainly directed to the synthesis of primary compounds. Thus, these cell cultures synthesize after 14 days only 2.7% of alkaloids, up to 19% of proteins and 24% of starch. As compared to these, the 16-day old seedlings (respectively roots) accumulate about 3.4% of alkaloids, 15% of total proteins and 11% of starch [4].

In other experiments [4], the *B. parvifolia* cell suspensions synthesized, after 10–12 subcultures on the medium of G a m b o r g *et al.* [6], about 4.7% of protoberberine alkaloids (on dry weight basis), 17% of total proteins and 18% of starch. After 48 repeated subcultures on the same medium, the productivity of the *B. parvifolia* cell suspension cultures decreased by about 36%.

Certainly, in *B. parvifolia* cell suspensions there are also some other correlations between the primary and secondary metabolism, that may influence the productivity of cultures, but these are to be investigated in future experiments.

Conclusions. 1. The *Berberis parvifolia* cell suspension cultures, after two years of continuous subculturing, synthesized about 40% less alkaloids than after the first 12 subcultures.

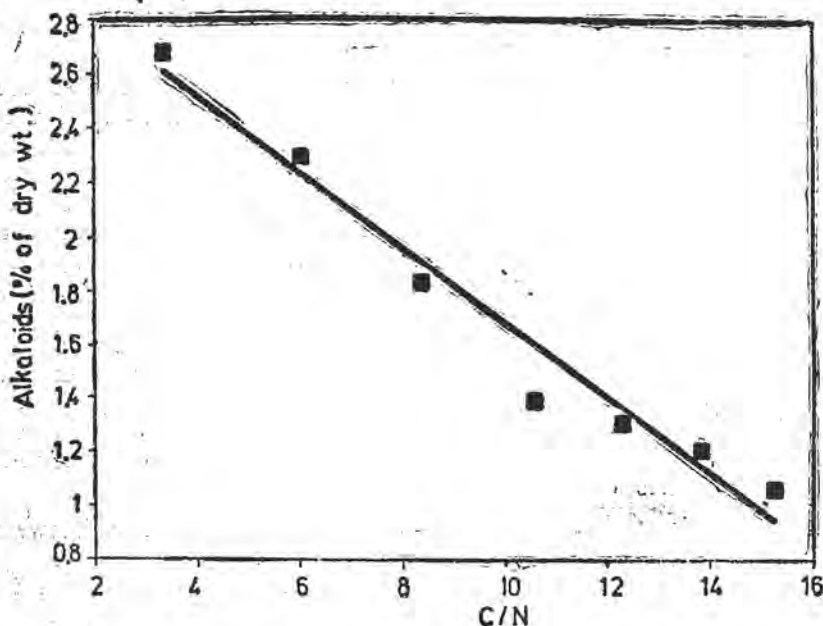


Fig. 4. Correlation between C/N ratio and alkaloid accumulation in *B. parvifolia* cell suspensions ($r = -0.9705$; $P < 0.01$). C — Carbon source (sucrose). N — Nitrogen source (nitrate).

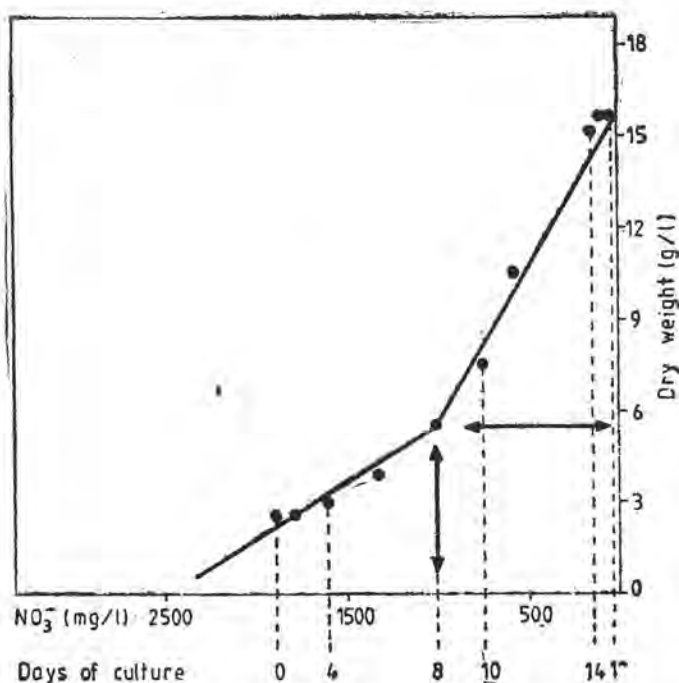


Fig. 5. Relationship between nitrate uptake and cell growth (dry weight) in *B. parvifolia* cell suspensions.

2. In these cell suspensions, three types of interrelations were found between the primary and secondary metabolism processes: a direct relationship between PO_4^{3-} consumption and the synthesis of secondary metabolites; a negative correlation between the C/N ratio and the accumulation of alkaloids, and a relationship between the intensity of NO_3^- uptake and the cell growth.

REFERENCES

- Berlin, J., *Formation of secondary metabolites in cultured plant cells and its impact on pharmacy*, in Bajaj, Y. P. S. (Ed.), *Medicinal and Aromatic Plants*, Vol. 1, pp. 37-59, Springer, Berlin, 1988.
- Breuling, M., *Fermentation von Zellkulturen von Berberis wilsoniae Hemsl. & Wils.*, Dr. Diss., Univ. Tübingen, 1986.
- Cresswell, R. C., Fowler, M. W., Stafford, A., Stepan-Sarkissian, G., *Inputs and outputs: primary substrates and secondary metabolism*, in Kurz, W. G. W. (Ed.), *Primary and Secondary Metabolism of Plant Cell Cultures*. II, pp. 14-26, Springer, Berlin, 1989.
- Deliu, C., Tămaş, M., *unpublished data*, 1991.
- Galneder, E., Zenk, M. H., *Enzymology of alkaloid production in plant cell cultures*, in Nijkamp, H. J. J., Van der Plas, L. H. J., Van Aartrijk, J. (Eds.), *Progress in Plant Cellular and Molecular Biology*, pp. 567-576, Kluwer, Dordrecht, 1990.
- Gamborg, O. L., Miller, R. A., Ojima, K., *Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells*, „Exp. Cell Res.”, 50, 1968, 151-158.

7. Hara, Y., Yoshioka, T., Morimoto, T., Fujita, Y., Yamada, Y., *Enlargement of berberine production in suspension cultures of Coptis japonica by gibberellic acid treatment*, „J. Plant Physiol.", **133**, 1988, 12–15.
8. Hinz, H., Zenk, M. H., *Production of protoberberine alkaloids by cell suspension cultures of Berberis species*, „Naturwissenschaften", **67**, 1981, 620–621.
9. Knobloch, K. H., Berlin, J., *Influence of medium composition on the formation of secondary compounds in cell suspension cultures of Catharanthus roseus (L.) G. Don*, „Z. Naturforsch.", **35**, 1980, 551–556.
10. Knobloch, K. H., Bentnagel, G., Berlin, J., *Influence of accumulated phosphate in culture growth and formation of cinnamoyl putrescines in medium-induced cell suspension cultures of Nicotiana tabacum*, „Planta", **153**, 1981, 582–585.
11. Koeh., O. G., Koch., G. A., *Handbuch der Spurenanalyse*, Springer, Berlin, 1964.
12. Kubek, D. J., Shuler, M. L., *The effect of variations in carbon and nitrogen concentrations on phenolics formation in plant cell cultures*, „J. Nat. Prod.", **43**, 1980, 87–91.
13. Lindsey, K., Yeoman, M. M., *The relationship between growth rate differentiation and alkaloid accumulation in cell cultures*, „J. Exp. Bot.", **34**, 1983, 1055–1065.
14. Lindsey, K., Yeoman, M. M., *Dynamics of plant cell cultures*, in Vasil, I. K., (Ed.), *Cell Cultures and Somatic Cell Genetics of Plants*, Vol. 2, pp. 61–102, Acad. Press, Orlando, 1985.
15. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J., *Protein measurement with the Folin phenol reagent*, „J. Biol. Chem.", **193**, 1951, 265–275.
16. Murashige, T., Skoog, F., *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*, „Physiol. Plant.", **15**, 1962, 473–497.
17. Nelson, N. J., *A photometric adaptation of Somogyi method for determination of glucose*, „J. Biol. Chem.", **153**, 1944, 375–376.
18. Pitea, M., *Cercetări asupra unor alcaloizi din planta Berberis vulgaris*, Teză Dr., Inst. Med. Farm., Cluj, 1970.
19. Salzman, S., *Determinarea azotului*, in Obrejanu, G. (Red.), *Metode de cercetare a solului*, p. 431, Ed. Acad. Rom., București, 1964.
20. Sasse, F., Knobloch, K. H., Berlin, J., *Induction of secondary metabolism in cell suspension cultures of Catharanthus roseus, Nicotiana tabacum and Peganum harmala*, in Fujiwara, A. (Ed.), *Plant Tissue Culture*, pp. 343–344, IAPTC, Maruzen, 1982.
21. Somogyi, M., *Notes on sugar determination*, „J. Biol. Chem.", **195**, 1952, 19–23.
22. Street, H. E., *Plant Tissue and Cell Culture*, Blackwell, Oxford, 1977.
23. Zenk, M. H., Rueffer, M., Amann, M., Deus-Neumann, B., *Benzylisoquinoline biosynthesis by cultured plant cells and isolated enzymes*, „J. Nat. Prod.", **48**, 1985, 725–738.

PHYTOTOXISCHE FUSILADE-WIRKUNGEN AUF WEIZEN- UND MAISKEIMPFLANZEN

II. Teil. Feulgen-cytophotometrische Analyse der Kern-DNS-Gehalte im Wurzelmeristem¹

GEORGETA LAZĂR-KEUL*, MARTIN KEUL* und ROZALIA VINTILĂ*

SUMMARY. — **Phytotoxic Effects of Fusilade upon Wheat and Corn Seedlings.** Part II. *Feulgen-Cytophotometric Analysis of Nuclear DNA Contents in the Root Meristem.* Fusilade (25% fluzifop-butyl), applied continuously (96 hrs) or in a short-term treatment (24 hrs) in equivalent amounts of 0.5–4 l/ha induced a strong reduction of cell division rate. To some extent, condensed pro- and metaphases, as well as polyploid and binucleate cells appeared. Feulgen-cytophotometric determinations of nuclear DNA contents revealed an increase of frequency of G₁ and/or G₂ nuclei. The results suggest that fluzifop-butyl acts mainly by inhibiting the mitotic entry in both G₁ and G₂ of the cell cycle.

In einer früheren Arbeit wurde gezeigt [12], daß die kontinuierliche Behandlung von Weizen- und Maiskeimpflanzen mit Fusilade (25% Fluzifop-butyl = Butyl 2-[4-[[5-(trifluoro-methyl)-2-pyridyl]oxy]-phenoxy]-propionat)) in Dosen von 0,05–4,0 l/ha (entsprechend Konzentrationen von 1,25–100 ppm bzw. von ca. 4–320 µM Fluzifop-butyl) eine drastische Hemmung des Keimlingswachstums als Ausdruck einer betonten phytotoxischen Wirkung verursacht. Die erzielten Ergebnisse lassen vermuten, daß Fluzifop-butyl schon in relativ geringen Konzentrationen mehr oder weniger direkt auf die Wachstumserscheinungen einwirkt, wobei, wie im Falle anderer Di(phenoxy)-propionsäurederivate, sowohl die Zellteilung als auch die Zellstreckung als grundlegende Komponenten der Wachstumserscheinungen betroffen sein können [4, 8, 11, 19, 22].

Zur weiteren Analyse der phytotoxischen Fusilade-Wirkung auf Weizen- und Maiskeimpflanzen soll in vorliegender Arbeit der Einfluß auf die Wurzelmeristemaktivität aufgrund einer Feulgen-cytophotometrischen Bestimmung der Kern-DNS-Gehalte untersucht werden.

Material und Arbeitsmethoden. Winterweizen- (*Triticum aestivum* L., cv. Ariesan) und Maiskaryopsen (*Zea mays* L., cv. HD-100) wurden in Linhardt-Schalen auf Filterpapierunterlagen mit destilliertem Wasser bzw. mit Fusilade bei Zimmertemperatur (ca. 22°C) zur Keimung angeetzt.

Die Behandlung mit Fusilade (25% Fluzifop-butyl) wurde mit wäßrigen Emulsionen (v/v) von je 25 ml pro Linhardt-Schale in äquivalenten Dosen von 0,5, 1,0, 2,0 und 4,0 l/ha entsprechend Konzentrationen von 12,5–100 µg/ml bzw. von ca. 40–320 µM Fluzifop-butyl durchgeführt. Bei Dauerbehandlungen erfolgten Aussaat und Keimung auf Fusilade; im Falle kurzfristiger Behandlungen (24 Stunden) wurden die Keimlinge 72 Stunden auf destilliertem Wasser angezogen und anschließend auf Fusilade übertragen.

¹ I. Teil — S. „Stud. Univ. Babeş-Bolyai, Biol.“, 85 (2), 1990, 31–41.

* Institut für Biologische Forschungen, 3400 Cluj, Rumänien

Der relative DNS-Gehalt der Zellkerne im Wurzelmeristem wurde Feulgen-cytophotometrisch bestimmt. Wurzelspitzen 96 Stunden alter Keimlinge wurden 2 Stunden in absolutem Äthylalkohol und Eisessig (3:1) fixiert, in HCl 5N bei 28°C (thermoregulierbarer Heiztisch, Leitz*) 30 Minuten hydrolysiert und 2 Stunden im Schiffschens Reagenz gefärbt.

Die cytophotometrischen Messungen (Ortholux-Mikroskop mit Photometeraufsatz MPE und Geradsicht-Spiegel-Monochromator, Leitz*) wurden an Quetschpräparaten nach der Zweiwellenlängen-Methode [18, 21] (vgl. auch [14]) bei 550 und 497 nm vorgenommen; die Arbeitswellenlängen wurden nach der cytophotometrischen Aufnahme des Absorptionsspektrums an 10 Interphasenkernen ausgewählt. Der DNS-Gehalt wurde an mindestens 100 Interphasenkernen je Variante in Arbeitseinheiten (AE) nach Mendelsohn [18] gemessen. Die diploiden (2C) und tetraploiden (4C) Referenzwerte wurden an mindestens 25 Telo- bzw. Pro- und Metaphasen je Präparat bestimmt. Anhand dieser Werte wurde der prozentuale Anteil der Zellzyklusphasen (G_1 , S, G_2) im Wurzelmeristem berechnet (vgl. [15]). Die Referenzwerte für höhere Ploidiestufen wurden rechnerisch auf der Basis der 2C- und 4C-Werte ermittelt, [14]. Zusätzlich wurden orientierende Auszählungen der Häufigkeit der Kernteilungen bzw. der Mitosephasen, sowie kernvolumetrische Messungen durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion. Fusilade verursacht bei andauernder Behandlung der Weizen- und Maiskeimpflanzen schon in relativ geringen Konzentrationen eine rasch voranschreitende und betonte (70–80%) Hemmung, bzw. die endgültige Blockierung des Wurzelwachstums, sowie das Auftreten von Nekroseerscheinungen, die von der Wurzelspitze zur Wurzelbasis fortschreiten [12]. Die festgestellten phytotoxischen Symptome sind allen Di(phenoxy)propionsäurederivaten gemeinsam und der lokalisierten Wirkung dieser Herbizide im Bereich der meristematischen und Wachstumszonen zu verdanken [2, 4, 10, 19]. Die wachstumshemmende Fusilade-Wirkung wird dabei weder von charakteristischen Wachstumsanomalien begleitet, wie sie im Falle der Auxin-Herbizide 2, 4-D und Dicamba [16, 23] oder von Wachstumsregulatoren (z.B. Ethrel [17]) auftreten, noch kommt es, wie bei Dinitroanilinen [5, 6, 24], zu typischen subapikalen Schwellungen.

Die Hemmung des Wurzelwachstums wird im Bereich des Wurzelspitzenmeristems von mehr oder weniger betonten Veränderungen der Kern-DNS-Gehalte, des Kernvolumens und des Mitoseindex begleitet. Das Ausmaß dieser Veränderungen ist bei Weizen- und Maiskeimlingen verschieden und hängt von der angewandten Konzentration, insbesondere aber von der Behandlungsdauer ab.

Bei andauernder Behandlung der Weizenkeimlinge sind trotz drastischer Wachstumshemmungen [12] nur geringe Veränderungen im Kern-DNS-Gehalt (Abb. 1), in der Verteilung der Zellzyklusphasen (Abb. 2) und im Kernvolumen (nicht dargestellt) festzustellen. Gegenüber der normalen Verteilung des DNS-Gehaltes der Interphasenkerne im Kontrollmeristem, induziert die Fusilade-Behandlung, insbesondere bei höheren Dosen (2,0 und 4,0 l/ha), eine leichte Zunahme der Häufigkeit der G_1 -Phasenkerne bzw. die prozentuale Abnahme der S- und G_2 -Phasenfrequenz, ohne daß dabei aberrante Mitosen oder polyploide Kerne auftreten. Der Mitoseindex wird dagegen stark herabgesetzt, wobei die Kernteilungen, mit Ausnahme einer gewissen Anzahl von Prophasen, fast vollständig verschwinden.

* Der Alexander von Humboldt-Stiftung sei an dieser Stelle für die bereitgestellte Gerätespende zur Ergänzung der vorhandenen mikroskopischen Basisausrüstung herzlichst gedankt.

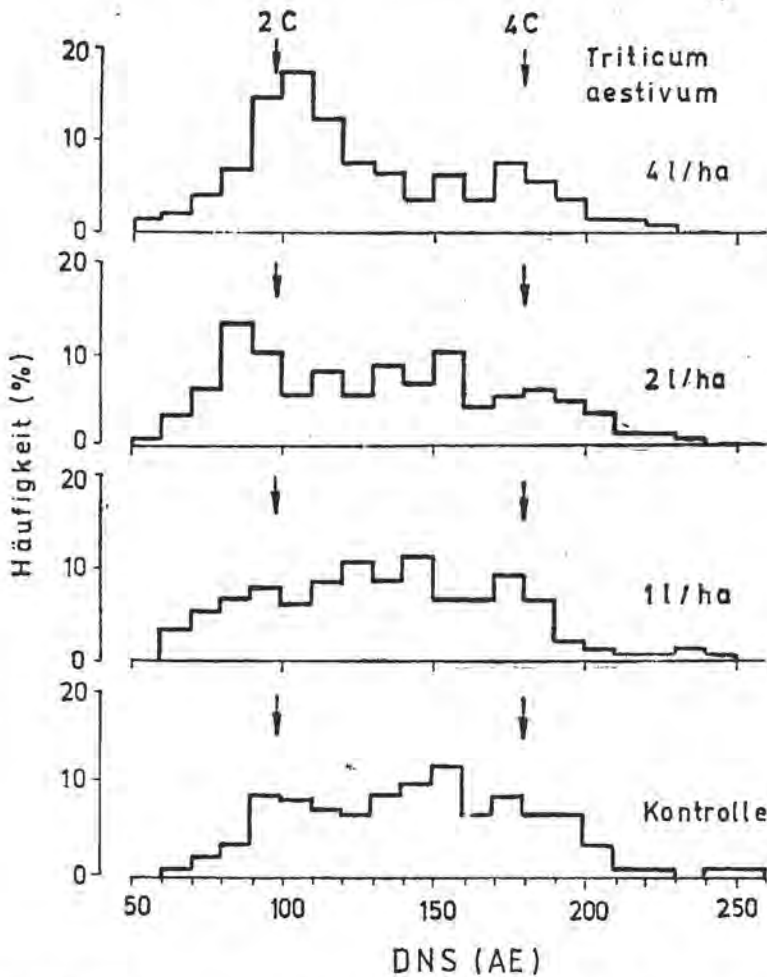


Abb. 1. Die Wirkung einer Dauerbehandlung mit Fusilade (1–4 l/ha) auf die Häufigkeitsverteilung der Kern-DNS-Gehalte im Weizenwurzelmeristem.

Bei andauernder Behandlung mit ausgesprochen phytotoxisch wirkenden Fusilade-Konzentrationen setzen die Nekrosen im Bereich des Wurzelmeristems schon frühzeitig ein. Es muß demnach angenommen werden, daß der Zellzyklusablauf durch das Absterben der Zellen bereits nach kurzer Herbizid-Einwirkung vollständig unterbrochen wird. Unter dieser Voraussetzung widerspiegeln die Ergebnisse vermutlich nur die frühe Fusilade-Wirkung auf das Meristemgewebe. Als wichtigste Schlußfolgerung ergibt sich, daß Fluazifop-butyl den Zellzyklusablauf vornehmlich in der G_1 -Phase blockiert und die Auslösung der Mitose zusätzlich in der Prophase, also am Ende der G_2 -Phase hemmt.

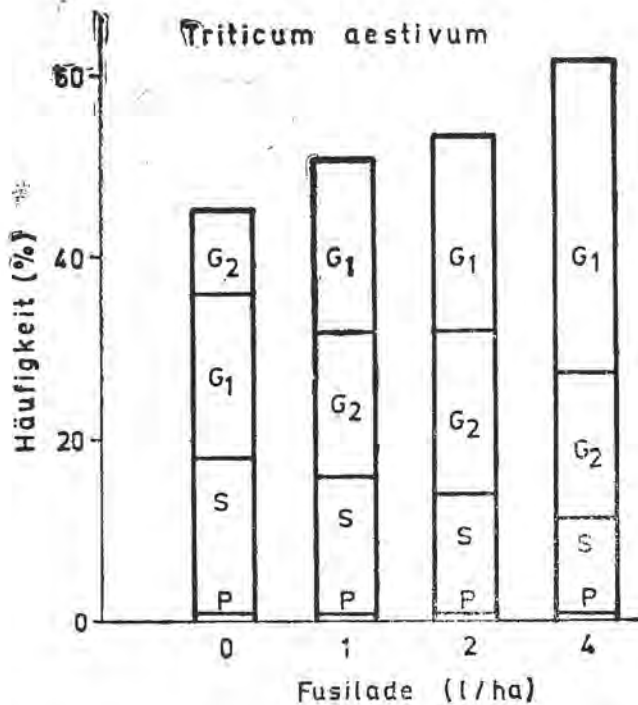


Abb. 2. Die Wirkung einer Dauerbehandlung mit Fusilade (1–4 l/ha) auf die Verteilung der Zellzyklusphasen im Weizenwurzelmeristem.

Die erzielten Ergebnisse konnten nach einer kurzfristigen Fusilade-Behandlung der Weizenkeimlinge für die Dauer von 24 Stunden z.T. bestätigt bzw. durch weitere Aspekte der phytotoxischen Wirkung im Bereich des Wurzelmeristems ergänzt werden (Abb. 3 und Abb. 4).

Nach kurzfristiger Einwirkung einer Fusilade-Dosis von 0,5 l/ha (=40 μ M Fluazifop-butyl) nimmt die Häufigkeit der G₁-Phasenzellen wie nach andauernder Behandlung (vgl. Abb. 1 und 2) zu. Gleichzeitig wird die Anzahl der Meta-, Ana- und Telophasen um 10–30% reduziert, die der Prophasen hingegen um 40% gegenüber der Kontrolle erhöht. Diese Befunde erhärten die obige Schlußfolgerung, daß Fluazifop-butyl den Zellzyklus in der G₁-Phase und am Ende der G₂-Phase hemmt.

Bei höheren Dosen (1,0 und 2,0 l Fusilade/ha, entsprechend 80–160 μ M Fluazifop-butyl) treten im Meristemgewebe, ähnlich wie nach der Einwirkung von Butylat [25], Zonen mit inselartig verstreuten Zellen auf, deren Kerne ein 5–9 mal größeres Volumen und einen höheren DNS-Gehalt (8–16C) aufweisen (Abb. 3). Der Mitoseindex wird stark herabgesetzt, wobei häufig verklumpte Meta- und Prophasen erscheinen. Im diploiden Zyklus bleibt der Prozentsatz der S-Phase gegenüber der Kon-

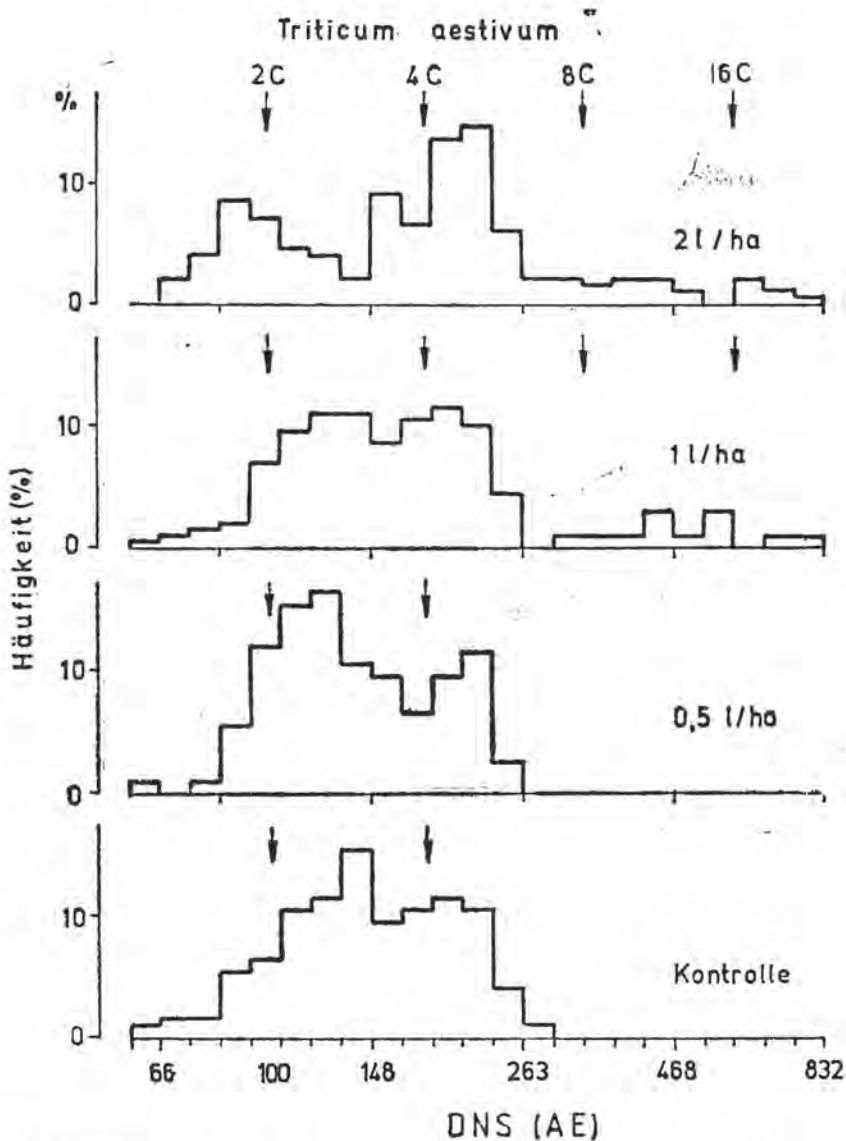


Abb. 3. Die Wirkung einer kurzfristigen Behandlung mit Fusilade (0,5–2 l/ha) auf die Häufigkeitsverteilung der Kern-DNS-Gehalte im Weizenwurzelmeristem.

trolle jedoch unverändert, so daß angenommen werden kann, daß Fluazifop-butyl keinen unmittelbaren Einfluß auf die DNS-Synthesephase hat. Infolge der endoploiden Wirkung nimmt der Anteil der G_2 -Phase zu.

