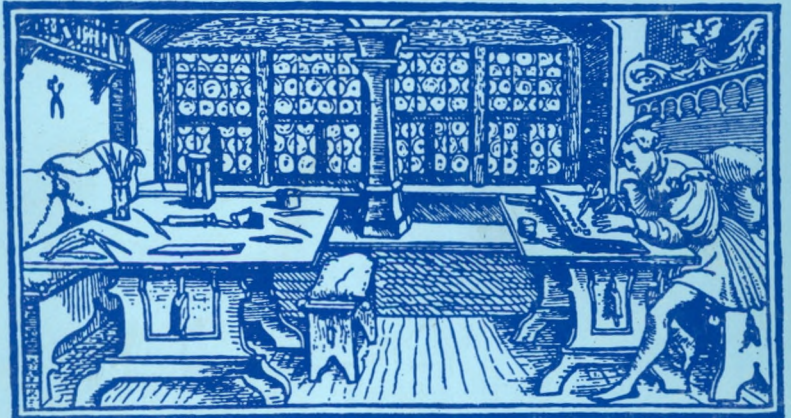


491169

STUDIA

UNIVERSITATIS
BABES-BOLYAI

B I O L O G I A
C L U J - N A P O C A 1 9 9 8



B. C. U. Cluj-Napoca
 Nr. inv. 230/1999

12

57

COMITETUL DE REDACȚIE AL SERIEI BIOLOGIA:

REDACTOR COORDONATOR: Prof. dr. KISS ȘTEFAN

MEMBRI: Prof. dr. NICOLAE COMAN
Prof. dr. VASILE CRISTEA
Prof. dr. IOAN POP
Prof. dr. CORNELIU TARBA
Prof. dr. NICOLAE TOMESCU
Prof. dr. MIHAI TRIFU
CP. I. dr. GHEORGHE RACOVITĂ

SECRETAR DE REDACȚIE: Prof. dr. MIHAIL DRĂGAN-BULARDA

491169

STUDIA UNIVERSITATIS BABEȘ-BOLYAI

BIOLOGIA

1-2

Redacția: 3400 CLUJ-NAPOCA, str. M. Kogălniceanu 1 Telefon 19 43 15

SUMAR - CONTENTS - SOMMAIRE - INHALT

I. MOMEU, A. RASIGA, L. Ș. PÉTERFI, Flora algală a mlaștinilor de turbă situate sub Vârful Mădăraș — Munții Harghita ● Algal Flora of Peat Bogs Situated under the Mădăraș Peak — Harghita County	3
B. DIACONEASA, S. FĂRCAȘ, Contribuția carpenului în structurile silvestre cuaternare din România ● The Contribution of Hornbeam to the Quaternary Forest Structures from Romania	11
B. DIACONEASA, S. FĂRCAȘ, Particularități ale evoluției vegetației în sud-estul României, comparativ cu Transilvania, relevate prin analize palinologice ● Peculiarities of the Evolution of Vegetation in the South-East of Romania in Comparison with That in Transylvania, as Revealed by Palynological Analyses	27
M. CIOBANU, I. POPOVICI, Nematode Communities from Some Transylvanian Salt-Affected Areas (Romania). First Ecological Evaluations	37
D. CRIȘAN, T. CEUCA, Două noi specii de Diplopode din nordul României (<i>Glomerida</i> — <i>Chordeumatida</i>) ● Two New Diplopod Species from the North of Romania (<i>Glomerida</i> — <i>Chordeumatida</i>)	45
G. STAN, Influența temperaturii asupra creșterii, dezvoltării și consumului de hrană la larvele de <i>Mamestra brassicae</i> L. (<i>Lepidoptera: Noctuidae</i>) în condiții de laborator ● Influence of Temperature on Growth, Development and Food Consumption by Larvae of <i>Mamestra brassicae</i> L. (<i>Lepidoptera: Noctuidae</i>) under Laboratory Conditions	51
F. KÓSA, D. MUNTEANU, I. P. PAP, A. D. SÁNDOR, Z. D. SZABÓ, Rezultatele recensământului de berze (<i>Ciconia ciconia</i> L.) în județul Cluj în anul 1996 ● Results of the White Stork (<i>Ciconia ciconia</i> L.) Count in the Cluj County in 1996	65
E. GĂL, Avifauna fosilă a peșterii Gura Cheii de la Râșnov (jud. Brașov) ● The Fossil Avifauna of the Gura Cheii Cave in Râșnov (Brașov County)	71

B. C. M. Cluj-Napoca
Nr. Inv. 230/1999

C. DELIU, C., BOTA, C. MUNTEANU-DELIU, V. CRISTEA, S. MOCANU, Sinteza de cardenolide în culturi celulare de <i>Digitalis lanata</i> ● Synthesis of Cardenolides in Cell Cultures of <i>Digitalis lanata</i>	77
R. VINTILĂ, M. KEUL, E.—C. FEDIUC, G. LAZĂR—KEUL, Wirkungen von N-Äthylmaleimid (NEM) auf die Cytoplasmastromung und das Pollenschlauchwachstum ● Effects of N-Ethylmaleimide (NEM) on Cytoplasmic Streaming and Pollen Tube Growth	85
R. VINTILĂ, M. KEUL, G. LAZĂR—KEUL, E.—C. FEDIUC, PCMB-Wirkungen auf die Rotationsströmung in Weizenwurzelhaaren (<i>Triticum aestivum</i> L.) ● Effects of PCMB on the Cytoplasmic Streaming Rate within Wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) Root Hairs	95
C. PAȘCA, V. MICLĂUȘ, E. KIS, V. D. SANDU, I. C. LIȘOVȘCHI-CHELEȘANU, M. PUȘCAȘIU, Comparative Histological Studies Concerning the Nephrotoxicity of Two Platinum-Containing Products: Carboplatin and Cisplatin	105
C. PAȘCA, V. MICLĂUȘ, E. KIS, V. D. SANDU, D. PUȘCAȘIU, Histological Effects of Two Different Doses of Epirubicin (Farmorubicin) on the Rat Digestive Tract	113
F. KÓSA, M. MAGÓCSI, B. SARKADI, Thapsigargin Depletes Intracellular Calcium Stores and Activates an Influx Pathway for Divalent Cations in K562 Cells	121
D. ANDRONESCU, E. DAVID, S. COCEAN, D. ȘERBAN , Contributions to the Study of the Hemagglutinating Capacity of <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	129
I. KOLOSVÁRY, Data Concerning the Possibility of Using the Abundance of the <i>Azotobacter</i> cells as a Bioindicator of Soil Pollution	137
M. SIMHĂIAN, L.-A. SILBERG, The Effect of Temperature and pH on Kinetic Properties of Soil Urease	143
Recenzii — Book Reviews — Comptes Rendus — Buchbesprechungen	
V. Cristea, F. Micle, F. Crișan, Le Jardin Botanique „Alexandru Borza” (Cluj-Napoca, Roumanie) (I. POP)	151
The Netherlands Integrated Soil Research Programme Reports (S. KISS)	152
N. A. Kireeva, Mikrobiologičeskie protsessy v neftezagryaznennykh pochvakh (S. KISS)	153
R. D. Evans, J. Wisniewski, J. R. Wisniewski (Eds.), The Interactions between Sediments and Water (S. KISS)	153
I. A. Sokolov, V. D. Tonkonogov (Eds.), Problems of Anthropogenic Soil Formation (S. KISS)	154
Radovi Devetog kongresa Jugoslovenskog društva za proučavanje zemljišta (S. KISS)	154
R. Kastori (Urednik), Teški metali u životnoj sredini (S. KISS)	155

FLORA ALGALĂ A MLAȘTINILOR DE TURBĂ SITUATE SUB VÂRFUL MĂDĂRAȘ — MUNȚII HARGHITA

LAURA MOMEU*, ANA RASIGA* și LEONTIN Ș. PETERFI**

SUMMARY. — *Algal Flora of Peat Bogs Situated under the Mădăraș Peak — Harghita Mountains.* The paper deals with the structure of the algal communities of some peat bogs situated under the Mădăraș Peak in the Harghita Mountains. The studied algal communities are typical for the mesotrophic Carpathian peat bogs formed in the high-mountain or subalpine belt by swamping of some springs located on sloped ground. The studied algal communities contain sphagnophilous and sphagnobiotic elements characteristic for the oligo-mesotrophic bogs of the *Picea* belt and some north-alpine, north-European species or species usually found in waters with higher mineral content.

Rezultatele cercetărilor prezentate în această lucrare se înscriu în cadrul preocupărilor Colectivului de algologie de la Institutul de Cercetări Biologice din Cluj-Napoca referitoare la algoflora mlaștinilor de turbă din România [2—7, 9, 10, 12]. Mlaștinile cercetate se încadrează în categoria celor formate în etajul montan superior și subalpin-alpin din munții noștri. Acestea adăpostesc o floră algală specifică, formată atât din elemente caracteristice mlaștinilor oligo-mezotrofe tipice (sfagnofile și sfagnobionte) cât și din cele nordic-alpine, nordic-europene sau chiar din unele de ape cu conținut mineral mai ridicat, datorită izvoarelor minerale prezente în zona cercetată.

Cercetările inițiate de Laboratorul de ecologie al I.C.B. Cluj-Napoca, în cadrul unui amplu program de studiu al biodiversității ecosistemelor naturale, ne-au oferit ocazia vizitării unor mlaștini situate sub Vârful Mădăraș din Munții Harghita (august 1996). Aceste mlaștini fac parte din categoria celor care „s-au format și se formează chiar sub ochii noștri în preajma izvoarelor“ [13], foarte adesea pe un teren înclinat. Indiferent de configurația terenului din preajma acestor izvoare, inițial se formează sfagnet cu vegetație acidofilă, dar eutrofă, mult mai bogată decât a tinovului propriu-zis, fie că este vorba de mlaștini mezotrofe sau mezo-eutrofe. Acest tip de mlaștini de turbă sunt foarte frecvente în etajul montan superior și subalpin-alpin din munții noștri. De foarte multe ori, acestea se pot permanentiza în acest stadiu, fără a se ajunge la tinovul tipic. Acest lucru nu este posibil, deoarece pătura izolatoare de turbă formată (30—40 cm) nu are unde și, deci, nu se poate sedimenta; prin urmare, „sfagnetul nu mai are ritmul rapid de creștere“ pe care îl au în mod normal tinoavele tipice [13].

Mlaștinile cercetate sunt situate în etajul subalpin al Vf. Mădăraș din Munții Harghita, pe un substrat vulcanic (roci eruptive), la o alti-

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

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

tudine de aprox. 1700 m, pe o pantă cu o înclinăție de 5 până la 7°. Tinoavele tipice din „regiunea de tinoave Harghita“ [13], respectiv Tinovul Mohoș sau Luci, au fost cercetate din punct de vedere algologic încă din secolul trecut de către Demeter [1] și Simonkai [14, 15] sau, mai recent, de către Nagy-Tóth [8] și Péterfi și Momeu [12]. Mlaștinile menționate mai sus au rămas necunoscute, sub acest aspect, până în momentul de față. Acestea au fost premisele care ne-au determinat să studiem flora algală din câteva astfel de habitate.

Material și metode de lucru. S-au prelevat mai multe esantioane conținând alge din trei mlaștini reprezentative pentru zona cercetată. Una dintre acestea este edificată de asociația *Sphagno-Caricetum rostratae* (coloana 1 în Tabelul 1) și este o înmlăștinire incipientă formată în jurul unui izvor. Celelalte două mlaștini sunt acoperite de caricete umede din cadrul asociației *Junco-Caricetum fuscae* (coloanele 2 și 3 în Tabelul 1). Materialul biologic a fost fixat cu formaldehidă 4% în momentul colectării probelor. În laborator s-a trecut la identificarea speciilor, cu ajutorul microscopului optic (NPK și, respectiv, Interfako, C. Zeiss Jena); pentru diatomee s-au utilizat preparate fixe montate în colofoniu (după mineralizarea cu acid azotic conc.) și obiectivul de imersie (Planchromat H1 100x).

Rezultate și discuții. Din materialul biologic studiat am identificat un număr de 156 taxoni (Tabel 1), repartizați pe următoarele grupe sistematice: *Cyanophyta* — 4 specii; *Chrysoophyta* — 1 specie; *Bacillario-*

Tabel 1

Compoziția calitativă a comunităților algele

Nr. crt.	Taxoni	Habitare		
		1	2	3
0	1	2	3	4
CYANOPHYTA				
1.	<i>Anabaena solitaria</i>	+	+	
2.	<i>Chroococcus minutus</i>	+	+	
3.	<i>Hapalosiphon fontinalis</i>		+	
4.	<i>Synechococcus aeruginosus</i>		+	
CHRYSOPHYTA				
1.	<i>Chrysastrella paradexa</i>	+		
BACILLARIOPHYTA				
1.	<i>Achnanthes lanceolata</i>			+
2.	<i>A. minutissima</i>	+	+	+
3.	<i>A. nodosa</i>		+	+
4.	<i>Amphora libyca</i>			+
5.	<i>Anomoeoneis brachysira</i>	+	+	+
6.	<i>Aulacoseira alpigena</i>	+	+	+
7.	<i>A. distans</i>	+		+
8.	<i>A. granulata</i> et var. <i>curvata</i>	+		+
9.	<i>A. subarctica</i>	+		+
10.	<i>Caloneis alpestris</i>			+
11.	<i>C. bacillum</i>			+
12.	<i>C. pulchra</i>	+	+	+

Tabel 1 (contin

0	1	2	3	4
13. <i>C. silicula</i>				+
14. <i>C. tenuis</i>		+	+	+
15. <i>Campylodiscus hibernicus</i>				+
16. <i>Cymbella amphicephala</i>				+
17. <i>C. aspera</i>		+	+	+
18. <i>C. cesatii</i>		+	+	+
19. <i>C. falaisensis</i>		+	+	+
20. <i>C. gracilis</i>		+	+	+
21. <i>C. laevis</i>				+
22. <i>C. mesiana</i>				+
23. <i>C. naviculiformis</i>		+		+
24. <i>C. perpusilla</i>		+		+
25. <i>C. silesiaca</i>		+	+	+
26. <i>Diatoma anceps</i>				+
27. <i>D. mesodon</i>		+	+	+
28. <i>Diatomella balfouriana</i>			+	+
29. <i>Diploneis elliptica</i>			+	+
30. <i>D. ovalis</i>			+	+
31. <i>D. petersenii</i>			+	+
32. <i>Eunotia arcus</i>		+		
33. <i>E. bilunaris</i>		+	+	+
34. <i>E. bigibba</i>				+
35. <i>E. exigua</i>		+		+
36. <i>E. faba</i>				+
37. <i>E. fallax</i>				+
38. <i>E. flexuosa</i>			+	
39. <i>E. glacialis</i>		+	+	+
40. <i>E. implicata</i>		+		
41. <i>E. incisa</i>		+	+	
42. <i>E. meisterii</i>		+		+
43. <i>E. minor</i>		+		
44. <i>E. monodon</i>			+	+
45. <i>E. muscicola</i> var. <i>tridentuia</i>				+
46. <i>E. naegelii</i>			+	+
47. <i>E. praerupta</i>		+		+
48. <i>E. serra</i> var. <i>tetraodon</i>		+		+
49. <i>E. septentrionalis</i>		+		+
50. <i>E. soleirolii</i>		+		+
51. <i>E. sudetica</i>		+	+	+
52. <i>E. tenella</i>		+		+
53. <i>Fragilaria capucina</i>		+	+	+
54. <i>F. construens</i>		+	+	+
55. <i>F. pinnata</i>			+	
56. <i>F. tenera</i>		+		
57. <i>F. ulna</i>			+	+
58. <i>F. virescens</i>		+		
59. <i>Frustulia rhomboides</i> var. <i>saxonica</i>		+		+
60. <i>F. vulgaris</i>				+
61. <i>Gomphonema clavatum</i>		+	+	+
62. <i>G. gracile</i>		+	+	+
63. <i>G. parvulum</i> var. <i>parvulus</i>		+	+	+
64. <i>Hantzschia amphioxys</i>				+
65. <i>Meridion circulare</i>		+	+	+
66. <i>Navicula angusta</i>		+	+	+

Tabel 1 (continuare)

0	1	2	3	4
67.	<i>N. bacillum</i>			+
68.	<i>N. bryophila</i>		+	+
69.	<i>N. cocconeiformis</i>			+
70.	<i>N. cryptocephala</i>	+		+
71.	<i>N. elginensis</i> et var. <i>cuneata</i>			+
72.	<i>N. höfleri</i>			+
73.	<i>N. laevissima</i>			+
74.	<i>N. lapidosa</i>	+		+
75.	<i>N. medioconvexa</i>			+
76.	<i>N. minima</i>		+	+
77.	<i>N. mutica</i>			+
78.	<i>N. pseudosilicula</i>		+	+
79.	<i>N. pupula</i>			+
80.	<i>Neidium affine</i>			+
81.	<i>N. ampliatum</i>	+		+
82.	<i>N. bisuleatum</i>	+		+
83.	<i>Nitzschia fonticola</i>			+
84.	<i>N. hantzschiana</i>	+	+	+
85.	<i>N. palea</i> var. <i>debilis</i>	+	+	+
86.	<i>Pinularia acrosphaeria</i>		+	+
87.	<i>P. aestuarii</i>			+
88.	<i>P. appendiculata</i>			+
89.	<i>P. borealis</i>	+		+
90.	<i>P. cardinalicus</i>			+
91.	<i>P. ductylus</i>			+
92.	<i>P. episcopalis</i>		+	+
93.	<i>P. divergens</i>	+	+	+
94.	<i>P. gibba</i>			+
95.	<i>P. cf. hemiptera</i>		+	
96.	<i>P. lata</i>	+		
97.	<i>P. maior</i>	+	+	+
98.	<i>P. microstauton</i> et var. <i>brebissonii</i>	+	+	+
99.	<i>P. nobilis</i>			+
100.	<i>P. nodosa</i>			+
101.	<i>P. obscura</i>			+
102.	<i>P. pulchra</i> var. <i>angusta</i>			+
103.	<i>P. rupestris</i>			+
104.	<i>P. stomatophora</i>	+	+	+
105.	<i>P. streptoraphe</i>			+
106.	<i>P. sublinearis</i>			+
107.	<i>P. subcapitata</i>	+		+
108.	<i>P. sudetica</i>			+
109.	<i>P. viridis</i>	+	+	+
110.	<i>Rhopalodia gibba</i> et var. <i>paralella</i>		+	+
111.	<i>Stauroneis anceps</i>	+		+
112.	<i>S. phoenicenteron</i>	+		+
113.	<i>Stenopterobia delicatissima</i>	+		
114.	<i>Surirella linearis</i>			+
115.	<i>S. roba</i>	+		+
116.	<i>S. spiralis</i>			+
117.	<i>Tabellaria fenestrata</i>	+	+	+
118.	<i>T. flocculosa</i>	+	+	+
	CHLOROPHYTA-DESMIDIALES			
1.	<i>Closterium diana</i>	+		+
2.	<i>C. ehrenbergii</i>	+		

Tabel 1 (continuare)

0	1	2	3	4
3. <i>C. moniliferum</i>		+		
4. <i>C. rostratum</i>				+
5. <i>C. venus</i>				+
6. <i>Cosmarium botrytis</i>		+		
7. <i>C. conspersum</i>		+	+	
8. <i>C. difficile</i>		+	+	
9. <i>C. granatum</i>			+	+
10. <i>C. hornavenense</i>		+		
11. <i>C. ochtodes</i>		+		
12. <i>C. quadratum</i>		+		
13. <i>C. reniforme</i>				+
14. <i>Cylindrocystis brebissonii</i>		+		
15. <i>Euastrum elegans</i>				+
16. <i>E. montanum</i>				+
17. <i>E. oblongum</i>				+
18. <i>E. verrucosum</i>		+		+
19. <i>Gonatozygon kinahanii</i>		+		
20. <i>G. monotaenium</i>		+		
21. <i>Micrasterias decemdentata</i>		+		
22. <i>M. truncata</i>		+		
23. <i>Mougeotia parvula</i>		+		
24. <i>Netrium digitus</i>				+
25. <i>Pleurotaenium truncatum</i>		+		
26. <i>Staurastrum dispar</i>		+		
27. <i>S. orbiculare</i>		+		
28. <i>S. punctulatum</i>		+		
29. <i>Spirotaenia condensata</i>		+		
30. <i>Tetmemorus granulatus</i>				+
EUGLENOPHYTA				
1. <i>Euglena mutabilis</i>				+
DINOPHYTA				
1. <i>Glenodiniopsis steinii</i>			+	
GLAUCOPHYTA				
1. <i>Glaucozystis nostochinearum</i>			+	

phyta — 118 specii; *Chlorophyta-Desmidiiales* — 30 specii; *Dinophyta* — 1 specie; *Euglenophyta* — 1 specie și *Glaucoephyta* — 1 specie (Fig. 1). Așa cum se observă din cele prezentate mai sus, comunitățile cercetate sunt dominate de diatomee (*Bacillariophyta*), urmate de desmidiacee (*Chlorophyta-Desmidiiales*). Acestea din urmă sunt reprezentate printr-un număr mult mai mic de specii (30) comparativ cu diatomeele (118); celelalte încrengături sunt reprezentate doar prin câte 1—4 specii fiecare.

Rezultatele prezentate concordă cu unele dintre cele anterioare, referitoare la mlaștini similare din M-ții Retezat [10, 11], M-ții Apuseni [4], M-ții Semenici [5], M-ții Parâng [7] sau M-ții Șandru Mare [6]. Trăsătura distinctivă a acestor mlaștini, în comparație cu mlaștinile oligo-

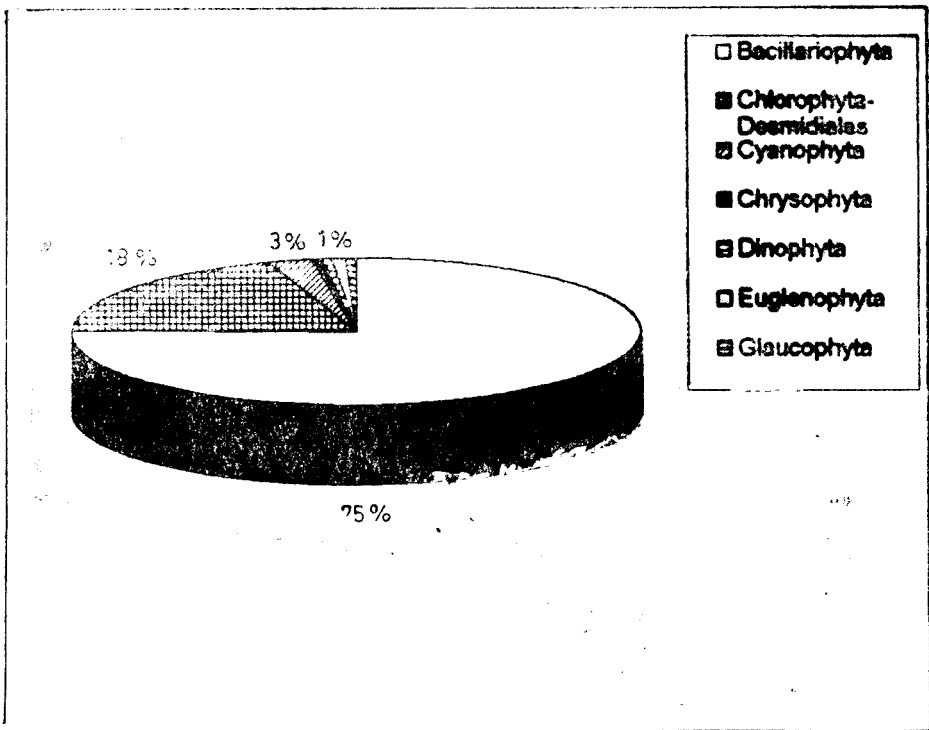


Fig. 1. Distribuția pe încrengături a speciilor algale identificate în comunitățile cercetate.

mezotrofe din etajul molidului, o constituie numărul mare de diatomee în raport cu desmidiaceele [9].

Fiecare comunitate în parte se diferențiază în ceea ce privește compoziția calitativă și cantitativă (specii dominante) a florei algale. Numărul cel mai mare de specii a fost înregistrat în proba 3 (117 specii), provenită din porțiunea cea mai umedă a zonei cercetate. Urmează comunitatea corespunzătoare punctului 1 de colectare (84 specii) și cea din punctul 2 (cu 56 specii identificate).

Speciile dominante sunt: *Aulacoseira alpigena* și *Cymbella gracilis* în proba 1; *Fragilaria construens* în proba 2 și *Tabellaria flocculosa* cu *F. construens* în proba 3.

Dintre algele care înregistrează frecvențe apreciabile în mlaștinile cercetate, menționăm specii ale genurilor *Eunotia*, *Pinnularia* și *Cymbella*, toate aparținând diatomeelor, ca și speciile dominante enumerate mai sus.

O categorie bine definită de alge, respectiv cele sfagnofile și sfagnobionte (acidobionte), care își au optimul ecologic de dezvoltare în mlaștinile oligo-mezotrofe [2—4, 9, 12], este prezentă și în aceste habitate prin: *Cymbella gracilis*, *C. perpusilla*, *Eunotia bilunaris*, *E. exigua*,

E. fallax, *E. sudetica*, *E. tenella*, *Frustulia rhomboides* var. *saxonica*, *Pinnularia acrosphaeria*, *P. cardinalicus*.

Dintre speciile care imprimă specificul mlaștinilor carpatine de altitudine, menționăm și pe cele considerate elemente nordic-alpine: *Eunotia serra*, *E. flexuosa*, *B. monodon*, *Anomoeoneis brachysira*, *Diploneis elliptica*, *D. petersenii*, *Caloneis pulchra*, *C. tenuis*, *Navicula höflerii*, *N. pseudosilicula*, *Pinnularia episcopalis*, *Stenopterobia delicatissima* etc. Menționăm că acestea sunt specii mai rare, dar sunt citate din mlaștini similare din M-ții Retezat [10], M-ții Semeșie [5], M-ții Șandru Mare [6] sau M-ții Parâng [7].

Elementele tipice mezotrofe, caracteristice mlaștinilor mezotrofe de joasă altitudine pe care le-am identificat în cadrul comunităților algale cercetate, sunt: *Cosmarium botrytis*, *Euastrum elegans*, *E. oblongum*, *E. verrucosum*, *Pinnularia viridis*, *P. nobilis* etc.

Reprezentative pentru mlaștinile mezotrofe de altitudine sunt alge precum: *Gonatozygon monotaenium*, *G. kinahanii*, *Spirotaenia condensata*, *Pinnularia aectylus*, *P. lata* etc. Sunt prezente, în același timp, și unele elemente mezo-eutrofe: *Closterium ehrenbergii*, *C. moniliferum*, *C. rostratum*, *Micrasterias decemdentata*, *M. truncata*, *Pleurotaenium truncatum* și *Tetmemorus granulatus*.

Tabloul speciilor care compun comunitățile algale din zona cercetată este completat de prezența unor elemente nord-europene, dintre care menționăm: *Eunotia arcus*, *E. faba*, *E. praeurupta* și *Cymbella falaisensis*.

Mlaștinile cercetate sunt situate într-o zonă deosebit de bogată în izvoare minerale, ceea ce justifică prezența unor specii precum *Campylodiscus hibernicus* și *Pinnularia aestuarii*, care au optimul ecologic în ape cu conținut mineral ridicat.

Configurația terenului pe care s-au format mlaștinile studiate, respectiv o pantă cu înclinația cuprinsă între 5 și 7° determină prezența, în număr relativ mare, a elementelor reofile. Dintre acestea semnalăm: *Diatoma mesodon*, *Meridion circulare*, *Achnanthes minutissima*, *A. nodosa*, specii de *Aulocoseira* și *Fragilaria*.

Elementele cosmopolite, euritope sunt, de asemenea, bine reprezentate în mlaștinile cercetate. Din această categorie am identificat: *Cymbella amphicephala*, *C. aspera*, *C. silesiaca*, *Gomphonema clavatum*, *G. parvulum*, *Navicula cryptocephala*, *Neidium affine*, *Stauroneis anceps*, *S. phoenicenteron*, *Tabellaria fenestrata* etc.

Speciile coenoxene, apărute datorită influențelor antropice, sunt prezente în număr mai redus: *Achnanthes lanceolata*, *Navicula minima*, *Fragilaria ulna*, *Frustulia vulgaris*, *Hantzschia amphioxys* și *Surirella linearis*.

O contribuție deosebită în contextul studierii biodiversității mlaștinilor de turbă din țara noastră este semnalarea unor specii noi pentru algaflora țării. Acestea sunt: *Diatomella balfouriana*, *Diploneis petersenii*, *Caloneis alpestris*, *C. pulchra*, *C. tenuis*, *Cymbella falaisensis*, *Eunotia soleirolii*, *E. implicata* și *Surirella roba*.

Concluzii. 1. Comunitățile algale cercetate sunt specifice pentru mlaștinile de turbă formate în etajul montan superior sau subalpin al munților noștri, prin înmlăștinirea unor izvoare pe un teren situat în pantă.

2. Specificitatea comunităților algale este datorată numărului mare de diatomee comparativ cu desmidiaceele, prezenței elementelor caracteristice mlaștinilor carpatine, a celor nordic-alpine și nord-europene, dar și a unora a căror prezență este determinată de apele minerale existente în zonă.

3. Influențele antropice, care se reflectă și la nivelul comunităților algale, sunt mult mai reduse, comparativ cu mlaștinile similare situate în Munții Semenic, Parâng sau Șandru Mare.

BIBLIOGRAFIE

1. Demeter, K., *Új adatok hazánk mohasflórájáého.*, „Orvos Természettud. Ért. II. Természettud. Szak.”, **12**, 1887, 318–322.
2. Momeu, L., Péterfi, L. Ș., *Structura și organizarea comunităților algale sfagnofile din Molhașul cel Mare de la Izbuc, Padiș-Târnasca și Valea Vadului*, „Contrib. Bot.” (Cluj-Napoca), 1983, 3–15.
3. Momeu, L., Péterfi, L. Ș., *Comunitățile algale sfagnofile din mlaștinile oligotrofe și de trecere situate în Munții Maramureșului*, „Contrib. Bot.” (Cluj-Napoca), 1985, 3–12.
4. Momeu, L., Péterfi, L. Ș., *Comunitățile algale sfagnofile din molhașurile de pe Muntele Dobrinu (Munții Apuseni)*, „Ocot. Nat. Med. Înconj.” (București), **38** (2), 1989, 113–118.
5. Momeu, L., Péterfi, L. Ș., *Flora algală a sfagnetelor de pe Muntele Semenic (România)*, „Stud. Univ. Babeș—Bolyai, Biol.”, **37** (1), 1992, 3–10.
6. Momeu, L., Péterfi, L. Ș., *Flora algală a mlaștinilor de turbă de la Apa Roșie (Munții Șandru Mare)*, „Stud. Univ. Babeș—Bolyai, Biol.”, **38** (1–2), 1993, 3–11.
7. Momeu, L., Péterfi, L. Ș., *Structura comunităților algale sfagnofile din bazinul superior al Lotrului*, „Contrib. Bot.” (Cluj-Napoca), 1993/1994, 29–38.
8. Nagy-Tóth, F., *Contribution to the algal flora of Mohoš Peat Bog*, „Rev. Roum. Biol., Bot.”, (București), **32** (1), 1967, 153–167.
9. Péterfi, L. Ș., *Studii comparative asupra comunităților de alge din unele mlaștini de turbă din Munții Apuseni*, „Contrib. Bot.” (Cluj), 1973, 17–38.
10. Péterfi, L. Ș., *Flora și vegetația algală a mlaștinilor, lacurilor glaciare și a apelor curgătoare în Popovici, I. (Ed.), Parcul Național Retezat — Studii ecologice*, p. 78–93, Ed. West Side Computer, Brașov, 1993.
11. Péterfi, Ș., *Contribuții la cunoașterea algoflorei Parcului Național Retezat*, „Contrib. Bot.” (Cluj-Napoca), 1977, 19–31.
12. Péterfi, L. Ș., Momeu, L., *Composition and structure of algal communities of the Mohoš, Luci and Poiana Stampel peat bogs*, „Rev. Roum. Biol., Biol. Vég.” (București), **21** (2), 1976, 75–85.
13. Pop, E., *Mlaștinile de turbă din Republica Populară Română*, Ed. Acad. Rom., București, 1960.
14. Simonkai, L., *Enumeratio Florae Transsilvaniae vasculosae critica*, Budapest, 1886.
15. Simonkai, L., *Havasvidékeink növényvilágából, Emlékkönyv a Királyi Magyar Természettudományi Társulat Félsszázados Jubileumára*, p. 669–681, Budapest, 1982.

CONTRIBUȚIA CARPENULUI ÎN STRUCTURILE SILVESTRE CUATERNARE DIN ROMÂNIA

BALUȚA DIACONEASA* și SORINA FARCAȘ**

SUMMARY. — **The Contribution of Hornbeam to the Quaternary Forest Structures from Romania.** The present paper is a synthesis, based on several palynological studies carried out on Quaternary organo-mineral sediments. The presence of hornbeam was certified before and after the Riss glaciation, but not in the forests surviving during this glaciation. For example, there is no evidence of its presence during the Würm glaciation, except for the Paudorf interstage (¹⁴C dating = 27,000 years B.P.) and later, during the Lateglacial (except for the Alleröd in the south-east of Romania). During the Postglacial, the hornbeam forests were widespread mostly in the Subboreal period, when they made up their own belt ("the East-Carpathian version of the history of Central-European forests"). In the Subatlantic period (1,600—1,300 B.P.), the presence of hornbeam showed a significant rise at lower altitudes (400 m), forming mixed forests with oak or beech.

În comunitățile silvestre din țara noastră se întâlnesc două specii de *Carpinus*: *Carpinus betulus* și *Carpinus orientalis*.

Carpinus betulus are arealul cel mai extins, fiind întâlnit ca element al pădurilor de amestec, de la câmpie și coline, până în etajul montan inferior (± 800 m.s.m. alt.), deși poate atinge, ca indivizi răzleți, altitudini mult mai ridicate (Valea Buda — Mții. Făgărașului, alt. 1200 m.s.m.). Ocupă aproape întreg teritoriul românesc, spre est atingând limita estică a arealului său european [2], iar spre sud nedepășind, probabil, în țara noastră, paralela 44° nord. Posedând calități biologice deosebite (de ex. înmulțire prin drajoni și răspândire pe cale anemohoră foarte rapidă) se manifestă cu deosebită vitalitate în arealul său actual (80 m — 450 m alt.), reușind în multe cazuri să elimine și să înlocuiască multe specii de *Quercus*, cu care de regulă alcătuiește asociații de querceto-cărpinete. În asemenea asociații preferă expoziția nordică, în timp ce în făgeto-cărpinete pe cea sudică.

Carpinus orientalis, element submediteranean, este întâlnit în Banat, Dobrogea, Sudul Olteniei și Munteniei, sau chiar pe bordura sud-estică a Carpaților de Curbură.

Cercetările polen-analitice din țara noastră nu au separat cele două specii după polenul conservat, excepție făcând studiile palinologice efectuate în mlaștinile de turbă din complexul muntos Țarcu-Godeanu-Cernei, întreprinse de Boșcaiu [3], unde, în spectrele polinice, figurează destul de frecvent *Carpinus orientalis*.

Majoritatea absolută a studiilor polen-analitice, întreprinse în toate mlaștinile de turbă din Bazinul transilvan, dovedesc că polenul carpe-

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

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

nului (*Carpinus*) apare, în spectrele polinice, cu mare întârziere în Post-glaciar, comparativ cu polenul alunului (*Corylus*), ulmului (*Ulmus*), teiului (*Tilia*) și stejarului (*Quercus*). Polenul acestora începe să fie notat încă în spectrele polinice aparținând Preborealului („Faza de trecere pin-molid — cu urme de alun și stejăriș amestecat“ — P o p) [34], în schimb, cel al carpenului abia cândva în Atlantic, după apogeul alunului (considerat de noi ca petrecut la începutul Atlanticului), însă mult înaintea celui de fag (*Fagus*) și brad (*Abies*).

Toate analizele polen-analitice efectuate de noi pe eșantioane turbatoase recoltate din profil deschis, considerate de noi ca neinfectate cu polen din sedimente superioare, mai recent depuse, ne-au dat convingerea că acele grăuncioare de polen ale carpenului, răzlețe și cu valori subunitare (0,66%), apărute în spectrele polinice ale sedimentelor holocene ante-atlantice și considerate de palinologi ca reprezentând **granița polinică absolută** a carpenului, nu au nici o semnificație fitoistorică, ele apărând în spectrele polinice ca efect al contaminării materialului recoltat, deoarece sonda manuală nu permite o etanșeitate perfectă pe durata recoltării materialului organo-mineral.

În schimb, în sud-estul României (ex. Dobrogea), polenul carpenului apare și participă în spectrele polinice cu valori ridicate, încă din Boreal-Atlantic și împreună cu cel al stejărișului amestecat (ulm, tei, stejar, arțar) totalizează valori foarte ridicate (65—75%), amintindu-ne că aici au fost deja constituite querceto-cărpinetele boreal-atlantice [26].

Întrucât în unele lucrări [21, 23, 24] am prezentat o sinteză a participării teiului, ulmului, alunului și stejarului în structurile silvestre pleistocene, pomenind și asocierea carpenului, acolo unde a fost prezent polenul său, renunțăm a mai prezenta contribuția carpenului în ecosistemele silvestre pleistocene, pentru a nu ne repeta.

Merită totuși amintită cercetarea palinologică a sedimentului de la Turbuța [22], deoarece acolo s-au surprins evenimente fitoistorice petrecute în interglaciarul Riss-Würm (= Eemian) și întrerupte înaintea instalării fazei carpenului cu brad; argumentul în sprijinul acestei idei este apariția polenului de carpen și brad în vremea celor mai compacte teișe eemiane și în timpul cărora s-a întrerupt „firul“ fitoistoric eemian.

De asemenea, merită amintită datarea cu C^{14} a sedimentelor de la Șipoșel-Avrig [39], cărora li s-a atribuit vârsta de ± 27.000 de ani; după cum arată autorul, eșantionul analizat palinologic și datat s-a stratificat în interstadiul Paudorf. Este atestarea cea mai sigură, care ne confirmă existența sporo-polinică a carpenului, bradului, alunului și stejarului, pe durata unor structuri silvestre dominate de pinete ($\pm 45\%$ polen), molidișuri ($\pm 22\%$), mestecănișuri ($\pm 20\%$) și aninișe ($\pm 12\%$), fără fag (*Fagus*), polenul acestuia lipsind din spectrele polinice ale interstadiului amintit.

Din Tardiglaciar nu avem dovezi polen-analitice certe, totuși, în literatura de specialitate din țară există diagrame sporo-polinice, în care este figurată prezența polenului de carpen. Este cazul studiului palinologic din rezervația științifică Ponoare-Bosanci, jud. Suceava [5]. Autorii consideră că au surprins faza pinului în două momente (II și III)

tardiglaciare. Diagrama sporo-polinică de la Ponoare-Bosanci se deosebește de cea cunoscută de la Tăul Zănoğlu — Retezat [42], mai ales în privința informațiilor fitoistorice ale interstadiului Alleröd (faza a II-a după Firbas) [31, 32].

La Ponoare-Bosanci au fost identificate spectre polinice care trădează existența a 4 tipuri de ecosisteme silvestre, ordonate altitudinal: al pinetelor ($\pm 40\%$ polen), molidișelor ($\pm 40\%$), cărpinetelor ($\pm 15\%$) și stejărișurilor amestecate, cu mai mult ulm (5—20%) decât stejar (2—10%), în timp ce la Zănoğlu apare un singur ecosistem silvestru, al pinetelor ($\pm 75\%$ polen), cu puțin molid, stejăriș amestecat și mesteacăn în regres (8,66—2,66% polen), **fără carpen, fag și brad**.

Este adevărat că între cele două stațiuni există diferențe mari de altitudine (Tăul Zănoğlu = 1840 m.s.m., Ponoare-Bosanci = 405—305 m.s.m.) cât și de latitudine și longitudine (45°33' lat. N., 23°3' long. E., respectiv 47°45' lat. N., 26°31' long. E.). Apar diferențe evidente și față de rezultatele palinologice descifrate la Lunca Bahnei — Lozna, unde în Alleröd nu apare polenul carpenului și fagului [6], deși sunt suficient de apropiate între ele, Lozna aflându-se cu cca. 45 km la nord de Bosanci, iar altitudinea nu diferă. Nu este exclusă posibilitatea ca pădurile mixte cu carpen de la Ponoare-Bosanci să aparțină altor vremuri, mai greu de stabilit, luând în considerare că noi [18] am găsit în sud-estul României (ex. Mangalia-Herghelie), într-o constelație climatică tardiglaciară mai blândă, probabil Alleröd, două tipuri de ecosisteme silvestre: al pinetelor ($\pm 51,33\%$ polen) și stejărișurilor amestecate ($\pm 35,33\%$) pe timpul cărora, în spațiul balcano-carpato-pontic au existat bradul (*Abies* $\pm 4\%$), molidul (*Picea* $\pm 9,6\%$) și carpenul (*Carpinus* $\pm 0,66\%$).

Informațiile palinologice de la Mangalia apar ca realități fitocenologice finiglaciare sigure, gândindu-ne că în nord-vestul Greciei (Gramousti și Rezina), acum cca. 12.000—11.000 de ani s-au identificat polen-analitic comunități vegetale stepice în scădere, precum și elemente silvestre în afirmare: *Quercus*, *Pinus*, *Abies*, *Carpinus*, *Corylus*, *Ulmus*, *Tilia*, fără *Fagus* și *Picea* [44, 45].

Apariția cărpinetelor în interiorul „arcului” carpatic românesc, înaintea făgetelor, a fost considerată ca o particularitate esențială a istoriei pădurilor din Europa Centrală, evenimentul fiind considerat ca „**varianta est carpatică postglaciară central-europeană**” și consemnat în literatura palinologică românească sub numele de **faza molidului cu carpen** (= **faza carpenului = faza stejărișului amestecat și carpenului**).