Ähnliche Wirkungen wurden nach andauernder Behandlung mit 1,0–4,0 l/ha Fusilade (=80–360 μ M Fluazifop-butyl) bei Maiskeimpflanzen

festgestellt (Abb. 5 und Abb. 6). Bei allen untersuchten Konzentrationen wird ein hoher Prozentsatz inselartig verstreuter Kerne mit bis zu 4mal größerem Volumen höheren Ploidiegrades (8–64C), sowie das Erscheinen verklumpfter Meta- und Prophasen festgestellt. Teilweise erscheinen auch pyknotische Kerne und binukleate Zellen, und ähnlich wie im Weizenwurzelmeristem verschwinden die Kernteilungen, bis auf eine gewisse Anzahl von Prophasen, fast vollständig. Im diploiden Zyklus ist keine Veränderung der S-Phasenfrequenz, hingegen jedoch eine Zunahme der G_2 -Phasenkerne festzustellen.

Über die Wirkung von Flauzifop-butyl und verwandten Verbindungen auf den Zellzyklus liegen nur spärliche Untersuchungen vor. Nach bisher erzielten Ergebnissen hemmen die Di(phenoxy)propionsäurederivate das Pflanzenwachstum gleichermaßen über eine Blockierung der Meristemaktivität und der Zellstreckung [4, 5, 8, 11, 22]. Beide Wirkungen werden auf die nachgewiesene spezifische Hemmung der Fettsäurebiosynthese und der Acetyl-CoA-Carboxylase [1, 9, 10, 13, 26, 27] und die dadurch

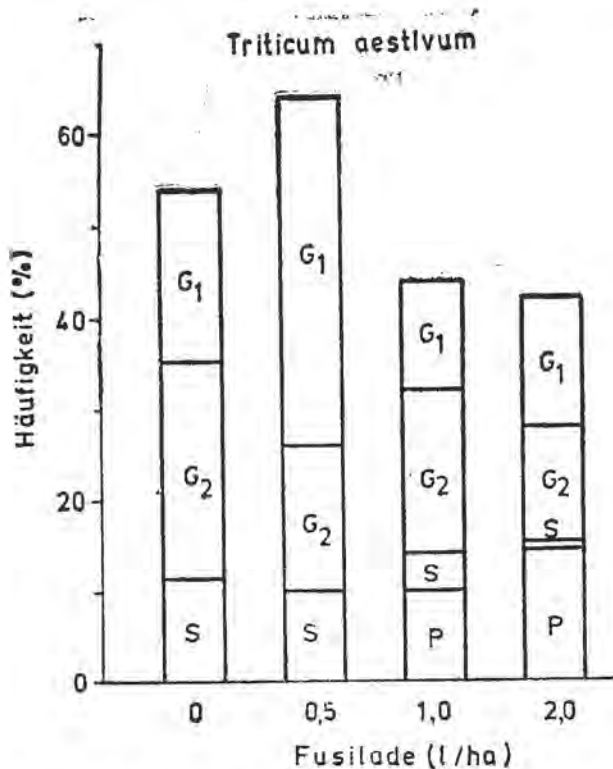


Abb. 4. Die Wirkung einer kurzfristigen Behandlung mit Fusilade (0,5–2 l/ha) auf die Verteilung der Zellzyklusphasen im Weizenwurzelmeristem.

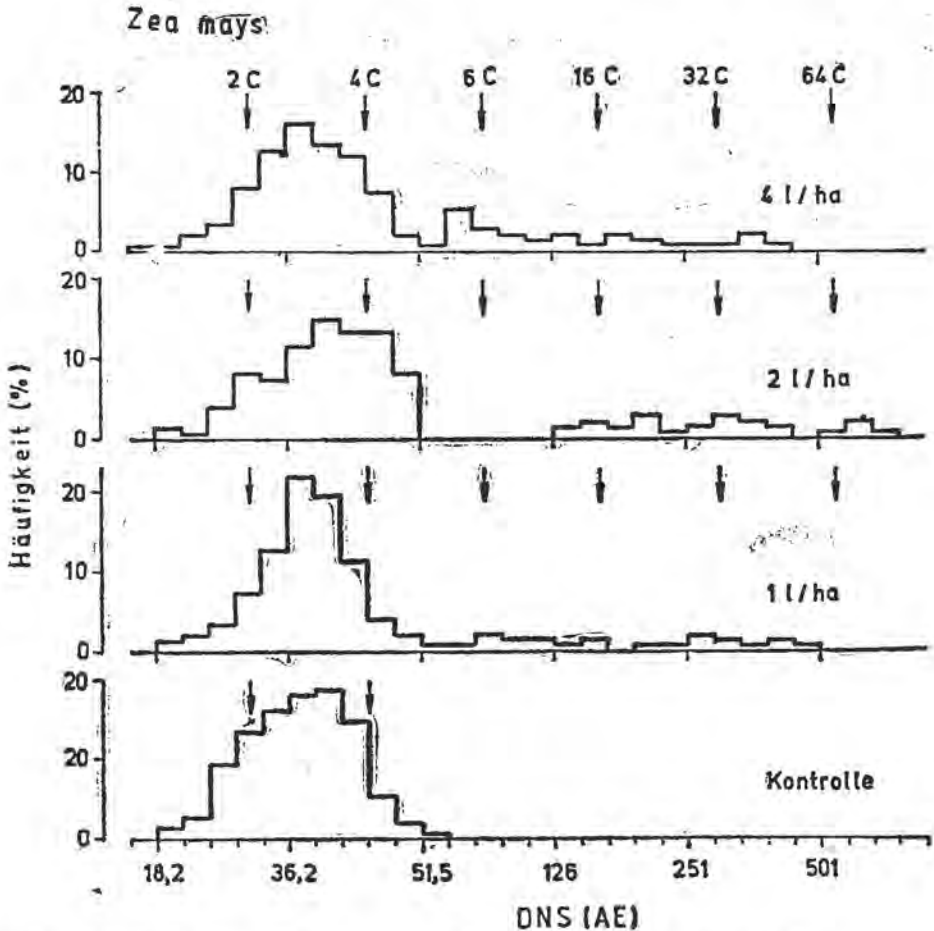
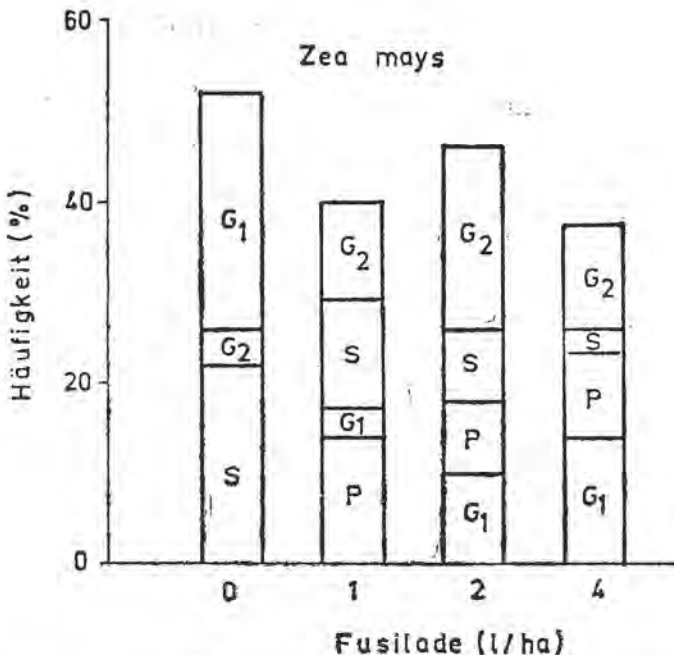


Abb. 5. Die Wirkung einer Dauerbehandlung mit Fusilade (1–4 l/ha) auf die Häufigkeitsverteilung der Kern-DNS-Gehalte im Wurzelmeristem der Maisheimplanze.

bedingte Beeinträchtigung der für Zellteilung und Zellwachstum wichtigen Membransysteme zurückgeführt. Antiauxinische Effekte dieser Derivate [20] werden ebenfalls mit der primären Wirkung auf die Lipidsynthese und auf die Zellmembranen in Verbindung gebracht. Außerdem hemmen diese Herbizide die Atmung und den Energiestoffwechsel [20], eine Wirkung, die wir allerdings nicht eindeutig bestätigen konnten [12]. Alle diese Wirkungen können die festgestellten Effekte von Fluazifop-butyl auf den energieabhängigen, durch Auxin regulierten und von intakten Membranstrukturen bedingten Zellzyklusablauf erklären [5, 6, 10].

Unsere Untersuchungen über die Veränderung der Kern-DNS-Gehalte und die Mitosehäufigkeit im Wurzelmeristem von Weizen- und Maiskeimpflanzen zeigen, daß Fluazifop-butyl den Zellzyklus in der G_1 -Phase und

am Ende der G_2 -Phase hemmt. Damit bestätigen unsere Ergebnisse die Angaben anderer Autoren [5, 6, 11, 19, 22], daß Fluazifop-butyl und verwandte Herbizide die Meristemaktivität über eine Störung des Zellzyklusablaufs und durch die Hemmung der Auslösung der Mitose beeinträchtigen. Unter unseren Versuchsbedingungen mit relativ hohen Herbizid-Konzentrationen, wie sie in der Praxis verwendet werden, und nach verhältnismäßig langen Behandlungsdauern, treten außerdem Zonen mit verklumpten Meta- und Prophasen, sowie binukleate und polyploide Zellen auf, die eine zusätzliche Wirkung, möglicherweise sekundärer Natur, auf den Ablauf der Mitosesequenz vermuten lassen. Alle diese Effekte können durch die primäre Wirkung auf die Zellmembranen verursacht werden. Es muß jedoch damit gerechnet werden, daß Fluazifop-butyl außerdem spezifische, für die G_1 -S-Transition bzw. für die Auslösung der Mitose verantwortliche Proteinsynthesen hemmt, wie das im Falle anderer Herbizide mit ähnlicher Wirkung auf den Zellzyklus nachgewiesen wurde [3, 7]. Eine direkte Wirkung auf die DNS-Synthese scheint nach unseren cytophotometrischen Kern-DNS-Bestimmungen nicht vorzuliegen. Vermutlich wirkt Fluazifop-butyl, wie die meisten Herbizide, über verschiedene Angriffspunkte auf die pflanzliche Zelle [20], wodurch der Zellzyklus mehr oder weniger direkt betroffen wird.



A b b. 6. Die Wirkung einer Dauerbehandlung mit Fusilade (1–4 l/ha) auf die Verteilung der Zellzyklusphasen im Wurzelmeristem der Maiskeimlinge.

Schlußfolgerungen. Die andauernde (96 Stunden) oder kurzfristige (24 Stunden) Behandlung von Weizen- und Maiskeimlingen mit Fusilade (25% Fluzifop-butyl) in Dosen von 0,5–4,0 l/ha (=40–320 μ M Fluzifop-butyl) verursacht eine betonte Abnahme des Mitoseindex im Wurzelmeristem.

Die Feulgen-cytophotometrische Bestimmung der Kern-DNS-Gehalte zeigt eine Zunahme der G_1 - und/oder der G_2 -Phasenkerne. Außerdem erscheinen, inseriertartig verstreut, verklumpte Meta- und Prophasen, sowie polyploide und binukleate Zellen. Die Ergebnisse zeigen, daß Fluzifop-butyl den Ablauf des Zellzyklus vornehmlich in der G_1 -Phase und am Ende der G_2 -Phase hemmt.

LITERATURVERZEICHNIS

- Burton, J. D., Gronwald, J. W., Somers, D. A., *Inhibition of corn acetyl-CoA carboxylase by cyclohexanedione and aryloxyphenoxypropionate herbicides*, „Pestic. Biochem. Physiol.“, **34**, 1989, 76–85.
- Carr, J. E., Davies, L. G., Cobb, A. H., *Uptake, translocation and metabolism of fluzifop-butyl in Setaria viridis*, „Ann. Appl. Biol.“, **108**, 1986, 115–123.
- DiTomaso, J. M., Rost, T. L., Ashton, F. M., *The comparative cell cycle and metabolic effects of the herbicide napropamide on root tip meristems*, „Pestic. Biochem. Physiol.“, **31**, 1988, 166–174.
- Fedtke, C., *Biochemistry and Physiology of Herbicide Action*, Springer, Berlin, 1982.
- Hess, F. D., *Herbicide effects on the cell cycle of meristematic plant cells*, „Rev. Weed Sci.“, **3**, 1987, 183–203.
- Hess, F. D., *Herbicide interference with cell division in plants*, in Böger, P., Sandmann, G. (Eds.), *Target Sites of Herbicide Action*, pp. 85–103, CRC Press, Boca Raton, Fl., 1989.
- Hess, F. D., Holmsen, J. D., Fedtke, C., *The influence of the herbicide mefenacet on cell division and cell enlargement in plants*, „Weed Res.“, **30**, 1990, 21–27.
- Hoppe, H. H., *Einfluß von Dichlofop-methyl auf Wachstum und Entwicklung der Keimlinge von Zea mays L.*, „Weed Res.“, **20**, 1980, 371–376.
- Hoppe, H. H., *Differential effect of dichlofop-methyl on fatty acid biosynthesis in leaves of sensitive and tolerant species*, „Pestic. Biochem. Physiol.“, **23**, 1985, 297–308.
- Hoppe, H. H., *Fatty acid biosynthesis — A target site of herbicide action*, in Böger, P., Sandmann, G. (Eds.), *Target Sites of Herbicide Action*, pp. 65–83, CRC Press, Boca Raton, Fl., 1989.
- Jain, R., Van Den Born, W. H., *Morphological and histological effects of sethoxydim, fluzifop-butyl and DOW CO 453 on wild oats (Avena fatua)*, „Abstr. Weed Sci. Soc. Amer.“, 1983, 73–74.
- Keul, M., Vintilă, R., Lazăr-Keul, G., Andreica, A., Osváth, T., *Phytotoxische Fusilade-Wirkungen auf Weizen- und Maiskeimpflanzen. I. Teil. Wirkungen auf Wachstum, Atmung und Wurzelabsorption*, „Stud. Univ. Babeş-Bolyai, Biol.“, **35** (2), 1990, 31–41.
- Kobek, K., Focke, M., Lichtenthaler, H. K., *Fatty-acid biosynthesis and acetyl-CoA carboxylase as a target of diclofop, fenoxyprop and other aryloxy-phenoxy-propionic acid herbicides*, „Z. Naturforsch.“, **C 43**, 1988, 47–54.
- Krug, H., *Histo- und Zytophotometrie*, Fischer, Jena, 1980.
- Landré, P., *Teneurs en DNA nucléaire des quelques types cellulaires de l'épiderme de la morelle noire (Solanum nigrum L.) au cours du développement de la feuille. Étude histologique et cytophotométrique*, „Ann. Sci. Nat. Bot.“, **17**, 1976, 5–105.
- Lazăr-Keul, G., Keul, M., Vintilă, R., *Efectul tratamentului cu 2,4-D și dicamba asupra cantității de ADN și a volumului nuclear din celulele meristemului radicular de grâu*, „Contrib. Bot.“ (Cluj-Napoca), 1981, 169–173.

17. Lazăr-Keul, G., Vintilă, R., Keul, M., *Ethrel-Wirkungen auf Wachstum und Zellzyklusablauf bei Weizenkeimpflanzen (Triticum aestivum L.)*, „Rev. Roum. Biol., Biol. Vég.”, **29** (2), 1984, 109–116.
18. Mendelsohn, M. L., *The two-wavelength method of microspectrophotometry*, „J. Biophys. Biochem. Cytol.”, **4**, 1958, 407–431.
19. Pallett, K. E., *The mechanisms of activity and selectivity of the wild oat herbicides*, „Proc. Brit. Crop Prot. Conf. — Weeds”, 1980, 843–854.
20. Pallett, K. E., *Other primary target sites for herbicides*, in Kirkwood, R. C. (Ed.), *Target Sites for Herbicide Action*, pp. 123–167, Plenum Press, New York, 1991.
21. Patai, K., *Absorption microphotometry of irregular-shaped objects*, „Chromosoma”, **5**, 1952, 341–362.
22. Plowman, R. E., Stonenbridge, W. C., Hawtree, J. W., *Fluazifop-butyl — a new selective herbicide for control of annual and perennial grass weeds*, „Proc. 15th Brit. Weed Contr. Conf.” (Brighton), **1**, 1980, 29–38.
23. Vintilă, R., Keul, M., Polizu, A., *Wachstumsphysiologische Untersuchungen an Dicamba-behandelten Maiskeimpflanzen*, „Rev. Roum. Biol., Biol. Vég.”, **28**, 1983, 137–144.
24. Vintilă, R., Lazăr-Keul, G., Keul, M., Andreica, A., *Efectul tratamentului de scurtă durată cu Triflurrom 24 EC asupra creșterii plantulelor, absorbției radiculare și conținutului de ADN nuclear la grâu și porumb*, „Contrib. Bot.” (Cluj-Napoca), 1990, 101–110.
25. Vintilă, R., Lazăr-Keul, G., Keul, M., Polizu, A., *Unele aspecte privind efectul butilatului asupra creșterii și conținutului de ADN nuclear la plantulele de porumb*, „Stud. Cercet. Biol., Biol. Vég.”, **36**, 1984, 127–134.
26. Walker, K. A., Ridley, S. M., Harwood, J. L., *Effects of the selective herbicide fluazifop on fatty acid synthesis in pea (Pisum sativum) and barley (Hordeum vulgare)*, „Biochem. J.”, **254**, 1988, 811–817.
27. Walker, K. A., Ridley, S. M., Harwood, J. L., *Inhibition of fatty acid synthesis in plants by a selective herbicide, fluazifop*, „Biochem. Soc. Trans.”, **16**, 1988, 277–278.

PHYTOTOXISCHE FUSILADE-WIRKUNGEN AUF WEIZEN- UND MAISKEIMPFLANZEN

III. Teil. Wirkungen auf Zellwachstum und Cytoplasmaströmung¹

MARTIN KEUL*, ROZALIA VINTILĂ*, GEORGETA LAZĂR-KEUL* und ALMA ANDREICA*

SUMMARY. — *Phytotoxic Effects of Fusilade upon Wheat and Corn Seedlings.* Part III. *Effects on Cell Growth and Cytoplasmic Streaming.* Fluazifop-butyl caused a strong inhibition and/or the irreversible stopping of the growth of wheat root hairs. The growth responses were rather heterogeneous and revealed therefore no clear dose-effect relationship within the concentration range used (8–16 μM). The inhibitory action was accompanied by some growth anomalies. Similar results were obtained on the growth of pollen tubes. The inhibition progressed linearly with applied doses (10–40 μM), and was dependent on the species. For the inhibition and/or the cessation of cytoplasmic streaming within the wheat root hairs, comparable higher concentrations (40–80 μM) were effective. The results show a more direct action of fluazifop-butyl on cell growth, while the cessation of cytoplasmic streaming may be a consequence of a general cell injury.

Die phytotoxische Wirkung von Fusilade (Wirkstoff: Fluazifop-butyl = Butyl 2-[4-[[5-(trifluoro-methyl)-2-pyridyl]oxy]phenoxy]propionat)) und verwandten Herbiziden der Di(phenoxy)propionsäurederivate äußert sich symptomatisch durch eine von fortschreitenden Nekrosen begleitete Hemmung des Pflanzenwachstums [3, 7, 9, 22]. Nach eigenen Untersuchungen [15] bewirkt die andauernde (6 Tage lange) Behandlung von Weizen- und Maiskeimlingen mit 4–320 μM Fluazifop-butyl (Aufwandsmengen von 0,05–4,0 l Fusilade/ha) eine frühzeitige und rasch fortschreitende Hemmung bzw. die endgültige Blockierung des Wachstums. Die Ergebnisse lassen vermuten, daß Fluazifop-butyl, ähnlich wie andere Di(phenoxy)propionsäurederivate, mehr oder weniger direkt auf die Mechanismen des pflanzlichen Wachstums einwirkt.

Nach bisherigen Angaben wird die wachstumshemmende Wirkung der Di(phenoxy)propionsäurederivate gleichermaßen durch die Hemmung der beiden Komponenten des Pflanzenwachstums, der Zellteilung und der Zellstreckung, verursacht [7–9, 11, 13, 20–22]. Die Hemmwirkung von Fluazifop-butyl auf die Wurzelmeristemaktivität von Weizen- und Maiskeimlingen wurde in einer früheren Arbeit nachgewiesen [17]. Danach setzt Fluazifop-butyl die Mitoserate nach andauernder (96 Stunden) und kurzfristiger (24 Stunden) Behandlung stark herab und hemmt den Zellzyklusablauf in der G_1 - und G_2 -Phase. Die Ergebnisse zeigen, daß die Beeinträchtigung der Zellteilung durch Fluazifop-butyl für die festgestellte Hemmung des Wurzelwachstums [15] mitverantwortlich ist.

¹I. und II. Teil — S. „Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Biol.“, 35 (3), 1990, 31–41 und 37 (1), 1992, 37–46.

* Institut für Biologische Forschungen, 3400 Cluj, Rumänien

Sichtbare Veränderungen des Pflanzenwachstums werden jedoch maßgeblich über die Beeinflussung der Zellstreckung bedingt. In dieser Hinsicht gibt es nur spärliche direkte Befunde über die Wirkung der Di(phenoxy)propionsäurederivate. In vorliegender Arbeit soll daher die Wirkung von Fluazifop-butyl auf das Wachstum einzelner Zellen untersucht werden. Zu diesem Zweck können die ausschließlich durch Elongation wachsenden Wurzelhaare herangezogen werden, deren Wachstum unter physiologischen Bedingungen unmittelbar verfolgt werden kann [19, 25, 26]. Als Vergleichstest wurden Pollenschläuche verwendet. Beide Zelltypen sind durch ein ausgesprochenes Spitzenwachstum mit hoher Wachstumsrate gekennzeichnet [6, 23]. Weitere Anhaltspunkte über die phytotoxische Fusilade-Wirkung auf die Pflanzenzelle wurden durch die Untersuchung der Protoplasmaströmung in den Wurzelhaaren von Weizenkeimpflanzen erzielt.

Material und Arbeitsmethoden, Winterweizenkaryopsen (*Triticum aestivum* L., cv. *Ariesan*) wurden in Petri-Schalen auf Filterpapierunterlagen mit Leitungswasser bei Zimmertemperatur (ca. 22°C) und im Dunkeln zur Keimung angesetzt. Die Untersuchung der Fusilade-Wirkung auf die Wurzelhaare wurde 48–72 Stunden nach dem Ansetzen mit ca. 1,5–2,0 cm langen Embryonalwurzeln durchgeführt. Für die Pollenschlauchversuche wurden frisch gesammelte Pollen von *Primula obconica* Hance und *Lycopersicon esculentum* Mill. verwendet.

Die Behandlung mit Fusilade (25% Fluazifop-butyl) erfolgte mit wäßrigen Emulsionen (v/v). Die Versuchskonzentrationen wurden mit destilliertem Wasser hergestellt.

Messung des Wurzelhaarwachstums. Die gekeimten Karyopsen mit ca. 1,5–2,0 cm langen Embryonalwurzeln wurden auf einem mit Deckglasfüßchen versehenen Objektträger in einem Tropfen Leitungswasser präpariert. Die außerhalb der Deckglasabdeckung verbliebene Karyopse wurde mit befeuchteter Watte gegen Austrocknung geschützt. Um Temperaturvariationen auszuschließen wurde mit einem auf 24°C eingestellten thermoregulierbaren Mikroskop-Heiztisch (Leitz)* gearbeitet. Die Länge der Wurzelhaare wurde vom Beginn ihres Auswachsens alle 30 Minuten über eine Dauer von 6 Stunden mit Hilfe eines Meßschraubenokulars (Zeiss, Jena) gemessen. Alle 30 Minuten wurde frische Flüssigkeit unter dem Deckglas durchgesaugt. Für jede Versuchsvariante, einschließlich der Kontrolle in Leitungswasser, wurden Längenmessungen an 20–30 Wurzelhaaren durchgeführt. Die Daten wurden statistisch verarbeitet und in Prozenten der maximalen Endlänge bzw. der maximalen Wachstumsrate der Kontrolle berechnet.

Messung der Geschwindigkeit der Protoplasmaströmung. 1,5–2,0 cm lange Embryonalwurzeln wurden von der Karyopse abgetrennt und in Leitungswasser auf einem Objektträger mit Deckglasfüßchen präpariert. Das Präparat verblieb bis zur Messung ca. 30 Minuten im Lichtfeld des Mikroskopes um den Traumaschock abklingen zu lassen bzw. um die photodynamische Wirkung zu stabilisieren [14]. Die Versuche wurden mit Wurzelhaaren von ca. 800 µm Länge mit relativ hoher und konstanter Geschwindigkeit der Rotationsströmung durchgeführt [24–26]. Die Messung erfolgte mit Stoppuhr und geeichtem Okularmikrometer im Phasenkontrast. Nach der Registrierung der Kontrolle wurde die Fusilade-Emulsion (10–80 µM Fluazifop-butyl) unter dem Deckglas durchgesaugt und alle 15 Minuten frisch ersetzt. Zwischen zwei Infiltrationen wurden 50 Messungen vorgenommen und daraus die mittlere Strömungsgeschwindigkeit für das entsprechende Zeitintervall berechnet. Die Versuchsdauer betrug 120 Minuten. Für jede Versuchsvariante wurden 3–5 Wiederholungen durchgeführt.

Messung des Pollenschlauchwachstums. Frische Pollen von *Primula obconica* Hance und *Lycopersicon esculentum* Mill. wurden auf Hohlsliffobjektträgern auf halbstem Agar-Medium mit Saccharose [4, 5] zur Keimung angesetzt. Dem Nährmedium wurde Fusilade bis zu einer Endkonzentration von 0,4–50 µM Fluazifop-butyl hinzugefügt. Die Präparate wurden 4 Stunden bei 24°C inkubiert. Die Längenmessungen wurden mit einem Okularmikrometer an ca. 30 Pollenschläuchen je Variante, einschließlich der Kontrolle ohne Fusilade, vorgenommen.

* Der Alexander von Humboldt-Stiftung danken wir an dieser Stelle für die bereitgestellte Gerätespende.

Ergebnisse und Diskussion. Das Wachstum der Weizenwurzelhaare der Kontrolle in Leitungswasser folgt in den ersten 6 Stunden vom Beginn ihres Auswachsens einer sigmoiden Kurve mit einem mehr oder weniger ausgeprägten mittleren linearen Abschnitt [19, 26]. Ein ähnlicher Wachstumsverlauf wurde für Gerstewurzelhaare entsprechend einer autokatalytischen Funktion beschrieben [25]. Dabei besteht auch unter kontrollierten Versuchsbedingungen eine betonte Heterogenität in der Wachstumsintensität der einzelnen Wurzelhaare, die auf den Einfluß nicht näher definierbarer äußerer und insbesondere innerer Faktoren zurückgeführt werden muß [19, 25–26]. Trotz dieser Variabilität bieten die Wurzelhaare dank ihrer relativ einfachen Handhabung ein günstiges Testmaterial für physiologische Untersuchungen.

In Abb. 1 wurde der Verlauf des Wurzelhaarwachstums in Prozenten der erreichten mittleren Endlänge der Kontrolle ($230\ \mu\text{m}$) dargestellt. Die andauernde Fusilade-Behandlung mit $8\text{--}16\ \mu\text{M}$ Fluazifop-butyl verursacht eine mehr oder weniger betonte Hemmung bzw. eine nach verschiedenen Zeitpunkten eintretende endgültige Blockierung des Zellwachstums. Im Bereich der untersuchten Konzentrationen besteht dabei keine eindeutige Dosis-Effekt-Beziehung. Die verschiedenen Reaktionstypen (I–IV) wurden nach dem Kriterium der induzierten Hemmwirkung und nach dem Zeitpunkt der endgültigen Einstellung des Wachstums unabhängig von der applizierten Dosis dargestellt. Die festgestellte heterogene Reaktion widerspiegelt einerseits die natürliche Variabilität im Wachstumsverlauf der einzelnen Wurzelhaare, die möglicherweise schon durch unterschiedliche Aufnahmen des Wirkstoffs amplifiziert wird, ist andererseits aber auch ein Hinweis für die Komplexität der Wirkung von Fluazifop-butyl auf die am Streckungswachstum beteiligten Zellprozesse.