De fapt această particularitate cuprinde istoria pădurilor de pe întregul teritoriu românesc, așa cum aceasta a fost identificată în majoritatea studiilor polen-analitice efectuate în sedimente organo-minerale situate la altitudini diferite, cu variații neesențiale pentru istoria pădurilor din sud-vestul țării [9].

Inițial s-a crezut că **faza molidului cu carpen** a fost explozivă și de scurtă durată, afirmându-se brusc la „**contactul Subboreal-Subatlantic**”, prelungindu-se în Subatlantic [35]. Ideea își are „doza” sa de adevăr,

Tabel 1

Reprezentarea esențelor lemnoase în stațiunile cu cârpineto subboreale semnificative din România

Alt. (m.s.m.)	Stațiunea	Adânc. (cm)	Picea (%)	Pinus (%)	Abies (%)	Fagus (%)	Carpinus (%)	Betula (%)	Alnus (%)	Quercus (%)	Tilia (%)	Ulmus (%)	Acer (%)	Q.M. (%)	Salix (%)	Corylus (%)
5	Techirghiol	700	1,33	8,66	0,00	2,00	51,33	0,66	6,66	20,00	4,00	2,00	3,33	29,33	0,00	8,66
110	Craiovița	75	9,00	9,00	0,00	3,00	13,00	1,00	13,00	32,00	14,00	3,00	0,00	49,00	3,00	10,00
440	Lacul lui Dionisie	180	16,66	0,66	0,00	0,66	65,33	2,66	2,66	4,66	3,33	0,66	0,00	8,66	0,00	28,00
440	Tăul fără fund	640	14,66	0,66	0,00	7,33	61,33	1,33	5,33	3,33	0,66	4,00	0,00	8,00	0,66	23,33
700	Preluca Țiganului	170	24,00	0,66	0,00	10,66	30,00	3,33	7,33	2,00	0,66	6,00	0,00	14,66	1,33	8,00
740	Sălicea II	180	2,70	0,00	0,00	2,70	78,50	3,33	1,33	4,00	0,00	5,33	0,00	9,33	1,33	7,33
880	Pilugani II	225	51,00	2,66	0,00	1,90	24,66	4,00	11,10	0,00	1,90	2,60	0,00	4,50	0,00	8,66
900	Bisoca-L. Negru	705	18,46	11,22	0,00	11,88	45,54	1,33	5,95	1,98	2,64	0,00	0,00	4,62	0,66	1,98
900	Ruț II	240	34,00	0,66	0,00	0,66	54,00	0,66	2,66	6,00	0,66	0,66	0,00	7,33	0,00	7,33
1000	Iezeru Mare	580	71,33	2,66	0,00	3,33	20,00	0,67	1,33	0,66	0,00	0,00	0,00	0,66	0,66	8,66
1017	Comandău	442	52,14	1,98	0,00	1,98	32,34	0,66	3,96	4,62	0,00	0,00	0,00	4,62	1,32	7,26
1050	Moliviș	195	40,00	0,66	0,00	0,00	37,33	0,00	2,00	9,33	2,66	6,66	1,33	20,00	0,00	15,33
1050	Mohoș II	215	19,33	7,33	0,00	2,00	60,66	4,00	1,33	2,66	0,66	2,00	0,00	5,33	0,00	3,33
1240	Mluha	490	69,33	0,66	1,90	0,66	21,70	0,00	0,66	1,33	0,66	0,66	0,00	2,66	0,00	2,66
1382	Sub Gozna I	165	58,95	0,00	4,00	2,67	18,02	0,00	2,00	1,33	11,37	0,67	0,00	13,33	1,33	6,03
1350	Prigoana I	210	60,66	2,00	0,66	0,66	29,33	0,00	2,66	2,00	0,66	0,66	0,00	3,33	0,66	8,66
1600	Podul Molivișului	260	74,50	0,50	0,00	3,33	14,80	0,00	0,66	2,70	2,00	0,66	0,00	5,36	0,66	7,40
1840	Tăul Zănoğuța	165	43,70	2,90	0,00	0,00	35,06	0,98	9,13	1,72	2,49	2,71	0,00	6,91	0,98	9,62
2000	Muntinul Mic	180	53,33	4,66	0,00	0,66	24,00	0,00	6,66	5,33	3,33	1,33	0,00	10,00	0,66	8,66
2000	Ucea-Corabia	185	32,66	5,33	0,00	0,00	36,00	0,66	10,00	8,66	1,33	5,33	0,00	15,33	0,00	20,00

deoarece la Colăcel, în profil deschis, Pop [34] a identificat orizontul limită (= „Grenzhorizont“-ul) dintre Subboreal și Subatlantic, cu care coincide primul maxim al carpenului pentru stațiunea respectivă. În realitate, în nordul Carpaților Orientali, Pop [34] a surprins numai amurgul fazei molidului cu carpen și nu faza în plenitudinea ei, așa cum aceasta a fost descifrată la Sălicea, Tăul fără fund, Mohoș etc. Deja după cercetarea polen-analitică a mlaștinilor de turbă din Munții Apuseni și parțial de pe platoul Oaș-Maramureș [35], Pop a emis ideea scăderii arealului cărpinișelor de la sud spre nord, idee ce avea să fie confirmată ulterior de celelalte cercetări polen-analitice.

Astăzi se știe că faza molidului cu carpen cuprinde întregul Subboreal, apare mai timpuriu și e mult mai extinsă ca durată în sud-sud-estul Carpaților Meridionali comparativ cu nordul Carpaților Orientali [15]. Apariția mai timpurie a cărpinetelor comparativ cu a făgetelor a fost și ea evidențiată de noi [18, 26] în sud-estul României, iar de palinologii bulgari [28—30] în nord-estul și nord-vestul Bulgariei. Istoria pădurilor în Europa Centrală și de Vest începe, în Subboreal, cu făgetele (**etapa fagului**), făcându-se un salt peste această fază est-carpatică (**faza carpenului**), a cărei expresivitate este mult mai tardivă (Subatlantic) și mai puțin pregnantă în Europa Centrală, de Vest și Nord-Vest decât la noi în țară.

Pentru a înțelege cât de extinse au fost, pe altitudine și în timp, cărpinetele subboreale pe teritoriul României, am selecționat cele mai reprezentative stațiuni turboase, în care s-au înregistrat cele mai ridicate valori procentuale, așa cum acestea au fost identificate polen-analitic de diverși palinologi români. Aceste date le-am trecut în Tabelul 1, în succesiunea altitudinii, localizându-le pe harta României (Fig. 1).

Intrucât palinologic s-a evidențiat o revenire a pădurilor de carpen în faza fagului (Subatlantic), pe care Pop o amintește pentru nordul Carpaților Orientali [34] și nordul Transilvaniei [36], dar pe care noi o considerăm ca generală și suficient de pronunțată ca durată, ne-am gândit că este binevenită evidențierea și a acestei etape fitoistorice subatlantice (Tabel 2), mai ales pentru faptul că, în unele diagrame polinice, această a doua revenire a cărpinetelor a fost interpretată ca faza tipică a molidului cu carpen (= faza carpenului = faza stejărișului amestecat și carpenului). Tabelul 2 cuprinde aproximativ aceleași stațiuni turboase prezentate și în Tabelul 1, însă și altele, în care revenirea subatlantică a carpenului este mai evidentă (Fig. 1).

Informațiile polen-analitice subboreale, în apogeul extinderii cărpinetelor, evidențiază trăsături fitoistorice generale, pe care le prezentăm în continuare.

Lipsa totală a polenului de brad, precum și valorile procentuale subunitare (0,66%) sunt considerate de noi ca ireale, cauzate de infecția de contact cu materialul turbos mai recent; se abat de la această constatare informațiile polen-analitice din Munții Semenicului [9] și Țarcu-Godeanu-Cernei [3].

Procentajele extrem de scăzute ale polenului de fag (0,66—3,33%) sunt realități micro-fito-paleontologice sigure ale prezenței fagului în

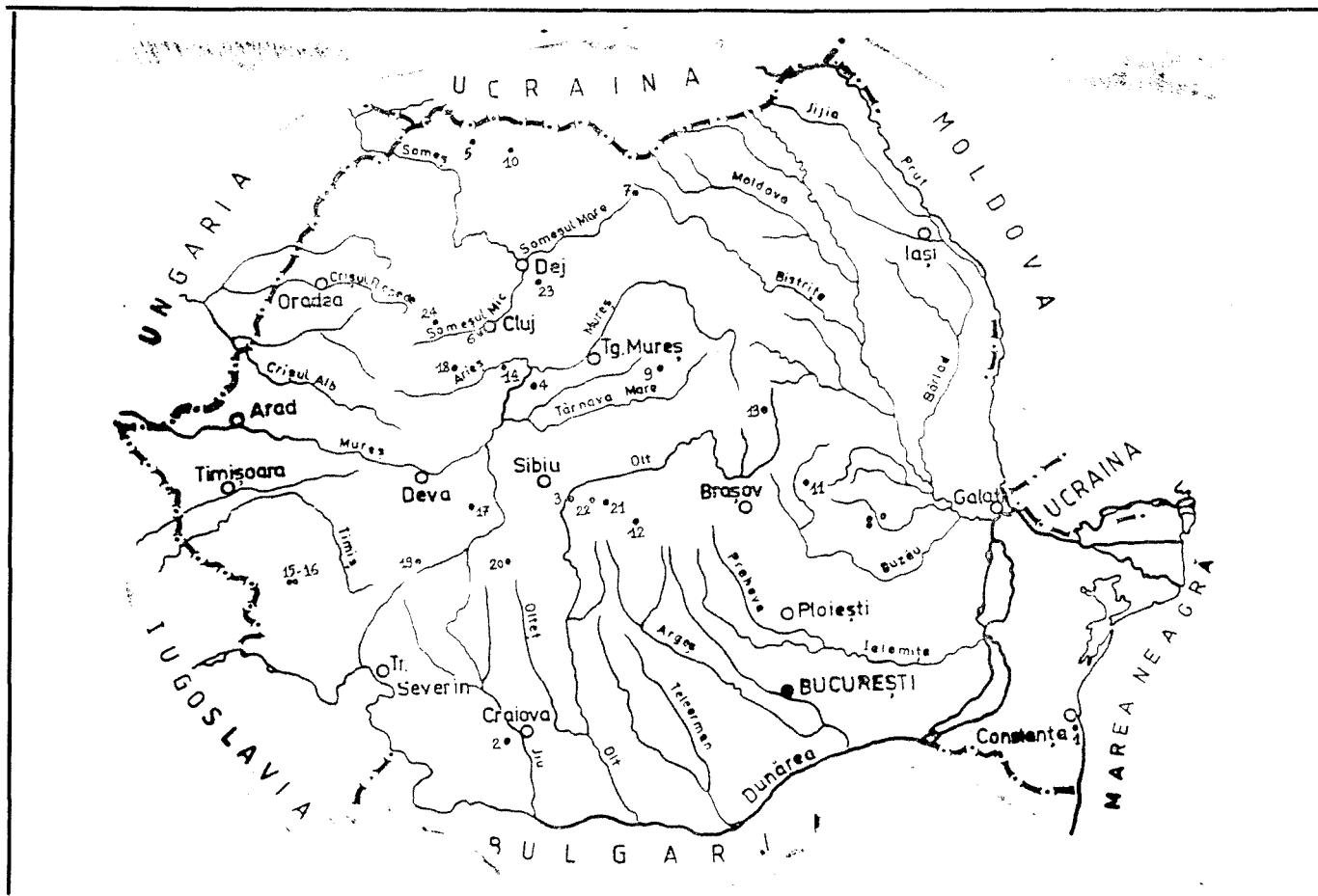


Fig. 1. Distribuția stațiilor cu cărpinete subboreale și subalpine semnificative pe teritoriul României.

- 1 — Techirghiol. 2 — Craiovița. 3 — Iacul Dionisie. 4 — Tăul fără fund. 5 — Preluca Țiganului. 6 — Sălcea. 7 — Pilugani.
 8 — Bisoca. 9 — Ruț. 10 — Iezeru Mare. 11 — Comandău. 12 — Moliviș. 13 — Mohoș. 14 — Mluha. 15 — Sub Gozna.
 16 — Zănoaga Roșie. 17 — Prigoana. 18 — Podul Molivișului. 19 — Tăul Zănoaguții. 20 — Muntinul Mic. 21 — Ucea—Corabia.
 22 — Puha. 23 — Pădureni—Țop. 24 — Râșca.

Tabel 2

Reprezentarea esențelor lemnoase în stațiunile cu cârpluete subatlantice semnificative din România

Alt. (m.s.m.)	Stațiunea	Adânc. (cm)	Picea (%)	Pinus (%)	Abies (%)	Fagus (%)	Carpinus (%)	Betula (%)	Alnus (%)	Quercus (%)	Tilia (%)	Ulmus (%)	Acer (%)	Q.M. (%)	Salix (%)	Corylus (%)
5	Techirghiol	565	2,50	23,00	0,50	10,00	20,00	1,50	3,50	23,00	4,50	1,00	4,00	37,00	2,00	6,50
110	Craiovița	45	1,00	3,00	0,50	25,00	10,00	3,00	3,00	39,00	1,00	1,00	0,00	41,00	12,00	7,00
440	Lacul lui Dionisie	30	0,66	0,66	6,66	20,00	28,00	19,33	18,66	1,33	0,66	0,00	0,00	2,00	4,00	3,33
460	Pădureni-Țop	175	4,00	0,66	1,33	24,66	23,33	0,66	5,33	31,33	0,66	1,33	1,33	34,66	5,33	2,00
700	Preluca Țiganului	70	2,00	0,66	0,00	70,66	9,33	2,00	7,33	4,00	0,00	2,66	0,00	6,66	0,66	0,66
740	Sălcea II	120	3,90	0,00	0,00	72,40	15,33	1,90	0,00	1,20	0,66	1,66	0,00	3,40	2,50	4,40
880	Pilugani II	155	54,66	9,90	0,66	16,60	9,90	1,33	5,90	0,66	0,00	0,00	0,00	0,66	0,66	2,40
900	Bisoca-L. mușchi	225	0,00	2,00	4,00	66,00	13,33	4,00	2,66	4,66	0,00	0,66	0,00	5,33	2,00	3,33
900	Ruț II	80	18,66	0,66	4,66	40,00	14,00	4,66	6,66	10,66	0,00	0,00	0,00	10,66	0,00	1,33
1000	Iezeru Mare	420	5,33	0,00	0,00	72,00	10,00	0,66	8,00	2,66	0,66	0,66	0,00	4,00	0,00	4,00
1017	Comandău	330	30,66	1,98	0,66	50,82	13,20	0,00	0,66	0,66	0,00	0,00	0,66	1,33	0,00	2,64
1020	Râșca	130	32,50	3,30	16,00	27,20	12,00	4,70	2,00	0,66	1,33	0,66	0,00	2,66	0,00	4,00
1050	Moliviș	130	14,66	3,30	9,33	44,00	20,00	0,66	1,33	5,33	0,66	0,00	0,66	6,66	0,00	0,66
1050	Mohoș II	150	7,33	0,66	1,33	69,33	14,00	2,00	4,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,66	2,00
1240	Mluha	390	31,00	2,60	28,30	22,40	13,20	0,00	0,60	0,60	0,00	0,60	0,00	1,20	0,00	0,66
1382	Sub Gozna I	75	4,00	1,33	12,73	60,07	12,06	0,67	0,00	3,35	0,67	3,37	0,00	7,39	1,33	2,66
1388	Zănoaga Roșie III	105	17,42	5,36	10,72	27,47	18,76	0,00	6,03	2,00	8,71	0,66	0,00	11,37	3,35	10,05
1350	Prigoana I	135	54,00	0,00	14,00	20,66	9,33	0,00	0,00	0,66	0,66	0,00	0,00	1,33	0,66	2,00
1600	Podul Molivișului	140	28,33	0,66	18,10	33,70	9,60	1,80	3,60	1,80	0,00	1,20	0,00	3,00	0,66	0,66
1840	Tăul Zănoaga	85	30,78	21,34	2,02	22,24	10,56	1,34	5,61	0,85	0,67	1,20	0,00	2,72	0,67	0,44
1800	Tăul Între Brazi	130	38,86	26,80	9,90	7,26	11,26	0,00	1,34	1,34	1,34	1,34	0,00	4,02	0,67	5,36
2000	Muntinul Mic	140	70,00	10,00	1,33	1,33	10,00	0,66	2,00	2,00	2,66	0,00	0,00	4,66	0,00	2,00
2000	Ucea-Corabia	75	21,33	2,33	14,00	27,33	15,33	2,00	12,00	2,00	2,00	0,66	0,00	4,66	0,00	2,00
2170	Puha	0	23,56	3,34	10,98	32,66	10,66	0,58	8,81	5,26	1,56	1,25	0,00	8,07	0,94	2,20

structurile silvestre din prima parte a Subborealului, iar acolo unde apar peste aceste limite procentuale, amintesc de spectre polinice mai tardive, conservate după prima maximă absolută a cărpinetelor, când deja făgetele se instalează, tot mai mult, în arealul cărpinetelor.

Lipsa polenului de fag și brad în spectrele polinice ale unor mlaștini de altitudini ridicate (de ex. Moliviș — Mții. Făgărașului, versantul sudic; Ucea-Corabia — Mții. Făgărașului [17], versantul nordic; Tăul Zănoștii — Mții. Retezatului) reprezintă expresia sintetică a „ploilor polinice“ ale pădurilor limitrofe, înainte ca arealul cărpinetelor să fi atins maximul său, fiind deci mai timpurii. În sprijinul acestei idei pledează și procentajele polinice, destul de ridicate, ale stejărișurilor amestecate (7—20%) și alunului (9,33—20%), toate amintindu-ne că etajul cărpinetelor, ce se contura în spațiul carpatic românesc, între molidișuri și stejărișurile amestecate, nu era încă desăvârșit [20].

La nord de paralela 47°, cărpinetele au valori procentuale maxime mult mai scăzute ($\pm 30\%$ la Preluca Țiganului) [33] și probabil mai tardive, decât cele înregistrate la sud de aceasta (ex. Sălicea $\pm 78,50\%$; Tăul fără fund $\pm 60,66\%$; Mohoș-Tușnad $\pm 61\%$; Lacul lui Dionisie $\pm 65,33\%$), întărindu-ne convingerea că în părțile sud-sud-estice ele au fost mai timpurii și mai extinse, atât ca durată cât și ca spațiu; această realitate fitoistorică a fost anticipată de Pop [34, 35] și recent confirmată prin datări C^{14} [27]. Prezența pădurilor de carpen este neconfirmată polen-analitic în bazinele Gheorghieni [43] și Ciuc [39].

În extremitatea sudică a Carpaților Occidentali (ex. Mții. Semenic) și în vestul Carpaților Meridionali (ex. Mții. Țarcu, Godeanu și Cernei), afirmarea cărpinetelor nu apare așa de evidentă ca în Carpații Meridionali și Munții Apuseni, lăsându-ne impresia că migrarea lor s-a făcut de la sud, sud-est, spre nord, nord-vest în Bazinul transilvan. **Nu este exclus ca migrarea cărpinetelor de vârstă boreal-atlantică, din sud-estul României, să se fi desfășurat tot pe ruta nord, nord-vestică, la început la exteriorul arcului carpatic, apoi și în interiorul lui.**

Etajul cărpinetelor a fost cu mult mai extins pe altitudine, nu așa cum s-a crezut, „ca o fâșie îngustă“ [34, 35]. Rezultatele polen-analitice înregistrate în mlaștinile de turbă cuibărite la altitudini diferite (ex. Tăul fără fund, Lacul lui Dionisie, Sălicea, Ruț, Mohoș-Tușnad, Ucea-Corabia etc.) confirmă afirmația noastră.

Pentru a înțelege mai exact cât au fost de extinse spațial și temporal cărpinetele subboreale pe teritoriul României, considerăm că este necesar să amintim și faptul că spectrele polinice actuale, obținute din sinuziile muscinale recente, ca stațiuni multianuale de captare și conservare a ploilor polinice ale vegetației în ansamblu, dar mai ales ale ecosistemelor silvestre, conțin puțin polen de carpen, oscilant ca valoare procentuală (0,66—2,66%); în captările anuale, efectuate de noi, polenul de carpen nu depășește 1,33% din totalul sumei A.P. + N.A.P. (A.P. = „arborum pollen“; N.A.P. = „non arborum pollen“). Adăugând la acestea și faptul că procentajul polinic al făgetelor actuale, în sinuziile muscinale recente de la alt. de ± 2000 m [15] se înscrie între 20—

30%, cifre mai mici decât ale cărpinetelor subboreale, iar al molidişelor între 40—50%, înseamnă că valorile polinice ale molidişelor și făgetelor actuale ating 70—80%, valori aproape egale cu cele înscrise de molidişele și cărpinetele subboreale. **Vrând-nevrând, trebuie să admitem că etajul cărpinetelor subboreale a fost tot atât, dacă nu și mai extins, ca cel al făgetelor actuale.**

Amintind și realitatea că, în profile deschise ale multor zăcăminte de turbă se observă două limite orizontale, bine conturate ca nuanță de culoare, dar și ca resturi vegetale conservate, este posibil ca cele două repere, primul mai profund, la contactul Atlantic-Subboreal, al doilea mai superficial, la trecerea Subboreal-Subatlantic, să corespundă la două perioade climatice, poate mai secetoase, care au determinat stagnarea procesului turbogenic.