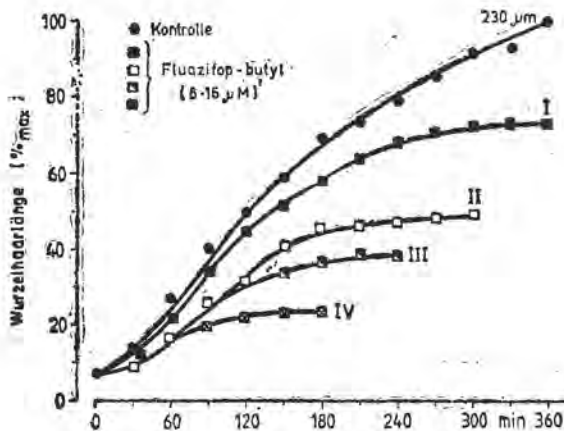


Abb. 1. Die Wirkung von Fluazifop-butyl ($8\text{--}16\ \mu\text{M}$) auf das Wachstum der Weizenwurzelhaare in Prozenten der maximalen Wurzelhaarlänge der Kontrolle ($230\ \mu\text{m}$) nach Reaktionstypen (I–IV).

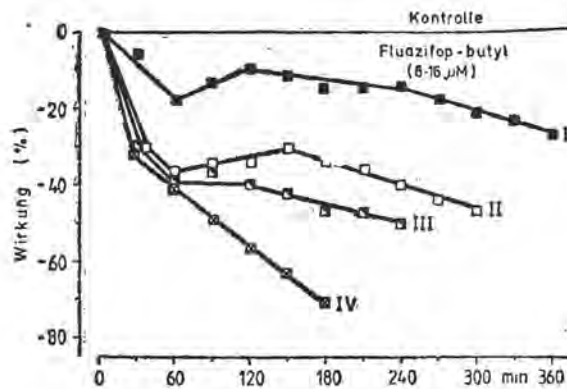


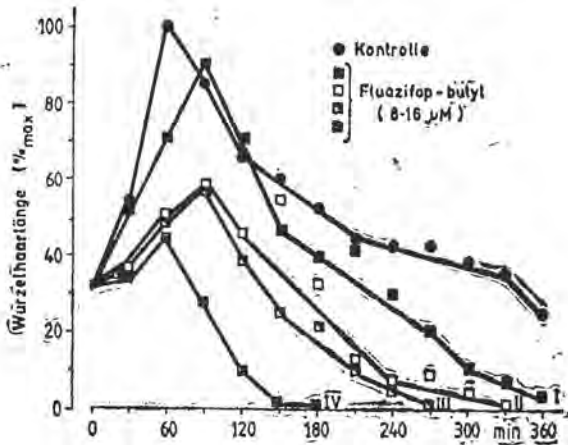
Abb. 2. Die Wirkung von Fluazifop-butyl (8–16 µM) auf das Wachstum der Weizenwurzelhaare (Prozentwerte gegenüber der Kontrolle) nach Reaktionstypen (I–IV).

Der zeitliche Ablauf der Hemmwirkung von Fluazifop-butyl auf das Längenwachstum der Wurzelhaare wurde in Abb. 2 in Prozenten gegenüber den entsprechenden Kontrollwerten dargestellt. In den meisten Fällen bewirkt Fluazifop-butyl gleich nach der Verabreichung eine ca. 30%ige schockartige Hemmung, die unter andauernder Behandlung je nach Reaktionstyp (II–IV) bis zum endgültigen Stillstand des Wachstums mehr oder weniger abrupt bis auf 40–70% zunimmt. Dabei wird das Wachstum um so früher eingestellt, je rascher die Hemmung fortschreitet. Eine Wiederaufnahme des Wachstums nach Auswaschen des Herbizids konnte nicht nachgewiesen werden. Eine entsprechend geringere Hemmwirkung von ca. 10–25% mit vorübergehend angedeuteter Erholungsphase wurde bei einer kleineren Anzahl von Wurzelhaaren festgestellt, die ihr Wachstum während der Versuchszeit nicht einstellen (Reaktionstyp I).

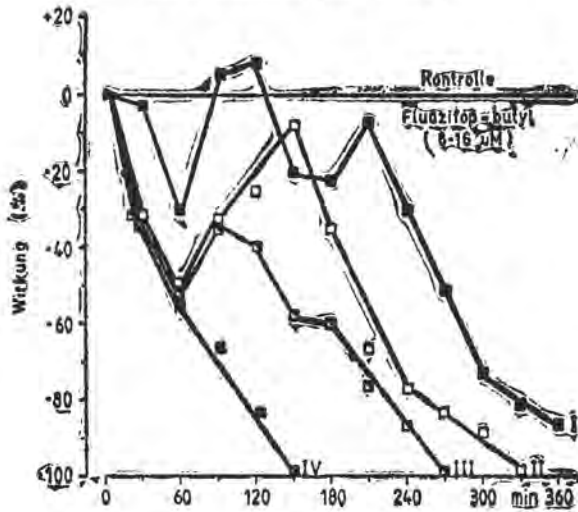
Die Wachstumsraten der Wurzelhaare (Prozentwerte des maximalen Kontrollwertes) wurden in Abb. 3 und der Verlauf der relativen Fusilade-Wirkung auf die Wachstumsrate im Vergleich zur Kontrolle in Abb. 4 veranschaulicht.

Die Wachstumsgeschwindigkeit der Kontrolle (Abb. 3) nimmt entsprechend einer typischen sigmoiden Wachstumskurve in den ersten 60 Minuten nach der Ausbildung der Wurzelhaare steil zu und verlangsamt sich dann fortlaufend bis Versuchsende. Ein ähnlicher Verlauf der Wachstumsrate wurde bei Gerstewurzelhaaren beschrieben [25]. Durch Fluazifop-butyl wird die Wachstumsgeschwindigkeit während der gesamten Behandlungsdauer mehr oder weniger stark reduziert, wobei insbesondere die exponentielle Anfangsphase gehemmt und die große Periode zeitlich verzögert wird.

Der Ablauf der Fusilade-Wirkung (Abb. 4) zeigt in den ersten 60 Minuten nach Beginn der Behandlung eine schockartige Abnahme der Wachstumsrate in der exponentiellen Anfangsphase um ca. 35–60%



A b b. 3. Die Wirkung von Fluazifop-butyl ($8-16 \mu\text{M}$) auf die Wachstumsrate der Weizenwurzelhaare in Prozenten der maximalen Wachstumsrate der Kontrolle nach Reaktionstypen (I-IV).



A b b. 4. Die Wirkung von Fluazifop-butyl ($8-16 \mu\text{M}$) auf die Wachstumsrate der Weizenwurzelhaare (Prozentwerte gegenüber der Kontrolle) nach Reaktionstypen (I-IV).

gegenüber der Kontrolle, wozu sich der Hemmeffekt je nach Reaktionstyp differenziert. Bei einem Teil der Wurzelhaare (Reaktionstyp IV) wird das exponentielle Wachstum bzw. die große Periode fast vollständig unterdrückt und die Hemmung verläuft bis zur Einstellung des Wachstums linear weiter. In der Mehrzahl der Fälle (Reaktionstypen I-III) wird die anfängliche Hemmwirkung trotz andauernder Weiterbehandlung vor-

übergehend bzw. gänzlich aufgehoben, um dann wieder mehr oder weniger linear zuzunehmen. Diese Entwicklung scheint darauf hinzudeuten, daß die Fusilade-Wirkung in aufeinanderfolgenden Phasen unter Beteiligung mehrerer Wirkungsmechanismen abläuft.

Die Fusilade-Wirkung auf das Wachstum der Wurzelhaare wird von morphologischen Effekten begleitet. Manche Wurzelhaare platzen nach verschiedenen langen Behandlungsdauern oder weisen Verformungen und Verzweigungen an der Zellspitze, sowie Krümmungen und bauchartige Verbreiterungen entlang der Zelle auf. Ähnliche, aber drastischere Effekte, wurden unter dem Einfluß von 2, 4-D und Trifluralin beschrieben [19, 26]. Dabei wird die Ausbildung neuer Wurzelhaare offensichtlich nicht unterdrückt, sondern ihr weiteres Wachstum gehemmt. Andere Schädigungssymptome machen sich durch Plasmakoagulationen, Fragmentierungen der Vakuole und durch den Stillstand der Protoplasmaströmung bemerkbar. Es ist jedoch bemerkenswert, daß die Protoplasmaströmung in den meisten Zellen auch nach der Einstellung des Wachstums fortbesteht, solange keine weiteren sichtbaren Zellschäden auftreten. Das Zellwachstum reagiert demnach empfindlicher auf Fluazifop-butyl als die Protoplasmaströmung, was darauf hindeutet, daß die Primärwirkung des Herbizids Zellprozesse betrifft, die mehr oder weniger eng mit den Mechanismen des Zellwachstums korreliert sind.

Um die Wirkung von Fluazifop-butyl auf die Protoplasmaströmung näher zu untersuchen, wurde mit ca. 800 μm langen Wurzelhaaren mit relativ konstanter Rotationsgeschwindigkeit [25] gearbeitet (Abb. 5). Die durch Fluazifop-butyl induzierte Hemmung auf die Protoplasmaströmung ist von der verabreichten Dosis und von der Behandlungsdauer abhängig. Konzentrationen von 10–20 μM Fluazifop-butyl (0,125–0,250 l Fusilade/ha) verursachen anfangs eine leichte Hemmung von ca. 5–10%, die unter

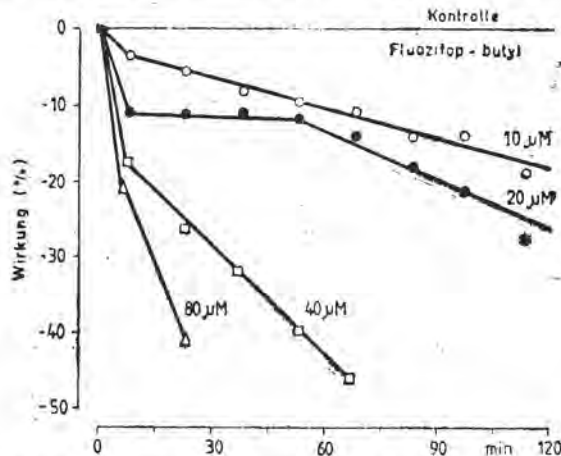


Abb. 5. Die Wirkung von Fluazifop-butyl (10–80 μM) auf die Geschwindigkeit der Protoplasmaströmung in Weizenwurzelhaaren (Prozentwerte gegenüber der Kontrolle).

andauernder Behandlung bis auf 20–30% gegenüber der Kontrolle langsam zunimmt, ohne daß die Protoplasmaströmung zum Stillstand kommt oder andere sichtbare Zellschäden auftreten. Durch höhere Dosen (40–80 μM) wird die Strömungsgeschwindigkeit stark gehemmt, wobei die typische Rotationsströmung allmählich in Glitschbewegungen übergeht, um schließlich, je nach angewandter Konzentration, mehr oder weniger rasch sistiert zu werden. Der Stillstand der Protoplasmaströmung wird dabei von Koagulationen, Vakuolisierungen und optischen Kontraständerungen des Cytoplasmas begleitet, die auf fortgeschrittene Zellschädigungen hinweisen.

Die Ergebnisse zeigen eindeutig, daß für die Hemmung der Protoplasmaströmung bzw. für das Auftreten von Zellschäden höhere Fluazifop-Konzentrationen als für die Hemmung des Zellwachstums erforderlich sind, und bestätigen somit die Beobachtung, wonach die Hemmung des Zellwachstums schon durch verhältnismäßig niedrige Herbizid-Dosen vor dem Erscheinen sichtbarer Zellschäden induziert wird. Daraus ergeben sich wichtige Schlußfolgerungen hinsichtlich der Wechselwirkung von Fluazifop-butyl mit den Mechanismen der untersuchten Zellprozesse.

Die betonte Hemmwirkung von Fluazifop-butyl auf das Zellwachstum wurde durch Pollenschlauch-Untersuchungen bestätigt (Abb. 6). Im Bereich der Herbizid-Konzentrationen von 0,4–40 μM Fluazifop-butyl ist die induzierte Wirkung linear mit der applizierten Dosis korreliert und reicht von leichten Stimulationen bis zu ca. 50–80%igen Hemmungen des Pollenschlauchwachstums. Dosen über 40 μM hemmen die Keimung zwar nicht, unterbinden jedoch das Zellwachstum schon im Anfangsstadium der Pollenschlauchbildung. Das Wachstum von *Primula*- und *Lycopersicon*-Pollenschläuchen weist große Unterschiede in der Empfindlichkeit gegen-

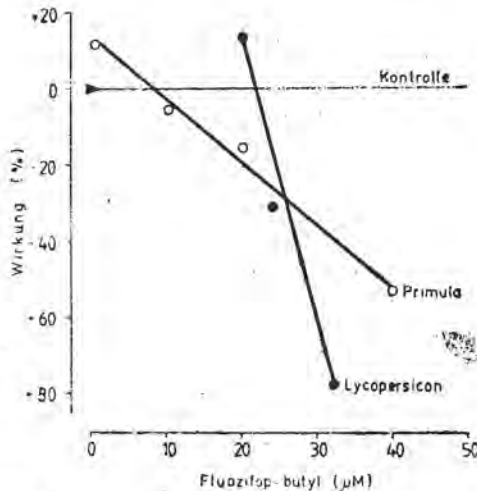


Abb. 6. Dosis-Effekt-Beziehung der Wirkung von Fluazifop-butyl (0,4–40 μM) auf das Pollenschlauchwachstum (Prozentwerte gegenüber der Kontrolle).

über der Behandlung mit Fluazifop-butyl auf, die wohl z.T. auf Differenzen in der Aufnahme des Herbizids zurückgeführt werden können. In beiden Fällen wird die Wachstumshemmung von morphologischen Effekten begleitet, die sich in Verformungen und Krümmungen des Pollenschlauches äußern.

Wie die vorliegenden Untersuchungen zeigen, wird das Zellwachstum durch Fluazifop-butyl empfindlich gehemmt. Neben der früher nachgewiesenen Hemmung der Mitoseaktivität im Wurzelmeristem von Weizen- und Maiskeimlingen [17], ist die Beeinträchtigung der Zellstreckung demnach in entscheidendem Maße für die induzierte Hemmung des Keimlingswachstums [15] mitverantwortlich. Die erzielten Ergebnisse unterstützen die Befunde anderer Autoren, wonach Fluazifop-butyl und verwandte Herbizide sowohl die Zellteilung als auch die Zellstreckung hemmen [7–9, 13, 20–22]. Der biochemische Mechanismus dieser Wirkungen wird durch die experimentell nachgewiesene spezifische Hemmung der Fettsäurebiosynthese erklärt [1, 10–11, 16, 27], wodurch der Aufbau der unmittelbar an der Zellteilung und am Zellwachstum beteiligten Zellmembransysteme gestört wird [8, 10]. Antiauxinische Effekte der Di(phenoxy)propionsäuren [12] und Einflüsse auf den Energiestoffwechsel [2] werden z.T. ebenfalls mit der Primärwirkung dieser Herbizide auf die Lipidbiosynthese und die daran beteiligten Enzymsysteme bzw. auf die Zellmembranen in Verbindung gebracht [21]. Als energieabhängige, von Auxinen regulierte und an intakte Membransysteme gebundene Prozesse, sind die Zellteilung und die Zellstreckung der komplexen Wirkung dieser Herbizide unterworfen. Es ist außerdem anzunehmen, daß Fluazifop-butyl, ähnlich wie andere Herbizide, die pflanzliche Zelle über mehrere Angriffspunkte beeinflusst [21].

Wurzelhaarzellen und Pollenschläuche zeichnen sich gegenüber normalen Gewebezellen mit Oberflächenwachstum durch ein typisches Spitzenwachstum aus. Die beiden Wachstumstypen unterscheiden sich strukturell und hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber Hemmstoffen [6, 23]. Bei der Übertragung experimenteller Ergebnisse von einem Wachstumsmodell auf das andere ist demnach eine gewisse Vorsicht geboten. Trotz dieser Einschränkung kann aufgrund der Versuche an Wurzelhaaren und Pollenschläuchen behauptet werden, daß Fluazifop-butyl das Pflanzenwachstum maßgeblich über die Hemmung der Zellstreckung beeinflusst.

Die an Wurzelhaaren erzielten Ergebnisse deuten darauf hin, daß die Hemmwirkung von Fluazifop-butyl auf das Streckungswachstum in mehreren Phasen abläuft, die auf verschiedenen Wirkungsmechanismen beruhen. Aus dem Verlauf der Fusilade-Wirkung ist zu vermuten (Abb. 2 und 4), daß die schockartig ausgelöste Hemmung am Anfang der Behandlung durch eine funktionelle Störung des Wachstums verursacht wird, die möglicherweise reversibel ist, während die zunehmende Hemmung und die irreversible Blockierung des Zellwachstums nach längerer Behandlungsdauer wahrscheinlich mit allmählich auftretenden Zellschäden verbunden sind. Funktionelle Störungen verlaufen wahrscheinlich über rasch eintretende Einwirkungen auf die Enzyme der Atmungskette und über antiiauxinische Effekte [21]. Aufschlußreiche Ergebnisse in dieser Richtung

liefern die Untersuchungen über die Protoplasmaströmung in den Wurzelhaaren.

Die Protoplasmaströmung wird durch äußere Eingriffe auf den ihr zugrundeliegenden und vom Energiestoffwechsel abhängigen aktomyosinartigen Kontraktionsmechanismus empfindlich beeinflusst [18, 24] und ist als Test zur Beurteilung des allgemeinen Lebenszustandes der Zelle besonders geeignet. Wie die mit Fluazifop-butyl erzielten Ergebnisse zeigen, besteht die Protoplasmaströmung auch in stark wachstumsgehemmten Wurzelhaaren bis zum Auftreten sichtbarer Plasmaschäden weiter und wird erst bei vergleichbar höheren Konzentrationen (40–80 μM) stark gehemmt und irreversibel sistiert (Abb. 5). Die Befunde zeigen, daß Fluazifop-butyl primär auf Prozesse einwirkt, die unmittelbar mit dem Zellwachstum gekoppelt sind, während der Stillstand der Protoplasmaströmung als Ausdruck fortgeschrittener allgemeiner Zellschäden aufzufassen ist. Die leichte Hemmung der Plasmaströmung durch schon stark wachstumshemmende Fusilade-Dosen (10–20 μM Fluazifop-butyl) ist vor dem Auftreten von Zellschäden möglicherweise auf Beeinträchtigungen der am Energiestoffwechsel beteiligten Enzymsysteme [1–2, 16, 21] und auf bisher noch nicht nachgewiesene Wechselwirkungen mit dem ebenfalls an funktionstüchtige Membransysteme gebundenen Bewegungsmechanismus [18] zurückzuführen.

Schlussfolgerungen. Die Wirkung von Fusilade (25% Fluazifop-butyl) auf das Zellwachstum und die Protoplasmaströmung wurde an Wurzelhaaren (*Triticum aestivum* L., cv. *Ariesan*) und Pollenschläuchen (*Primula obconica* Hance und *Lycopersicon esculentum* Mill.) untersucht. In Dosen von 8–16 μM verursacht Fluazifop-butyl eine betonte und von morphologischen Effekten begleitete Hemmung bzw. eine nach verschiedenen Behandlungsdauern eintretende irreversible Blockierung des Zellwachstums. Im Bereich der untersuchten Konzentrationen läßt die heterogene Reaktion der Wurzelhaare (Reaktionstypen I–IV) keine eindeutige Dosis-Effekt-Beziehung erkennen. Das Pollenschlauchwachstum wird durch Fluazifop-butyl stark gehemmt. Die induzierte Wirkung nimmt linear mit der applizierten Dosis (10–40 μM) zu und ist von der Pollen-Art abhängig. Die Hemmung und der von sichtbaren Plasmaschäden begleitete Stillstand der Protoplasmaströmung in den Weizenwurzelhaaren werden durch höhere Fusilade-Konzentrationen (40–80 μM Fluazifop-butyl) induziert. Die Ergebnisse lassen auf eine unmittelbare Einwirkung von Fluazifop-butyl auf das Zellwachstum schließen, während der Stillstand der Protoplasmaströmung als Ausdruck einer fortgeschrittenen allgemeinen Zellschädigung gewertet werden muß.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Burton, J. D., Gronwald, J. W., Somers, D. A., *Inhibition of corn acetyl CoA carboxylase by cyclohexanedione and aryloxyphenoxypropionate herbicides*, „Pestic. Biochem. Physiol.“, **34**, 1989, 76–85.
2. Cohen, A. S., Morrison, I. N., *In vitro sensitivity of wheat and oat mitochondria to the selective herbicide, diclofop-methyl*, „Pestic. Biochem. Physiol.“, **16**, 1981, 110–119.

3. Coupland, D., *The effects of environmental factors on the performance of fluzifop-butyl against Elymus repens*, „Ann. Appl. Biol.", **102**, 1986, 353–363.
4. Diaconeasa, B., Andreica, A., *Citena date citologice privind germinarea Polenului de Primula obconica Hance*, „Contrib. Bot." (Cluj), 1968, 507–510.
5. Diaconeasa, B., Andreica, A., *Citena date privind fiziologia Polenului de Primula obconica*, „Stud. Univ. Babeş-Bolyai, Biol.", **13** (2), 1968, 43–49.
6. Emons, A. M. C., Wolters-Art, A. M. C., Traas, J. A., Derksen, J., *The effect of colchicine on microtubules and microfibrils in root hairs*, „Acta Bot. Neerl.", **39**, 1990, 19–27.
7. Pedtke, C., *Biochemistry and Physiology of Herbicide Action*, Springer, Berlin, 1982.
8. Hess, P. D., *Herbicide effects on the cell cycle of meristematic plant cells*, „Rev. Weed Sci.", **3**, 1987, 183–203.
9. Hoppe, H. H., *Einfluß von Diclofop-methyl auf Wachstum und Entwicklung von Zea mays L.*, „Weed Res.", **20**, 1980, 371–376.
10. Hoppe, H. H., *Differential effect of diclofop-methyl on fatty acid biosynthesis in leaves of sensitive and tolerant plant species*, „Pestic. Biochem. Physiol.", **23**, 1985, 297–308.
11. Hoppe, H. H., *Fatty acid biosynthesis — A target site of herbicide action*, in Böger, P., Sandmann, G. (Eds.), *Target Sites of Herbicide Action*, pp. 65–83, CRC Press, Boca Raton, Fl., 1989.
12. Jacobsen, A., Shimabukuro, R. H., McMichael, C., *Response of wheat and oat seedlings to root-applied diclofop-methyl and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid*, „Pestic. Biochem. Physiol.", **24**, 1985, 61–67.
13. Jain, R., Van Den Born, W. H., *Morphological and histological effects of sethoxydim, fluzifop-butyl and DOW CO 453 on wild oats (Avena fatua)*, „Abstr. Weed Sci. Soc. Amer.", 1983, 73–74.
14. Keul, M., *Das Wirkungsspektrum der Photodinese in den Wurzelhaaren der Gerste (Hordeum vulgare L.)*, „Z. Pflanzenphysiol.", **79**, 1976, 40–52.
15. Keul, M., Vintilă, R., Lazăr-Keul, G., Andreica, A., Osváth, T., *Phytotoxische Fusilade-Wirkungen auf Weizen- und Maiskeimpflanzen, I. Teil. Wirkungen auf Wachstum, Atmung und Wurzelabsorption*, „Stud. Univ. Babeş-Bolyai, Biol.", **35** (2), 1990, 31–41.
16. Kobek, K., Focke, M., Lichtenthaler, H. K., *Fatty acid biosynthesis and acetyl-CoA carboxylase as a target of diclofop, fenoxypop and other aryloxy-phenoxy-propionic acid herbicides*, „Z. Naturforsch.", **C43**, 1988, 47–54.
17. Lazăr-Keul, G., Keul, M., Vintilă, R., *Phytotoxische Fusilade-Wirkungen auf Weizen- und Maiskeimpflanzen. II. Teil. Feulgen-cytophotometrische Analyse der Kern-DNS-Gehalte im Wurzelmeristem*, „Stud. Univ. Babeş-Bolyai, Biol.", **37** (1), 1992, 37–46.
18. Lazăr-Keul, G., Keul, M., Wagner, G., *Reversible Hemmung der Protoplasmaströmung in Wurzelhaaren der Gerste (Hordeum vulgare L.) und Tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) durch Cytochalasin B*, „Z. Pflanzenphysiol.", **90**, 1978, 461–466.
19. Lazăr-Keul, G., Vintilă, R., Andreica, A., Keul, M., *Efecte citofiziologice ale erbicidului 2,4-D, in Combaterea integrată a buruienilor*, Vol. 6, pp. 265–270, Bucureşti, 1988.
20. Pallett, K. E., *The mechanisms of activity and selectivity of the wild oat herbicides*, „Proc. Brit. Crop Prot. Conf.-Weeds", 1980, 843–854.
21. Pallett, K. E., *Other primary target sites for herbicides*, in Kirkwood, R. C. (Ed.), *Target Sites for Herbicide Action*, pp. 123–167, Plenum Press, New York, 1991.
22. Plowman, R. E., Stonenbridge, W. C., Hawtree, J. W., *Fluzifop-butyl — a new selective herbicide for control of annual and perennial grass weeds*, „Proc. 15th Brit. Weed Contr. Conf." (Brighton), **1**, 1980, 29–38.

23. Sawney, V. K., Srivastava, L. M., *Comparative effects of cytochalasin B and colchicine on lettuce seedlings*, „Ann. Bot.", **41**, 1977, 271–274.
24. Soran, V., Lazăr, G., *The relationship between myo-inositol, ATP and rotational streaming*, „Physiol. Plant.", **22**, 1968, 560–569.
25. Soran, V., Lazăr-Keul, G., *Relationship between cell growth and rate of protoplasmic streaming*, „Cytologia", **43**, 1978, 265–271.
26. Vintilă, R., Lazăr-Keul, G., Keul, M., *Creșterea perilor radiculari de grâu și evoluția mișcării citoplasmice sub efectul trifluromului 24 EC*, în *Combaterea integrată a buruienilor*, Vol. 7, pp. 225–232, Tîrgoviște, 1990.
27. Walker, K. A., Ridley, S. H., Harwood, J. L., *Effects of the selective herbicide fluzafop on fatty acid synthesis in pea (Pisum sativum) and barley (Hordeum vulgare)*, „Biochem. J.", **254**, 1988, 811–817.

ESTIMATION OF MUTAGENIC EFFECT OF THE HERBICIDE ILLOXAN USING THE *DROSOPHILA MELANOGASTER* TEST

NICOLAE COMAN*, MANUELA DORDEA*, CORNELIA CRĂCIUNĂȘ* and DANA MICLEA*

SUMMARY. — Using the Curly-Lobe-Plum method in *Drosophila melanogaster*, the mutagenic effect of the herbicide illoxan (diclofop-methyl) was investigated. The herbicide, applied in a concentration equivalent to that used in agriculture, was found to be mutagenic as it doubled the frequency of the lethal recessive mutations and increased the detrimental ones. At the same time, the authors observed many flies with teratogenic characters, such as the lack of legs, wings, antennae, the reduction of the number of ommatidia, even the complete absence of eyes or changes in their position.

Illoxan or diclofop-methyl is a recently synthesized herbicide. Its chemical structure is presented in Fig. 1.

Illoxan is a crystalline, odourless substance, soluble in acetone, ether, ethanol. In our country, illoxan is manufactured in form of emulsifiable formulations with 36 or 27.3% active substance.

The literature reveals that illoxan is a systemic herbicide, which modifies mainly the structure and function of chloroplasts. In doses up to 1.5 l/ha, illoxan 36% is used to control the wild graminaceous plants in wheat, sugar beet and red fescue fields. Its dose is 2.5 l/ha for rice and 3 l/ha for onion. It is not recommended for some monocotyledonous cereals (maize, sorghum).