Aceste realități paleoclimatice, distanțate în timp, sunt de regulă detectabile, indirect și în mlaștinile de turbă din care s-au recoltat probe cu sonda manuală, fie prin afirmarea bruscă a polenului de carpen și reducerea celui de molid, fie, în multe cazuri, ajungându-se la întretăierea curbelor lor polinice; este cazul întâlnit la majoritatea mlaștinilor de turbă cercetați palinologic, din etajele montan și subalpin [10, 12, 13], din România. Situația apare asemănătoare și în cazul celui de al doilea reper (Subboreal-Subatlantic), cunoscut sub numele de *Grenzhorizont*, numai că de această dată concurența, aparent de scurtă durată, apare inițial între polenul carpenului și fagului, iar apoi între cel al fagului și molidului.

În mlaștinile de turbă situate la altitudini mai mici (de ex. 400—800 m.s.m.), competiția sporo-polinică apare la limita Atlantic-Subboreal, mai ales între carpen și tei, apoi carpen și stejar, pentru ca la contactul Subboreal-Subatlantic polenul fagului să domine, mai întâi asupra celui de carpen, care scade la valori mici (sub 5%) și apoi și al stejarului.

Ca urmare a faptului că cele două întreruperi, sau încetiniri, în stratificarea depozitelor turboase, pot fi de lungă durată, apare posibilitatea ca durata reală a Subborealului să fie mult modificată, mult sincopată, realități paleostratigrafice care au determinat ca **faza molidului și carpenului** să apară și să se stingă exploziv și să fie socotită, în mod ireal, de scurtă durată. Din acest motiv, în cele mai multe studii polen-analitice, cărpinetele apar înregistrate cu o singură maximă în Subboreal.

În schimb, acolo unde condițiile pedoclimatice au favorizat depunerea neîntreruptă a sedimentului turbos, așa cum este cazul unor mlaștini din etajul subalpin [15] sau montan [41], precum și în cele de joasă altitudine [1, 25], care a colmatat lacurile, **faza molidului și carpenului** a fost surprinsă sporo-polinic pe întreaga sa durată, fără salturi explozive în etapa de afirmare, sau reduceri drastice în asfințitul ei. În asemenea situații, de-a lungul acestei faze au fost înregistrate mai multe maxime procentuale ale polenului de carpen.

Astfel, în mlaștinile de turbă situate în zona subalpină a Munților Făgăraș (ex. Ucea-Corabia, ±2050 m alt.) [17] unde sunt stocate, sintetic, toate ploile polinice ale ecosistemelor silvestre, care nu au depășit

probabil, de-a lungul Postglaciarului, altitudinea de ± 1950 m.s.m., cărpinetele subboreale au 4 maxime polinice (30, 36, 33,33 și 31%), întrerupte de trei minime (24, 19,33, 14%) în scădere, contemporane cu tot atâtea minime (40, 32,66, 49,33, 41,33%) și maxime (53,33, 58, 72,66%) ale polenului produs de molidișuri. Însurate, valorile procentuale ale cărpinetelor și molidișurilor înscriu valori de 70—87,33%, dominante în general rămânând molidișurile, deși au fost surprinse și momente fitoistorice când ele au avut valori procentuale mai mici ($\pm 32,66\%$) decât cărpinetele (36%).

La Moș-Tușnad [41], la altitudinea de ± 1050 m.s.m., în plină zonă montană, cărpinetele sunt codificate sporo-polinic prin trei maxime (55, 57,33, 60%) și două minime (45, 41%), în alternanță cu trei minime (29,33, 30, 19,33%) și două maxime (35,33, 34%) ale molidișurilor. La această altitudine, cărpinetele devin dominante sporo-polinic asupra molidișurilor, indiferent de maxima sau minima lor răspândire subboreală și au valori aproape duble, comparativ cu cele înregistrate în mlaștinile din etajul subalpin.

Această realitate fitoistorică o considerăm obiectivă, deoarece în mlaștinile de pe platoul Praid-Dealul-Sovata (alt. ± 900 m.s.m.), Ciobanu [11] și mai recent Buz [7] au surprins aproximativ aceleași valori; însumate, valorile procentuale ale cărpinetelor și molidișurilor ating 75—87%, numai că molidișurile subboreale, deja la limita lor inferioară, au fost substanțial dispersate de cărpinete la limita lor superioară.

Situația este asemănătoare și în cazul mlaștinilor de joasă altitudine (de ex. Tăul fără fund —440 m.s.m.) [25], cu deosebirea că aici valorile procentuale ale polenului de carpen sunt de asemenea ridicate, atât pentru maxime (52, 53,33, 61,33, 55,33%), cât și minime (45,33, 16, 43,33%), însă antagonice de astă dată cu minimele (9,33, 18, 13,33%) și maximele (17,33, 41,33, 26%) stejărișurilor amestecate; la această altitudine, cu toată supraprezentarea polenului de anin (*Alnus* 15—22%), apare evidentă concurența dintre stejărișurile amestecate și cărpinetele subboreale, sugerând ideea că limita inferioară a cărpinetelor a fost mult mai coborâtă, însă permanent dispersată de stejărișurile amestecate, mai ales pe versanții însoriți ai reliefului învălurit caracteristic Câmpiei Transilvaniei. Deși efectul local al supraprezentării polenului de anin (*Alnus* 15—22%) denaturează parțial realitatea fitoistorică, și în acest caz, însumate, valorile procentuale ale cărpinetelor și stejărișurilor amestecate totalizează valori oscilante, între 57,33 și 71,33%. Situația este asemănătoare și dacă ne referim la studiul palinologic al sedimentelor organo-minerale din Lacul lui Dionisie — Avrig [1], situat la aceeași altitudine, dar la poalele Munților Făgăraș.

La altitudinea de ± 740 m.s.m., cum este cazul complexului mlaștininos de la Sălicea, jud. Cluj, ploile polinice ale pădurilor de carpen ating 76,50—78,50% [35] sau chiar depășesc 80% [4], cu nesemnificative variații procentuale. Cu toate că la Sălicea s-au înregistrat cele mai ridicate procentaje polinice ale pădurilor de carpen din Subboreal, avem convingerea că istoria cărpinetelor de aici este incompletă, nu a

fost surprinsă în totalitatea ei, luând ca reper explozia valorică a polenului de fag (10,70 → 72,40%) simultan cu reducerea drastică (69,10% → 15,30%) a celui de carpen [35], pe o grosime a sedimentului turbos de numai 15 cm (120—135 cm, profil II). Aceasta fiind realitatea fitoistorică, trebuie să admitem că și aici, ca și în alte numeroase zăcămintе turboase, nu au fost surprinse, în totalitatea lor, maximele și minimele procentuale ale cărpinetelor subboreale.

Această altitudine este considerată de noi ca media altitudinală a cărpinetelor subboreale, care au stăpânit întregul spațiu cuprins între 400 și 1050 m altitudine, nu așa cum s-a crezut, ca o „fâșie îngustă de cărpinete pure“ [35], sau ca o „puternică fâșie de cărpinete“ la altitudinea de 600—800 m.s.m. [38]. Este destul de probabil, ca la altitudinea de ±1050 m, în funcție de aspectele geomorfologice și climatice, să fi existat o largă zonă, franjurată, de penetrare directă între molidișuri și cărpinete în Subboreal, așa cum s-au petrecut realitățile fitoistorice și între stejărișurile amestecate și molidișuri, în subfaza ulmului, din faza molidului cu stejăriș amestecat și alun, încadrată de noi în Boreal, și, parțial, în subfaza alunului a aceleiași faze silvestre, din prima parte a Atlanticului.

Această fâșie de penetrare a fost, apoi, ocupată de molidișuri în Atlanticul mijlociu, când s-a desăvârșit cel mai vast areal, altitudinal, al acestora în Postglaciar. Este perioada **subfazei molidului**, cu care se încheie timpul maximei călduri postglaciare (Boreal-Atlantic). Pe măsură ce climatul subboreal se instalează, a fost favorizată extinderea pădurilor de carpen, zona de penetrare fiind ocupată mai ales de cărpinete, molidișurile retrăgându-și arealul lor spre înălțimi mai mari. O situație asemănătoare considerăm că s-a petrecut și la limita inferioară a cărpinetelor (±400 m.s.m.), numai că, de astă dată, largă zonă franjurată, de întrepătrundere a fost revendicată atât de cărpinete, cât și de stejărișurile amestecate cu care erau direct în contact.

Este posibil ca cele două extreme altitudinale, de întrepătrundere directă, a cărpinetelor cu molidișurile pe latura lor superioară și cu stejărișurile amestecate pe partea inferioară, să fi reprezentat zonele silvestre cele mai dinamice și mai puțin stabile, unde a penetrat, mai puțin stânjenit, fagul în plin Subboreal. Către sfârșitul acestuia și începutul Subatlanticului, fagul dizlocă și apoi elimină, din două direcții, cărpinetele, alcătuiind cele mai recente asociații silvestre postglaciare, făgetele, pe care le cunoaștem astăzi și cu care s-a definitivat actuala zonație silvestră din țara noastră.

Arealul cărpinetelor subboreale din vestul Carpaților Meridionali [9] prezintă unele particularități, deosebite de cele cunoscute la exteriorul și interiorul arcului carpatic românesc. În spectrele polinice identificate de Ciobanu în Mții. Semenic nu se desprinde o fază tipică, **a molidului cu carpen**, așa cum aceasta este cunoscută în restul României. Aici polenul carpenului nu depășește 18%, în timp ce polenul molidului atinge maximumul său absolut (±78%). Din acest motiv, autorul include aceste evenimente fitoistorice în **subfaza maximumului absolut al molidului cu carpen**, din faza molidului cu alun și stejăriș amestecat,

care ocupă „cea mai mare parte de boreal, întregul atlantic, subborealul, intrând și în subatlantic” [9].

Astăzi se știe că **faza molidului cu alun și stejăriș amestecat** (= **faza molidului cu stejăriș amestecat și alun**) s-a desfășurat de-a lungul Boreal-Atlanticului și este împărțită în trei subfaze: **a ulmului, a alunului și a molidului**. Interpretând aspectele fitoistorice în ideea unicității lor pe întreg teritoriul românesc, noi admitem că subfaza creată de Ciobanu este o realitate și corespunde subfazei **molidului** care s-a desfășurat în Atlantic, iar la începutul Subborealului s-a întrerupt, determinând eclipsarea totală a fazei **molidului cu carpen** în Subborealul din Banat.

Mai mult, **faza fagului** care cuprinde restul Subatlanticului până în prezent, Ciobanu [9] o împarte în trei subfaze: **1. a bradului; 2. de concurență fag-molid-brad, cu maximul absolut al polenului de carpen; 3. a fagului**. Subfaza a 2-a o subîmparte în 5 etape (a, b, c, d, e). Etapa b, cunoscută sub numele de **etapa fagului-molidului-carpinului-bradului** are, ca trăsătură esențială, maximul absolut al polenului de carpen (24,12%). După cum spune autorul, această etapă **poate fi paralelizată cu „faza de molid cu carpen din Oaș-Maramureș și mai ales din Munții Apuseni”**. Convingerea autorului a fost că „**zona de carpen s-a instalat în pădurile Semeniceului**”, ceva mai târziu, în perioada de concurență dintre fag, molid, carpen și brad.

Evoluția fitoistorică din M. Semeniceului prezentată de Ciobanu nu poate fi negată, în schimb poate fi corectată ca timp, în sensul că **etapa cu mult carpen din faza fagului**, petrecută în Subatlantic, nu corespunde cu adevărata **fază a carpenului** din Oaș-Maramureș etc., care s-a desfășurat cu mult înainte, acum 5000—3000 de ani, ci **este contemporană cu a doua revenire, subatlantică, a carpenului, așa cum aceasta a fost înregistrată în majoritatea mlaștinilor de turbă din România, dar necomentată, pe care o vom prezenta pe larg în continuare**.

Către sfârșitul Subborealului și începutul Subatlanticului, valorile procentuale ale polenului produs de cărpinete scad foarte mult, înscriindu-se între 1,33—4,66%, în timp ce polenul făgetelor urcă la valori cuprinse între 20—75%, în funcție de altitudinea mlaștinilor de turbă analizate palinologic. Aceste realități polen-analitice, omniprezente pe teritoriul României, au dus la concluzia că, încă din zorile Subatlanticului, fostul etaj al cărpinetelor a fost treptat dispersat și în final ocupat de făgete, care îl stăpânesc și astăzi.

Pe durata celor aproximativ 3000 de ani, de-a lungul cărora se înscrie palinologic istoria făgetelor de la interiorul și exteriorul arcului carpatic românesc, **este surprinsă polen-analitic apariția, precum și participarea bradului (Abies) în structurile silvestre**.

În toate diagramele polen-analitice identificate în mlaștinile de turbă din etajele montan și subalpin, polenul bradului poate înscrie o curbă maximală, ce variază între 20—40%, iar în cele din etajul nemoral sau de câmpie maxima polenului de brad se situează sub 20%, de regulă 7—15%. Indiferent de valoarea maximă absolută a polenului de brad,

realitatea palinologică este că apogeul curbei s-a înscris acum ± 1500 de ani. Ca urmare a faptului că această curbă maximală a bradului s-a realizat fie prin diminuarea curbei polenului de molid, fie a celui de fag, istoria făgetelor (= faza fagului din etajul nemoral) a fost împărțită în trei subfaze: a **molidului-fagului-bradului**, petrecută de-a lungul afirmării Subatlanticului, a **molidului-bradului-fagului**, ce cuprinde Subatlanticul mijlociu și a **fagului**, care aparține Subatlanticului superior, până în actual.

La altitudini mai mici, faza fagului are tot trei subfaze [19], denumite în funcție de dominarea polenului fagului sau al stejarului, iar ca permanent însoțitor, cel al carpenului (**subfaza stejar-fag-carpen; subfaza fag-stejar-carpen; subfaza stejar-fag-carpen**). În subfaza a doua, considerată de noi ca rulată în mileniul I al erei noastre, aproximativ acum 1300—1600 de ani, are loc a doua revenire a carpenului, ușor de sesizat după bogăția polenului de carpen în spectrele polinice, care poate atinge 10—28%. După grosimea sedimentelor turboase (de ex. 25—45 cm) care au stocat și conservat polenul structurilor silvestre ale acelor vremuri, estimăm că noua revenire subatlantică a cărpinetelor a fost de mai scurtă durată (± 300 de ani), iar arealul lor a fost cu mult mai restrâns comparativ cu cel din Subboreal.

Procentajele cele mai ridicate, de astă dată, ale cărpinetelor (23,33—28%) fiind înregistrate, deocamdată, la altitudinea ± 450 m.s.m., înclinăm să credem că a doua revenire a carpenului s-a realizat, probabil, în zona de largă întrepătrundere dintre făgete și stejărișuri, mult mai variată în asociații silvestre, mai dinamică și mai instabilă sub aspect fitocenologic; când variațiile climatice au avut un caracter mai xeric, au fost mai de durată, înlesnind revenirea carpenului, mai ales în dauna fagului.

Nu excludem ideea ca actualele querceto-cărpinete, răspândite la altitudini și mai scăzute, să reprezinte enclave ale querceto-cărpinetelor mult mai extinse de acum 1500 de ani. De asemenea, **nu credem că s-a refăcut o fâșie de cărpinete pure între făgete și stejărișurile amestecate la interiorul arcului carpatic**. Problematika rămâne neclară pentru istoria pădurilor de la exteriorul Carpaților românești, gândindu-ne că cele 20% de carpen de la Moliviș — Mții. Făgăraș, la altitudinea de 1050 m.s.m. [20] pot sugera fie ideea existenței unei largi zone de penetrare a pădurilor de amestec, făgeto-cărpinete, querceto-cărpinete etc., fie chiar existența unor masive cărpinete pure, la altitudini mai joase, cum este cunoscută realitatea și astăzi, mai ales de-a lungul văilor, unde apar cărpinete pure în etajul nemoral. În acest caz se cunoaște astăzi că factorul limitativ pentru fag este înghețul de primăvară, care-l elimină total, însă este suportat de carpen. Fenomenul climatic este cunoscut astăzi sub numele de „*găuri de frig*“ [8] și, probabil, s-a manifestat mai pronunțat cu ± 1500 de ani în urmă.

În mlaștinile de turbă situate la altitudini ridicate, mai ales în etajele montan și subalpin (± 2000 m.s.m.) [16], valorile polinice procentuale ale pădurilor cu mult carpen din „cumpăna“ Subatlanticului apar destul de uniforme (10—15%), însă înjumătățite comparativ cu cele de la alti-

tudini mici, reflectând transportul eolian, multianual, pe distanțe lungi, al mixturii polinice provenită din toate etajele silvestre definitive în Subatlantic.

În încheiere anticipăm că, indirect, revenirea subatlantică a carpenului schițează migrarea postglaciară subatlantică a bradului în restul țării, pe două căi: a) *calea sud-nord*, mai scurtă, de-a lungul Carpaților Occidentali, începând din sudul Banatului (ajuns aici mai timpuriu), până în nord, atingând Munții Maramureșului; b) *calea estică*, mult mai lungă, urmând traseul Carpaților Meridionali [3, 14, 15, 42] până la Carpații de Curbură [40], ca ramură sudică a Carpaților Orientali, iar de aici pe direcția sud-sud-est către nord-nord-vest, de-a lungul Carpaților Orientali, până în Munții Maramureșului.

BIBLIOGRAFIE

1. Bartmus, A., *Analize de polen în turba mlaștinilor de la Avrig*, „Comun. Bot.”, **10**, 1969, 25–34.
2. Borza, A., *Cercetări fitosociologice asupra pădurilor basarabene*, „Bul. Grăd. Bot. Cluj”, **17** (1–2), 1937, 1–85.
3. Boșcaiu, N., *Flora și vegetația Munților Țarcu, Godeanu și Cernei*, Ed. Acad. Rom., București, 1971.
4. Boșcaiu, N., Boșcaiu, M., *Die Carpinus—Phase in der Waldgeschichte der Ostkarpaten*, „Sieb. Arch.”, **30**, 1995, 11–18.
5. Boșcaiu, N., Lupșa, V., Seghedin, T. G., *Analize sporo-polinice în rezervația de la Ponoare—Bosanci (jud. Suceava) și considerații asupra istoriei carpenului în aria carpato-~~danubiană~~ danubiană*, „Stud. Comun. Ocrot. Nat.”, **5**, 1981, 338–352.
6. Boșcaiu, N., Lupșa, V., Seghedin, T. G., *Evoluția făgetelor la răsărit de Carpați, în Făgetele carpatine. Semnificația lor bioistorică și ecoprotectivă*, p. 81–90, Ed. Acad. Rom., Fil. Cluj-Napoca, 1982.
7. Buz, Z., *Cercetări palinologice în depozite precuaternare și cuaternare în regiunea Sovata-Praid-Dealul*, Teză Dr., Univ. Cluj-Napoca, 1987.
8. Chiriță, C., *Pedologie generală și forestieră*, Ed. Stat. Lit. Științ., București, 1953.
9. Ciobanu, I., *Analize de polen în turba Masivului Semenic din Banat*, Teză Dr., Univ. Cluj, 1948.
10. Ciobanu, I., *Analiza polinică a turbei de la Mluha (M. Apuseni)*, „Contrib. Bot.”, 1958, 239–255.
11. Ciobanu, I., *Analiza polinică a turbei mlaștinii Ruț din Munții Harghita*, „Contrib. Bot.”, 1960, 231–238.
12. Ciobanu, I., *Cercetări polenanalitice în Munții Retezatului*, „Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Biol.”, **5** (2), 1960, 47–63.
13. Ciobanu, I., *Analiza polinică a unor tinoave din bazinul superior al râului Sebeș*, „Contrib. Bot.”, 1970, 305–321.
14. Ciobanu, I., Diaconeasa, B., Șuteu, Ș., *Recherches palynologiques dans le Massif du Paring (1)*, „Rev. Roum. Biol., Bot.”, **12** (2–3), 1967, 141–148.
15. Diaconeasa, B., *Mlaștinile de turbă din zona alpină a Munților Făgăraș. Importanța lor fitoistorică*, Teză Dr., Univ. București, 1969.
16. Diaconeasa, B., *Analizele sporo-polinice ale mlaștinilor de turbă din cercul glaciar Puha (Munții Făgărașului)*, „Contrib. Bot.”, 1972, 45–48.
17. Diaconeasa, B., *Studiul sporo-polinic al mlaștinilor de turbă din cercul glaciar Ucea-Corabia-Masivul Făgăraș*, „Contrib. Bot.”, 1973, 203–218.