In dicotyledonous crop plants, illoxan 36% or 27.3% can be tolerated up to a concentration of 5 l/ha.

The field practice proved that the dose of herbicide depends on the developmental stage of weeds. Thus, when the weeds have only 3–4 leaves, an emulsion of 2.5–3 l/ha will suffice, while for weeds with 4–5 leaves, 3–3.5 l emulsion/ha should be applied.

Although derivatives of the phenoxy-phenoxy-alkanoic acids have been introduced in our country not before 1980, nowadays they are the most prevalent herbicides, being practically in contact with almost all

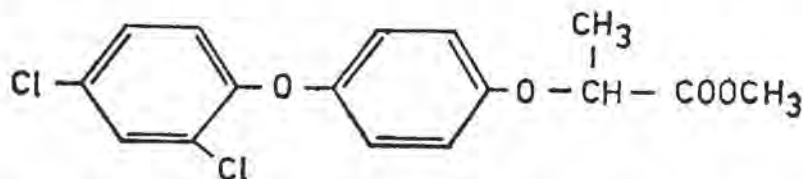


Fig. 1. Chemical structure of illoxan (diclofop-methyl): methyl 2-[4(2', 4'-dichlorophenoxy)phenoxy]propionate.

* Babeș-Bolyai University, Department of Animal Biology, 3400 Cluj, Romania

plants, animals and human beings. Regarding their effects on animals, it was found that acute oral DL₅₀ is about 1600 mg/kg in dogs and 363–579 mg/kg in female rats. As concerns their toxicity, the herbicides of this group are included in the third toxicity class [13].

The resistance of cultured plants to illoxan is different. Some species (sugar beet, wheat, bean) take it up slowly, being more resistant [3, 5, 14], while others (maize) take it up rapidly, being more sensitive [5]. In maize, the herbicide slows down the synthesis of fatty acids and increases the permeability of cells. The permeability changes are associated with ultrastructural modifications in young wheat plants and wild oat [1]. The resistance of cultured plants does not depend on the leaf surface on which illoxan was spread [7, 9, 10].

After entering the plant, the herbicide hydrolyses forming diclofop by losing the methyl (CH₃) group of the ester bond [8].

Derivates of the phenoxy-phenoxy-alkanoic acids (especially illoxan) induce general chlorosis and have also an antiauxinic effect, because they block the meristem of the growing area of root, preventing the formation of secondary roots [2, 8].

An increase of nucleic acid concentration in oat plants, as well as a decrease of carbohydrates in their roots [2, 4, 6] were observed 7 days after treatment with illoxan.

Wet soils favour herbicide metabolism so that its concentration decreases in such soils from 85% to 15% in 5 months. On the contrary, in dry soils the remanence of illoxan is much longer [9].

From this brief review it does not result a mutagenic effect of illoxan, only a cytostatic, antiauxinic one is evident. For this reason we investigated the mutagenic effect of illoxan, in a concentration corresponding to the highest concentration used in agriculture (emulsion with 0,019% active substance) which could affect the non-target species.

Material and methods. The Curly-Lobe-Plum (CyLPm) method was used for studying the mutagenic effect of illoxan. The experiment was carried out on wild and CyLPm lines of *Drosophila melanogaster*. The latter one has a stable lethality, which means that the specimens can survive only as heterozygotes for each of the three mutant genes. The line bears also two suppressing inversions of crossing-over. The method set up by Wallace [12] for testing the mutagenic effect of radiations was adapted in our laboratory for the study of pesticide effects.

This method consists of homozygotizing the wild line of *Drosophila melanogaster* for the second pair of chromosomes. The homozygotized specimens are then treated with the pesticide. Iloxan was dissolved in ethanol and homogenized in the medium (white medium with semolina) so that the concentration should be 0.019% in active substance, which corresponds to the highest concentration used in agriculture.

Afterwards, each chromosome (of the second pair) resulting from the pesticide-treated specimens was re-homozygotized through successive breedings (Fig. 2). When a lethal recessive mutation is induced in one or both chromosomes of the second pair of treated specimens, the homozygotized descendants are not viable and the whole generation F₂ consists only of CyLP/+ forms. However, if the second pair of chromosomes in +/+ forms displays one or more detrimental mutations (subvital, substerile, subfertile), viability is somehow affected so that the ratio 2:1 in F₂ is disturbed, due to the decreased occurrence of wild forms and the increased occurrence of CyLP/+ forms.

The descendants of 250 males for the control and 22) for the treated specimens were analysed, so that in F₂ there were more than 100 000 specimens tested. The descendants

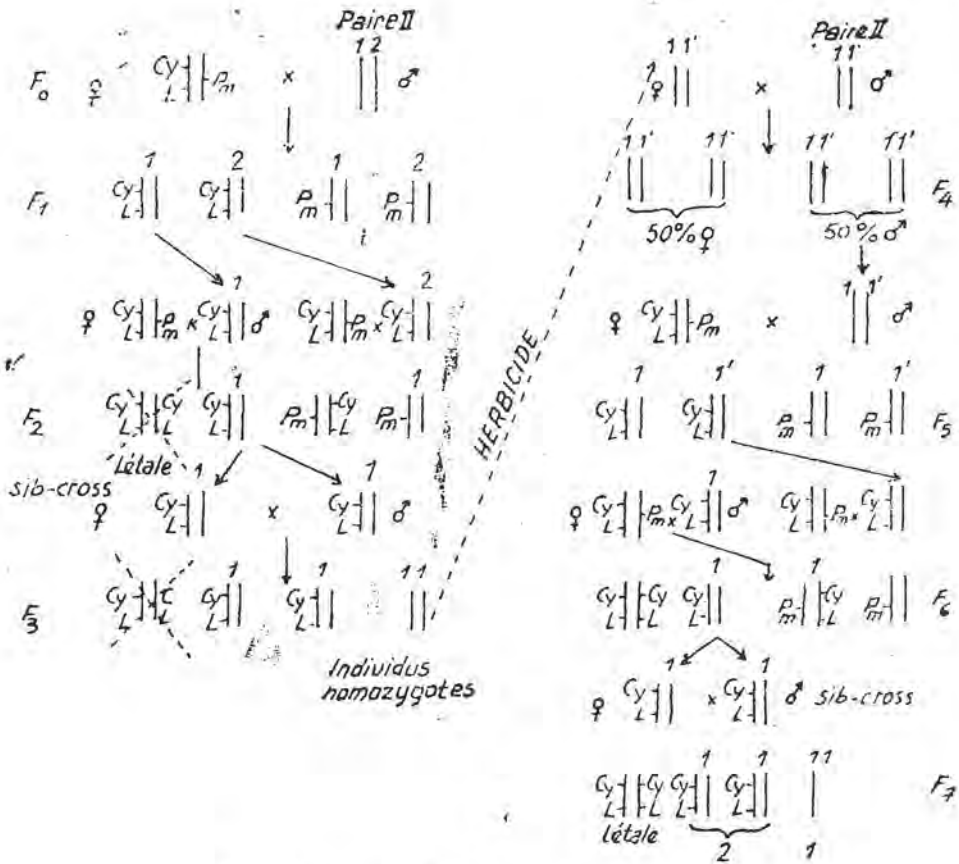


Fig. 2. Diagram of the crossing for the *CyLPm* test.

of the F₂ generation were counted on the 12th, 14th and 16th day after rearing their parents on medium. During the whole experiment, the specimens of *Drosophila melanogaster* were kept in thermostatic chambers at 25°C.

According to Vogel [11], the test of lethal recessive mutations is one of the most accurate means for estimating the mutations induced by various environmental factors.

Results and discussions. In the control group (Fig. 3) 0.88% of the specimens tested have been found to display lethal recessive mutations on their second pair of chromosomes, this value comparing favourably with that (1%) estimated by Wallace [12] and Vogel [11]. The analysis of deviation in F₂ from the ratio 2:1 (i.e. 66.66% *CyL*/+ : 33.33% +/+) has shown that 98% of the descendants *CyL*/+ range around the mean value: namely, 71.11% deviate by ± 5%, 19.74% by ± 10% and 7.89% by ± 15% in favour of *CyL*/+ form.

Beside the descendants which range around the mean value (98%) and with lethal recessive mutations (0.88%), a very low percentage (0.44%)

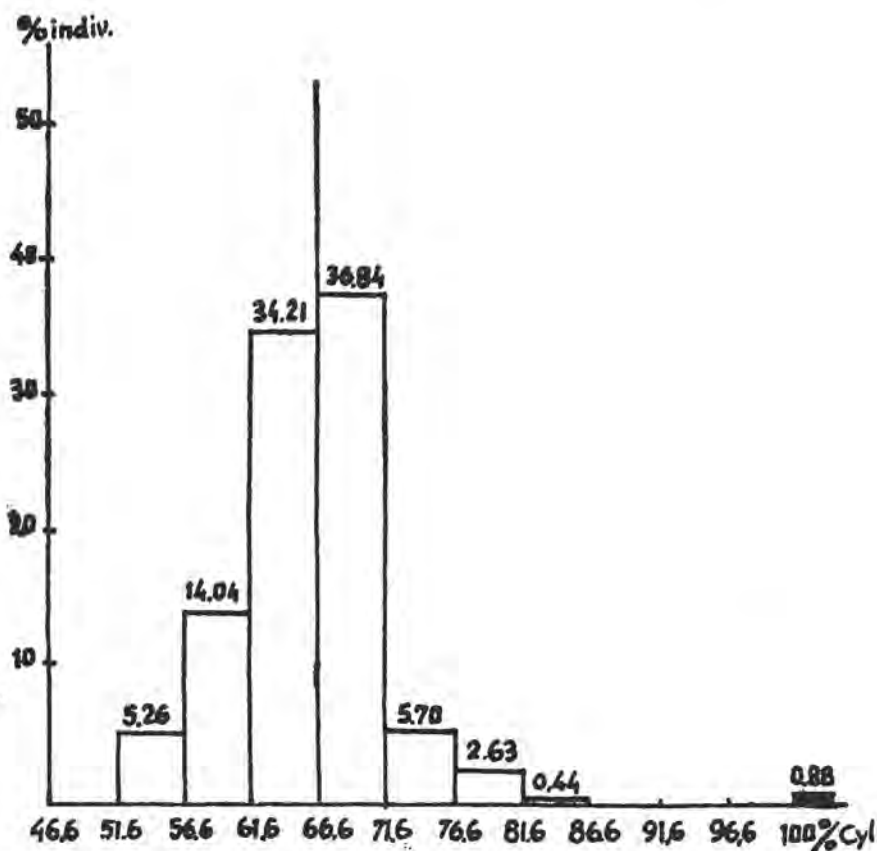


Fig. 3. Frequency of deleterious and lethal recessive mutations in control after the use of the CyL.Pm test.

displays detrimental mutations, which deviate by 20% in favour of CyL/+ form.

The agricultural dose of illoxon induces significant changes compared to the control (Fig. 4). Firstly, the frequency of lethal recessive mutations is 1.92%, two times higher than the one in the control. Secondly, we observed an increase of the frequency of specimens, whose descendants deviate from the ratio 2:1, in favour of the CyL/+ form. That means an increase of detrimental mutations.

The data presented in Fig. 4 show that most of the tested specimens have descendants which deviate from the ratio 2:1 in favour of CyL/+ form. Usually, the variation polygon should be normal. In our case it deviates to the right, which means a higher frequency of detrimental mutations compared to the control.

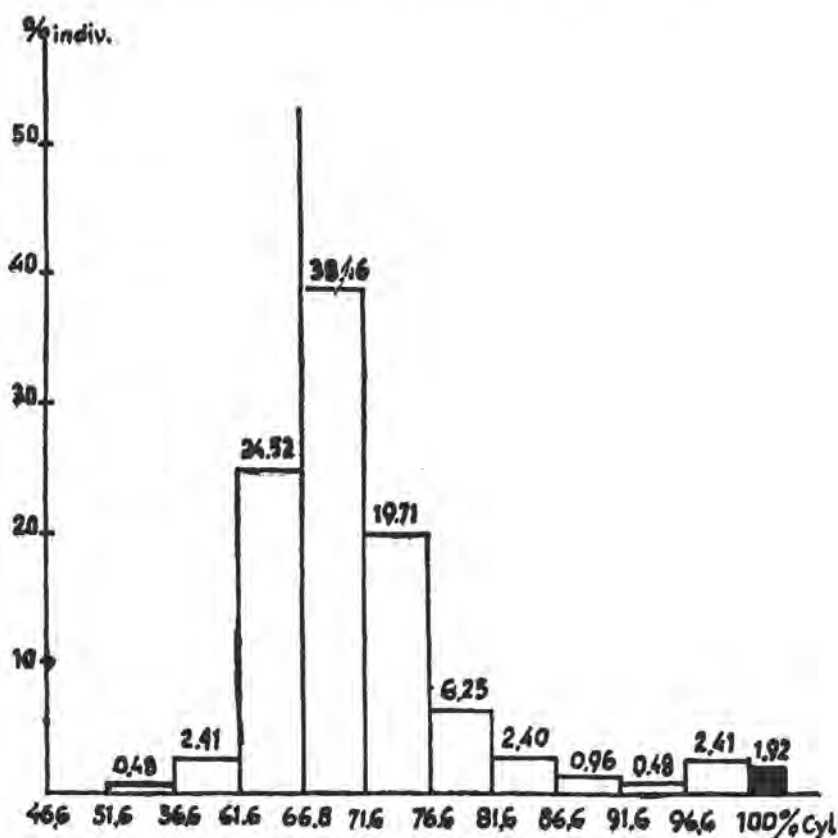


Fig. 4. Frequency of deleterious and lethal recessive mutations after treatment with illoxan applied at the highest concentration used in agriculture.

Our results suggest that illoxan acts on nucleic acids, inducing especially point mutations. A similar action was mentioned also by other authors [2].

Although we did not investigate the teratogenicity itself, we observed many flies with teratogenic characters, such as the lack of legs, wings, antennae, the reduction of the number of ommatidia, even the complete absence of eyes or changes in their position.

Conclusions. Iloxan used in a concentration equivalent to that used in agriculture has a significant mutagenic effect demonstrated by the frequency of lethal recessive and detrimental mutations, accompanied by an evident teratogenic effect.

REFERENCES

1. Brezeanu, A. G., Daviz, D. G., Shimabukuro, R. H., *Ultrastructural effects and translocation of methyl 1-2-[4-(2,4-dichlorophenoxy)-phenoxy] propionate in wheat (Triticum aestivum) and wild oat (Avena fatua)*, „Can. J. Bot.”, **54**, 1976, 2038–2048.

2. Chow, P.N.P., Laberge, D. B., *Wild oat herbicide studies. 2. Physiological and chemical changes in barley and wild oat treated with diclofop-methyl herbicide in relation to plant tolerance*, „J. Agric. Food, Chem.", **26**, 1978, 1134–1137.
3. Hoppe, H. H., *Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Diclofop-methyl*, „Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz", (Sonderh. 9), 1981, 187–195.
4. Köcher, H., *Aufnahme und Verteilung des Herbizids Diclofop-methyl bei ein- und zweikeimblättrigen Pflanzenarten*, „Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz", (Sonderh. 9), 1981, 171–177.
5. Köcher, H., Löttsch, K., *Ein Beitrag zur Wirkungsweise der Herbizide von Typ Phenoxy-phenoxy-propionsäure-Derivate*, „Proc. Eur. Weed Res. Soc. Symp. Status and Contract of Grassweeds in Europe", 1975, 430–437.
6. Queresi, F. A., Van Den Born, W. H., *Interaction of diclofop-methyl and MCPA on wild oats (Avena fatua)*, „Weed Sci.", **27**, 1979, 202–205.
7. Sharma, A., *Chemical mutagenesis in chromosome and cell genetics*, in Sharma, A. K., Sharma, A. (Eds.), *Chromosomes and Cell Genetics*, pp. 255–283, Gordon & Beach, New York, 1985.
8. Shimabukuro, R. H., Walsh, E. W., Hoerauf, A. R., *Metabolism and selectivity of diclofop-methyl in wild oat and wheat*, „J. Agric. Food Chem.", **27**, 1979, 47–52.
9. Smith, A. R., *Transformation of ¹⁴C-diclofop-methyl in small field plots*, „J. Agric. Food Chem.", **27**, 1979, 1026–1031.
10. Todd, B. G., Stabbe, E. B., *Selectivity of diclofop-methyl among wheat, barley, wild oat (Avena fatua), and green fox tail (Setaria viridis)*, „Weed Sci.", **25**, 1977, 282–285.
11. Vogel, E., *Some aspects on detection of potential mutagenic agents in Drosophila*, „Mutat. Res.", **29**, 1975, 241–245.
12. Wallace, B., *The average effect of radiation-induced mutations on viability in Drosophila melanogaster*, „Evolution", **12**, 1958, 532–552.
13. Ware, G. W., *Pesticides. Theory and Application*, Freeman, San Francisco, 1983.
14. Zacher, R., Hoppe, H. H., *Untersuchungen zur Selektivität von Diclofop-methyl on Zea mays, Triticum aestivum und Phaseolus vulgaris*, „Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz", (Sonderh. 9), 1981, 179–185.

ESTIMATION DE L'EFFET MUTAGÈNE DE L'ESTER 2-ÉTHYL-
HEXYLIQUE DE L'ACIDE 2,4-DICHLOROPHÉNOXYACÉTIQUE
UTILISÉ COMME HERBICIDE

„NICOLAE COMAN*, DANA MICLEA*, CORNELIA CRĂCIUNAS* et MANUELA BORDEA

SUMMARY. — Estimation of Mutagenic Effect of the 2-Ethylhexyl Ester of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Utilized as Herbicide. Using the Curly-Lobe-Plum method in *Drosophila melanogaster*, the authors found that this herbicide, applied in a concentration equivalent to that used in agricultural practice, manifested a significant mutagenic effect: frequency of the lethal recessive mutations was 6 times higher in the group of flies treated with the herbicide than in the untreated, control group.

L'herbicide étudié fait partie du groupe des acides phénoxy-aliphatiques, introduits dans la pratique agricole en 1944 et connus plus tard comme des „hormones” destructives des herbes nuisibles, notamment celles des familles de Brassicacées et des Asteracées [14, 15].

L'ester 2-éthyl-hexylique de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) a la structure chimique présentée en Fig. 1.

Le taux de substance active dans la préparation commerciale de l'herbicide est de 80%. Celle-ci se présente sous forme de liquide jaunâtre, à odeur persistante, soluble en alcools, acétone et white-spirit. La dose agricole de ce produit est de 2 l/ha [8].

L'herbicide persiste dans les milieux d'habitude de 2 à 14 semaines, mais sa persistance diminue à 2–3 semaines dans les zones humides ou sur un sol avec une forte activité de la microflore [3].

Van Overbeek [17] considère que l'action phytotoxique de l'herbicide est due à des multiples perturbations dans le métabolisme des glucides et dans la synthèse de l'ATP, à l'intensification de la respiration et à l'inhibition de la multiplication des cellules méristématiques de la

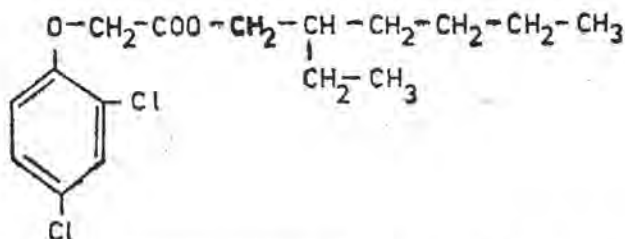


Fig. 1. Structure chimique de l'ester 2-éthyl-hexylique de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique.

* Université „Babeș-Bolyai”, Chaire de biologie animale, 3400 Cluj, Roumanie

racine. Les recherches de Davis [7] mènent à la conclusion que, outre l'inhibition de leur division, ces cellules augmentent le nombre de leurs chromosomes, en devenant ainsi des polyploïdes et des polynucleés. De ce fait, la racine cesse de pousser en longueur, mais elle s'épaissit et [allonge ses] protubérances. Chez les racines latérales on observe une modification du périocycle et de l'endoderme dans le sens d'une croissance radiale.

Conformément à l'échelle de toxicité de Hodge et Steaner, l'ester 2-éthyl-hexylique du 2,4-D doit être classé parmi les substances faiblement toxiques, la DL₅₀ étant de 600 mg/kg corps pour les rats femelles et de 700 mg/kg corps pour les mâles [22].

Afin de protéger la population humaine, l'Organisation Mondiale de la Santé a souligné la nécessité d'inclure les tests de mutagenèse dans l'estimation des qualités des pesticides nouvellement introduits [24], d'autant plus qu'on a remarqué une corrélation étroite entre l'effet cancérogène de certaines substances chimiques et la capacité de celles-ci de produire des mutations dans les différents systèmes biologiques utilisés en laboratoire [23].

L'effet mutagène du 2,4-D et de ses dérivés a été mis en évidence par des recherches basées sur plusieurs tests biologiques, tels que des cellules humaines [1], des hématocytes de rat [11] et des hématocytes de hamster [2]. Par ailleurs, en utilisant un test bactérien, Zetterberg [21] n'a pas observé cet effet.

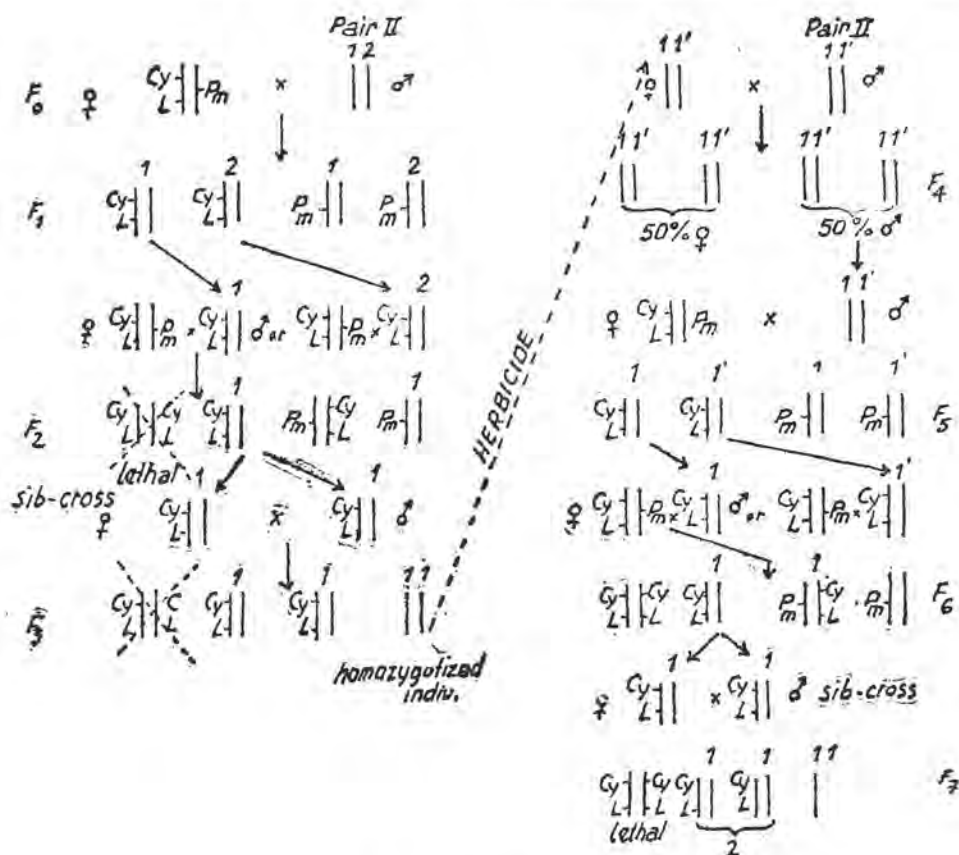
Des études entreprises sur la drosophile ont relevé l'action mutagène de certains dérivés du 2,4-D [6, 12], tandis que d'autres ne sont pas arrivées à dépister pareille action [10, 18]. Les travaux de génétique biochimique démontrent que l'effet mutagène du 2,4-D et de ses dérivés se manifeste de manière indirecte, par la capacité de ces substances de produire des radicaux oxygénés actifs, qui agissent sur les acides nucléiques [4, 16]. La prolifération des peroxysomes responsables de l'apparition de ces radicaux a été mise d'ailleurs en évidence *in vivo* et *in vitro* dans les cellules hépatiques de rat [9, 13] et de hamster [16].

Matériel et méthode. L'étude de l'effet mutagène a été réalisée à l'aide du test Curly Lobe Plum (CyL₁Pm), qui utilise en tant que milieu biologique la forme normale de *Drosophila melanogaster*, ainsi qu'une lignée analiseuse à létalité équilibrée [19, 20]. La lignée normale a été constituée d'une population en provenance de Riverside, California, faisant partie de la collection de l'Institute Carnegie de Washington, D.C., E.U.A.

La lignée analiseuse CyL₁Pm ne survit qu'en état hétérozygote pour chacun des trois loci. Ce test, modifié dans notre laboratoire [5], consiste à homozygoter une lignée normale de *Drosophila melanogaster* pour la deuxième paire de chromosomes, l'ester 2-éthyl-hexylique du 2,4-D a été ajouté au milieu de culture des individus homozygotes, dans une concentration équivalente à celle de 2 l/ha utilisée en agriculture. Finalement, chaque chromosome de la deuxième paire est homozygoté par des croisements successifs.

En cas que sur l'un de ces chromosomes de la forme sauvage a été induite une mutation récessive létale, les descendants qui la portent en état homozygote ne sont pas viables, la génération F₂ étant entièrement CyL₁/+.

En cas que sur la deuxième paire de chromosomes apparaissent une ou plusieurs mutations délétères (sous-vitales, sous-fertiles, sous-stériles), celles-ci vont affecter dans une certaine mesure la viabilité de la forme de type sauvage, en modifiant en F₂ le rapport de 2:1 par augmentation de la fréquence de la forme CyL₁/+ en défaveur de la forme sauvage (Fig. 2).

Fig. 2. Schéma du test *CyJ.Pm*.

L'analyse a porté sur 250 individus mâles, tant sur le témoin que sur celui traité, le lot témoin ayant englobé dans le milieu de culture seulement le solvant du pesticide, à savoir l'alcool éthylique.

Les descendants de la génération F₁ ont été dénombrés le 12-ème, le 14-ème et le 16-ème jour après la mise en culture des formes parentales de type sib-cross. Si chaque récipient contenait en moyenne 200 individus, cela signifie qu'en F₁ ont été examinés environ 100.000 individus, ce qui assure un bon degré de sûreté statistique.

Les cultures de drosophiles, réalisées sur un milieu blanc à semoule ont été maintenues à 25°C, dans des chambres thermostatées, tout le long de l'expérimentation.

Vogel [18] est d'avis que le test des mutations récessives létales compte parmi les méthodes les plus précises qui permettent d'identifier les mutations induites par les facteurs mutagènes.

Resultats et discussion. Les données expérimentales obtenues sur le lot témoin (Fig. 3) montrent que 0,88% des individus présentent sur le chromosome examiné de la deuxième paire des mutations récessives létales. Ce résultat s'accorde à ceux communiqués par d'autres auteurs [18, 20], qui ont trouvé des valeurs d'environ 1%.

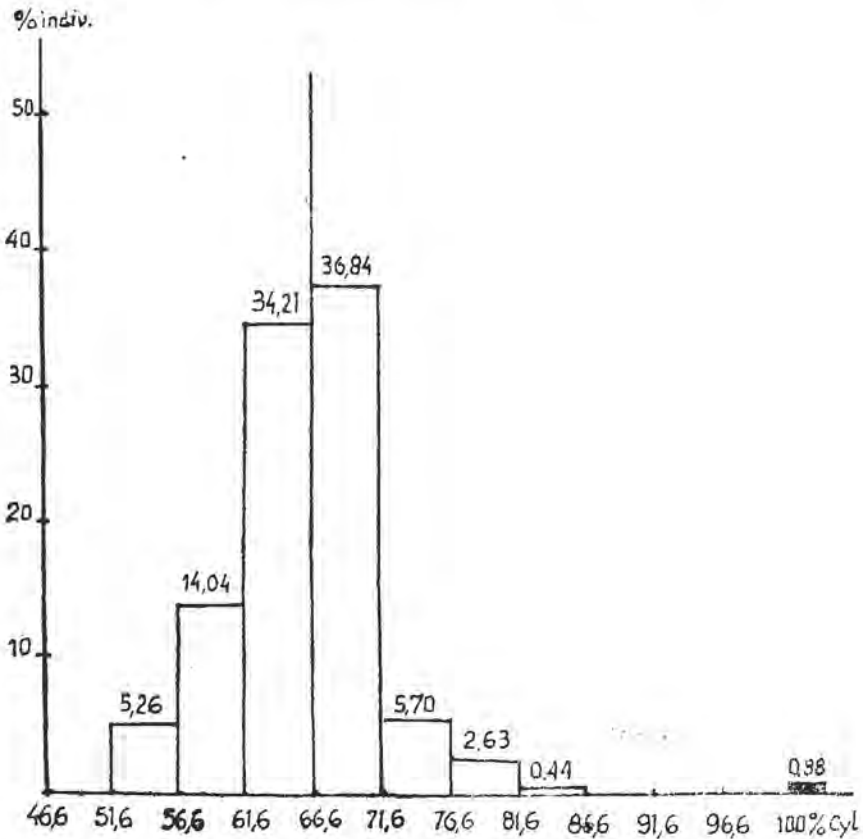


Fig. 3. Fréquence des mutations récessives létales et détritantes chez le témoin.

L'analyse des déviations du rapport de 66,66% $CyL/+$: 33,33% $+/+$, donc de 2 : 1, prouve que 98% des descendants $CyL/+$ des individus du lot témoin se placent autour de la moyenne, dont 71,11% s'écartent de $\pm 5\%$, 19,74% s'écartent de $\pm 10\%$ et 7,89% s'écartent de $\pm 15\%$.

Quant aux mutations détritantes, celles-ci n'apparaissent que chez très peu d'individus (0,44%), le rapport de leurs descendants présentant une déviation de 20% en faveur de la forme $CyL/+$.

Tel que la Fig. 4 le montre, la dose agricole de l'herbicide étudié produit, par rapport au témoin, des modifications significatives en ce qui concerne les mutations récessives létales. Les individus portant de telles mutations sont plus de 6 fois plus nombreux que ceux du lot témoin. Ce résultat atteste l'existence d'un net effet mutagène du dérivé du 2,4-D. Il est intéressant de signaler le fait que la fréquence des mutations

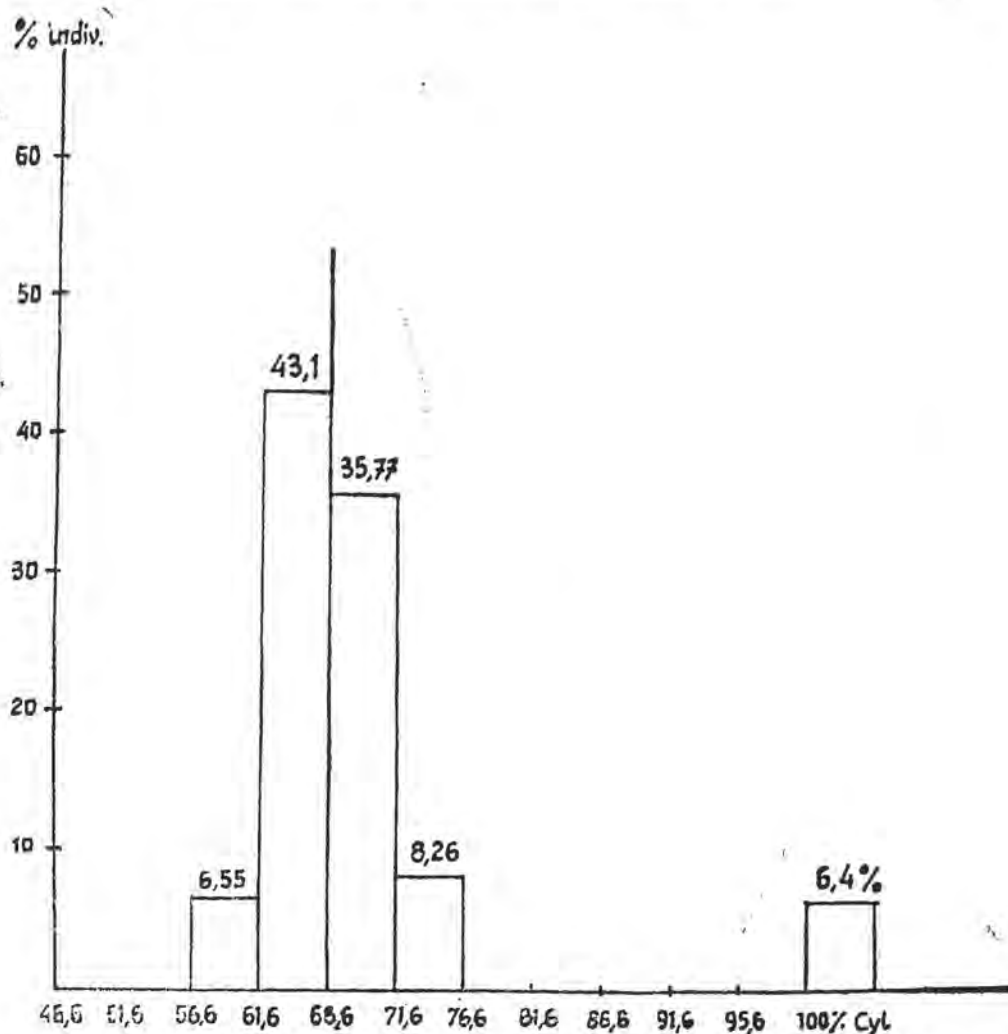


Fig. 4. Fréquence des mutations récessives létales et délétères après traitement avec l'ester 2-éthyl-hexylique du 2,4-D en dose agricole.

délétères n'est pas sensiblement différente de celle établie pour le témoin.

Conclusions. La concentration utilisée en agriculture de l'ester 2-éthyl-hexylique du 2,4-D présente une activité mutagène significative.

BIBLIOGRAPHIE

1. Ahmed, F. F., Hart, R. W., Lewis, N. J., *Pesticide-induced RNA damage and its repair in cultured human cells*, „Mutat. Res.", **42**, 1977, 161-174.
2. Ahmed, F. E., Lewis, N. J., Hart, R. W., *Pesticide-induced resistant mutants in Chinese hamster cells*, „Chem.-Biol. Interactions", **19**, 1977, 369-374.

3. Berca, M., *Relații dintre erbicide și mediul înconjurător*, Ed. Ceres, București, 1985.
4. Boldt, P., *Fate and selectivity of phenoxy-phenoxy herbicides in plants*, „Diss. Abstr. Int B”, **40**, 1980, 4585–4586.
5. Coman, N., Dordea, M., *Rezultate obținute în testarea efectelor mutagene ale pesticidelor utilizând ca test Drosophila melanogaster*, „Cercet. Genet. Veg. Anim.”, **1**, 1989, 223–233.
6. Coman, N., Dordea, M., Crăciunăș, C., Miclea, D., *Estimation of mutagenic effect of the herbicide illoxan using the Drosophila melanogaster test*, „Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Biol.”, **37** (1), 1992, 59–64.
7. Davis, D. E., *Effects of herbicides on plant physiological processes*, „Int. Conf. of Pure and Appl. Chem.” (Tel-Aviv), 1970, 186–205.
8. Ghinea, L., Berca, M., Vlăduțiu, I., *Efecte reziduale ale pesticidelor*, Ed. Acad. Rom., București, 1987.
9. Gray, T. J., Lake, B. G., Bearman, J. A., Foster, J. R., Gangollis, S. D., *Peroxisome proliferation in primary cultures of rat hepatocytes*, „Toxicol. Appl. Pharmacol.”, **67**, 1983, 15–25.
10. Magnusson, J., Ramel, C., Eriksson, A., *Mutagenic effects of chlorinated phenoxyacetic acids in Drosophila melanogaster*, „Hereditas”, **85**, 1977, 121–123.
11. Probst, G. S., McMahon, R. E., Hill, L. E., Tompson, C. Z., Epp, J. K., Neal, S., *Chemically induced unscheduled DNA synthesis in primary hepatocyte cultures; A comparison with bacterial mutagenicity using 218 compounds*, „Environ. Mutat.”, **3**, 1981, 11–32.
12. Rasmuson, B., Svahlin, H., *Mutagenicity tests of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid in genetically stable and unstable strains of Drosophila melanogaster*, „Ecol. Bull.” (Stockholm), **27**, 1978, 190–192.
13. Reddy, J. K., Azarnoff, D. L., Hignite, B. F., *Hypolipidemic hepatic peroxisome proliferators from a novel class of chemical carcinogens*, „Nature” (London), **283**, 1980, 397–398.
14. Ristic, I., *Contribuții la studiul unor compuși ai acidului 2,4-diclor- și 2,4,5-triclor-fenoxiacetic*, Teză Dr., Univ. „Babeș-Bolyai”, Cluj-Napoca, 1980.
15. Salontai, A., *Contribuții la studiul aplicării extraradiculare a îngrășămintelor chimice în combinație cu erbicidul 2,4-D la grâul de toamnă*, Teză Dr., Inst. Agron., Cluj-Napoca, 1978.
16. Vainio, H., Nickles, J., Linnainmaa, K., *Phenoxy acid herbicides cause peroxisome proliferation in Chinese hamsters*, „Scand. J. Work. Environ. Health”, **8**, 1982, 70–73.
17. Van Overbeek, J., *Physiological Responses of Plants to Herbicides*, Acad. Press, London, 1966.
18. Vogel, E., *Some aspects on detection on potential mutagenic agents in Drosophila*, „Mutat. Res.”, **29**, 1975, 241–245.
19. Vogel, E., Chandler, J. L. R., *Mutagenicity testing of cyclonate and some pesticides in Drosophila melanogaster*, „Experientia”, **30**, 1974, 621–623.
20. Wallace, B., *The average effect of radiation-induced mutations on variability in Drosophila melanogaster*, „Evolution”, **12**, 1958, 532–552.
21. Zetterberg, G., *Experimental results of phenoxy acids effects on microorganisms*, „Ecol. Bull.” (Stockholm), **27**, 1977, 163–171.
22. x x x *Farm Chemicals Handbook*, Harper & Row, New York, 1981.
23. x x x *Résidus de pesticides dans les produits alimentaires*, Rapport de la Réunion conjointe FAO/OMS, 1974, Organisation Mondiale de la Santé, Genève, 1975.
24. x x x *Securitate d'emploi des pesticides*, Neuvième rapport du Comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de la lutte antivectorielle, Organisation Mondiale de la Santé, Genève, 1985.

RÉCHERCHES SUR L'ÉVENTUEL EFFET MUTAGÈNE DU SEL
DE MONOÉTHYL-AMMONIUM DE L'ACIDE
2,4-DICHLOROPHÉNOXYACÉTIQUE UTILISÉ
COMME HERBICIDE

NICOLAE COMAN*, DANA MICLEA*, CORNELIA CRĂCIUNĂȘ* et MANUELA DORDEA*

SUMMARY. — *Researches on the Eventual Mutagenic Effect of the Monoethyl-ammonium Salt of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Utilized as Herbicide.* For studying the eventual mutagenic effect of this herbicide, the authors used the Curly-Lobe-Plum method in *Drosophila melanogaster*. The herbicide was applied in a concentration equivalent to that used in agriculture. The results have shown that the herbicide exhibited a strong mutagenic activity: frequency of the detrimental mutations and especially of the lethal recessive ones was 21 times higher in the group of herbicide-treated flies than in the untreated, control group. This high frequency indicates one of the strongest mutagenic activities noticed among the herbicides studied in the authors' laboratory.

Les dérivés de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) ont commencé à être utilisés en tant qu'herbicides dès la cinquième décennie du siècle. Ils se caractérisent par une forte sélectivité et un degré relativement faible de rémanence.

Le sel de monoéthyl-ammonium du 2,4-D a la structure chimique présentée en Fig. 1.

Cette substance se présente sous forme de liquide jaunâtre à odeur persistante, qui se dissout facilement dans l'eau. Elle est utilisée en agriculture comme herbicide, notamment contre les espèces nuisibles à feuilles larges des familles des Crucifères et des Composées, dans une dose de 2 litres/hectare. De même manière que d'autres sels du 2,4-D, cet herbicide pénètre dans les tissus des plantes à travers la cuticule, pour être ensuite

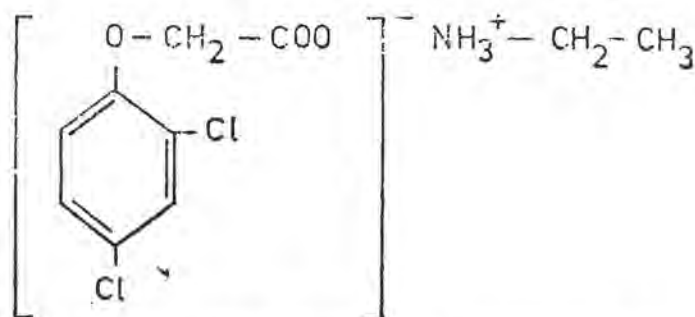


Fig. 1. Structure chimique du sel de monoéthyl-ammonium de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique.

* Université „Babeș-Bolyai”, Chaire de biologie animale, 3100 Cluj, Roumanie

dispersé par la sève en état dissout. La grande efficacité de ces composés, de même que leur sélectivité, ont été découvertes par Zimmerman et ses collaborateurs dès 1962 (cités par [9]).

La persistance dans le milieu du pesticide varie entre 2 et 14 semaines, en fonction de divers facteurs [2]. Il se décompose rapidement en présence de l'eau et sous l'influence des rayonnements ultraviolets [7]. Son action phytotoxique s'explique par l'intensification de la respiration et du catabolisme glucidique, ainsi que par la perturbation de la synthèse de l'ATP [22].

Les opinions concernant le caractère mutagène des acides phénoxy-aliphatiques sont plutôt divergentes. Certains travaux [15, 17] n'ont pas saisi des effets mutagènes significatifs, tandis que d'autres [5, 6, 12, 20] ont pu mettre en évidence de tels effets. On a observé des mutations du type des aberrations chromosomiales tant chez les plantes [12] que dans les lymphocytes de culture humaine et animales [13, 16], mais aucune aberration chromosomiale n'a été remarquée dans les cellules renales des embryons de veau en culture [3]. De même, on n'a pas enregistré d'augmentations de la fréquence des micronucléoles dans la moelle hématogène des souris après administration d'une dose unique du 2,4-D [11].

2,4-D et ses dérivés se sont avérés être dépourvus d'activité mutagène dans un système bactérien [1], de même que dans un échantillon de souris à létalité dominante [8]. En outre, on n'a pas dépisté une augmentation significative du nombre d'échanges entre les chromatides jumelles après administration par voie orale d'un sel d'ammonium dans une dose journalière de 100 mg/kg poids corporel pendant une semaine [14].

Ristici [19] suggère que la non concordance d'entre les résultats obtenus par divers auteurs pourra être due au fait que ce ne sont pas les produits en soi qui soient mutagènes, mais seulement leurs métabolites. Cette supposition est d'ailleurs confirmée par des travaux qui attestent que ces pesticides produisent des radicaux oxygénés actifs [10, 18, 21].

Matériel et méthode. Afin de connaître les effets mutagènes que l'herbicide peut éventuellement avoir, on a appliqué le test *Curly Lobe Plum* (CyL/Pm), qui utilise comme matériel biologique deux lignées des *Drosophila melanogaster*, à savoir la forme normale de type „sauvage" et une lignée analyseuse à létalité équilibrée. La lignée de type sauvage dont nous avons disposé provient d'une population de Riverside, California, E.U.A; nous l'avons obtenue de la collection de l'Institute Carnegie de Washington, D.C. La forme analyseuse CyL/Pm ne survit qu'en état hétérozygote pour chacun des trois loci (Cy, L et Pm). Cette méthode, que Wallace (25) a imaginé pour tester l'effet mutagène des rayonnements et que nous avons modifié dans notre laboratoire pour tester les pesticides [4], consiste à homozygoter une lignée normale de *Drosophila melanogaster* pour la deuxième paire de chromosomes. Les individus homozygotes ont été mis en culture sur un milieu auquel on a ajouté le sel de monoéthyl-ammonium du 2,4-D dans la même concentration que celle employée en agriculture. Des croisements successifs permettent ensuite de re-homozygoter chacun des chromosomes de la deuxième paire. Si sur l'un de ces chromosomes a été induite une mutation récessive létale, les descendants qui la portent en état homozygote en F₂ (Fig. 2) ne sont pas viables. Si sur ces mêmes chromosomes apparaissent une ou plusieurs mutations délétères (sous-vitales, sous-stériles, sous-fertiles), celles-ci vont affecter dans une certaine mesure la viabilité de la forme de type sauvage, en modifiant le rapport de 2:1 par diminution de la fréquence de la forme sauvage et augmentation de celle de la forme CyL/+. Tant pour le lot témoin que pour le lot traité avec du pesticide, on a analysé la descendance de 250 individus mâles, ce

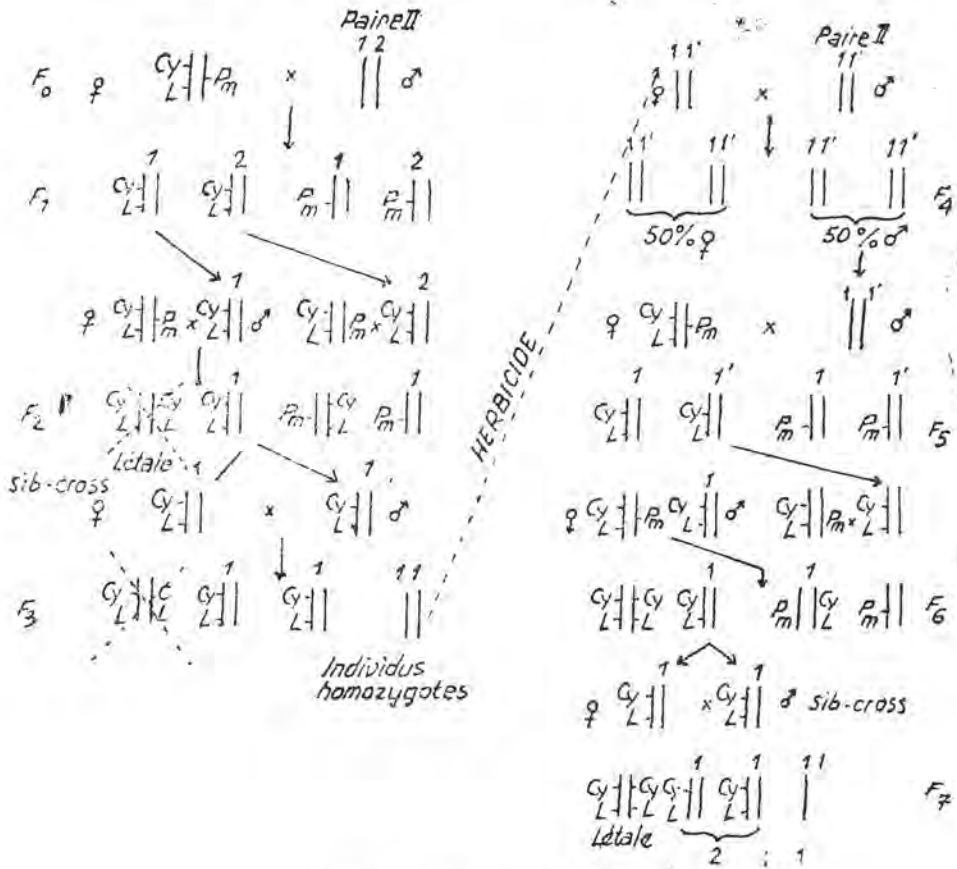


Fig. 2. Schéma du test CyLPm.

qui signifie environ 100.000 individus de la génération F₇. Tant le long de l'expérimentation, les récipients de culture à „milieu blanc" ont été placés en chambre thermostatée à 25°C.

Selon l'avis de Vogel [23], le test CyLPm est l'une des méthodes les plus précises pour déterminer les mutations induites.

Resultats et discussions. L'analyse du lot témoin (Fig. 3) montre que 0,88% des individus testés présentent des mutations récessives létales sur le chromosome de la deuxième paire que nous avons examiné. Ce résultat s'accorde à ceux obtenus par Wallace [25] et Vogel [23], qui ont trouvé des valeurs proches de 1%.

L'étude des déviations du rapport de 2:1, c'est-à-dire de 66,66% CyL/+ : 33,33% +/+, montre que 98% des descendants CyL/+ du lot témoin se placent autour de la moyenne, dont 71,11% s'écartent de la valeur de 66,66% de ±5%, 19,74% s'écartent de ±10% et 7,78% s'écartent de ±15%. Ce n'est que pour un faible pourcentage d'individus (0,44%) qu'on trouve des mutations détrimmentales, le rapport de leurs descendants présentant une déviation de 20% en faveur de la forme CyL/+.

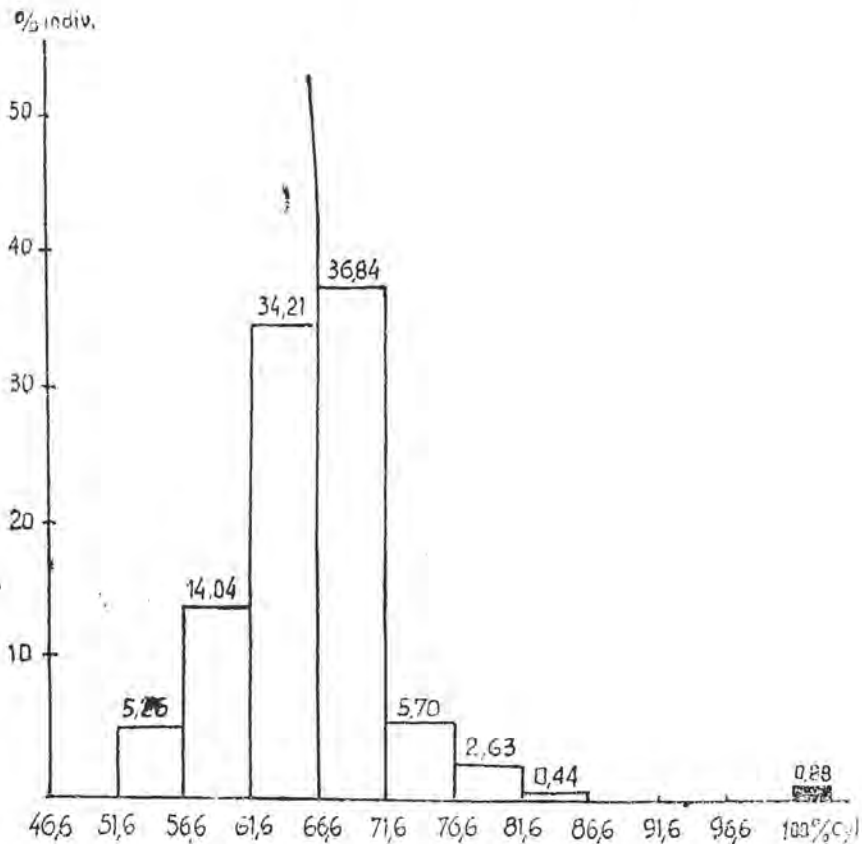


Fig. 3. Fréquence des mutations récessives létales et délétères chez le témoin.

Tel qu'on peut le voir sur la Fig. 4, la dose agricole de l'herbicide étudié produit des modifications significatives par rapport au témoin. En premier lieu, la fréquence des mutations récessives létales induites par le pesticide en est 21 fois plus haute. Cette fréquence compte parmi les plus grandes que la littérature de spécialité signale à l'égard des effets mutagènes des pesticides utilisés en agriculture. Nous remarquons également l'apparition, quoiqu'en mesure bien plus faible, des mutations délétères. Celles-ci se manifestent chez 0,96% des individus analysés, dont la descendance s'écarte de la moyenne de 25%, ainsi que chez 0,48% des individus analysés, dont la descendance s'écarte en F₇ de 30% en faveur de la forme C_L/+.

En comparant ces résultats avec d'autres que nous avons obtenu dans notre laboratoire au sujet de l'activité mutagène des divers dérivés du 2,4-D [5, 6], nous constatons une forte diversité, ce qui explique les données parfois douteuses qu'on trouve dans la littérature de spécialité

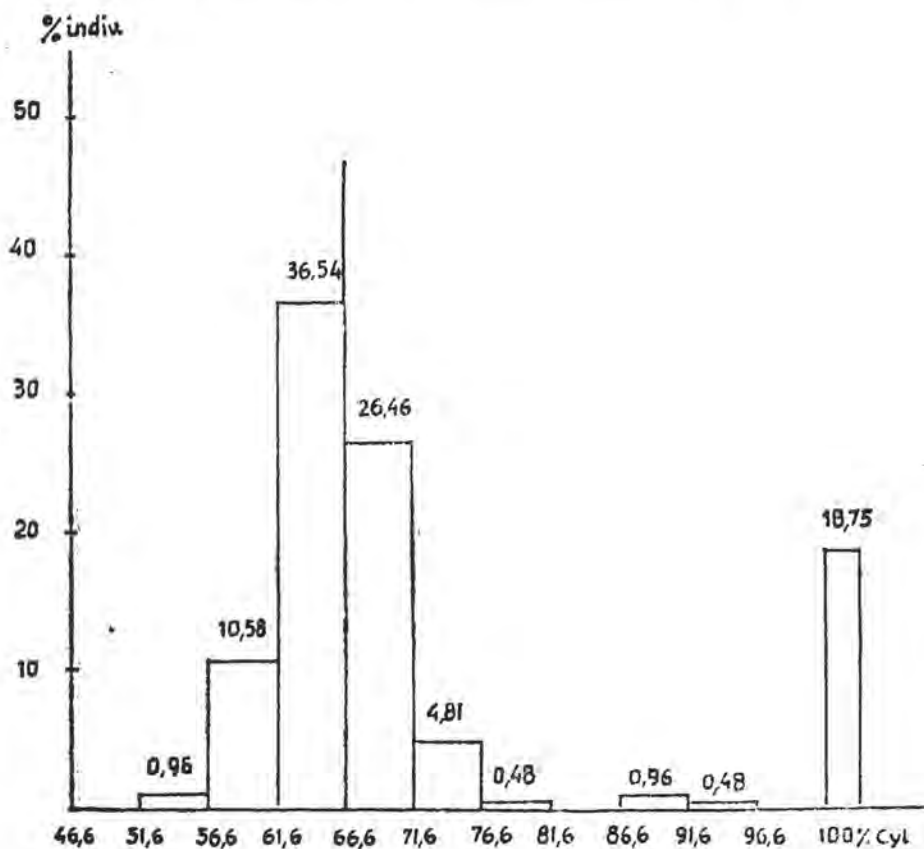


Fig. 4. Fréquence des mutations récessives létales et délétères après traitement avec le sel de monoéthyl-ammonium du 2,4-D en dose agricole.

[1, 8, 11, 14, 17, 24], ce fait étant dû à l'utilisation de tests qui n'offrent que des possibilités restreintes de détecter des activités mutagènes de plus faible envergure.

Conclusions. Il apparaît que la dose agricole du pesticide étudié a une forte activité mutagène, qui se traduit par des mutations délétères, mais, surtout par des mutations récessive létales.

BIBLIOGRAPHIE

1. Andersen, K. J., Leighty, E. G., Takahashi, M., *Evaluation of herbicides for possible mutagenic properties*, „J. Agric. Food Chem.”, **20**, 1972, 649–656.
2. Berca, M., *Relații dintre erbicide și mediul înconjurător*, Ed. Ceres, București, 1985.
3. Bongoso, T. A., Basrur, P. K., „In vitro” response of bovine cells to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, „In vitro”, **8**, 1973, 416–417.