18. Diaconeasa, B., *Valoarea documentară fitoistorică a mlaștinii de turbă de la Mangalia—Herghelie (jud. Constanța)*, „Contrib. Bot.”, 1977, 41—53.
19. Diaconeasa, B., *Analiza palinologică a profilului turbos de la Pădureni—Țop, jud. Cluj*, „Contrib. Bot.”, 1985, 71—76.
20. Diaconeasa, B., *Analiza palinologică a turbei de la Moliviș (Muntele Ghișu—Masivul Făgăraș), jud. Argeș*, „Contrib. Bot.”, 1989, 141—148.
21. Diaconeasa, B., Buz, Z., *Contribuția teiului în structurile silvestre cuaternare din România*, „Contrib. Bot.”, 1993—1994, 107—121.
22. Diaconeasa, B., Clichici, O., Dragoș, I., *Câteva informații sporo-polinice privitoare la trecutul vegetației cuaternare din Transilvania*, „Contrib. Bot.”, 1976, 193—196.
23. Diaconeasa, B., Fărcaș, S., *Stejarisurile amestecate, evoluția și dinamica lor în Pleistocenul din România*, „Contrib. Bot.”, 1995—1996, 93—102.
24. Diaconeasa, B., Fărcaș, S., *Stejarisurile amestecate, evoluția și dinamica lor în Tardiglaciularul și Holocenul din România*, „Contrib. Bot.”, 1995—1996, 103—115.
25. Diaconeasa, B., Mitroescu, S., *Analize de polen în mlaștina „Tăul fără fund”, jud. Alba*, „Contrib. Bot.”, 1987, 69—74.
26. Diaconeasa, B., Mitroescu, S., *Lacul Techighiol, conservator al polenului pădurilor postglaciare din Dobroga—România*, „Contrib. Bot.”, 1991—1992, 157—167.
7. Fărcaș, S., de Beaulieu, J. L., Reille, M., Coldea, G., Diaconeasa, B., Goenry, C., Goslar, T., *Premières datations ¹⁴C de séquences polliniques tardiglaciaires et holocènes de Roumanie*, în *XVème Symposium de l’A.P.L.F.*, p. 17, Ed. Univ. Claude Bernard, Lyon, 1997.
28. Filipova, M., *Palaeoecological investigations of lake Shabla—Ezeretz in North-Eastern Bulgaria*, „Ecol. Medit.”, 11 (1), 1985, 147—158.
29. Filipovitch, I. A., *Late postglacial development of the forest vegetation of Stara Planina and Sredna—Gora*, Bulg. Acad. Sci., Sofia, 1976.
30. Filipovitch, I. A., *Palynological data for the postglacial distribution of Carpinus betulus L. in Bulgaria*, „Fitologija”, 33, 1987, 23—32.
31. Firbas, F., *Spät- und nacheiszeitliche Waldgeschichte Mitteleuropas nördlich der Alpen*, 1, Fischer, Jena, 1949.
32. Firbas, F., *Spät- und nacheiszeitliche Waldgeschichte Mitteleuropas nördlich der Alpen*, 2, Fischer, Jena, 1952.
33. Lupșa, V., *Evoluția postglaciară a ecosistemelor forestiere din „Tara Oașului” (jud. Satu Mare)*, „Contrib. Bot.”, 1980, 63—68.
34. Pop, E., *Analize de polen în turba Carpaților Orientali (Dorna—Iucino)*, „Bul. Grăd. Bot. Muz. Bot. Univ. Cluj”, 9 (3—4), 1929, 81—210.
35. Pop, E., *Contribuția la istoria vegetației cuaternare din Transilvania*, „Bul. Grăd. Bot. Muz. Bot. Univ. Cluj”, 12 (1—2), 1932, 29—102.
36. Pop, E., *Contribuția la istoria pădurilor din Norăul Transilvaniei*, „Bul. Grăd. Bot. Muz. Bot. Univ. Cluj—Timișoara”, 22 (1—4), 1942, 101—177.
37. Pop, E., *Analize de polen în regiuni de câmpie*, „Bul. Științ. Acad. Rom., Științe Biol. Agr., Bot.”, 9 (1), 1957, 5—32.
38. Pop, E., *Mlaștinile de turbă din Republica Populară Română*, Ed. Acad. Rom., București, 1960.
39. Pop, E., *Primele determinări de vârstă cu radiocarbon în turba noastră cuaternară, în Progrese în palinologia românească*, p. 193—204, Ed. Acad. Rom., București, 1971.
40. Pop, E., Ciobanu, I., *Analize de polen în turba de la Cotul Carpaților*, „Bul. Univ. Babeș—Bolyai, Științe Nat.”, 2 (1—2), 1957, 453—470.
41. Pop, E., Diaconeasa, B., *Analiza palinologică a turbei din tinovul Mohoș (Tușnad)*, „Contrib. Bot.”, 1967, 297—303.

42. Pop, E., Lupșă, V., Boșcaiu, N., *Diagrama sporo-polinică de la Tăul Zănoagă (Munții Retezat)*, în *Progrese în palinologia românească*, p. 219-225, Ed. Acad. Rom., București, 1971.
43. Rațiu, F., *Cercetări palinologice în complexul mlăștinis cutrof Voșlăbeni (jud. Harghita)*, „Contrib. Bot.”, 1969, 307—316.
44. Willis, K. J., *The late Quaternary vegetational history of North-West Greece. I. Gramonsti lake*, „New Phytol.”, **121**, 1992, 101—117.
45. Willis, K. J., *The late Quaternary vegetational history of North-West Greece. II. Rezina marsh*, „New Phytol.”, **121**, 1992, 119—138.

PARTICULARITAȚI ALE EVOLUȚIEI VEGETAȚIEI ÎN SUD-ESTUL ROMÂNIEI, COMPARATIV CU TRANSILVANIA, RELEVATE PRIN ANALIZE PALINOLOGICE

BALUȚA DIACONEASA* și SORINA FARCAȘ**

SUMMARY. — Peculiarities of the Evolution of Vegetation in the South-East of Romania in Comparison with That in Transylvania, as Revealed by Palynological Analyses. A comparison between two important regions of Romania, namely Dobrogea and Transylvania, was accomplished. Phytohistorical data recorded during 70 years of palynological research have emphasised the peculiarities of the evolution of vegetation in these different regions. Palynological evidence confirms the migration of mixed oak on the south-north direction and the migration of hornbeam especially from the south, south-east to the north, north-west both outside and inside of the Romanian Carpathian chain. Concerning the time of these migrations great differences were recorded between the two regions.

Istoria vegetației cuaternare, în special tardi- și postglaciare, așa cum o redau analizele palinologice, este astăzi destul de bine cunoscută în România; pentru Holocen au fost evidențiate de către Pop [13] 5 faze silvestre, care acopereau în special istoria pădurilor din Transilvania, dar care s-au dovedit apoi ca generale pentru întreaga evoluție a vegetației din țara noastră:

1. **Faza pinului (*Pinus*)**, considerată inițial ca desfășurată în Preboreal (faza IV după Firbas) [11, 12], cuprinde de fapt întregul Tardiglaciuar (fazele I, II, III după Firbas), cu oscilațiile sale stadiale (Dryas I și III) și cele interstadiale: Bölling (= Dryas Ib) și Alleröd (= faza II după Firbas). Se caracterizează prin prezența pădurilor de pin, de la șes la munte, favorizate de un climat rece și aspru. În pădurile de pin se găseau, în proporții modeste, molidul, mesteacănul, arinul și salcia.

2. **Faza de trecere pin — molid (*Pinus — Picea*)** acoperă întregul Preboreal (faza IV după Firbas) și se stinge la începutul perioadei calde, Boreal (faza V după Firbas). Este o etapă fitoistorică specifică tranziției de la climatul rece, aspru, la cel cald, al Borealului. Este faza silvestră ușor sesizabilă polen-analitic, în mlaștinile situate în vecinătatea arcului carpatic românesc și neidentificată în sud-sud-estul țării; pădurile de pin încep să se retragă spre altitudini mai ridicate, lăsând loc pădurilor de molid iar, la altitudini mai scăzute, încep să apară stejarul, ulmul, teiul, arțarul și alunul, în comunități silvestre de pionierat.

3. **Faza molidului cu stejăriș amestecat și alun (*Picea — Quercetum mixtum — Corylus*)**, de la munte, căreia îi corespunde cronologic

* Universitatea Babe-Bolyai, Catedra de biologie vegetală, 3100 Cluj-Napoca, România

**Institutul de Cercetări Biologice, 3100 Cluj-Napoca, România

faza stejărișului amestecat, alunului și molidului de pe la munte, căreia îi corespunde cronologic **faza stejărișului amestecat, alunului și molidului** de pe dealuri, respectiv **faza stejărișurilor amestecate cu alun** de la câmpie; s-a desfășurat de-a lungul timpului călduros postglaciar, Boreal — Atlantic (fazele V, VI și VII F i r b a s), când exista deja o etajare a vegetației la noi în țară; ca o regulă generală, carpenul apare, în Bazinul transilvan, spre sfârșitul acestei faze, în a doua parte a Atlanticului, în timp ce fagul și bradul nu vegetau, în acea vreme, în comunitățile silvestre din interiorul și exteriorul arcului carpatic românesc; în funcție de dominarea unuia sau altuia dintre elementele ce alcătuiau stejărișele amestecate, cronologic vorbind, se înregistrează trei subfaze (subfaza ulmului, subfaza alunului și subfaza molidului), succesiunea arborilor fiind, la altitudini peste 600 m, ulm — tei — stejar.

4. **Faza molidului cu carpen** (*Picea — Carpinus*), specifică evoluției vegetației de la noi, corespunde cronologic Subborealului (faza VIII după F i r b a s), mai răcoros și mai uscat decât Atlanticul care l-a precedat; din punctul de vedere al etajării vegetației apare etajul cărpinetelor, ce se interpune între molidișuri și stejărișuri; apare acum evidențiat în spectrele polinice și polenul fagului, înaintea celui al bradului, anunțând viitoarele păduri de fag și brad din Subatlantic; acestei faze îi corespunde la câmpie **faza stejărișurilor amestecate cu carpen**.

5. **Faza molidului — fagului — bradului** (*Picea — Fagus — Abies*) este ultima fază silvestră înregistrată în spectrele polinice la altitudini ridicate, căreia îi corespunde **faza fagului** din zona colinară și **faza stejărișurilor amestecate cu fag** de la câmpie; această fază s-a desfășurat de-a lungul Subatlanticului și până în zilele noastre (fazele IX și X F i r b a s), favorizată de climatul mai rece și umed, specific acestei perioade; în funcție de competiția sporo-polinică înregistrată între molid, brad și fag, și această fază a fost divizată în trei subfaze (molid-fag-brad, molid-brad-fag, fag-molid-brad), pentru etajele montan și subalpin, care sunt diferit notificate la câmpie, după cum arăta Diaconeasa [6]: subfaza stejar-fag-carpen, subfaza fag-stejar-carpen și subfaza stejar-fag-carpen.

Pentru a înțelege mai exact particularitățile evoluției vegetației din sud-sud-estul României comparativ cu cea cunoscută pentru Transilvania, am recurs la o evaluare, aproximativă ca timp, a informațiilor fitoistorice, așa cum acestea au fost descifrate de palinologii români [1, 5, 16], de-a lungul celor aproximativ 70 de ani de cercetări polen-analitice, întocmind cele trei tabele alăturate, care considerăm că ar reprezenta trei momente fitoistorice tardiglaciare (Dryas-ul vechi, Alleröd-ul și Dryas-ul recent), numerotate în schema F i r b a s cu I, II, III [1, 12].

Faza pinului în sud-estul României a fost surprinsă numai la Mangalia-Herghelie, de Diaconeasa [4], într-un sediment argilos gros de 25 cm, stratificat în Tardiglaciar, în care s-au înregistrat trei momente fitoistorice esențial diferite polen-analitic.

Stratul bazal, considerat de noi ca aparținând la Dryas I (Tabel 1), a conservat polenul pădurilor de pin în proporție de $\pm 75,33\%$, la care se adaugă $14,6\%$ al stejărișului amestecat (stejar 8% , tei 4% , ulm 2% și arțar $0,6\%$), precum și polenul molidului ($4,6\%$), mesteacănului ($3,3\%$) și salciei (2%).

Comparând aceste informații palinologice cu cele din Transilvania (Fig. 1), apar deosebiri esențiale. În Transilvania, toate spectrele polinice, considerate de noi ca aparținând Dryas-ului I, conțin polenul pinului cu valori foarte ridicate ($86,6$ — $97,3\%$), însă extrem de scăzute valori ale molidului ($1,3$ — $8,9\%$), mesteacănului ($0,7$ — $4,6\%$) și salciei, **fără atestarea polen-analitică a altor esențe lemnoase**. Asemenea realități polen-analitice l-au determinat pe Pop [13, 14] să afirme că pădurile de pin din Transilvania **au fost omniprezente în faza pinului**, de la câmpie până în zona montană, însoțite doar de molid, mesteacăn și salcie. Spre deosebire de acestea, avem convingerea că în sud-estul țării, în Tardiglaciuar, respectiv în Dryas I, **au coexistat pinetele și stejărișurile amestecate ca ecosisteme închegate, cu deosebirea că pinetele, azi dispărute din Dobrogea, erau de 4—5 ori mai extinse decât stejărișurile amestecate**.

Pentru Transilvania, se abat de la afirmația lui Pop [13, 14] spectrele polinice încadrate în Dryas I de la Tăul Zănoștii [17], unde pinetele rămân dominante ($\pm 54\%$), însă însoțite de molid ($\pm 10,6\%$), mesteacăn ($\pm 8\%$), anin ($\pm 14,6\%$), salcie ($1,3\%$) și chiar stejăriș amestecat (stejar $1,3\%$, tei $2,6\%$, ulm $1,3\%$) cu alun ($\pm 5,3\%$). Este unica stațiune din Transilvania care conține în zestrea sa sporo-polinică polenul stejarului, teiului, ulmului și alunului, este drept că în cantități foarte mici ($\pm 2\%$), de-a lungul întregului Tardiglaciuar.

În Alleröd (Tabel 2), structura ecosistemelor silvestre din sud-estul țării s-a schimbat. În acest interstadiu tardiglaciuar, mai blând climatic decât cele două stadii glaciare (Dryas-ul vechi — I și Dryas-ul recent — III) care-l delimitează, polenul pinetelor scade la $\pm 51,3\%$, iar cel al stejărișurilor amestecate crește la $\pm 35,3\%$. Este o realitate polen-analitică ce reflectă o semnificativă extindere a stejărișurilor amestecate, simultan cu retragerea, deloc neglijabilă, a pădurilor de pin și când molidul continuă să fie atestat palinologic ($\pm 8,6\%$) în regiuni mai îndepărtate. În această perioadă **apare atestat palinologic bradul ($\pm 4\%$) și carpenul ($0,66\%$)**, fenomen neîntâlnit în sedimentele transilvane. Amintim însă că în Munții Semenic Ciobanu [3] găsește sporadic și cu valori subunitare polenul bradului, în ultima parte a fazei pinului din Banat. El consideră că acest polen a fost adus de vânturi din Mții. Balcani, unde bradul vegeta nu prea departe de Munții Semenicului. Părerea noastră este că aceste spectre polinice care conțin polen de brad sunt mult mai târzii, conservate probabil în Preboreal.

Luând ca argument cifrele procentuale înregistrate în diversele spectre polinice ale multor sedimente organo-minerale, situate la diverse altitudini din Transilvania, înclinăm să credem într-o restrângere a arealului pădurilor de pin ($60,8$ — $85,3\%$), sau poate o ușoară dispersare a lor, cauzată de astă dată de mesteacăn ($10,7$ — $23,2\%$), salcie și molid,

Tabel 1

Reprezentarea principalelor esențe lemnoase în câteva stațiuni din România, în timpul Dryas-ului I

Alt. (m.s.m.)	Stațiunea	Adânc. (cm)	Picea (%)	Pinus (%)	Abies (%)	Fagus (%)	Carpi- nus (%)	Betula (%)	Alnus (%)	Quercus (%)	Tilia (%)	Ulmus (%)	Acer (%)	Q.M. (%)	Salix (%)	Corylus (%)
5	Mangalia	725	4.6	75.3	0	0	0	3.3	0	8	4.6	1.3	0.6	14.6	2	0
226	Crișeni	50	3.3	86.6	0	0	0	4.6	0	0	0	0	0	0	4.6	0
290	Băgău	355	8.9	90.4	0	0	0	0.7	0	0	0	0	0	0	0	0
340	V. Măgheruș	125	1.5	96	0	0	0	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0
356	Stoboru	285	6	93.3	0	0	0	0.7	0	0	0	0	0	0	0	0
440	Lacul lui Dionisie	660	1.3	97.3	0	0	0	1.3	0	0	0	0	0	0	0	0
800	Colăcel	345	6	88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0
1840	Zănoaga	600	10.66	54	0	0	0	8	14.66	1.33	2.66	1.33	0	5.33	1.33	5.33

Tabel 2

Reprezentarea principalelor esențe lemnoase în câteva stațiuni din România, în timpul Alleröd-ului

Alt. (m.s.m.)	Stațiunea	Adânc. (cm)	Picea (%)	Pinus (%)	Abies (%)	Fagus (%)	Carpi- nus (%)	Betula (%)	Alnus (%)	Quercus (%)	Tilia (%)	Ulmus (%)	Acer (%)	Q.M. (%)	Salix (%)	Corylus (%)
5	Mangalia	720	8.6	51.3	4	0	0.6	0	0	22	5.3	4	4	35.3	0	0
226	Crișeni	20	1.3	70	0	0	0	16.6	0	0	0	0	0	0	12	0
290	Băgău	330	4.7	78.6	0	0	0	10.7	0	0	0	0	0	0	6.9	0
340	V. Măgheruș	120	2.6	85.3	0	0	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0
356	Stoboru	210	1.9	31.4	0	0	0	57.2	0.6	0	0	0	0	0	8.2	0.6
440	Lacul lui Dionisie	585	4	16	0	0	0	79.33	0	0	0	0	0	0	0.6	0
800	Colăcel	305	4	60.8	0	0	0	23.2	0	0	0	0	0	0	11.9	0
1840	Zănoaga	430	5	75	0	0	0	5	10	1.3	0.6	1.3	0	3.3	0.6	0.6

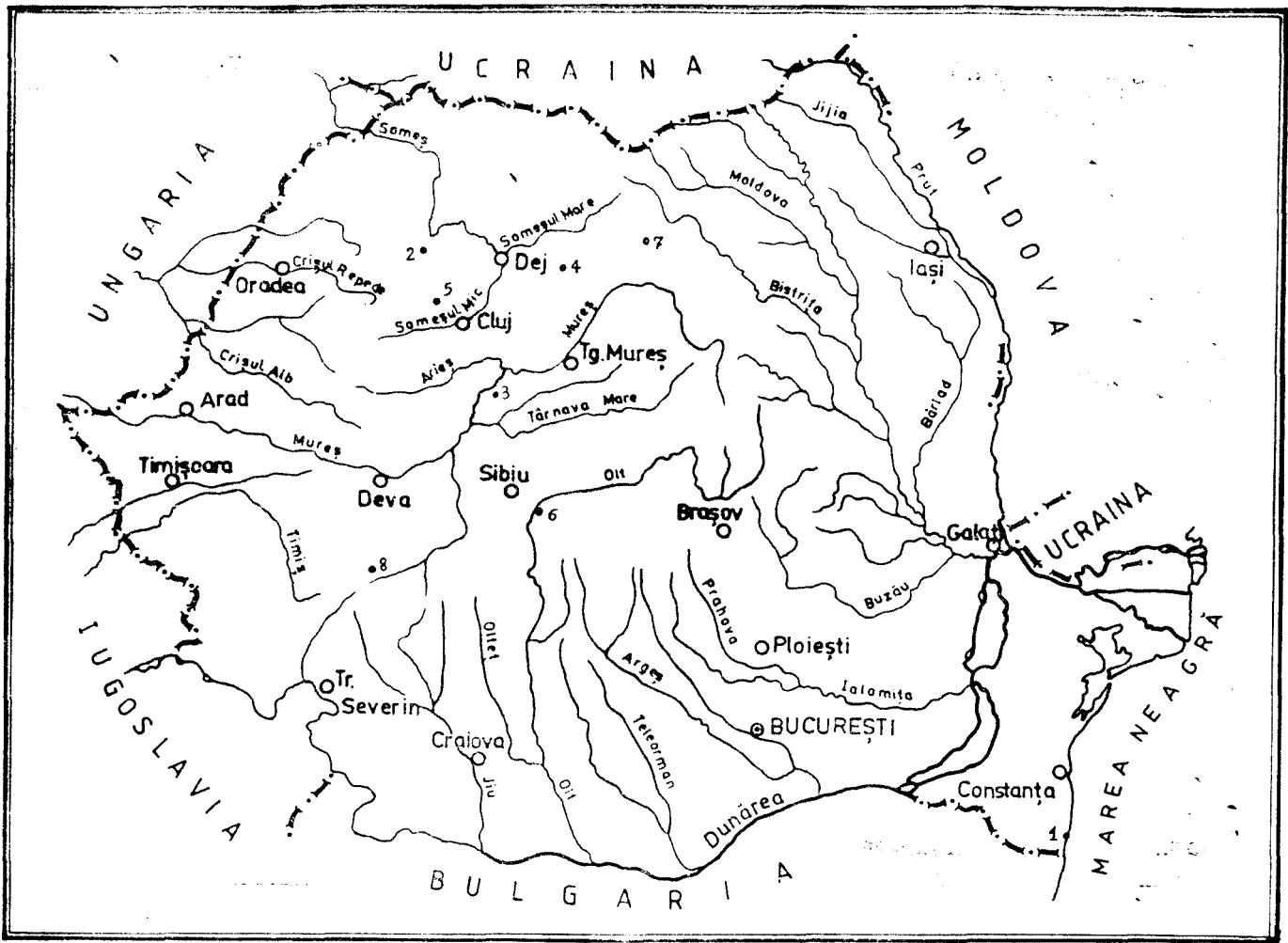


Fig. 1. Distribuția stațiilor cu semnificație fitoistorică tardiglaciară din România.
 1 — Mangalia, 2 — Crișeni, 3 — Băgău, 4 — Valea Măgheruș, 5 — Stoboru, 6 — Lacul lui Dionisie, 7 — Colăcel, 8 — Tăul Zănoagții.