4. Coman, N., Dordea, M., *Rezultate obținute în testarea efectelor mutagene ale pesti- cidelor utilizând ca test Drosophila melanogaster*, „Cercet. Genet. Anim.”, **1**, 1989 223–233.
5. Coman, N., Dordea, M., Crăciunaș, C., Miclea, D., *Estimation of mutagenic effect of the herbicide illoxan using the Drosophila melanogaster test*, „Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Biol.”, **37** (1), 1992, 59–64.
6. Coman, N., Miclea, D., Crăciunaș, C., Dordea, M., *Estimation de l'effet mu- tagène de l'ester 2-éthyl-hexylique de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique utilisé comme herbi- cide*, „Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Biol.”, **37** (1), 1992, 65–70.
7. Crosby, D. G., *Metabolites of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in blow plants*, „J. Agric. Food Chem.”, **12**, 1964, 612–621.
8. Epstein, S. S., Arnold, E., Andrea, J., Bass, W., Bishop, V., *Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse*, „Toxicol. Appl. Pharma- col.”, **23**, 1972, 288–325.
9. Freed, V. H., *Determination of Herbicides and Plant Growth Regulators*, Acad. Press, London, 1964.
10. Gray, T. J., Lake, B. G., Bearmand, J. A., Foster, J. R., Gangollis, S. D., *Peroxisome proliferation in primary cultures of rat hepatocytes*, „Toxicol. Appl. Pharmacol.”, **67**, 1983, 15–25.
11. Jensen, D., Reuberg, L., *Distribution and cytogenetic test of 2,4-D and 2,4,5-T phenoxyacetic acid in mouse blood tissues*, „Chem-Biol. Interactions”, **14**, 1976, 291–299.
12. Khalatkar, A. S., Bhargava, V. R., *2,4-Dichlorophenoxyacetic acid – a new environmental mutagen*, „Mutat. Res.”, **103**, 1982, 111–114.
13. Korte, C., Jalal, S. M., *2,4-D-induced clastrogenicity and elevated rates of sister chromatid exchanges in cultural human lymphocytes*, „J. Hered.”, **73**, 1982, 224–226.
14. Linnainmaa, K., *Introduction of sister chromatid exchanges by the peroxisome proli- ferators 2,4-D, MCPA and chlorillate „in vivo” and „in vitro”*, „Carcinogenesis”, **4**, 1983, 56–62.
15. Magnusson, J., Ramel, K., Eriksson, A., *Mutagenic effects of chlorinated phenoxyacetic acids in Drosophila melanogaster*, „Hereditas”, **85**, 1977, 121–123.
16. Pilinskaya, M. A., *Tsilogeneticheshoe vliyaniye gerbitsida 2,4-D na khromosomy che- loveka i zhivotnykh*, „Tsitol. Genet.”, **8** (3), 1974, 202–206.
17. Rasmuson, B., Svahlin, H., *Mutagenicity tests of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid in genetically stable and unstable strains of Drosophila melanogaster*, „Ecol. Bull.” (Stockholm), **27**, 1978, 190–192.
18. Reddy, J. K., Azarnoff, D. L., Hignite, E. E., *Hypolipidaemic hepatic pevo- xisome proliferators from a novel class of chemical carcinogens*, „Nature” (London), **283**, 1980, 397–398.
19. Ristici, I., *Contribuții la studiul unor compuși ai acidului 2,4-diclor- și 2,4,5-triclorfe- noxiacetic*, Teză Dr., Univ. „Babeș-Bolyai”, Cluj-Napoca, 1980.
20. Seiler, J. P., *The genetic toxicology of phenoxy acids other than 2,4,5-T*, „Mutat. Res.”, **55**, 1978, 197–226.
21. Vainio, H., Nickles, J., Linnainmaa, K., *Phenoxy acid herbicides cause pevo- xisome proliferation in Chinese hamsters*, „Scand. J. Work. Environ. Health”, **8**, 1982, 70–73.
22. Van Overbeek, J., *Physiological Responses of Plants to Herbicides*, Acad. Press, London, 1966.
23. Vogel, E., *Some aspects on detection of potential mutagenic agents in Drosophila*, „Mutat. Res.”, **29**, 1975, 241–245.
24. Vogel, E., Chandler, J. L. R., *Mutagenicity testing of cyclonate and some pesticides in Drosophila melanogaster*, „Experientia”, **30**, 1974, 621–623.
25. Wallace, B., *The average effect of radiation-induced mutations on variability in Dro- sophila melanogaster*, „Evolution”, **12**, 1958, 532–552.

ACTIVITĂȚI ENZIMATICE ÎN SOLURILE DIN DELTA DUNĂRII — REZERVAȚIA BIOSFEREI

DANIELA PAȘCA*, RADU CHIȘAN*, VASILE MUNTEAN*, GEORGETA MARIN**,
STEFAN KISS*** ȘI MIHAIL DRĂGAN-BULARDA***

SUMMARY. — *Enzyme Activities of Soils in the Danube Delta — Biosphere Reserve.* Soil samples collected at 11 different sites in the Danube Delta — Biosphere Reserve in the July 2, 1991 — September 23, 1992 period were analysed to determine their enzymatic (invertase, phosphatase, catalase, and dehydrogenase) activities as well as their nonenzymatic capacity to split H_2O_2 and to reduce 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride. Based on the analytical data, the seasonal, annual and global intensity and variability of these activities and the enzymatic indicator of soil quality were calculated. The results have shown that in general the cultivated deltaic soils are enzymatically more active and less variable than the uncultivated ones. The soil collected at Erenciuc is the most enzyme-active and presents a medium variability of its enzymatic and nonenzymatic catalytic potential. The soil of the Roșu zone is very active and also very variable. The Dunavăț soil is characterized by a medium level of both intensity and variability of the enzymatic and nonenzymatic catalytic activities. The soils from Uzlița, Sărături and Gorgova are of low activity but of medium or high variability. The soils collected at Păpădia, Plopul and three Caraorman zones possess an extremely low enzymatic and nonenzymatic catalytic potential which is moderately variable at Păpădia and Plopul but extremely variable at each Caraorman zone.

În aprofundarea cunoștințelor referitoare la circuitul elementelor în ecosistemele acvatice, cercetările din domeniul enzimologiei și microbiologiei apei și solului zonelor stuficole au o importanță majoră. Hurghiu [2] a efectuat un studiu comparativ asupra activității zaharazei și amilazei din apa și extractul apos al solului din zone stuficole ale Deltei Dunării. Studiul extins pe o perioadă de doi ani a arătat că activitățile zaharazică și amilazică au putut fi evidențiate atât din apa cât și din solul zonelor stuficole, dar ele au fost mult mai intense în sol decât în apă. S-au înregistrat variații însemnate și în funcție de anotimp și an.

În literatura din străinătate, găsim informații asupra activității enzimatică și a microorganismelor din detritusurile alohtone, sedimentele și materia organică particulată în estuare.

Activitatea enzimatică a detritusului alohton (frunze de stejar) și microorganismele care colonizează acest detritus într-un estuar din Nordul Floridei (Apalachicola Bay) au constituit obiectul mai multor studii ale unui colectiv de la Department of Biological Science, Florida State University, Tallahassee [6, 10—12]. S-a constatat că în detritus activitatea fosfatazică s-a corelat cu conținutul de adenozintrifosfat (ATP) și cu sinteza microbială a fosfolipidelor. Activitatea α -manozidazică și respi-

* Institutul de Cercetări Biologice, 3100 Cluj, România

** Institutul de Cercetări și Proiectare Delta Dunării, 8500 Tulcea, România

*** Universitatea „Babeș-Bolyai”, Catedra de biologie vegetală, 3100 Cluj, România

rația au arătat un paralelism cu încorporarea C^{14} în lipide. Amfipodele gammarideene care se hrănesc cu microorganismele de pe detritus cauzează diminuarea activității fosfatazice și schimbarea raportului numeric dintre micromicete și bacterii în favoarea bacteriilor de pe detritus.

Trevors [9] a determinat activitatea dehidrogenazică (activitatea sistemului transportor de electroni, STE) și alți parametri microbiologici în sedimentele provenite din estuarul Port Williams (Nova Scoția, Canada). Unele probe de sedimente au fost incubate în condiții aerobe, iar altele în condiții anaerobe. Activitatea STE s-a corelat cu consumul de O_2 în sedimentele aerobe, și cu producerea de CO_2 și fixarea biologică a N_2 (a reducerii de C_2H_2) în sedimentele anaerobe.

Relaxans și Etcheber [7, 8] au evidențiat, în materia organică particulată din estuarele Gironde și Loara (Franța), relații între activitatea STE, conținutul de C, clorofilă și proteină.

În lucrarea de față sînt descrise studiile enzimologice efectuate la probe de soluri cultivate și la soluri necultivate, colectate din diferite zone ale Deltei Dunării, în perioada iulie 1991 – septembrie 1992.

Material și metodă. Au fost prelevate 5 serii de probe, două serii în anul 1991, corespunzătoare sezonelor de vară și toamnă și respectiv trei serii în anul 1992, câte o serie în sezonul de primăvară, vară și toamnă. În Tabelul 1 sînt prezentate locurile și datele colectării probelor, în vederea analizelor enzimologice. Din acest tabel rezultă că în anul 1991 s-au extras probe din 5 locuri de colectare: Uzlina, Erenciuc, Dunavăț, Păpădia, Plopul, iar

Tabel 1

Locurile și datele colectării probelor supuse analizelor enzimologice

Locul de colectare a probelor	Data colectării probelor
Uzlina	2.VII.1991
Erenciuc	" "
Dunavăț	" "
Păpădia	3.VII.1991
Plopul	4.VII.1991
Uzlina	24.IX.1991
Dunavăț	" "
Păpădia	" "
Plopul	25.IX.1991
Grindul Sărături	7.V.1992
Zona Roșu	" "
Grindul Caraorman	8.V.1992
Caraorman interdune	" "
Grindul Sărături	22.VII.1992
Zona Roșu	" "
Grindul Caraorman	" "
Caraorman interdune	" "
Pădurea Caraorman	" "
Zona Gorgova	24.VII.1992
Grindul Sărături	22.IX.1992
Zona Roșu	" "
Zona Gorgova	" "
Grindul Caraorman	23.IX.1992
Caraorman interdune	" "
Pădurea Caraorman	" "

În anul 1992 punctele de colectare au fost următoarele: Grindul Sărături, Zona Roșu, Grindul Caraorman, Caraorman interdune, Pădurea Caraorman și Zona Gorgova. Probele au fost colectate în perioada 2.VII.1991 și 23.IX.1992. În primele două serii s-au analizat din punct de vedere enzimologic 27 de probe individuale aparținând la 9 profile, iar în seriile 3-5, cele 64 probe individuale se încadrează în 16 profile. La primele două serii eşantioanele au fost prelevate din următoarele adâncimi: 0-20, 30-50 și 60-80 cm. În seriile analizate în anul 1992 probele au fost extrase de la adâncimi cuprinse între: 0-60 cm pentru profilele din Pădurea Caraorman și Zona Gorgova, 0-80 cm la Grindul Sărături, 0-90 cm pentru Grindul Caraorman și respectiv 0-100 cm pentru profilele din Zona Roșu și Caraorman interdune.

În anul 1991 s-a lucrat cu trei soluri cultivate cu castraveți (Uzlina), cultură silvică de plop canadian (Păpădia) și cu grâu (Popul), precum și cu un sediment lacustru de sub stufăriș (Brenciuc) și cu o turbă de la Dumavăț. În anul 1992 s-au prelevat probe din soluri nisipoase, necultivate, exceptând un sol turbos din Zona Roșu.

Pentru determinarea activităților enzimactice, probele de sol aduse în laborator au fost cernute printr-o sită cu orificii având diametrul de 2 mm. Au fost analizate și probe de sol inactivate termic. Inactivarea (distrugearea enzimelor) s-a realizat prin autoclavare la 120°C, timp de o oră în trei zile consecutive, a amestecului din sol și apă distilată în proporție de 1:1. Pentru determinarea conținutului în substanță uscată, o parte din fiecare probă de sol a fost supusă uscării în etuvă la 105°C, timp de 72 ore.

Analize enzimologice cantitative. Au fost determinate următoarele activități enzimactice și catalitice neenzimactice: activitatea invertazică, activitatea fosfatazică, activitatea catalitică enzimatică (catalazică), activitatea catalitică neenzimatică și activitatea dehidrogenazică actuală și potențială (reducerea TTC în sol neautoclavat fără și cu adaos de glucoză). Metodele utilizate sunt specificate mai jos.

Activitatea invertazică a fost determinată cu ajutorul metodei polarimetrice [4]. Compoziția amestecurilor de reacție a fost următoarea: 10 g sol + 2,5 ml toluen + 10 ml soluție tampon acetat 3M pH 5,6 sau 10 ml apă distilată + 5 ml soluție de zaharoză 20% sau 5 ml apă distilată.

Pentru analiza *activității fosfatazice* cu metoda Krámer și Erdei [5], amestecurile de reacție au constat din 2,5 g sol + 2 ml toluen + 10 ml soluție de fenilfosfat disodic 0,5%.

O tehnică bazată pe metoda K a p p e n [3] a fost utilizată pentru analiza *activității catalitice enzimactice (catalazice) și neenzimactice*. Amestecurile de reacție au constat din 1,5 g sol + 10 ml apă distilată + 2 ml soluție de H₂O₂ 3%. Activitatea catalitică neenzimatică s-a determinat ca și cea enzimatică, dar s-a folosit sol inactivat prin autoclavare.

Metoda lui C a s i d a și colab. [1] a fost aplicată pentru determinarea *activității dehidrogenazice (reducerea TTC)* în amestecuri de reacție cu 3 g sol + 0,5 ml soluție de clorură de 2,3,5-trifeniltetrazoliu (TTC) 3%, la care se adaugă 1 ml apă distilată, în vederea determinării activității dehidrogenazice actuale sau 1 ml soluție de glucoză 3%, pentru determinarea activității dehidrogenazice potențiale.

S-au analizat, de asemenea, amestecuri de sol la care nu s-a adăugat soluție de substrat și amestecuri fără sol, numai cu soluție de substrat.

Exprimarea activităților enzimactice. Activitatea invertazică se exprimă în diferență de rotație optică ($\Delta\alpha$)/10 g (substanță uscată)/24 ore/37°C; activitatea fosfatazică în mg fenol/2,5 g sol (substanță uscată)/24 ore/37°C; activitatea catalazică și cea neenzimatică în mg H₂O₂/1,5 g sol (substanță uscată)/o oră la 20°C, iar activitatea dehidrogenazică (reducerea TTC) în mg formazan/3 g sol (substanță uscată)/24 ore la 37°C.

De asemenea, s-au calculat și indicatorii enzimatici de calitate (intensitate) și de variabilitate, care reprezintă suma valorilor relative ale activităților enzimactice și catalitice neenzimactice.

Rezultate. Datele analitice sînt prezentate în Tabelele 2-6. Conținutul în substanță uscată oscilează între 12,22 și 90,95% în cazul primelor două serii de probe (Tabelele 2 și 3) și respectiv între 15,75 și 99,37% pentru seriile analizate în anul 1992 (Tabelele 4-6).

Din totalul celor 7 activități enzimactice și catalitice neenzimactice, în toate probele aparținând celor 5 serii, s-au evidențiat numai 4 activități: activitatea invertazică fără adaos de soluție tampon acetat, activitatea

Tabel 2

Analiza enzimologică a probelor de sol și turbă colectate în Delta Dunării în vara anului 1991

Locul de colectare a probelor	Adâncimea (cm)	Substanța uscată (%)	Activitatea invertazică		Activitatea fosfatazică	Activitatea catalitică		Activitatea dehidrogenazică	
			Fără tampon	Cu tampon		Enzimatică	Neenzimatică	Actuală	Potențială
Uzlina P ₁₆	0-20	75,53	0,648	1,396	3,873	53,897	16,018	0,206	0,504
	30-50	77,76	0,527	0,417	0,154	23,692	31,475	0,048	0,409
	60-80	62,99	0,619	1,143	7,504	56,707	14,572	0,198	0,515
Erenciuc	0-20	13,63	8,877	11,371	0,220	276,629	29,517	1,880	17,424
	30-50	12,22	7,201	14,484	0,245	184,692	12,512	0,562	12,274
	60-80	16,71	4,241	4,838	2,153	113,991	33,959	0,448	7,168
Dunavăț P ₁	0-20	54,86	0,601	1,348	13,812	6,609	69,777	0	0
	30-50	42,09	1,187	1,342	19,016	10,198	49,095	0	0
	60-80	38,88	0,501	0,874	17,746	33,714	27,039	0	0
Păpădia P ₆	0-20	84,66	0,248	0,803	2,534	40,451	26,771	0,095	0,398
	30-50	76,48	0,078	0,640	0,117	53,226	18,959	0,065	1,217
	60-80	80,06	0,062	0,099	2,717	39,463	8,723	0,039	0,109
Plopul P ₁₆	0-20	88,62	0,270	0,394	4,249	30,495	5,991	0,169	0,662
	30-50	90,95	0,027	0,907	3,299	16,987	13,958	0,178	0,494
	60-80	75,40	0,112	1,246	1,810	32,260	10,083	0,058	0,497

Tabel 3

Analiza enzimologică a probelor de sol și turbă colectate în Delta Dunării în toamna anului 1991

Locul de colectare a probelor	Adâncimea (cm)	Substanța uscată (%)	Activitatea invertazică		Activitatea fosfatazică	Activitatea catalitică		Activitatea dehidrogenazică	
			Fără tampon	Cu tampon		Enzimatică	Neenzimatică	Actuală	Potențială
Uzlina P ₁₈	0-20	83,39	0,611	0,587	1,907	44,069	15,155	0,089	0,194
	30-50	84,52	0,366	1,135	0,141	35,610	18,887	0,073	0,147
	60-80	62,83	0,891	0,859	7,356	53,726	11,645	0,119	0,517
Dunavăț P ₁	0-20	56,97	1,369	1,053	17,854	35,610	22,767	0	0
	30-50	42,32	1,890	1,157	22,755	34,577	21,218	0	0
	60-80	25,63	3,277	2,341	35,859	59,689	16,868	0	0,536
Păpădia P ₆	0-20	75,88	0,988	0,790	4,269	49,965	15,340	0,049	0,527
	30-50	74,27	0,834	0,745	3,939	47,018	12,985	0,067	0,538
	60-80	78,88	0,367	0,304	0,589	38,367	10,962	0,015	0,760
Plopul P ₁₈	0-20	86,67	0,623	0,576	3,514	42,401	11,128	0,086	0,576
	30-50	81,47	0,478	0,515	3,738	40,821	15,512	0,107	0,552
	60-80	89,28	0,627	0,280	1,478	35,201	15,272	0,084	0,294

Analiza enzimologică a probelor de sol colectate în Delta Dunării în primăvara anului 1992

Locul de colectare a probelor	Adâncimea (cm)	Substanța uscată (%)	Activitatea invertazică		Activitatea fosfatazică	Activitatea catalitică		Activitatea dehidrogenazică	
			Fără tampon	Cu tampon		Enzimatică	Neenzimatică	Actuală	Potențială
Grindul	0-10	60,85	1,232	1,364	0,764	51,245	12,254	1,448	10,620
Sărături	10-20	76,55	0,431	0,522	0,078	12,840	8,412	0,089	0,661
	30-50	69,91	0,357	0,386	0,463	20,847	7,757	0,375	0,697
	60-80	74,23	0,404	0,619	0,218	0,456	5,022	0,050	0,547
	Zona Roșu	0-10	16,67	5,098	7,858	28,485	231,792	36,598	3,261
Zona Roșu	10-20	15,83	4,990	8,654	21,170	241,951	38,540	12,318	28,427
	50-70	31,47	2,129	3,209	1,240	102,319	19,386	1,767	24,308
	80-100	39,15	1,430	1,481	2,070	58,871	18,181	4,469	13,282
	Grindul	0-14	74,91	0,387	0,774	0,560	44,794	11,311	0,100
Caraorman	14-44	71,47	0,223	0,923	0,155	32,723	14,701	0,052	0,944
	44-59	76,05	0,315	0,775	0,216	11,587	12,924	0,041	0,460
	59-69	72,43	3,386	0,648	0,064	14,974	10,295	0,327	0,828
Caraorman (interdune)	0-15	84,08	0,130	0,666	0,071	17,737	4,434	0,260	1,516
	30-50	81,63	0,392	0,649	0,238	15,778	6,228	0,038	0,168
	50-60	83,23	0,276	0,624	0,245	2,443	4,479	0,030	0,052
	60-100	84,12	0,380	0,665	0,003	2,014	3,626	0,007	0,141

Analiza enzimologică a probelor de sol colectate în Delta Dunării în vara anului 1992

Locul de colectare a probelor	Adâncimea (cm)	Substanța uscată (%)	Activitatea invertazică		Activitatea fosfatazică	Activitatea catalitică		Activitatea dehidrogenazică	
			Fără tampon	Cu tampon		Enzimatică	Neenzimatică	Actuală	Potențială
Grîndul	0-10	56,54	2,776	3,466	6,701	75,899	8,757	3,316	8,489
Sărături	10-20	68,44	1,651	1,636	2,717	41,962	6,752	0,584	5,698
	30-50	78,23	0,511	0,575	0,890	24,896	2,953	0,063	0,703
	60-80	78,81	0,570	0,520	0,738	8,377	2,932	0	0,190
	Zona Roșu	0-10	15,75	7,873	6,349	31,202	316,482	33,534	6,031
Zona Roșu	10-20	28,76	2,468	1,912	5,424	123,961	11,477	0,825	16,863
	50-70	27,94	4,008	2,326	4,351	100,425	7,088	2,371	16,150
	80-100	47,87	2,026	1,587	2,414	44,133	8,964	0,496	3,786
	Grîndul	0-14	59,55	0,604	0,604	1,587	17,738	16,075	1,910
Caraorman	14-44	75,58	0,291	0,410	0,222	23,585	7,861	0	0,099
	44-59	82,20	0,523	0,304	0,113	17,669	2,811	0,015	0,060
	59-90	76,13	0,748	0,433	0,122	41,192	12,141	0	0,197
	Caraorman	0-15	92,81	0,204	0,301	0,468	14,227	4,623	0
(interdune)	30-50	97,16	0,380	0,411	0,625	14,949	3,397	0,090	0,283
	50-60	84,32	0,498	0,332	0,064	8,221	1,565	0	0,014
	60-100	88,78	0,304	0,292	0,365	5,205	1,487	0	0,014
	Pădurea	0-10	99,28	0,523	0,231	0,846	27,597	1,662	0,843
Caraorman	10-20	99,14	0,131	0,252	0,826	19,978	0,998	0,277	0,869
	30-40	93,55	0,160	0,267	0,397	13,761	2,822	0,146	0,240
	50-60	91,87	0,609	0,359	0,450	18,684	3,233	0,108	0,517
	Zona	0-10	69,37	1,484	1,758	3,546	57,579	25,220	0,162
Gorgova	10-20	84,70	1,168	0,519	0,602	43,650	21,435	0,073	0,265
	30-40	73,40	1,035	0,912	1,217	19,788	55,767	0,102	0,272
	50-60	72,81	0,824	0,549	1,050	11,334	60,299	0,085	0,171

Analiza enzimologică a probelor de sol colectate în Delta Dunării în toamna anului 1992

Locul de colectare a probelor	Adâncimea (cm)	Substanța uscată (%)	Activitatea invertazică		Activitatea fosfatazică	Activitatea catalitică		Activitatea dehidrogenazică	
			Fără tampon	Cu tampon		Enzimatică	Neenzimatică	Actuală	Potențială
Grîndul	0-10	67,81	3,173	4,176	13,815	80,035	13,519	2,795	5,930
Sărături	10-20	61,58	1,364	2,046	3,752	69,956	13,884	1,329	4,404
	30-50	86,47	0,531	0,578	0,971	27,762	4,563	0,216	1,084
	60-80	81,05	0,234	0,308	0,074	14,606	3,245	0,077	0,316
	80-100	54,27	0,423	1,050	5,530	64,836	9,695	0,414	1,877
Zona Roșu	0-10	71,76	0,668	0,850	3,553	44,909	11,456	0,261	0,801
	10-20	69,52	0,237	0,330	2,653	48,248	7,568	0,215	0,863
	50-70	67,30	0,371	0,430	2,742	43,976	10,261	0,427	0,854
	80-100	54,27	0,423	1,050	5,530	64,836	9,695	0,414	1,877
Grîndul	0-14	93,96	0,191	0,237	1,291	30,448	2,799	0,127	0,685
Caraorman	14-44	94,82	0,105	0,189	0,246	25,664	10,751	0,092	0,092
	44-59	93,93	0,095	0,266	0	15,054	3,500	0	0
	59-90	89,06	0,078	0,179	0	11,447	5,169	0	0
Caraorman (interdune)	0-15	99,37	0,191	0,221	0,634	7,280	3,640	0	0
	30-50	97,33	0,082	0,462	0	4,391	2,702	0	0
	50-60	93,52	0,050	0,142	0	3,004	8,010	0	0
	60-100	73,09	0,300	0,725	0,636	20,696	2,249	0,153	0,838
Pădurea	0-10	98,94	0,050	0,101	0,606	28,583	3,323	0,113	1,553
Caraorman	10-20	99,33	0,070	0,231	0,709	16,553	3,641	0,232	0,981
	30-40	98,06	0,193	0,234	0,507	13,414	2,012	0,203	0,822
	50-60	96,99	0,041	0,082	0,580	13,223	7,120	0,180	0,779
	60-100	73,09	0,300	0,725	0,636	20,696	2,249	0,153	0,838
Zona	0-10	76,98	1,143	1,441	4,814	44,427	22,213	0,568	1,404
Gorgova	10-20	84,04	0,773	0,975	2,668	29,347	33,651	0,164	0,535
	30-40	88,64	0,439	0,282	0,769	20,775	33,760	0,049	0,204
	50-60	89,80	0,267	0,378	0,066	32,225	18,676	0	0

invertazică cu adaos de soluție tampon acetat, activitatea catalitică enzimatică și activitatea catalitică neenzimatică. Activitatea fosfatazică nu a prezentat valori măsurabile în 4 probe, analizate în seria de toamnă (1992) care au fost prelevate din Grindul Caraorman de la 44–59 și 59–90 cm adâncime și respectiv din Caraorman interdune de la adâncimile de 30–50 și 50–60 cm.

La majoritatea probelor, activitatea dehidrogenazică actuală a înregistrat valori foarte scăzute, iar la următoarele 18 probe nu a prezentat valori măsurabile: Dunavăț, ambele serii (adâncimile 0–20, 30–50 și 60–80 cm), Grindul Sărături (60–80 cm), Grindul Caraorman (14–44 și 59–90 cm) și Caraorman interdune (0–15, 50–60 și 60–100 cm) (Tabelul 5), precum și Grindul Caraorman (44–59 și 59–90 cm), Caraorman interdune (0–15, 30–50 și 50–60 cm) și Zona Gorgova (50–60 cm) la seria de toamnă (Tabelul 6). După cum era de așteptat, activitatea dehidrogenazică potențială este incomparabil mai intensă decât activitatea dehidrogenazică actuală. Activitatea dehidrogenazică potențială nu a putut fi pusă în evidență în următoarele 11 probe: Dunavăț 0–20, 30–50 și 60–80 cm (seria de vară) și respectiv 0–20 și 30–50 cm (seria de toamnă) și Grindul Caraorman 44–59 și 59–90 cm, Caraorman interdune 0–15, 30–50 și 50–60 cm și Zona Gorgova 50–60 cm, pentru seria de toamnă, 1992.

Activitățile enzimatică și catalitică neenzimatică, în general, înregistrează tendințe de diminuare sau oscilatorii în raport cu adâncimea de colectare.