Tabel 3

Reprezentarea principalelor esențe lemnoase în câteva stațiuni din România, în timpul Dryas-ului III

Alt. (m.s.m.)	Stațiunea	Adânc. (cm)	Picea (%)	Pinus (%)	Abies (%)	Fagus (%)	Carpi- nus (%)	Betula (%)	Alnus (%)	Quercus (%)	Tilia (%)	Ulmus (%)	Acer (%)	Q.M. (%)	Salix (%)	Corylus (%)
5	Mangalia	708	8	64	0	0	1.14	3	0.56	9.7	1.17	5.56	0.57	17	6	0
226	Crîșeni	6	1.33	82	0	0	0	5.33	0	0	0	0	0	0	11.33	0
340	V. Măgheruș	65	3.33	95.33	0	0	0	1.33	0	0	0	0	0	0	0	0
356	Stoboru	190	7	84	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	4	1
440	Lacul lui Dionisie	510	2.66	88.66	0	0	0	8.66	0	0	0	0	0	0	0	0
800	Colăcel	260	5.5	90.7	0	0	0	2.2	0	0	0	0	0	0	0	1.6
1840	Zănoaga	400	7	80	0	0	0	3.03	6.1	0.76	1.54	3.03	0	5.33	0.76	0.76

și nu de stejărișurile amestecate, inexistente, după opinia noastră, în Transilvania, în acea perioadă. La Tăul Zănoaguții, stejarul, teiul, ulmul și alunul sunt notificați în spectrele polinice cu valori foarte scăzute (0,6—1,3%), fără ca autorii să comenteze prezența sporopolinică a acestora. În schimb, consideră că polenul de molid poate proveni de la exemplare izolate, adăpostite prin văile montane, sau poate să fi fost transportat de vânt din zone mai îndepărtate.

În Dryas-ul recent (Tabel 3), pădurile din sud-estul României apar mai bogate în pinete ($\pm 64\%$ polen) și mai sărace în stejărișuri amestecate ($\pm 17\%$ polen), comparativ cu cele din Alleröd, restabilindu-se o proporție de aproximativ 4/1, cu ceva mai ridicată decât cea cunoscută pentru Dryas I. Dintre elementele stejărișurilor amestecate se pare că stejarul a fost mai abundent în fitocenozele ce se constituiau, pe vremea aceea, sincopată sub aspect sedimentar, polenul său oscilând între 8—22%, în timp ce al teiului are tendința de scădere, iar al ulmului de afirmare. Nu este total exclusă ideea ca asemenea informații palinologice să anticipe succesiunea stejar-ulm-tei din Preborealul din Dobrogea, cu mult înainte de cea cunoscută la Craiovița [15] din Boreal.

În Transilvania, Dryas-ul recent cuprinde numai păduri de pin (82—95,33% polen), cu diseminatii de molid (1,33—7%), mesteacăn (2,2—8,66%) și din când în când salcie.

Informațiile fitoistorice de la Mangalia apar ca realități fitocenologice tradiglaciare sigure, gândindu-ne că în nord-vestul Greciei (Gramousti și Rezina) s-au identificat polen-analitic comunități vegetale stepice, dar în scădere, precum și elemente silvestre în afirmare (la început pinul, stejarul,

bradul, salcia, carpenul, apoi alunul, teiul, ulmul, **fără fag și molid**), care datează de acum cca. 13.000—11.000 de ani, vârstă stabilită cu C¹⁴ [18, 19]. După Willis, cu cca. 10.000 de ani în urmă, în Munții Pin-dului apăruseră deja două etaje silvestre (stejărișe și pinete).

Mai mult, în Tardiglaciularul din sud-vestul Bulgariei, Bozilova [2] semnalează în Munții Rila și Pirin prezența, în Alleröd, a bradului și carpenului. Autoarea consideră că în acești munți a existat, la acea vreme, chiar o etajare silvestră a covorului vegetal, din care nu lipseau nici pădurile de fag. Considerăm că asemenea asociații silvestre au putut exista și în alte zone ale Peninsulei Balcanice, cu excepția teritoriului din nordul Dunării.

Existența pinetelor cu stejărișuri amestecate de la Mangalia reprezentând realități fitoistorice tardiglaciare nord-estice ale Peninsulei Balcanice, rămânem la ideea că **în Preboreal, stejarul, ulmul, teiul au ajuns pe actualul teritoriu, nord-dunărean, al țării noastre, din sudul Peninsulei Balcanice și nu din vestul Europei, calea vestică fiind mult mai lungă.**

În climatul preboreal, tot mai blând, în bazinul intracarpatic românesc, ca unitate geomorfologică central-est-europeană, aceste esențe lemnoase au constituit formațiuni insulare de stejărișuri amestecate, fără structuri fitocenotice suficient conturate, dispersate încă în largul areal al pinetelor diseminate cu mult molid; protejate de concurența dintre molidișurile în formare și pinetele permanent dispersate, stejărișurile amestecate și-au extins arealul, în defavoarea pinetelor, cu precădere la câmpie și pe coline; la munte rolul lor l-au luat molidișurile, care au obligat pinetele să se retragă spre culmi mai ridicate (*Pinus mugo*), sau pe stâncării inaccesibile molidului (*Pinus sylvestris*). Este momentul când în Transilvania s-au schițat deja viitoarele etaje silvestre, definitivitate și permanent modificate în Boreal-Atlantic; fenomenul a avut un caracter general și s-a desfășurat identic pe ambele laturi ale arcului carpatic românesc [8].

Informațiile fitoistorice de la Mangalia, din sud-estul României, sunt un argument în favoarea ideii că **formațiunile insulare ale stejărișurilor amestecate se constituiseră în Dobrogea de sud (România) cu mult mai timpuriu, cândva în Dryas-ul I, decât în centrul și nordul României (Preboreal), alcătuind formațiuni silvestre compacte printre pinetele dominante; ele sunt puntea de legătură între pădurile tardiglaciare din Peninsula Balcanică și cele postglaciare din nordul Dunării.**

În sfârșit, rămânem la ideea exprimată de Diaconeasa încă în 1977 [4], că prezența polenului de molid, brad și carpen în sedimentele tardiglaciare de la Mangalia nu trebuie explicată printr-un transport aerian de la mare distanță (± 400 km), ci mai degrabă acesta a ajuns aici din pădurile de pin presărate cu molid, brad și carpen, care existau, în acele vremuri, în nord-estul Balcanilor, până aproape în Dobrogea.

Privite în ansamblu, spectrele polinice ale întregului sediment argilos apar cu ceva mai bogate în polenul plantelor ierboase (N.A.P. =

— non arborum pollen), decât în polenul arborilor (A.P. = arborum pollen). Pe litoralul românesc al Mării Negre, în Tardiglaciuar — Preboreal, exista deci o vegetație de stepă rece, dominată de *Cyperaceae* și *Poaceae*, însoțite de *Chenopodiaceae*, *Asteraceae*, *Rosaceae*, *Polypodiaceae*, *Artemisia* etc., în timp ce la altitudini mai ridicate, nu prea îndepărtate, în interiorul Podișului Dobrogean, existau păduri de pin cu stejărișuri amestecate, al căror polen a fost transportat de curenții aerieni până la suprafața lacului Mangalia-Herghelie, unde s-a conservat.

În sud-estul țării, la Mangalia-Herghelie ne lipsesc informațiile fitoistorice din climatul de tranziție (Preborealul), până cândva în climatul cald postglaciuar (Boreal — Atlantic). Informația are ca argument deosebirea calitativă și cantitativă a spectrului polinic identificat în sedimentul de contact argilă — turbă, la adâncimea de 700 cm, comparativ cu cel tardiglaciuar; în spectrul polinic al acestui orizont polenul pinetelor scade brusc, la 22,14%, al stejărișurilor amestecate crește la 41,33%, al carpenului atinge $\pm 11,50\%$, iar cel al fagului, inexistent în sedimentul tardiglaciuar, apare brusc și cu o valoare de 7%.

Regretăm lipsa acestor informații fitoistorice, de tranziție, deoarece nu avem termeni de comparație cu faza de tranziție pin-molid caracteristică fitoistoriei Transilvaniei. Rămânem la ideea că în Preborealul din sud-estul țării molidul nu a participat la destrămarea pinetelor, ci, mai sigur, vitalitatea diverselor specii de *Quercus*, favorizate de noul climat tot mai blând, de tranziție, a cauzat dispariția acestora, alcătuind felurite asociații de stejărișuri amestecate, în care a fost posibilă o participare, tot mai agresivă, a carpenului, la începutul climatului cald postglaciuar, pentru ca în Boreal-Atlantic să se constituie querceto-cărpinele dominante, evidențiate palinologic și mai expresiv la Techirghiol [8], la cca. 25 km nord de Mangalia, prin cele $\pm 84\%$ de polen (valoare calculată la Σ A.P.), sau $\pm 51\%$ (valoare calculată la Σ A.P. + Σ N.A.P.).

Prezența acestor querceto-cărpinete în Postglaciuarul timpuriu (Boreal-Atlantic) rămâne un punct de referință pentru istoria pădurilor din țara noastră, indicând probabil afirmarea carpenului cu mult mai timpurie aici, în sud-estul României, comparativ cu restul țării.

Luând ca puncte de reper cercetările palinologice efectuate de Filipovitch [10] în nord-vestul Bulgariei, sau de Filipova în nord-estul Bulgariei [9], toate verificate prin datări C^{14} , problema carpenului în Dobrogea apare bine conturată: în Dobrogea, pădurile cu carpen sunt mult mai vechi decât cele din Bazinul Transilvaniei și Carpații Meridionali, iar arealul querceto-cărpinetelor s-a extins, probabil, simultan cu retragerea pădurilor de pin, din amurgul Tardiglaciuarului.

Opinia noastră este că pădurile cu mult carpen au ajuns în nordul Dunării mai ușor prin vest-nord-vestul Dobrogei, decât pe direcția Plainelor — Munții Banatului și au migrat pe direcția sud — sud-est → nord — nord-vest, atât la exteriorul cât și la interiorul arcului carpatic românesc.

În sprijinul acestei afirmații stau înregistrările din Bulgaria, fragmentarea probabilă a fazei carpenului evidențiată în Munții Semenicului (Banat), apariția mai timpurie și de durată a cărpinetelor în sud-

estul Carpaților Meridionali și Bazinului transilvan, comparativ cu cele din nord — nord-vestul Carpaților Orientali.

În contextul aceleiași idei considerăm că **faza stejărișului cu teișe și carpen** identificată de Pop [15] la câmpie și considerată ca fiind contemporană cu **faza molidului cu carpen** din etajul montan, poate fi, ca timp, mai timpurie; după rezultatele noastre palinologice de la Techirghiol, această fază silvestră ar putea acoperi cea mai mare parte a climatului atlantic și începutul Subborealului. **Asemenea păduri de stejărișuri bogate în teișe le-am încadrat, mai recent, Atlanticului [7].**

Identificarea polenului de fag la Craiovița [15] încă la sfârșitul **fazei stejărișului mixt cu alun**, după apogeul alunului, nu este interpretată de autor ca un fenomen fitoistoric normal, ci cauzată de o infecție de contact cu material mai recent. Noi credem că acest polen de fag a ajuns să fie conservat la Craiovița, fiind adus de vânturi din regiuni situate la sud de Dunăre, unde Bozilova [2] îl semnalează în Alleröd în Munții Pind și Rila, alcătuiind chiar un etaj propriu, iar Filipova [9] confirmă cu C¹⁴ prezența lui mai târzie, acum 7000 de ani, în nord-estul Bulgariei, nu departe de Mangalia și Techirghiol, din sud-estul țării noastre, unde noi l-am înregistrat cu $\pm 5\%$.

Existența polenului de fag în sedimente organo-minerale depuse în Boreal — Atlantic, în Dobrogea, are o semnificație fitoistorică deosebită, cunoscându-se faptul că, în depozitele de turbă din Carpații sud-estici, Bazinul transilvan etc., el apare atestat palinologic mult mai târziu, în a doua parte a Subborealului, cu o întârziere de minimum 4000 de ani.

Deși există decalaje mari, ca timp, între constituirea stejărișurilor amestecate, îmbogățite mai întâi cu carpen, apoi cu fag și brad, în sud-estul României, comparativ cu Bazinul transilvan, ca parte centrală a României, totuși istoria pădurilor din țara noastră se caracterizează printr-o unitate, în succesiunea postglaciară completă, și anume: stejărișurile amestecate (*Quercus*, *Ulmus*, *Tilia*, *Acer*) ating apogeul arealului lor în perioada caldă, Boreal — Atlantic; pădurile de carpen, cu tot avansul lor, ca timp, în sud-estul țării, ating maxima lor răspândire în Subboreal, pe întreg teritoriul românesc; făgetele, cu mult mai timpurii în sud-estul țării, ocupă arealul lor cel mai extins în Subatlantic, în toată România.

Aceasta este „*variantea est-carpatică a pădurilor din România*“ în contextul general al istoriei pădurilor din centrul Europei, de-a lungul căreia, indiferent de unde privim fitoistoric, fie de la câmpie spre etajul alpin, fie invers, se pot descifra polen-analitic toate subfazele silvestre postglaciare, cu particularitățile lor altitudinale.

BIBLIOGRAFIE

1. Bartmus, A., *Analiză de polen în turbă mlaștinilor de la Avrig*, „Comun. Bot.”, **10**, 1969, 25—34.
2. Bozilova, E., *Correlation of the vegetational development and climatic changes in the Rila and Pirin Mountains during the Late Glacial and Post-Glacial time compared to*

- the other areas, in *Problems of Balkan Flora and Vegetation*, p. 61–71, Bulg. Acad. Sci., Sofia, 1975.
3. Ciobanu, I., *Analize de polen în turba Masivului Semenic*. Teză Dr., Univ. Cluj, 1948.
 4. Diaconeasa, B., *Valoarea documentară fitoistorică a mlăstini de turbă de la Mangalia-Herghelie (jud. Constanța)*, „Contrib. Bot.”, 1977, 41–53.
 5. Diaconeasa, B., *Analiza sporo-polinică a profilului turbos de pe Valea Măgheruș (jud. Bistrița—Năsăud)*, „Contrib. Bot.”, 1979, 77–83.
 6. Diaconeasa, B., *Analiza palinologică a profilului turbos de la Pădureni—Țoș, jud. Cluj*, „Contrib. Bot.”, 1985, 71–76.
 7. Diaconeasa, B., Buz, Z., *Contribuția teiului în structurile silvestre cuaternare din România*, „Contrib. Bot.”, 1993–1994, 107–121.
 8. Diaconeasa, B., Mitroescu, S., *Lacul Techirghiol, conservator al polenului pădurilor postglaciare din Dobrogea — România*, „Contrib. Bot.”, 1991–1992, 157–167.
 9. Filipova, M., *Palaeoecological investigations of lake Shabla—Ezeretz in North-Eastern Bulgaria*, „Ecol. Medit.”, **11** (1), 1985, 147–158.
 10. Filipovitch, I. A., *Palynological data for the postglacial distribution of Carpinus betulus L. în Bulgaria*, „Pitologija”, **33**, 1987, 23–32.
 11. Firbas, F., *Spät- und nacheiszeitliche Waldgeschichte Mitteleuropas nördlich der Alpen*. I, Fischer, Jena, 1949.
 12. Firbas, F., *Spät- und nacheiszeitliche Waldgeschichte Mitteleuropas nördlich der Alpen*. II, Fischer, Jena, 1952.
 13. Pop, E., *Analize de polen în turba Carpaților Orientali (Dorna—Lucina)*, „Bul. Grăd. Bot. Muz. Bot. Univ. Cluj”, **9** (3–4), 1929, 81–210.
 14. Pop, E., *Contribuții la istoria vegetației cuaternare din Transilvania*, „Bul. Grăd. Bot. Muz. Bot. Univ. Cluj”, **12** (1–2), 1932, 29–102.
 15. Pop, E., *Analize de polen în regiuni de câmpie*, „Bul. Științ. Acad. Rom., Științe Biol. Agr., Bot.”, **9** (1), 1957, 5–32.
 16. Pop, E., Diaconeasa, B., *Analiza palinologică a unui profil de turbă glaciară din raionul Zalău*, „Stud. Cercet. Biol., Bot.”, **16** (4), 1964, 259–262.
 17. Pop, E., Lupșa, V., Boșcaiu, N., *Diagrama sporo-polinică de la Tăul Zănoașii (Munții Retezat)*, în *Progrese în palinologia românească*, p. 219–225, Ed. Acad. Rom., București, 1971.
 18. Willis, K. J., *The late Quaternary vegetational history of North-West Greece. I, Gramousti lake*, „New Phytol.”, **121**, 1992, 101–117.
 19. Willis, K. J., *The late Quaternary vegetational history of North-West Greece. II, Retina marsh*, „New Phytol.”, **121**, 1992, 119–138.

NEMATODE COMMUNITIES FROM SOME TRANSYLVANIAN SALT-AFFECTED AREAS (ROMANIA). FIRST ECOLOGICAL EVALUATIONS

MARCEL CIOBANU* and IULIANA POPOVICI*

SUMMARY. — Preliminary data on soil nematode communities from three Transylvanian salt-affected areas (Băile Turda, Ocna Sibiului and Cojocna) are presented. Diversity of the nematode communities in these soils was found to be relatively low (56 taxa). The occurrence of certain taxa and their abundance could be influenced by salt content and plant cover composition acting together. The lowest number of taxa and the simplest trophical structure were recorded in the nematode communities from the soil with the highest salt content. Trophic diversity increased in the areas with lower salinity and fully covered by vegetation. The preference of bacterial feeding nematodes for these biotopes was noted. Changes in the MI and PPI values reflect the influence of specific environmental conditions.

The salt-affected areas represent particular biotopes. They are characterized by specific soils, better known as halomorphic soils, with high content of salts (mainly NaCl, Na₂SO₄, MgCl₂, MgSO₄). They are generally wet, absorbing the water quickly and are not ventilated. All these factors act together on vegetation and soil fauna development in such isolated (local) habitats. The consequence is the adaptation of organisms to the salted environment as halotolerant plants and animals. The plant and animal communities react to high salt concentration through changes in their parameters.

The soil nematodes are important components of all ecosystems (regarding their density and diversity, they are surpassed only by the microorganisms); they can be used as models and indicators to assess the quality of ecosystems [2, 4, 5].

Our present study of soil nematode communities, carried out between 1996 and 1998, aimed to identify the specific and trophic structure of the nematode fauna from some Romanian inland salt-affected areas in correlation with soil type and vegetation.

Site description. Three salt-affected areas, namely Băile Turda, Ocna Sibiului and Cojocna, located in Transylvania, were investigated. They are situated on salt-bearing rocks placed at a very low depth.

The areas have small surfaces (about 10—25 ha) and appear as "inland salt-affected islands" in the field:

1. Băile Turda situated in the so-called Transylvanian Plain at 330 m altitude; 3 sampling sites, noted:

— Turda I (soil type — solonchak, covered by *Salicornia europaea*, pH 8.5);

* Biological Research Institute, 5400 Cluj-Napoca, Romania

Table 1 (continued)

ep value Taxa	Sampling sites						
	Turda			Ocna Sibiului		Cojocna	
	I	II	III	I	II	I	II
4 <i>Tylencholaimus</i>					1.2	0.5	
2 Tylenchidae		0.7	0.7		0.6		
4 <i>Tylencholaimellus</i>		16.5	16.5			2.5	
2 <i>Tylenchus</i>		0.7	0.7			0.5	
2 <i>Tylocephalus</i>				0.5			
Total taxa/site	4	31	31	26	31	28	12

The dominant nematode taxa differ according to the sites. In Turda I there are only 4 taxa present, all eudominant (*Aphelenchoides*, Belonolaimidae, *Filenchus* and *Panagrolaimus*). The genus *Panagrolaimus* had the highest dominance value (66.7%). This low number of taxa could be explained by the very high salt content of the solonchak covered only by one extreme halophilic plant, *Salicornia europaea*. The nematode communities comprised 31 taxa in the sites Turda II and Turda III, developed on solonetz, with a denser herb layer as compared to solonchak soil. The genera *Acrobeles* (bacterial feeding) and *Tylencholaimellus* (omnivore) have high dominance values.

A different structure of nematode communities is found in Ocna Sibiului (Ocna Sibiului I, II). Here, the differences in the community structure between these two sampling sites, with distinct herb layers, are obvious. The genera *Prismatolaimus* and *Teratocephalus* (bacterial feeding) and nematodes belonging to the family Belonolaimidae (plant feeding) are eudominant in the samples from Ocna Sibiului I. In Ocna Sibiului II the belonolaims have the highest contribution to the nematode communities, followed by *Acrobeles* and *Prismatolaimus* (Table 1).

The genus *Filenchus* (plant feeding) has the highest value (62.3%) in Cojocna I, while in Cojocna II, with only 11 taxa present, the eudominant genera are *Plectus* (41.5%), *Panagrolaimus* (16.5%), both bacterial feeders, and *Mesodorylaimus* (13.8%) as an omnivore.

The trophic structure of the nematode communities is illustrated in Figs. 1—2. In Turda I and Cojocna II the dominant genera are bacterial feeders. Bacterial feeding nematodes represents 2/3 of the whole population in Turda I (Fig. 1 A), while omnivores and predators are not present. A more diversified trophic structure is found in Turda II and III (Fig. 1 B and C), where omnivores and predators are present, as compared to that from Turda I.

Bacterial feeding nematodes, known as first colonizers ('r-strategists'), are characterized by: short life-cycle, high colonization ability, high tolerance to stress, large number of small eggs, high fluctuations in population densities; they usually live in ephemeral habitats [2].

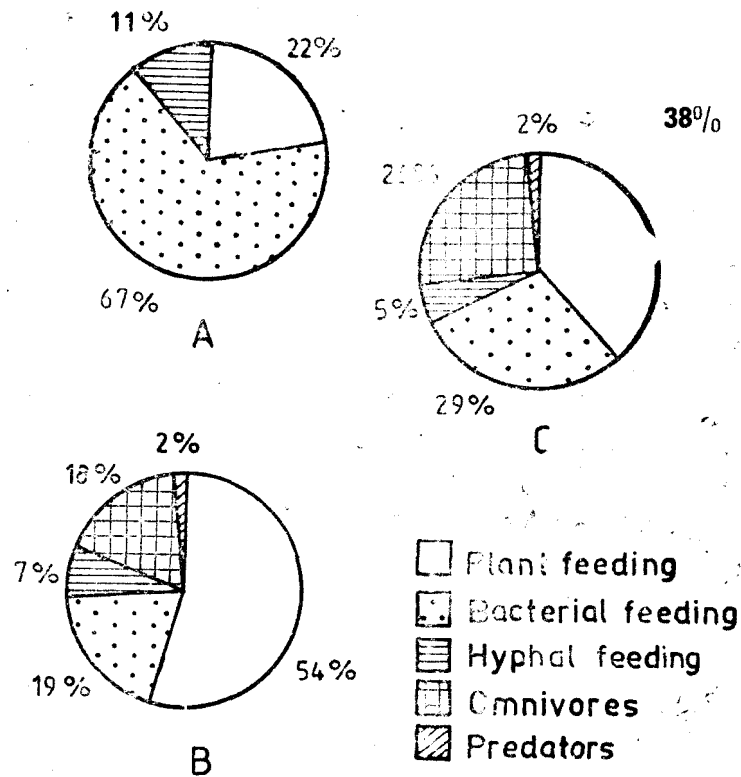


Fig. 1. Trophic structure of nematode fauna from Bäile Turda. A — Turda I (solonchak, covered by *Salicornia europaea*); B — Turda II (solonetz, covered by *Festuca pseudovina* and *Artemisia maritima*); C — Turda III (solonetz, covered by *A. maritima* and *Thymus marschallianus*).

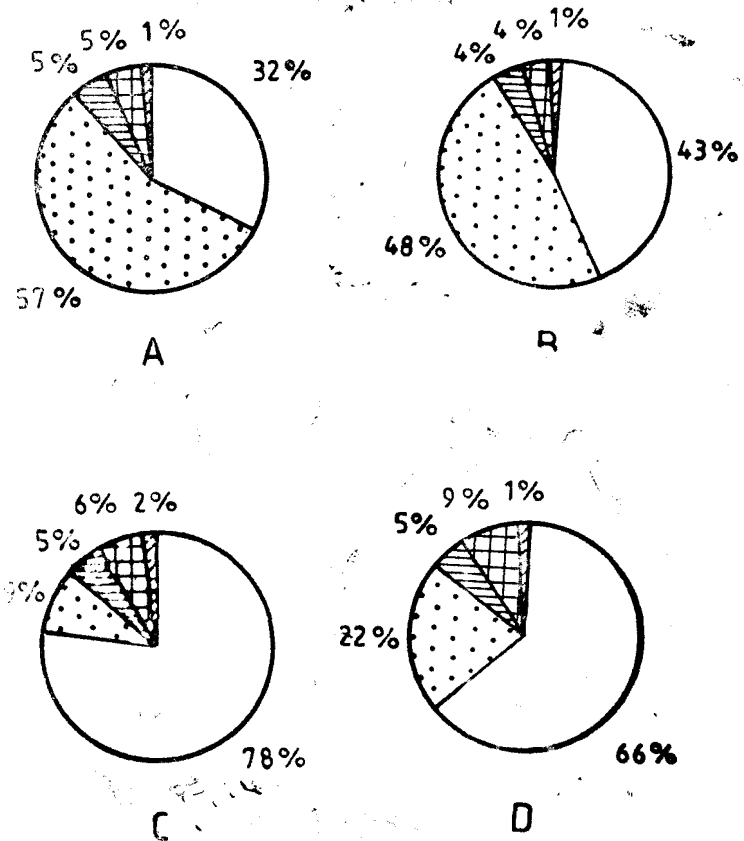


Fig. 2. Trophic structure of nematode fauna from: A — Ocna Sibiului I (solonch, covered by *A. maritima* and *F. pseudovina*); B — Ocna Sibiului II (solonch, covered by *F. pseudovina*); C — Cojocna I (solonetz, covered by *A. maritima* and *Statice gmelini*); D — Cojocna II (solonetz, covered by *Puccinellia limosa*).

Their dominance in such particular sites could be explained by these characteristics.

The trophic structure of the nematode communities showed many similarities between sampling sites from Turda (II, III) and Cojocna (I, II). Plant feeding nematodes are dominant in all four sampling sites (Fig. 1 B, C and Fig. 2 C, D). However, there are differences concerning omnivorous nematodes, better represented in the samples from Turda as compared to those from Cojocna. The bacterial feeding nematodes are dominant in the samples from Ocna Sibiului I (Fig. 2 A), but they have a lower dominance in Ocna Sibiului II, where the percentage of the plant feeding nematodes increased (Fig. 2 B).

Changes in Maturity Index (MI) and Plant Parasitic Index (PPI) [2] are illustrated in Fig. 3. The highest values of MI are found for the communities developed in salt-affected soils from Turda II and III. The lowest value, found in the samples from Turda I, could be a consequence of a high content of NaCl in soil. PPI value is maximum in Turda II, the lowest value being estimated for the communities from Cojocna I.

A possible relationship between soil humidity and nematode abundance could be established (Fig. 4). A relative high soil water content accompanied by a high soil salt content was found in Turda I, where the lowest nematode density was detected. Generally, in solonetz and soloth soils the size of the nematode populations is favoured by the soil humidity and by the high degree of herb layer coverage.

Conclusions. 1. A relatively low diversity of the taxa of soil nematode communities (56 taxa) is found in three different salt-affected areas from Transylvania.

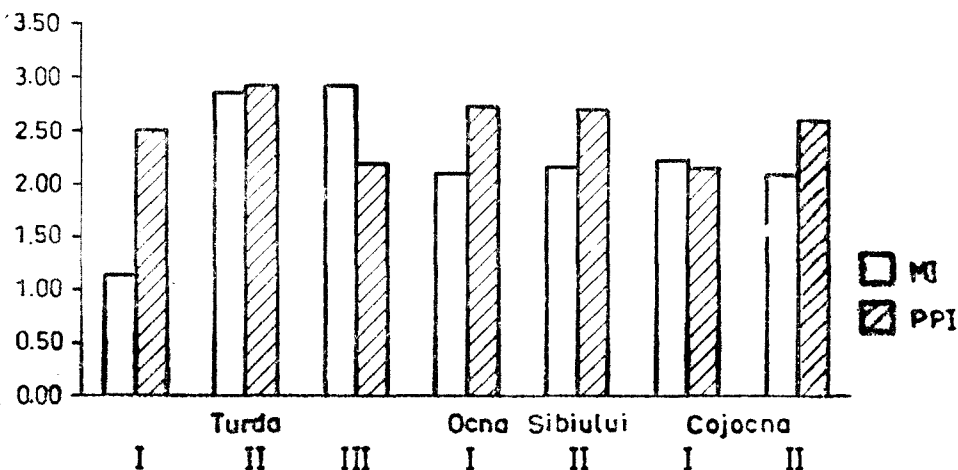


Fig. 3. Changes in Maturity Index (MI) and Plant Parasitic Index (PPI) of the nematode communities from some Transylvanian salt-affected areas.

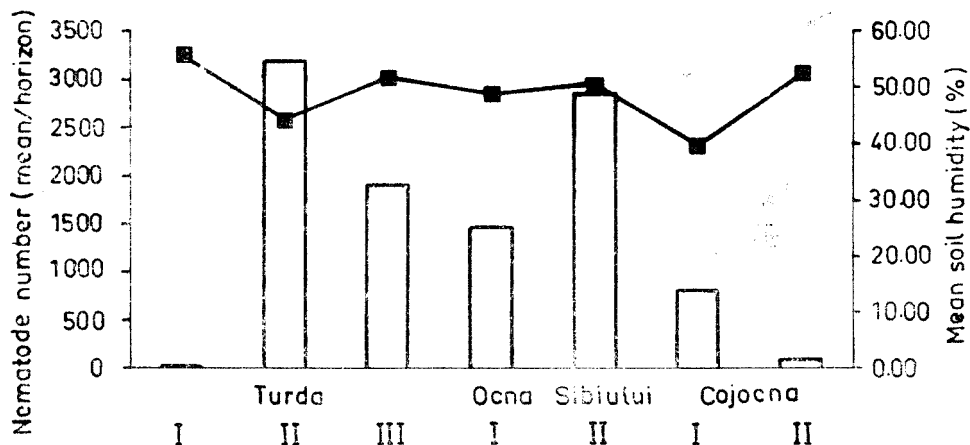


Fig. 4. Soil humidity (%) and nematode number (100 g dry soil) in salt-affected areas.

2. The occurrence of certain taxa and their abundance in some sites is influenced by salt content and plant cover composition acting together.

3. The trophic structure is less diversified in the sampling site with high concentration of NaCl and poorly developed vegetation (Turda I). The trophic structure becomes more diverse in the areas where the salinity is lower and the herb plants fully cover the soil. The preference of bacterial feeders for these biotopes is noted.

4. Changes in the MI and PPI values reflect the action of environmental conditions (salt content and herb layer coverage) on the nematode communities.

REFERENCES

1. Bongers, T., *De nematoden van Nederland*, KNNV Bibliotheekuitgave No. 46, Pirola, Schoorl, 1988.
2. Bongers, T., *The Maturity Index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition*, „Oecologia”, **83**, 1990, 14–19.
3. De Grisse, A. T., *Redescription ou modifications de quelques techniques utilisées dans l'étude des nématodes phytoparasitaires*, „Med. Fac. Landbouwwet. Gent”, **34**, 1969, 351–370.
4. Freckman, D. W., *Bacterivorous nematodes and organic matter decomposition*, „Agric. Ecosyst. Environ.”, **24**, 1988, 195–217.
5. Samoiloff, M. R., *Nematodes as indicators of toxic environmental contaminants*, in Veech, J. A., Dickson, D. W. (Eds.), *Vistas on Nematology*, pp. 433–439, Painter Printer Co., DeLeon Springs, Florida, 1987.
6. Yeates, G. W., Bongers, T., de Goede, R. G. M., Freckman, D. W., Georgieva, S. S., *Feeding habits in nematode families and genera — an outline for soil ecologists*, „J. Nematol.”, **25**, 1993, 315–331.

DOUĂ NOI SPECII DE DIPLOPODE DIN NORDUL ROMÂNIEI
(*GLOMERIDA* — *CHORDEUMATIDA*)

DELIA CRIȘAN* și TRAIAN CEUCA*

SUMMARY. — Two New Diplopod Species from the North of Romania (*Glomerida* — *Chordeumatida*). The two new species are *Glomeris inexpectata*, found in the Poiana Stampei area (Suceava county) and *Mastigophorophyllon parapenicilligerum*, found in the Pleșa Valley (Maramureș Mountains).

Glomeris inexpectata n. sp.

Lg. ♂ = 13 mm; lt. = 4 mm. Femela este, ca de obicei, mai mare. Referitor la culoarea corpului (spatelui), la prima vedere apare o oarecare asemănare cu unele forme ale lui *Glomeris connexa*. Pe fondul brun, aproape negru, există patru șiruri de pete deschise (albe) dispuse pe tergitele corpului. La cap, ocelii, organul lui Tömösváry și antenele au aspectele obișnuite. Scutul cervical și bisintergitul au conformațiile normale, neavând nimic deosebit de semnalat.

Cu toate că criteriul cel mai sigur pentru determinarea speciilor de Glomeride este conformația telopodelor (gonopodelor) de la ♂, acestea variind foarte puțin [5], după cum menționează Mauriès, totuși, studiate cu atenție, prezintă uneori suficiente diferențe pentru identificarea de noi specii [2, 3], cum este și cazul acestei specii.

La ♂ perechea 17-a de picioare este, ca de obicei, formată doar din patru articole, ale căror coxe depășesc înălțimea prefemurelor (Fig. 1a). Perechea 18-a de picioare (Fig. 1b) este și ea redusă (dar mai dezvoltată decât precedentă) la numai patru articole, cu despicătura sincoxitului, aproximativ în formă de ogivă. Perechea 19-a de picioare (Fig. 1c) sau telopodele sunt caracteristice. Prefemurul are prelungirea digitiformă lungă ca și seta de pe vârful ei. Femurul, mai înalt decât lat, incluzând (pe fața anterioară) prelungirea ei digitiformă scurtă cu seta terminală lungă, care se suprapune aici pe prelungirea în formă de măciucă. Pe partea lui posterioară, femurul are o prelungire medială lată (Fig. 1d) care acoperă și prelungirea în formă de măciucă. Tibia evident alungită, nu este prevăzută pe partea ei posterioară cu prelungirea falci-formă obișnuită și nici cu seta singulară. Tarsul svelt, neobișnuit de lung este puternic curbat posterior, având terminal mica setă obișnuită. Lobul sincoxitului este puțin înalt, în schimb prelungirile sale laterale sunt puternice depășindu-l cu mult și având vârful bifurcate. Aceste prelungiri sunt prevăzute, pe laturile lor mediale cu numeroși țepi, relativ lungi.

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

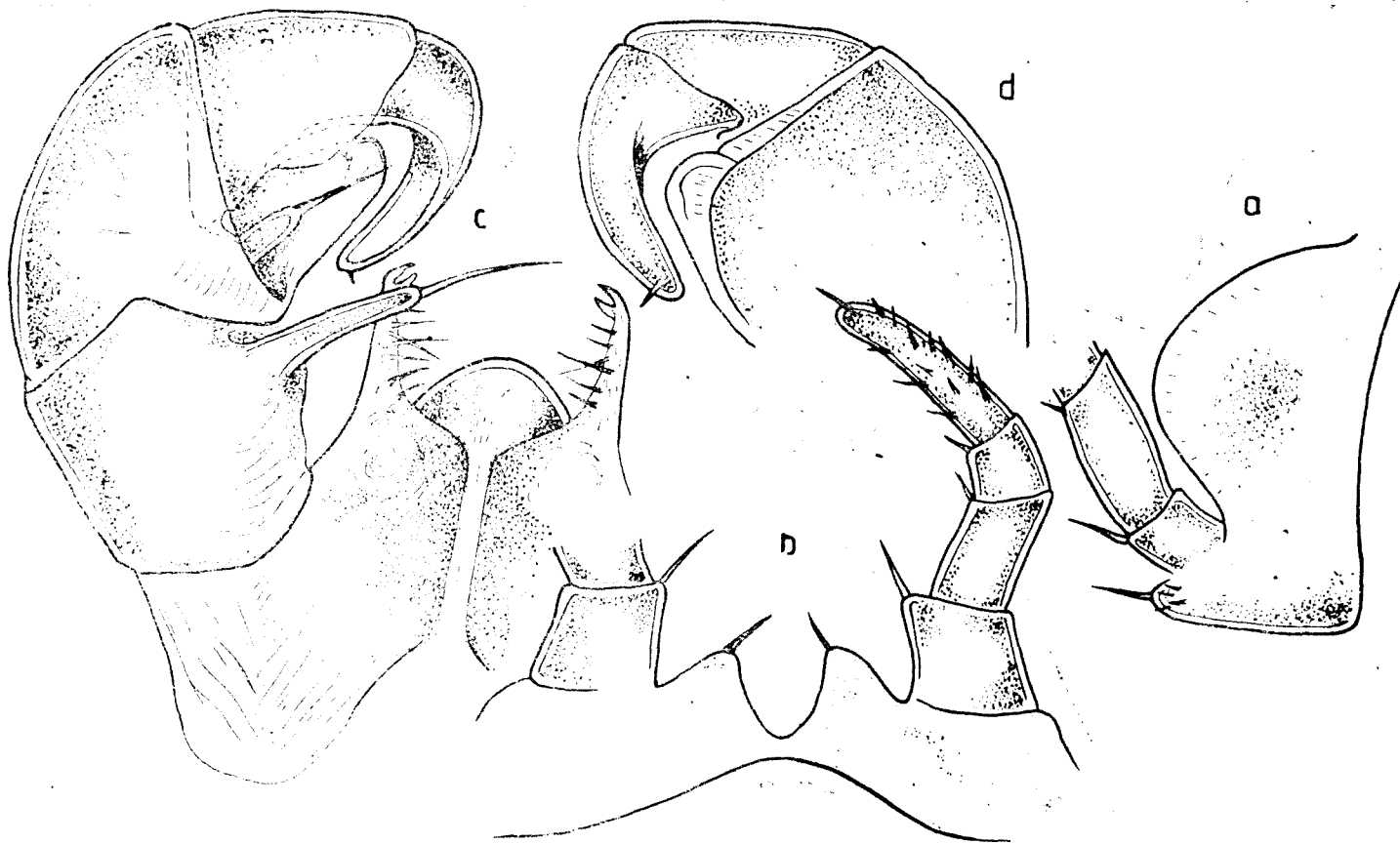


Fig. 1. *Glomeris inexpectata* n. sp.

a — Jumătatea dreaptă a perechii a 17-a de picioare. *b* — Sincoxitul perechii a 18-a de picioare. *c* — Jumătatea stângă a perechii a 19-a de picioare. *d* — Tibiotarsul perechii a 19-a de picioare, văzut posterior.

Aceste caracteristici fac ca această nouă specie să se deosebească net de *Glomeris connexa* cu care pare să aibă unele afinități [6].

Proveniența: au fost colectați 1 ♂ + 1 ♀ de la Poiana Stampei, jud. Suceava. Leg. L. Olaru în iunie 1995.

Mastigophorophyllon parapenicilligerum n. sp.

Lungimea = 13 mm, iar lățimea = 1,7 mm. De culoare brună-marmoreană cu expansiunile laterale de pe metazonite de dimensiuni obișnuite la acest gen. Cele trei perechi de macrochete sunt de dimensiuni mijlocii. Ocelii în număr de 9 de fiecare latură a capului. La ♂ perechile a 3-a la a 7-a de picioare sunt ca de obicei îngroșate. Perechile a 8-a și a 9-a au câte o pereche de săculețe coxale, iar pe a 9-a și cornulețe coxale.

Gonopodele anterioare sunt asemănătoare cu cele ale speciei *Mastigophorophyllon penicilligerum*. Se știe că importanța acestora (în cadrul familiei și nu numai) este secundară [4]. Telopoditele au doar rolul de acoperire (protecție), în timp ce cele posterioare au rolul principal de transferare a lichidului spermatic de la ♂ la ♀. S-ar putea totuși menționa că pe fețele anterioare ale acestora (gonopodele anterioare), excrescențele fine dendriforme sunt slab dezvoltate.

Gonopodele posterioare (Fig. 2, CD) sunt caracteristice: ramurile externe ale acestora sunt relativ lungi, având în jumătatea lor distală numeroase bastonașe foarte dese. Ramurile interne sunt evident bilobate. Prin aceste două aspecte [1], această nouă specie se aseamănă cu *M. penicilligerum* Verh. (Fig. 2, AB).