La majoritatea covârșitoare a probelor, activitatea invertazică determinată în prezența soluției tampon acetat a înregistrat valori mai ridicate decât în cazul determinării acestei activități enzimatică în condițiile pH-ului natural al solului. Aceste valori mai ridicate s-au obținut la trei serii de probe colectate toamna (1991) și respectiv primăvara și toamna (1992). Activitatea invertazică analizată în absența soluției tampon acetat s-a dovedit a fi mai intensă în cazul unui număr însemnat de probe colectate toamna (1991) și respectiv vara (1992).

Activitatea catalitică enzimatică (catalazică) s-a dovedit a fi incomparabil mai mare, la majoritatea probelor, în comparație cu acțiunea catalizatorilor neenzimatici termostabili, capabili de scindarea H_2O_2 .

Valorile absolute redade în Tabelele 2–6 stau la baza calculării valorilor medii absolute și relative ale activităților enzimatică și catalitică neenzimatică ale probelor de sol. Reamintim că prin însumarea valorilor relative ale activităților enzimatică și catalitică neenzimatică ale fiecărui profil s-au calculat indicatorii enzimatici sezonieri ai calității (intensității) solului.

De asemenea, profilele de sol au mai fost comparate și pe baza coeficienților de variabilitate și respectiv a indicatorului enzimatic de variabilitate. Variabilitatea minimă poate fi interpretată ca stabilitate maximă a solului din punct de vedere biologic, întrucât activitatea enzimatică a solului este dependentă de viața din ecosistemele Deltei, enzimele fiind legate de viețuitoare. Prin însumarea valorilor relative ale coeficienților de variabilitate s-au stabilit indicatorii enzimatici de variabilitate. Indica-

torii enzimatici sezonieri de calitate (intensitate) și de variabilitate sînt redați în Fig. 1 și 2.

La prima serie de probe, colectate vara 1991, valoarea maximă a indicatorului enzimatic de calitate s-a obținut la proba de la Erenciuc, cea de la Dunavăț prezintă un potențial enzimatic mediu, iar la solurile de la Uzlița, Păpădia și Plopul s-au înregistrat valorile cele mai scăzute ale indicatorilor enzimatici de calitate. Potențialul enzimatic și catalitic neenzimatic al acestor soluri este variabil, oscilînd între ~ 40 și 75%. Solul cel mai variabil s-a dovedit a fi cel de la Păpădia, iar valoarea minimă a indicatorului enzimatic de variabilitate s-a constatat la Dunavăț, care prezintă potențialul enzimatic cel mai stabil (Fig. 1).

Analizînd Fig. 1 mai constatăm că în sezonul de toamnă potențialul enzimatic și catalitic neenzimatic a fost foarte ridicat la toate probele, înregistrîndu-se valori apropiate ale indicatorilor enzimatici de calitate; nivelul maxim s-a calculat la proba de la Dunavăț. Ca și în cazul seriei anterioare, indicatorii enzimatici de variabilitate prezintă valori ridicate, oscilînd între ~ 45 și 80%. Proba la care s-a constatat variabilitatea cea mai mare este cea de la Uzlița, iar la proba de la Plopul s-a înregistrat stabilitatea maximă.

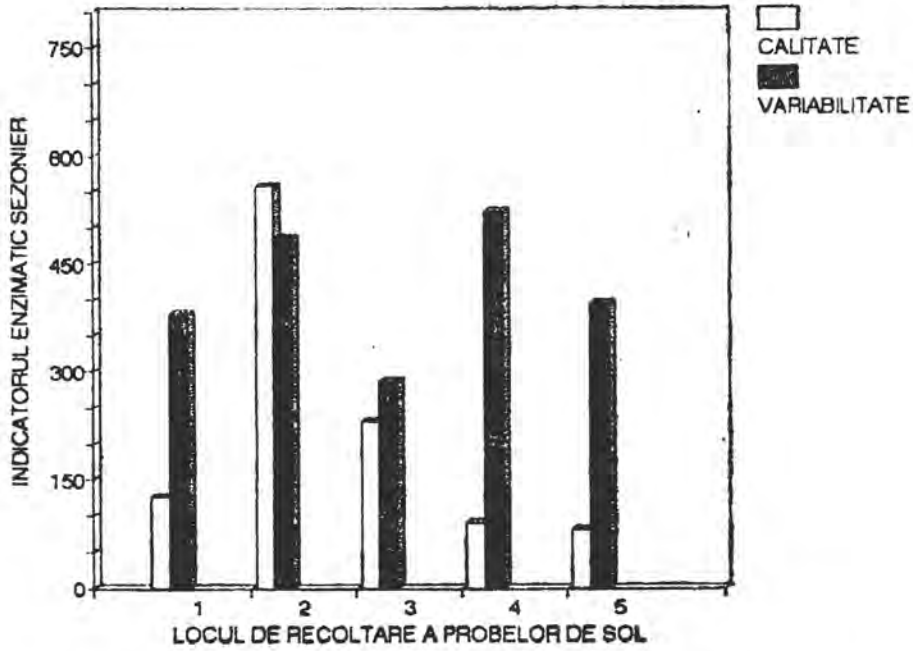
La seriile de probe prelevate în 1992, în sezoanele de primăvară și vară (Fig. 2), valorile cele mai ridicate ale indicatorilor enzimatici de calitate s-au constatat la proba din Zona Roșu, celelalte probe înregistrînd valori foarte scăzute.

La ultima serie, prelevată toamna, indicatorul enzimatic maxim s-a obținut la proba de la Grindul Sărături, un nivel intermediar al calității au prezentat Zona Roșu și Zona Gorgova, iar potențialul enzimatic minim s-a înregistrat la probele de la Caraorman (grind, interdune și pădure). În toate sezoanele, potențialul enzimatic și catalitic neenzimatic al solurilor cercetate s-a dovedit a fi în general variabil, deci puțin stabil, indicatorii enzimatici de variabilitate înregistrînd oscilații cuprinse între ~ 42 și 93%. Probele cel mai puțin stabile, deci cele mai variabile s-au constatat la Grindul Sărături (în cele trei sezoane) și Pădurea Caraorman (toamna). Proba din Zona Roșu a înregistrat valoarea minimă a indicatorului enzimatic de variabilitate (toamna). Celelalte probe ocupă poziții intermediare din punct de vedere al stabilității (Fig. 2).

În Fig. 3 și 4 sînt prezentați indicatorii enzimatici globali ai calității (intensității) și variabilității, stabiliți separat pe anii 1991 și 1992.

Analizînd Fig. 3 se constată că solul de la Erenciuc dispune de potențialul enzimatic cel mai ridicat, dar foarte variabil, deci puțin stabil. La solul prelevat de la Dunavăț, valoarea indicatorului enzimatic al calității a atins un nivel mediu, deci acest sol este mai puțin activ, iar pe planul variabilității poate fi considerat un sol cu stabilitate medie. Potențialul enzimatic și catalitic neenzimatic cel mai scăzut s-a înregistrat la solurile de la Uzlița, Păpădia și Plopul, la care s-au calculat valorile cele mai scăzute ale indicatorilor enzimatici de calitate. De asemenea, aceste soluri nu sînt foarte stabile, ele prezentînd o stabilitate medie. Din analiza Fig. 4 rezultă că solul din Zona Roșu este cel mai activ,

VII. 1991



IX. 1991

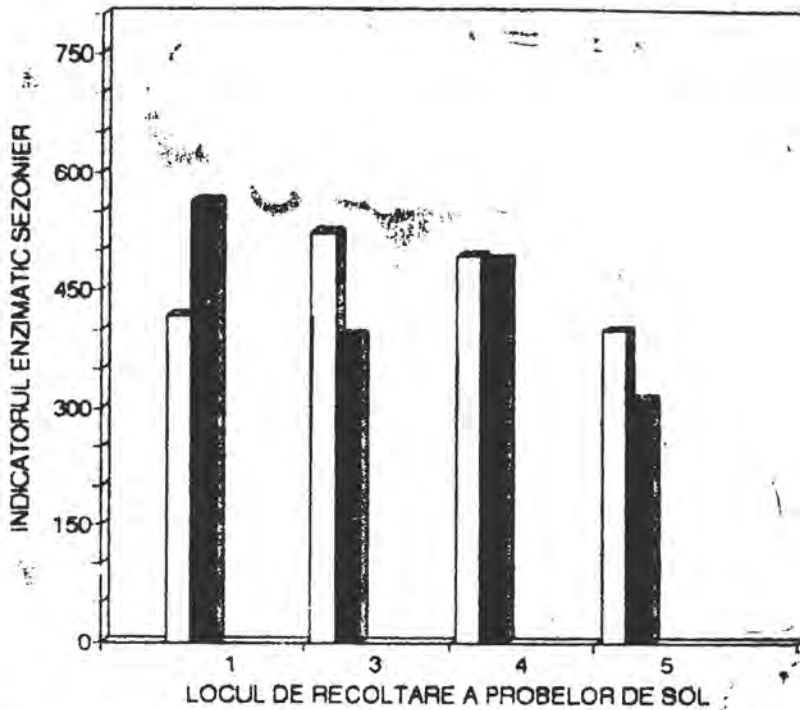
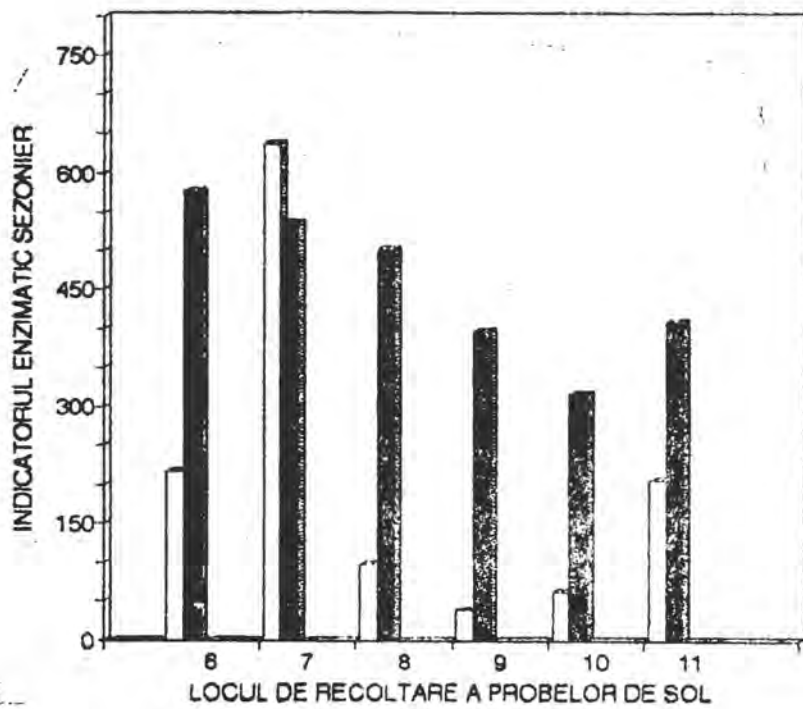


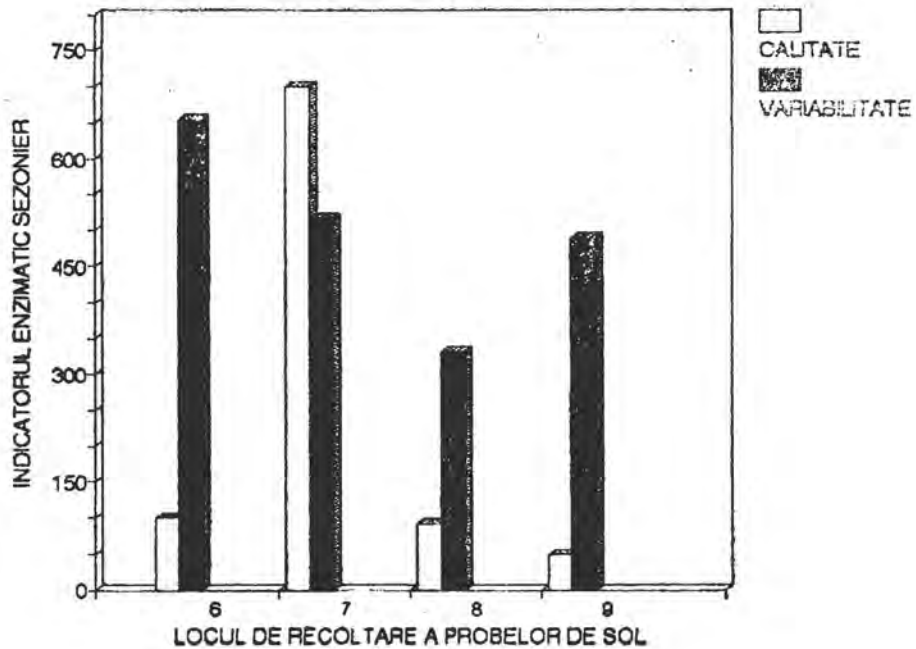
Fig. 1. Indicatorii enzimatici sezonieri de calitate (intensitate) și de variabilitate a probelor de sol colectate în anul 1991.

1 - Uzliua. 2 - Erenciuc. 3 - Dunavăț. 4 - Păpădia. 5 - Plopul.

VII 1992



V 1992



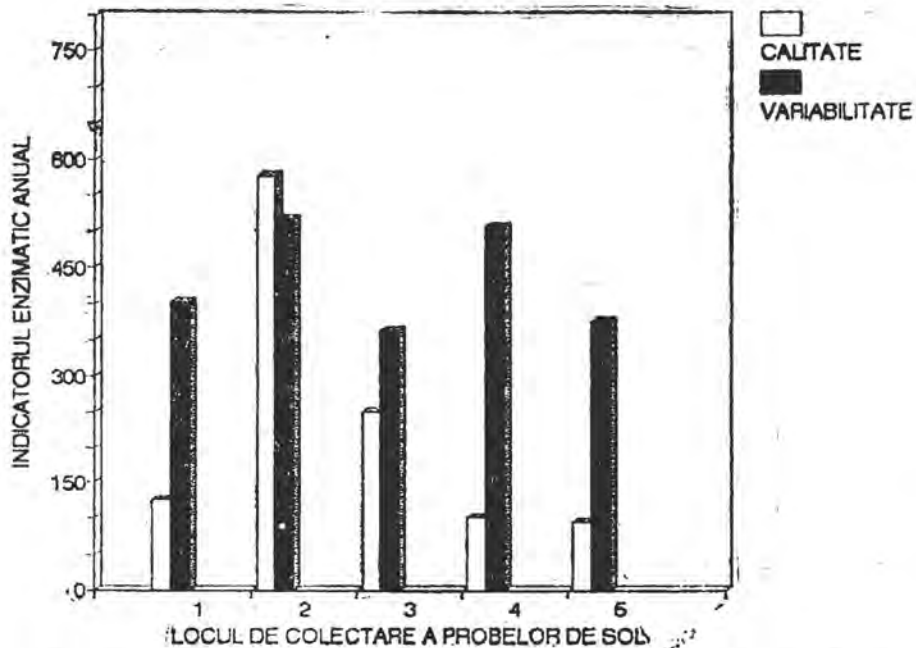


Fig. 3. Indicatorii enzimatici anualii de calitate (intensitate) și de variabilitate a probelor de sol colectate în anul 1991. 1 - 5 - Vezi Fig. 1.

IX 1992

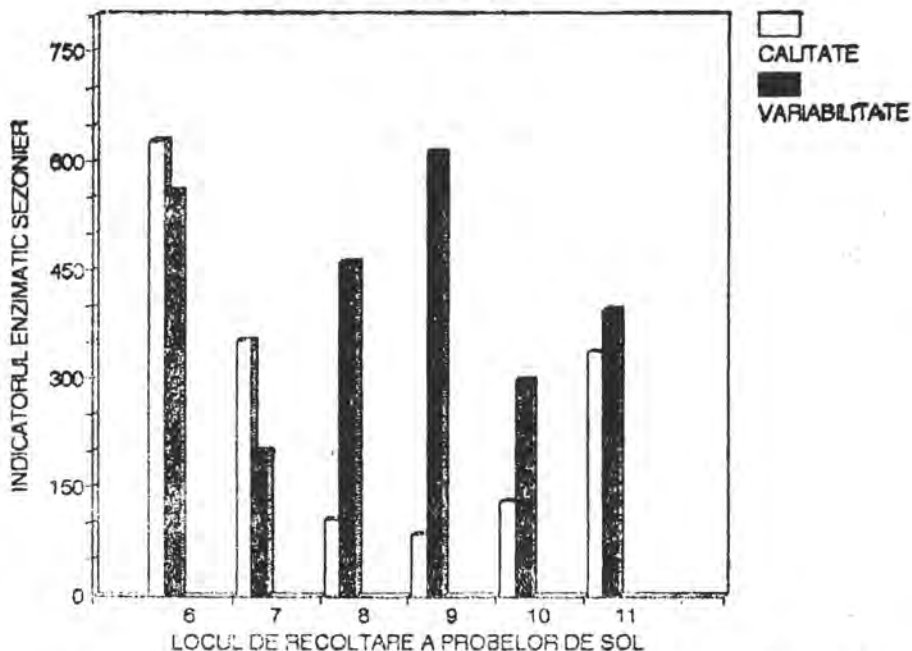


Fig. 2. Indicatorii enzimatici sezonieri de calitate (intensitate) și de variabilitate a probelor de sol colectate în anul 1992.
6 — Grindul Sărături. 7 — Zona Roșu. 8 — Grindul Caraorman. 9 — Caraorman interdune. 10 — Pădurea Caraorman. 11 — Zona Gergova.

1992

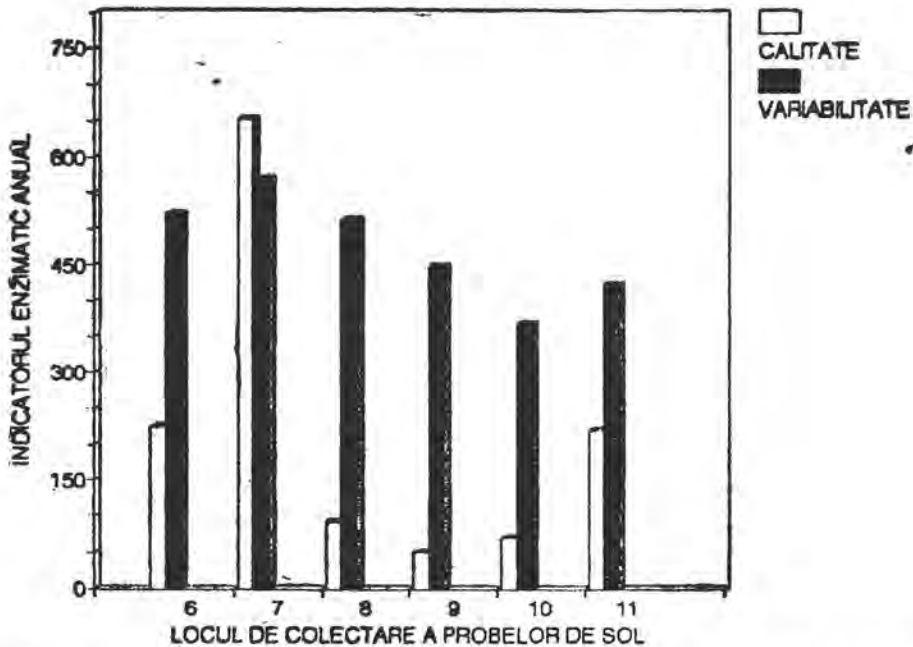


Fig. 4. Indicatorii enzimatici anuali de calitate (intensitate) și de variabilitate a probelor de sol colectate în anul 1992.
6 – 11 – Vezi Fig. 2.

dar este foarte variabil. La solurile prelevate de la Grindul Sărături și din Zona Gorgova, valorile indicatorilor enzimatici de calitate arată un potențial enzimatic și catalitic neenzimatic mediu și variabilitate medie. Solurile cele mai slabe, cu valorile cele mai scăzute ale indicatorilor enzimatici de calitate au provenit de la Grindul Caraorman, Caraorman inter-dune și Pădurea Caraorman, la care s-a înregistrat și o stabilitate medie.

Ierarhia generală a tuturor solurilor provenite din cele 11 puncte de colectare și analizate în cei doi ani (1991 și 1992) este redată în Fig. 5. Pe baza indicatorilor enzimatici de ansamblu ai calității și variabilității rezultă următoarele: solurile cultivate analizate în 1991 sînt în general mai active și mai stabile decît solurile native, nisipoase, necultivate, analizate în anul 1992, care dispun de un potențial enzimatic și catalitic neenzimatic extrem de slab, exceptînd solurile din Zona Roșu, Grindul Sărături și Zona Gorgova. De asemenea, solurile nisipoase analizate în a doua etapă se caracterizează printr-o variabilitate foarte mare, deci sînt soluri extrem de instabile din punct de vedere enzimatic. Solul cel mai activ s-a dovedit a fi cel de la Erenciuc, care prezintă stabilitate medie. Solul din Zona Roșu este de asemenea foarte activ, dar este foarte variabil. Un potențial enzimatic și catalitic neenzimatic mediu s-a constatat la

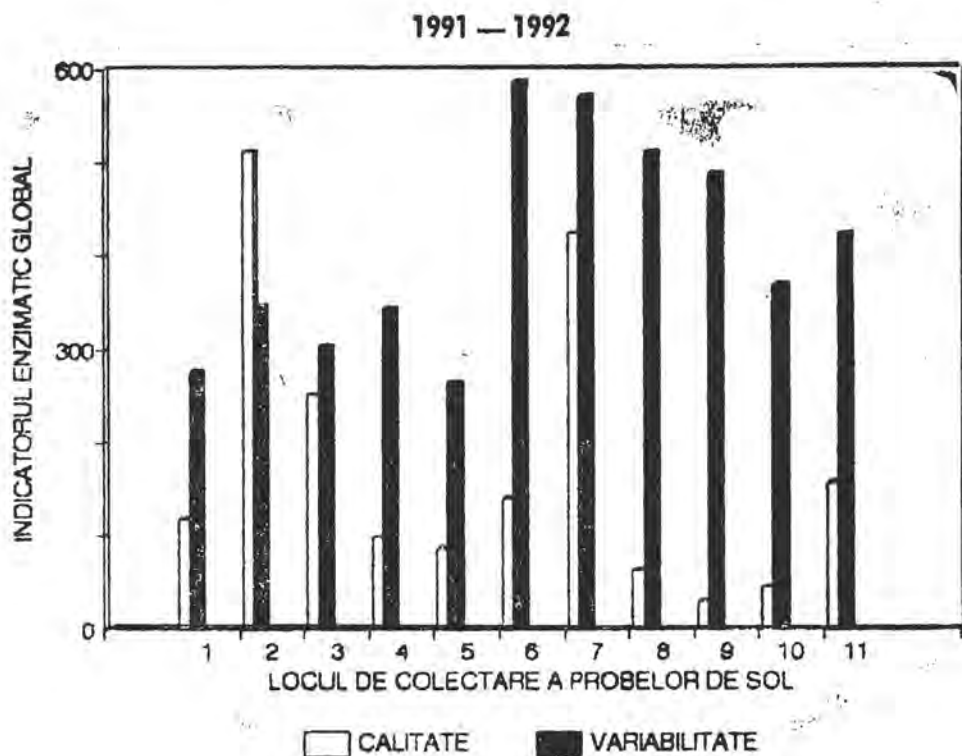


Fig. 5. Indicatorii enzimatici globali de calitate (intensitate) și de variabilitate a probelor de sol colectate în anii 1991 și 1992.
1 — 11 — Vezi Fig. 1 și 2.

solul de la Dunavăț care dispune de o stabilitate medie. Solurile de la punctele 1, 6 și 11, corespunzătoare zonelor Uzlina, Grindul Sărături și Gorgova sînt puțin active, dar cu variabilitate medie și respectiv variabilitate accentuată. Solurile cele mai slabe, cel mai puțin active sînt solurile din punctele Păpădia, Plepul, Zona Caraorman (grind, interdune și pădure) care prezintă variabilitate medie (primele două) sau variabilitate extrem de ridicată.

Concluzii. 1. Solurile cultivate, analizate în anul 1991, sînt în general mai active și mai stabile decît solurile native, nisipoase, necultivate, analizate în anul 1992.

2. Solul de la Erenciuc este cel mai activ, dar prezintă stabilitate medie. Solul din Zona Roșu este foarte activ, dar este și foarte variabil. La solul de la Dunavăț s-a constatat un nivel mediu al intensității și variabilității potențialului enzimatic și catalitic neenzimatic.

3. Solurile slabe, puțin active, dar cu variabilitate medie și respectiv mare sînt cele de la Uzlina, Grindul Sărături și Zona Gorgova. Solurile

prelevate din punctele de colectare Păpădia, Plopul și Caraorman (grind, interdune, pădure) sînt extrem de slabe, prezentînd variabilitate medie (primele două) și variabilitate extrem de accentuată (zona Caraorman).

BIBLIOGRAFIE

1. Casida, L. E., jr., Klein, D. A., Santoro, T., *Soil dehydrogenase activity*, „Soil Sci.”, **98**, 1964, 371–376.
2. Hurghișiu, I., *Cercetări comparative asupra enzimei celuloze libere din apa și solul zonelor stufoase*, „Celuloză Hîrtie”, **22**, 1973, 183–185.
3. Kappen, H., *Die katalytische Kraft des Ackerbodens*, „Pflüglings Landw. Ztg.”, **62**, 1913, 377–392.
4. Kiss, S., *Die Wirkung des spezifischen Enzymsubstrates (Saccharose) auf die Produktion der Bodensaccharase*, „Z. Pflanzenernähr., Düng. Bodenk.”, **76**, 1957, 119–122.
5. Krámer, M., Erdei, G., *Primenenie metoda opredeleniia aktivnosti fosfatazi v agrokimicheskih issledovaniiah*, „Pocivovedenie”, No. 9, 1959, 99–102.
6. Morrison, S. J., White, D. C., *Effects of grazing by estuarine gonimoidan amphipods on the microbiota of allochthonous detritus*, „Appl. Environ. Microbiol.”, **40**, 1980, 659–671.
7. Relexans, J. C., Etcheber, H., *La mesure de l'activité des systèmes transporteurs d'électrons (ETS) : méthodologie, application au domaine estuarien*, „Océanis”, **11**, 1985, 443–459.
8. Relexans, J. C., Etcheber, H., *Characterization of the particulate organic matter in the Loire Estuary (France) using ETS activity measurements*, „Org. Geochem.”, **10**, 1986, 743–749.
9. Trevors, J. T., *Electron transport system activity and its relationship to other measures of activity in an estuarine sediment*, „Syst. Appl. Microbiol.”, **5**, 1984, 136–142.
10. White, D. C., *Analysis of microorganisms in terms of quantity and activity in natural environments*, in Slater, J. H., Whittenbury, R., Wimpenny, J. W. T. (Eds.), *Microbes in Their Natural Environments*, pp. 37–66, Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1983.
11. White, D. C., Bobbie, R. J., Herron, J. S., King, J. D., Morrison, S. J., *Biochemical measurements of microbial mass and activity from environmental samples*, in Costerton, J. W., Colwell, R. R. (Eds.), *Native Aquatic Bacteria: Enumeration, Activity, and Ecology*, pp. 69–81, Amer. Soc. for Testing and Materials, Philadelphia, 1979.
12. White, D. C., Bobbie, R. J., Morrison, S. J., Oosterhof, D. K., Taylor, C. W., Meeter, D. A., *Determination of microbial activity of estuarine detritus by relative rates of lipid biosynthesis*, „Limnol. Oceanogr.”, **22**, 1977, 1089–1099.

EFFECT OF DICYANDIAMIDE ON THE EFFICIENCY OF FERTILIZER UREA APPLIED TO SOILS SOWN WITH *LOLIUM MULTIFLORUM*

LEONIDA CALANCEA*

SUMMARY. — Two pot experiments were carried out. Samples of a chernozem soil (7 kg/pot) were treated with 350 mg of urea-N without or with 6 or 12% dicyandiamide, DCD (on urea-N basis), and samples of a pseudogleyic podzolized soil (3 kg/pot) received 100 mg of urea-N without or with 50–400 mg of DCD-N. The urea was labelled with 3.75 atom % ^{15}N excess. Both soils in pots were sown with *Lolium multiflorum*. At 30-day intervals the herbage was harvested, dried, weighed and analysed for total N and ^{15}N . The results have shown that urea and urea + DCD significantly increased the herbage yield. The total plant uptake of N was highest in the treatment with 100 mg of urea-N + 200 mg of DCD-N/pot. DCD significantly enhanced the utilization of urea-N by plants. These effects of urea and DCD were stronger in the chernozem than in the podzolized soil.

Dicyandiamide (DCD; dimer of cyanamide; $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(\text{NH})-\text{NH}-\text{CN}$), produced by chemical synthesis and added to soil, acts, at the beginning, as a nitrification inhibitor, then it is slowly decomposed and mineralized with formation of plant-available N and concomitant loss of inhibitory capacity. Consequently, DCD, containing 67% N by weight, is both a nitrification inhibitor and a slow-release N fertilizer (c.g. [1, 2, 11]).

When applied together with fertilizer urea, DCD inhibits nitrification of ammonium released from urea. At the same time, DCD may affect efficiency of fertilizer urea also by influencing the rate of urea hydrolysis and urease activity in soil as well as the loss of urea-N as volatile ammonia. In this respect, the literature data are controversial. Thus, DCD was found not to reduce the rate of urea hydrolysis in soil [2, 5, 6, 15], but quite contrarily, DCD increased it by 5–15% [2]. DCD enhanced soil urease activity [13] or did not affect it [7]. In some soils, DCD increased volatilization of ammonia from urea, i.e. did not inhibit soil urease activity [8–10]. This means that in these soils the positive effect of DCD by inhibition of nitrification is counteracted by its increasing effect on ammonia volatilization.

All these results do not confirm the assumption [14], according to which the inhibitory effect of DCD on soil urease activity would explain depressions in spring wheat yields in plots on a sandy loam soil that had been treated with urea plus DCD, in comparison to yields obtained in other plots of the same soil that had been fertilized with aqueous ammonia with addition of nitrapyrin (N-Serve) (see also [4, 12]).

The aim of the present study was to evaluate the effect of DCD on the efficiency of fertilizer urea applied to two soils sown with *Lolium multiflorum* (Italian ryegrass).

* University of Agricultural Sciences, Laboratory of Agrochemistry, 3400 Cluj, Romania

Materials and methods. Two pot experiments were carried out. In the first experiment the pots contained 7 kg of chernozem soil, to which 100 mg of P and 350 mg of urea-N without or with 6 or 12% DCD (on urea-N basis) were added. In the second experiment, a pseudogleyic podzolized soil was used. Three-kg samples of this soil mixed with sand were placed in the pots. Rates of fertilizer applications were: 25 mg of P, 100 mg of urea-N without or with 50, 100, 200, 300 or 400 mg of DCD-N/pot. In both experiments, the urea was labelled with 3.75 atom% ^{15}N excess; the same amounts of *Lolium multiflorum* seeds (300 mg/pot) were sown; during growth of plants, soil moisture was maintained at 68–70% of the field capacity; after 30 days of growth, the herbage was harvested and harvesting was repeated twice at 30-day intervals. The herbage was dried at 102–105°C, then weighed and analysed for total N and ^{15}N according to [3]. The data registered were submitted to variance and regression analyses.

Results. Table 1 comprises the results obtained in the first experiment (on chernozem soil). One can see from this table that, excepting the treatment with urea only, the herbage yield was highest in the first harvest and lowest in the third one. The total herbage yield significantly increased with increasing rate of N fertilization. Thus, a nearly twofold yield increase occurred in the urea + 12% DCD treatment as compared to the untreated control. DCD at its both rates significantly enhanced the yield-increasing effect of urea. Total plant uptake of N from urea, DCD and soil, like total herbage yield, showed the following order: untreated control < urea only < urea + 6% DCD < urea + 12% DCD. It should, however, be noted that in the urea + 12% DCD treatment the total N uptake by plants increased to a larger extent than did the total herbage yield. The coefficients of utilization of N from urea, urea + 6% DCD and urea + 12% DCD (32.33, 38.57 and 44.31%, respectively) prove that the plants utilized more N from urea administered together with DCD than from urea applied alone. This effect of DCD was stronger at the 12% rate than at the 6% rate.

The results obtained in the second experiment (on pseudogleyic podzolized soil) are presented in Table 2. As in the first experiment, the herbage yield was highest in the first harvest and lowest in the third one. Total herbage yield significantly increased following urea and urea + DCD fertilization, but levelled off when DCD was used at rates of 200–400 mg N/pot together with urea applied at a constant rate (100 mg N/pot). The increase was nearly threefold in the treatment with urea + DCD (100 + 200 mg N/pot) relative to the untreated control.

Total plant uptake of N from urea, DCD and soil was highest in the treatment with 300 mg of urea-N + DCD-N/pot (see also Fig. 1). In this experiment, too, DCD enhanced utilization of urea-N by plants. Thus, the coefficient of utilization of N from urea in the treatment with urea alone (40.2%) was doubled (80.9 and 79.5%) when the same amount of urea (100 mg N/pot) was applied together with 200 and 300 mg of DCD-N/pot, respectively (see also Fig. 2).

Comparison of data in Tables 1 and 2 indicates that the herbage yields in both unfertilized control and urea or urea + DCD treatments were higher on the chernozem soil than on the pseudogleyic podzolized soil. At a similar rate of urea + DCD fertilization, DCD was more efficient

Table 1

Effect of DCD on the efficiency of fertilizer urea applied to a chernozem soil sown with *Lolium multiflorum*

Treatment (mg N/pot)	Har- vest No.	Herbage yield (g dry matter/pot)	Differences*		Significance*		N content of plants (%)	Total N uptake by plants		Coefficient of utilization of N from urea (%)
			(1)	(2)	(1)	(2)		(mg/pot)	(%)	
0	1	4.47					1.610	72		
	2	4.28					1.252	53		
	3	2.32					1.360	31		
			11.07	—	—	—	—	—	156	36.97
Urea 350	1	6.00					3.044	182		24.81
	2	6.50					1.082	70		5.65
	3	2.52					1.350	34		1.87
			15.02	3.95	—	* * *	—	—	286	67.77
Urea 350+ DCD 6%	1	8.50					2.800	238		26.25
	2	6.80					1.470	100		9.45
	3	3.25					1.460	47		2.87
			18.55	7.48	3.53	* * *	*	—	385	91.23
Urea 350+ DCD 12%	1	9.00					2.967	267		33.34
	2	6.87					1.562	107		8.44
	3	3.49					1.378	48		2.53
			19.36	8.29	4.34	* * *	* *	—	422	100

- * (1) — Relative to untreated control
LSD 5% = 1.759; LSD 1% = 2.664; LSD 0.1% = 4.279
- (2) — Relative to treatment with urea
LSD 5% = 2.043; LSD 1% = 3.181; LSD 0.1% = 6.328

Effect of DCD on the efficiency of fertilizer urea applied to a pseudogleyic podzollized soil sown with *Lolium multiflorum*

Treatment (mg N/pot)	Har- vest No.	Herbage yield (g dry matter/pot)	Differences*		Significance*		N content of plants (%)	Total N uptake by plants		Coefficient of utilization of N from urea (%)
			(1)	(2)	(1)	(2)		(mg/pot)	(%)	
0	1	2.50					2.040	51.0		
	2	1.22					1.350	16.5		
	3	0.91					1.290	17.7		
		4.63						85.2	32.45	
Urea 100	1	3.45					2.540	87.6		31.6
	2	1.80					2.360	42.5		6.6
	3	1.42					2.170	30.8		2.0
		6.67	2.04		**			160.9	61.24	40.2
Urea 100+ DCD 50	1	5.40					2.671	144.2		55.7
	2	2.64					2.366	62.5		4.5
	3	1.53					2.440	37.3		2.7
		9.57	4.94	2.90	***	**		244.0	91.84	62.9
Urea 100+ DCD 100	1	6.35					2.448	155.4		61.5
	2	3.07					1.794	55.1		5.8
	3	1.97					2.080	41.0		2.8
		11.39	6.76	4.72	***	***		251.5	95.84	70.1
Urea 100+ DCD 200	1	6.67					2.405	160.4		72.6
	2	2.72					1.982	53.9		6.4
	3	2.28					2.110	48.1		1.9
		11.67	7.04	5.00	***	***		262.4	100	80.9
Urea 100+ DCD 300	1	6.65					2.262	150.4		63.1
	2	2.74					1.878	51.5		13.0
	3	2.28					1.985	45.3		3.4
		11.67	7.04	5.00	***	***		247.2	94.20	79.5
Urea 100+ DCD 400	1	6.60					2.398	158.3		58.8
	2	3.07					1.722	52.9		11.4
	3	1.98					1.815	35.9		3.5
		11.65	7.02	4.98	***	***		247.1	94.17	73.7

* (1) — Relative to untreated control
LSD 5% = 1.119; LSD 1% = 1.557; LSD 0.1% = 2.199
(2) — Relative to treatment with urea
LSD 5% = 1.186; LSD 1% = 1.686; LSD 0.1% = 2.442

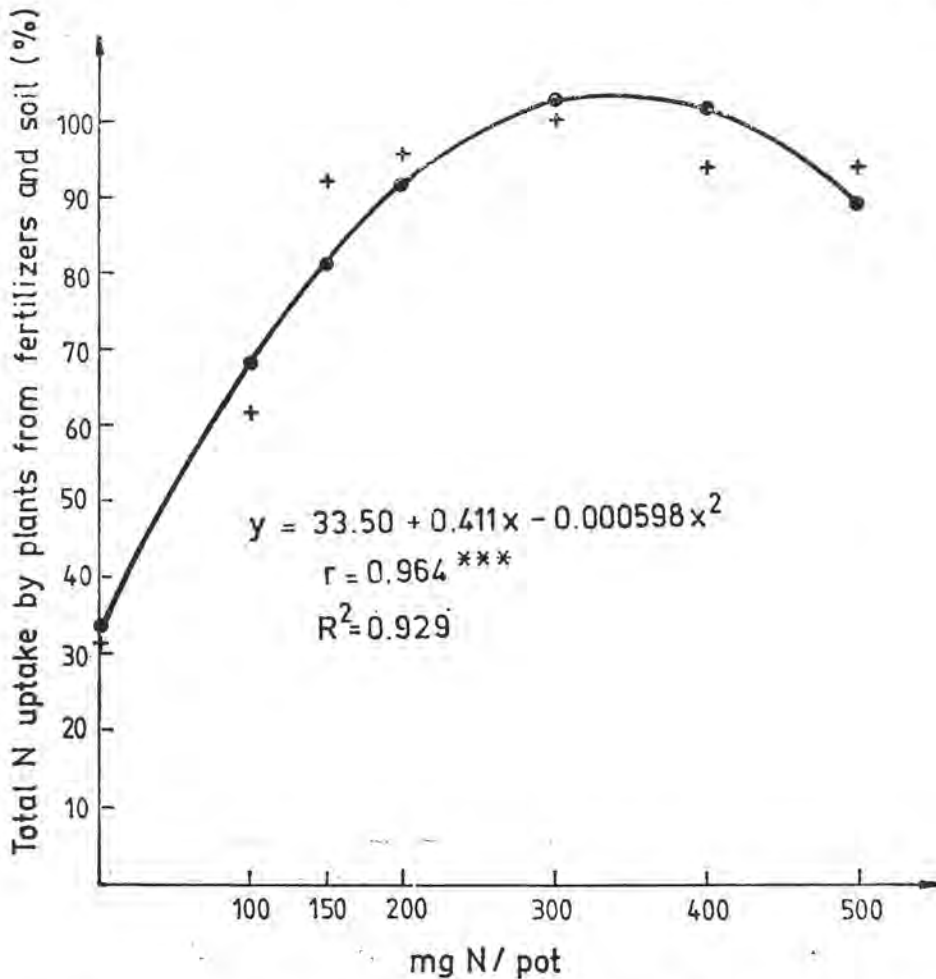


Fig. 1. Effect of the urea-N + DCD-N rate on the total plant uptake of N from fertilizers and soil (the maximum uptake was taken as 100%).

in increasing utilization of urea-N by plants grown in the chernozem soil than by plants cultivated on the pseudogleyic podzolized soil.

Conclusions. 1. Urea applied alone or in association with DCD to soil samples significantly increased the herbage yield of *Lolium multiflorum*.

2. Total plant uptake of N from urea, DCD and soil was highest in the treatment with 100 mg of urea-N + 200 mg of DCD-N/pot.

3. DCD significantly enhanced the utilization of urea-N by plants.

4. The fertilizing effect of urea and urea + DCD and the enhancing effect of DCD on the utilization of N from urea were stronger in the chernozem soil than in the pseudogleyic podzolized soil.

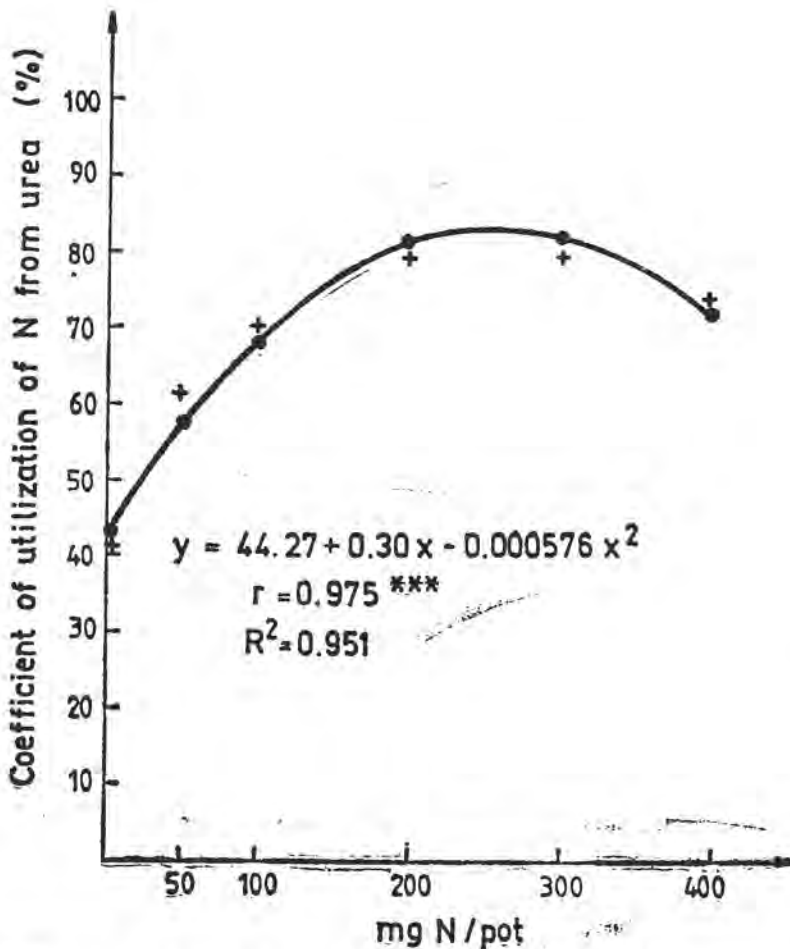


Fig. 2. Effect of the DCD-N rate on the plant utilization of N from urea.

REFERENCES

1. Amberger, A., Gutser, R., *Umsatz und Wirkung von Harnstoff-Dicyandiamid-sowie Ammonsulfat-Dicyandiamid-Produkten zu Weidelgras und Reis*, „Z. Pflanzenernähr. Bodenk.“, **141**, 1978, 553–566.
2. Amberger, A., Vilsmeier, K., *Versuche zur Wirkung von Cyanamid, Dicyandiamid, Guanylharnstoff, Guanidin und Nitrit auf die Ureaseaktivität*, „Landw. Forsch.“, **32**, 1979, 409–415.
3. Hauck, R. D., Bremner, J. M., *Use of tracers for soil and fertilizer nitrogen research*, „Adv. Agron.“, **28**, 1976, 219–266.
4. Kiss, S., Ștefanic, G., Pașca, D., Drăgan-Bularda, M., Zborovschi, E., Crișan, R., *Enzinologia mediului inconjurător*, pp. 159–162, Ceres, București, 1991.
5. McCarty, G. W., Bremner, J. M., *Laboratory evaluation of dicyandiamide as a soil nitrification inhibitor*, „Commun. Soil Sci. Plant Anal.“, **20**, 1989, 2049–2065.

6. Ostromecka, M., *The velocity of urea transformation under various soil conditions* „Zesz. Probl. Postep. Nauk Roln.", No. 84, 1968, 391–398.
7. Popov, A. I., Mergel', A. A., Kurakov, A. V., Semenov, V. M., Guzev, V. S., *Mikrobiologicheskoe sostoyanie i azotnyi rezhim seroi lesnoi pochvy pri primenenii ingibitorov nitrifikatsii*, „Pochvovedenie", No. 6, 1990, 78–86.
8. Prakasa Rao, E. V. S., Puttanna, K., *Nitrification and ammonia volatilization losses from urea and dicyandiamide-treated urea in a sandy loam soil*, „Plant Soil", **97**, 1987, 201–206.
9. Rodgers, G. A., *Effect of dicyandiamide on ammonia volatilisation from urea in soil*, „Fert. Res.", **4**, 1983, 361–367.
10. Rodgers, G. A., Penny, A., Hewitt, M. V., *A comparison of the effects of prilled urea, urea used alone or with a nitrification or urease inhibitor, with those of 'Nitro-Chalk' on winter oil-seed rape*, „J. Agric. Sci.", **106**, 1986, 515–526.
11. Rodgers, G. A., Wickramasinghe, K. N., Jenkinson, D. S., *Mineralization of dicyandiamide, labelled with ^{15}N , in acid soils*, „Soil Biol. Biochem.", **17**, 1985, 253–254.
12. Sahrawat, K. L., *Effects of nitrification inhibitors on nitrogen transformations, other than nitrification, in soils*, „Adv. Agron.", **42**, 1989, 279–309.
13. Sanikidze, G. S., Gamkrelidze, K. I., Gogorikidze, N. I., *Vliyanie novykh form kapsulirovannykh i ingibirovannykh azotnykh udobrenii na chislennost' mikroorganizmov i aktivnost' fermentov v krasnozemykh pochvakh*, „Subtrop. Kul'tury", No. 2, 1987, 139–143.
14. Sommer, Rossi g, K., *Einfluß der Art der Nitrifikationshemmung auf den Ertrag bei verschiedenartiger N-Düngung und Vorschlag für eine Klassifizierung*, „Landw. Forsch.", **31**, 1978, 291–299.
15. Vilsmeier, K., Bornemisza, E., Amberger, A., *Urea, ammonium sulfate and dicyandiamide transformations in Costa Rican soils*, „Fert. Res.", **12**, 1987, 255–261.

RECENZII

David Davidescu, Leonida Calancea, Velicica Davidescu, *Protecția chimică în agricultură (Chemical Protection in Agriculture)*, Editura Academiei Române, București, 1992. 448 pages with 38 figures and 25 tables in the text.

In the 1972–1992 period, the Publishing House of the Romanian Academy of Sciences has edited a series of volumes on „Chimizarea agriculturii” (Chemicalization of Agriculture) under the first authorship of Professor David Davidescu, full member of the Romanian Academy of Sciences. *Protecția chimică în agricultură* is the 7th volume in this series.

Volume 7 consists of two parts. The General Part comprises chapters 1–10, whereas chapters 11–21 form the Special Part. First of all, I specify the chapter titles:

1. Chemical protection of agricultural crops in the contemporary world;
2. Creation of a new pesticide;
3. General properties of pesticides;
4. Toxicity, residues, tolerance, multiplication;
5. Pesticides and the environment;
6. Increase in the resistance of weeds, phytopathogenic agents and animal pests to pesticide treatments;
7. Some principles concerning biological control;
8. Integrated control of the diseases, animal pests and weeds of agricultural crops;
9. Biochemistry of pesticides, their action and metabolism;
10. Factors affecting the movement and transformation of pesticides in soil;
11. Anticryptozawics (fungicides and bactericides);
12. Insecticides and acaricides;
13. Nematocides;
14. Molluscicides;
15. Rodenticides;
16. Biopreparations for protection of plants against diseases and animal pests;
17. Chemotropic products;
18. Herbicides;
19. Synthetic regulators of the growth and development of cultivated plants;
20. Compatibility, synergism and antagonism of pesticide mixtures;
21. Recommendations for alternative products to control diseases, animal pests and weeds causing damages to agricultural crops.

Besides the Preface and Postface and the Selected Bibliography (including 280 titles), the volume also contains a Subject Index referring to each of the 7 volumes of the series „Chimizarea agriculturii” and being presented in English, too. Contents of the volume are also given in English, too.

The General Part of the volume is a comprehensive and up-to-date review of the basic knowledge on pesticides. Therefore, the volume is a valuable source of information for agronomists, soil scientists (including soil biochemists, microbiologists and zoologists), plant and animal physiologists and biochemists, organic chemists, ecologists and other environmental scientists, and also for students of all these disciplines.

The Special Part of the volume may serve as a guideline for all who apply pesticides in agriculture. In this respect, I should like to emphasize the exceptional value of Table 25 indicating the alternative pesticides for controlling fungal and bacterial diseases, animal pests and weeds of a great number of cultivated plants.

I am convinced that this work by Professors D. Davidescu, L. Calancea and Velicica Davidescu will contribute to a more efficient use of pesticides in our country, to an improvement in the quantity and quality of agricultural production and also to a reduction in the chemical pollution of environment.

ȘTEFAN KISS

Alexander King, Bertrand Schneider. *Questions de survie. La révolution mondiale a commencé (Chestiuni de supraviețuire. Revoluția mondială a început)*, Editions Calmann-Lévy, Paris, 1991, 236 pagini.

Cartea este un raport al Consiliului Clubului de la Roma, cu titlul original „The First Global Revolution”, iar autorii — Al. King și B. Schneider sînt președintele de onoare al Clubului, respectiv secretarul său general.

Toate celelalte rapoarte ale Clubului de la Roma (18 la număr), publicate anterior acestuia, în cei douăzeci de ani de la primul (care a stîrnit vii controverse) din 1972, cuprînd constatări și punerea în gardă contra consecințelor a două dintre cele mai mari provocări cărora omenirea trebuie să le facă față imediat: prăpastia dintre țările bogate și cele sărace; și impactul global al activităților umane asupra mediului. Noul raport al Clubului — cel pe care îl recenzăm aici — tratează cea de-a doua direcție menționată

mai sus, deoarece noi factori socio-economici — iviți din imprezvizibila răsturnare a datelor geopolitice, economice, tehnologice, sociale și culturale — pregătesc o adevărată revoluție în ordinea mondială pe care o cunoaștem astăzi, prima revoluție globală.

Inspirată este alternativa problematizată de pe coperta cărții: „*Toată problema este să știm dacă noi vom fi actorii în această revoluție, sau victimele ei*”.

Cartea este structurată pe două părți: *Problematika și Rezolutica*.

„*Problematika*” este cea mondială și tratează — expunând fapte și cifre — principiile schimbării din ultimele două decenii, pe care trebuie să le cunoaștem pentru a gândi la scară planetară dimensiunea răsturnărilor pe care le trăim și a neliniștilor pe care le provoacă riscurile ce decurg din ele — toate trecute în revistă în 6 capitole: originea transformărilor și cauza primordială a pregătirii revoluției globale sunt evenimentele politice, care sînt și sîmnața revoluției în politica economică susținută de un adevărat „virtej” de fenomene sociale-politice-culturale.

Autorii dezbate cu autoritate și fără menajamente, formulînd concluzii de prestigiu (potrivite statutului lor de profesori și funcțiilor pe care le îndeplinesc în forul public pe care îl reprezintă) asupra unor probleme îngrijorătoare ale lumii moderne: explozia demografică; racilele urbanizării; problemele mediului ambiant; progresele tehnicienilor de vîrf și posibilele lor consecințe; încălzirea climei pe Terra și implicațiile energetice; proasta administrare a economiei mondiale etc. — trăgîndu-se concluzia, deloc măgulitoare pentru *Homo „sapiens”*, că „*dășmanul comun al omenirii este omul*”.

În carte, domnește peste succinta enunțare a gravelor probleme ale omenirii o speranță pentru a clădi o lume mai bună,

dar se simte și acea neliniște, acea îngrijorare a omenirii cuprinsă de seismele metamorfozei, care vin să completeze fractura dintre rigiditățile vechi și nădejdele noi care se întrevăd dincolo de orizont, în zorii viitorului.

Partea a doua expune — în 4 capitole și o „*Concluzie*” — „*Rezolutica mondială*” — concept care vrea să însemne încercarea de a rezolva cele mai multe din elementele „*problematicii*” sau să marcheze cel puțin căile prin care să se ajungă la soluții și la strategii mai eficiente, atacînd simultan principalele elemente ale problematicii, cu toate implicațiile reciproce pe care le au unele asupra altora. Se propune un ansamblu de acțiuni concertate care să remedieze, măcar și provizoriu sau incomplet, neputința instanțelor naționale și internaționale în fața egoismelor individuale și colective. O mare șansă se acordă în rezoluție refondării valorilor morale și spirituale, idee rezumată aproape aforistic într-un text citat în carte dintr-unul din rapoartele anterioare elaborat de Dennis Gabor (membru al Clubului de la Roma, premiat Nobel ca inventator al holografiei): „*Civilizația noastră de astăzi se sprijină, materialicește, pe tehnici extraordinare de performanțe, dar, spiritual, practic pe nimic!*”.

Destinația cărții nu este greu să o înțelegem pentru că este clar formulată de înșiși autorii ei în „*Introducere*”: cartea se adresează tuturor aceluia care poartă în ei scintea bucuriei de a învăța și de a risca încercînd să înfrunte dramaticele probleme ale omenirii, în calea ei spre viitor; ea se adresează, de asemenea, tuturor aceluia care simt că au afinități cu frămîntările pentru o lume nouă și care sînt neiertători față de erorile de judecată și de lipsa de prevedere. Și nu în ultimul rînd, și aceluia care deocamdată sînt nepăsători la toate acestea!

ANA FABIAN

În cel de al XXXVII-lea an (1992) *Studia Universitatis Babeş-Bolyai* apare în următoarele serii:

matematică (trimestrial)
fizică (semestrial)
chimie (semestrial)
geologie (semestrial)
geografie (semestrial)
biologie (semestrial)
filosofie (semestrial)
sociologie-politologie (semestrial)
psihologie-pedagogie (semestrial)
ştiinţe economice (semestrial)
ştiinţe juridice (semestrial)
istorie (semestrial)
filologie (trimestrial)
teologie ortodoxă (semestrial)

In the XXXVII-th year of its publication (1992) *Studia Universitatis Babeş-Bolyai* is issued in the following series:

mathematics (quarterly)
physics (semesterily)
chemistry (semesterily)
geology (semesterily)
geography (semesterily)
biology (semesterily)
philosophy (semesterily)
sociology-politology (semesterily)
psychology-pedagogy (semesterily)
economic sciences (semesterily)
juridical sciences (semesterily)
history (semesterily)
philology (quarterly)
orthodox theology (semesterily)

Dans sa XXXVII-e année (1992) *Studia Universitatis Babeş-Bolyai* paraît dans les séries suivantes:

mathématiques (trimestriellement)
physique (semestriellement)
chimie (semestriellement)
géologie (semestriellement)
géographie (semestriellement)
biologie (semestriellement)
philosophie (semestriellement)
sociologie-politologie (semestriellement)
psychologie-pédagogie (semestriellement)
sciences économiques (semestriellement)
sciences juridiques (semestriellement)
histoire (semestriellement)
philologie (trimestriellement)
théologie orthodoxe (semestriellement)

43 869

LEI 200