Pentru o mai bună delimitare între aceste două specii, dăm mai jos o caracterizare, în paralel, a gonopodelor posterioare.

Mastigophorophyllon penicilligerum

- Ramurile externe sunt lungi curbate medial (îndoite posterior). Fiind prevăzute, în treimea lor distală cu bastonașe foarte dese.
- Ramurile interne sunt aproximativ bilobate; lobii mediali relativ butucănoși se prelungesc distal cu câte o ramură subțire, relativ lungă fiind „păroasă” numai pe marginea medială.
- Ceilalți lobi, situați între ramurile externe și lobii mediali sunt intim atașați de ramurile externe și evident foarte apropiați de cei mediali. De pe ei

M. parapenicilligerum n. sp.

- Ramurile externe sunt evident mai scurte, curbate medial având în jumătatea lor distală tot bastonașe dese.
- Ramurile interne sunt evident bilobate; lobii mediali, aproximativ de formă patrată, au și ei ramurile distale, ceva mai scurte, fiind „păroase” pe ambele laturi.
- Ceilalți lobi cuprinși între ramurile externe și lobii mediali sunt separați clar de ramurile externe și evident și de lobii mediali printr-o largă excava-

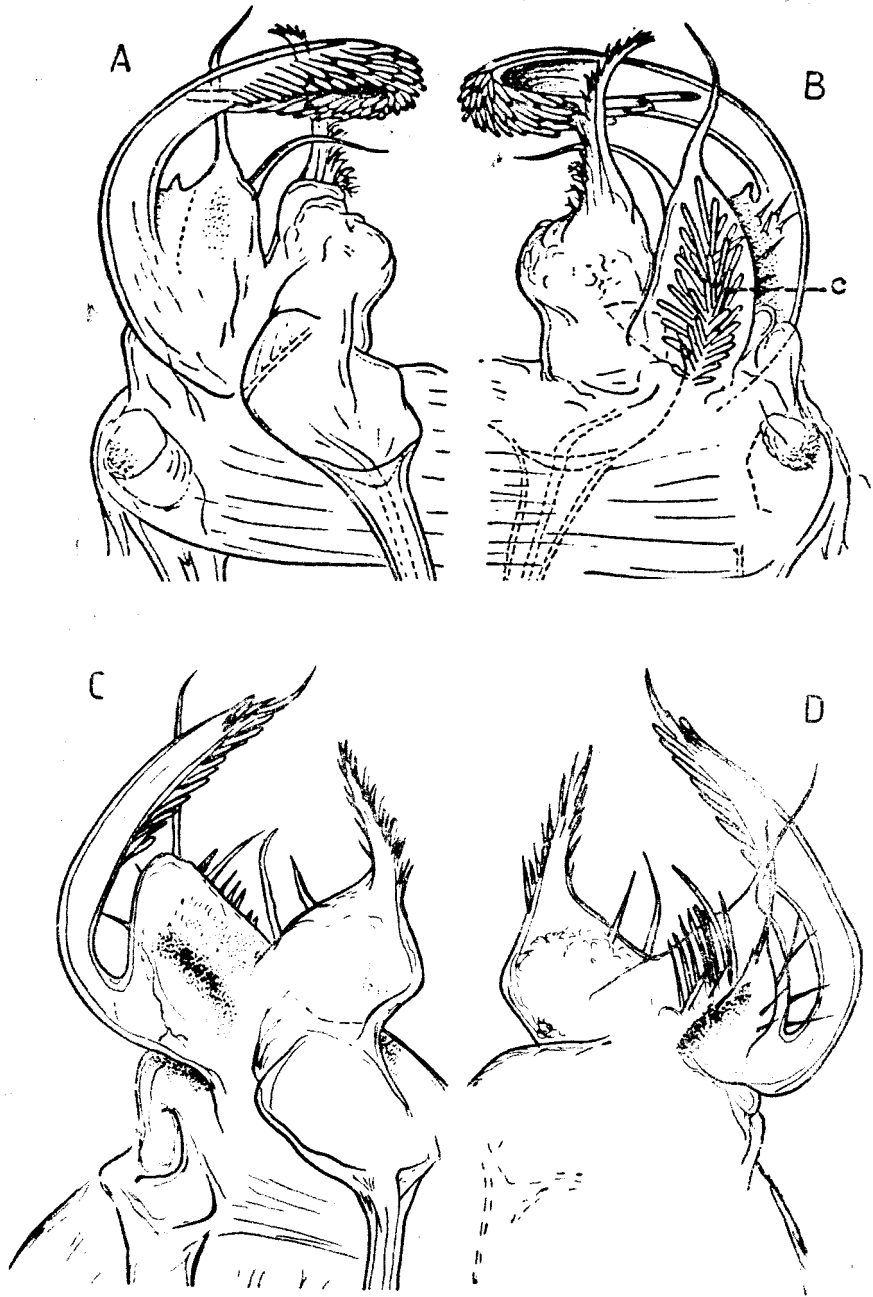


Fig. 2. A și B — *Mastigophorophyllon penicilligerum* Verh. 1899.
 A — Gonopodul stâng posterior, văzut anterior. B — Același gonopod, văzut posterior.
 C și D — *Mastigophorophyllon parapenicilligerum* n. sp.
 C — Gonopodul stâng posterior, văzut anterior. D — Același gonopod, văzut posterior.

- se desprind câte doi flageli; unul îndreptat distal, iar celălalt îndoit medial.
- Pe părțile posterioare ale lobilor cu flageli, există câte două rânduri de bastonașe dispuse în formă de pană.
 - Colectat din Munții Rodnei.
- Pe părțile posterioare ale lobilor cu câte un flagel, există numai câte un rând de bastonașe cu aspect de țepi oblice dispuși.
 - Colectat din Munții Maramureș.

Proveniența: au fost colectați 2 ♂♂ + 1 ♀ în 19-IX-1979 de pe valea Pleșa (afluent al Vaserului) din Munții Maramureșului.

BIBLIOGRAFIE

1. Ceuca, T., *Genul Mastigophorophyllon Verh. 1897* (Diplopoda -- Ascopermophora), „Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Biol.”, **21**, 1976, 37—43.
2. Ceuca, T., *Genul Glomeris Latr. 1802 în fauna de Diplopoade a României (cu câteva aspecte teratologice)*, „Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Biol.”, **34** (2), 1989, 49—55.
3. Crișan, D., Ceuca, T., *Diplopoade (Glomerida — Glomeridae) din România — Zona Dornelor, Moldova și Nordul Olteniei. Nota a III-a*, „Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Biol.”, **42** (1—2), 1997, 67—74.
4. Demange, J. M., *La reproduction des myriapodes*, „Millepatia”, Nr. 5, 1996, 1—35.
5. Mauriès, J. P., *Essai de classification des Glomeroidea*, „Bul. Soc. Hist. Nat. Toulouse”, **107** (2—4), 1971, 294—326.
6. Stojalowska, W., *Krocionogi (Diplopoda) Polski*, p. 37—43, Pol. Akad., Warszawa, 1961.

INFLUENȚA TEMPERATURII ASUPRA CREȘTERII,
DEZVOLTĂRII ȘI CONSUMULUI DE HRANĂ LA LARVELE
DE MAMESTRA BRASSICAE L. (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)
ÎN CONDIȚII DE LABORATOR

GHEORGHE STAN*

SUMMARY. — Influence of Temperature on Growth, Development and Food Consumption by Larvae of *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae) under Laboratory Conditions. Growth and development of *Mamestra brassicae* larvae were studied at five constant temperatures under laboratory conditions. A number of six instars were recorded. At 30°C, and even at 25°C, a number of seven instars were registered. The mean ratio value of head capsule widths in the *M. brassicae* larval instars was about 1.586 and was correlated with temperature and age. The increase of temperature within the range of 10–30°C was correlated with a decrease in larval stage duration and the highest survival rate was recorded at 20°C. The lower developmental thermal threshold for *M. brassicae* larval stage was 8.92°C and about 382 degree-days (DD) were necessary for a complete stage development. The number of DD varied with larval age and temperature. A linear function showed a good fitting between developmental rate of larval stage and temperature, but it is possible that extension of the temperature range (under 10° and over 30°C) would have probably resulted in a non-linear developmental curve, as in most of other insects. The relation between log temperature and developmental rate (reduced to reciprocal units of development — URD) also showed a linearity in the interval of 15–30°C. Growth rates and efficiencies as well as consumption of the diet were analysed depending on temperature. A number of eight parameters were estimated. Their values varied in relation to temperature. The mean values of the efficiency of conversion of ingested food into biomass, E_{CIIn} (34.57%) and of the efficiency of conversion of digested food into biomass, E_{CHD} (33.95%) are placed at the level of the other values recorded for other lepidopteran species.

Obținerea unor populații de insecte cu comportament nemodificat, mai ales la speciile dăunătoare sau importante din punct de vedere economic, în condițiile creșterii de generații succesive pe diete artificiale, impune studii detaliate asupra factorilor care influențează creșterea, dezvoltarea, zborul, hrănirea sau reproducerea. Dintre aceștia, rolul cel mai important îl au temperatura și lumina, factori care la insecte, și în special la noctuide, influențează activitatea pe două căi: a) prin acțiunea directă a valorilor extreme sau din exteriorul intervalului optim, situație în care activitatea este prevenită, diminuată sau înlăturată; b) prin fluctuații sau combinații care determină timpul de activitate și periodicitatea de manifestare [13]. O serie de alți factori (biotici, dependenți de condițiile ecosistemelor, populaționali, climatici

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



etc.) au o semnificație la fel de mare, iar cunoașterea lor poate elucida mecanismele care stau la baza dezvoltării sau a manifestărilor comportamentale.

Lucrarea cuprinde rezultatele obținute în studiul influenței temperaturii asupra creșterii, dezvoltării și consumului alimentar la larvele de *M. brassicae* pe baza datelor obținute în studii efectuate pe diferite generații aparținând mai multor linii de creștere (sușe) acclimatizate în laborator.

Material și metode. *Originea liniilor, hrănirea și condițiile de creștere.* Materialul biologic folosit în experimentări a provenit din liniile de creștere L.F (cu 52 generații), C și L (cu 15 generații), LV și V (cu 7 generații) [15], iar datele reprezintă rezultatul cercetărilor efectuate în perioada 1989—1995. Creșterea speciei *Mamestra brassicae* s-a făcut în condiții controlate de laborator, pe dietă artificială cu agar [16]. Condițiile de creștere pentru populația-sursă au fost: temperatura de $24 \pm 1^\circ\text{C}$; fotoperioada de 16:8 ore — lumină: întuneric; umiditatea $> 70\%$. Pentru menținerea heterogenității la sușele din laborator, pentru unele linii populația s-a suplimentat anual cu material biologic din câmp, provenit din pupe diapauzate sau prin control dirijat al creșterii (selecția adulților viguroși, ponte mari provenite numai de la femele care au fost fertile, excluderea pupelor anormale, excluderea primelor și ultimelor emergente). Populațiile de larve au provenit din ooplăcile constituite din număr mare de ouă, dispuse pe rundele decupate din hârtia de filtru folosită ca suport pentru ovipozitare în vasele de imperechere. S-a folosit metoda de creștere în cutii Petri și sistem celular cu rărire progresivă în funcție de vârstele larvare [15, 16].

Creșterea și dezvoltarea larvară în funcție de temperatură. S-a folosit un regim termic constant, fără termopenioadă, care a inclus temperaturile de 10, 15, 20, 25 și 30°C . În fiecare variantă ($N = \text{minim } 500$ indivizi) s-au înregistrat următorii parametri: durata stadiului, mortalitatea și supraviețuirea la nivel de vârste și în faza de prepupă, procentul de împupare, numărul de vârste larvare și variația raportului de mărime al capsulei cefalice.

Studiul creșterii larvare pe vârste. Fiecare vârstă larvară a fost delimitată de două năpărliri succesive. Lățimea capsulei cefalice (în mm) a fost măsurată pentru fiecare vârstă. S-a folosit observarea la binocular cu ajutorul micrometrului ocular. Datele sintetizate provin de la un număr minim de 200 larve pentru fiecare vârstă.

Consumul, utilizarea și conversia hranei. Pentru studiile cantitative asupra consumului de hrană și evoluția creșterii și dezvoltării, s-au folosit următorii indici caracteristici: rata relativă de creștere (R_{CR}) [reprezintă raportul dintre sporul în greutate uscată (S_{SU}), estimat în mg, și produsul dintre durata de timp (în zile) și biomasa medie; timpul se referă la durata perioadei de hrănire (D_{PH}), iar biomasa medie la media greutateii larvelor (G_1) în perioada de hrănire (estimată inițial și la final); sporul în greutate sau câștigul în biomasă, este diferența dintre biomasa finală și cea inițială; în condițiile în care s-au făcut experimente cu larve pe vârste, pentru a determina rata de creștere (sau de consum) în funcție de vârsta larvară, câștigul în greutate a fost estimat ca diferența dintre greutatea pupei și greutatea larvei, la începutul experimentului (estimările se exprimă în greutate uscată)], rata relativă de consum (R_{CGR}) [este raportul dintre cantitatea (mg) de hrană consumată (C_{SU}), în greutate uscată și produsul dintre durata de timp (în zile) și biomasa medie (semnificația duratei de timp este aceeași ca la rata relativă de creștere)], asimilația (Δ) [reprezintă diferența dintre cantitatea de hrană consumată (C_{SU}) și greutatea uscată a excrementelor (EX_{SU}) raportată la cantitatea de hrană consumată (C_{SU})], eficiența conversiei hranei ingerate (E_{CHIn}) [exprimă raportul dintre sporul în greutate uscată (S_{SU}) și cantitatea de hrană consumată (C_{SU})], eficiența conversiei hranei digerate (E_{CHD}) [este sporul în greutate uscată (S_{SU}) raportat la diferența dintre consumul de hrană uscată (C_{SU}) și greutatea uscată a excrementelor (EX_{SU})] [4, 17, 18]. Pentru măsurarea hranei consumate și utilizate s-a folosit tehnica gravimetrică [17]. Larvele au fost inițial cântărite după care au fost puse la uscat (48 ore la 60°C), apoi s-au recântărit imediat pentru a stabili procentual

greutatea uscată. Dieta artificială în fiecare variantă experimentată a fost de asemenea cântărită inițial, iar la sfârșitul experimentului s-a recântărit. Un cub de hrană similar și de aceeași greutate cu cel pus în hrănire s-a cântărit atât umed cât și uscat, iar cu hrana rămasă după terminarea experimentului s-a procedat în același mod.

Cantitatea de hrană consumată (în greutate uscată) s-a estimat prin diferența dintre greutatea inițială și greutatea rămasă. Excrementele au fost colectate zilnic sau la intervale de două zile (separat pe variante) și, după ce s-a sfârșit perioada de experimentare, s-au uscat și apoi s-au cântărit. Pupele s-au cântărit proaspete, apoi s-au uscat și s-au recântărit pentru a înregistra greutatea finală uscată. Pentru prepupe s-a procedat în mod similar ca și la larve. Sporul în greutate (câștigul în greutate) a fost estimat ca diferența dintre greutatea uscată a pupei și greutatea larvei la începutul experimentului [17].

Prelucrarea datelor. Datele obținute au fost prelucrate statistic, pentru analiza variației fiind folosit Duncan's New Multiple Range Test, cu transformarea inițială a șirului de date în $\log(x+1)$ [14]. Pragul inferior de dezvoltare (p_i) și numărul de grade-zile (Z°) necesare pentru completarea stadiului larvar (sau la nivel de vârste) s-a estimat cu ajutorul ecuației regresiei liniare ($Y = a + bX$) a ratei de dezvoltare ($Y = 1/d = r_d$) în funcție de temperatura constantă (X) [5]. Metoda liniară (metoda grade-zile) este cea mai comună pentru calcularea ratei de dezvoltare. Numărul de unități termice (Z°) = $(t - p_i)d$ (t = temperatura constantă; p_i = pragul de dezvoltare; d = timpul de dezvoltare în zile) [3, 10]. Pragul inferior (p_i) a fost estimat prin metoda interceptării axei Ox de către linia de regresie [2]. Temperatura obținută la locul de intersecție corespunde ratei de dezvoltare egală cu 0 ($r_d = 0$), sugerat de locul în care linia de regresie a intersectat pe axa Ox și definește temperatura sub care nu a mai avut loc dezvoltarea.

O altă modalitate de analiză a fost relația dintre temperatură și durata de dezvoltare (d) sau dintre temperatură și unitățile reciproce de dezvoltare (URD) [6]. Aceasta este o modalitate de predicție prin evaluarea proporției de dezvoltare. O unitate URD reprezintă raportul dintre un anumit interval al duratei de dezvoltare și durata de dezvoltare a stadiului (URD = $2/Da$; în această situație noi am folosit un interval de 2 ore). Relația dintre temperatură și creșterea larvară, în cadrul diferitelor variante experimentale, a fost apreciată cu ajutorul coeficientului de corelație (r).

Pe lângă rata relativă de creștere (R_{RC}) [17], s-a determinat și rata de creștere zilnică (R_{Cz}) după relația $R_{Cz} = (\log G_f - \log G_i)/n$ (R_{Cz} = rata de creștere zilnică; G_f = greutatea finală; G_i = greutatea inițială; n = numărul de zile între măsurători).

Rezultate și discuții. *Delimitarea vârstelor larvare.* Datele acestui studiu reprezintă primele considerații aprofundate asupra dezvoltării larvare la *Mamestra brassicae* și variația numărului de vârste dependent de temperatură, în condiții experimentale controlate. Stadiul de larvă a înregistrat 6—7 vârste plus faza de prepupă (Pp). Datele obținute au confirmat că numărul vârstelor larvare și durata lor sunt influențate de temperatură. La temperaturi mai mici de 25°C și o foto-perioadă de 16:8 ore, specia a prezentat 6 vârste larvare. Lungimea acestora a fost corelată cu temperatura, iar la 30°C și parțial la 25°C a fost semnalată și vârsta a VII-a. Prelucrarea datelor arată că valoarea raportului de variație al lățimii capsulei cefalice (R_v) între vârste succesive s-a înscris în limite apropiate, atât ca valoare medie cât și ca valori individuale la nivelul fiecărei diete (Tabel 1).

Valorile medii ale raportului de variație pentru populații cu 6 și 7 vârste larvare s-au dovedit a fi corelate cu valorile regimului termic experimentat. Astfel, pentru populații cu 6 vârste larvare valorile R_v

Tabel 1

Intervalul de variație al dimensiunilor capsulei cefalice (mm) în funcție de vârsta larvelor speciei *Mamestra brassicae*

Creștere în condiții de laborator. Pentru intervalul 15–25°C au fost evidențiate 6 vârste. La 30°C (9,8%) și, în măsură mai mică, la 25°C (4,2%) a fost evidențiată și vârsta a VII-a

Vârsta	Intervalul de mărime al capsulei cefalice (mm ± AS) în funcție de numărul de vârste necesare pentru dezvoltare completă*			
	6 vârste		7 vârste	
	Interval	R_v^{**}	Interval	R_v^{**}
I	0,242–0,307 (86)		0,243–0,298 (76)	
II	0,435–0,551 (92)	II/I – 1,785	0,440–0,549 (94)	II/I – 1,982
III	0,788–0,989 (86)	III/II – 1,720	0,790–0,986 (88)	III/II – 1,798
IV	1,371–1,682 (112)	IV/III – 1,556	1,302–1,598 (132)	IV/III – 1,510
V	2,207–2,685 (164)	V/IV – 1,534	1,795–2,202 (106)	V/IV – 1,375
VI	3,187–3,985 (122)	VI/V – 1,669	2,542–3,082 (93)	VI/V – 1,327
VII			3,144–3,752 (148)	VII/VI – 1,126

* Valorile din paranteză reprezintă numărul de larve.

** Valoarea raportului de variație al lățimii capsulei cefalice între vârste succesive.

au fost: la 15°C — 1,888; 20°C — 1,785; 25°C — 1,661; 30°C — 1,527; 34°C — 1,412. Pentru populațiile cu 7 vârste larvare, valorile R_v au fost: la 15°C — 1,874; 20°C — 1,778; 25°C — 1,562; 30°C — 1,501; 34°C — 1,396. Se constată că pentru valori mai mici de 25°C, valorile R_v au fost foarte apropiate, iar un decalaj mai mare (la nivel de medie) s-a înregistrat la regimul termic cu valori ridicate. Indiferent de numărul de vârste înregistrat la nivel populațional, pentru primele trei vârste intervalul de variație a mărimii a fost aproape similar, valorile raportului de variație fiind foarte apropiate (valoarea medie pentru R_{v6} (I—III) = 1,687, iar R_{v7} (I—III) = 1,763). Începând cu vârsta IV, variațiile au fost mai pronunțate, dar la nivelul întregului stadiu larvar valorile medii au fost totuși apropiate (R_{v6} = 1,653; R_{v7} = 1,519).

Temperatura a influențat și durata vârstelor larvare, existând diferențe semnificative pentru valorile mai mici sau mai mari ale intervalului termic analizat (Tabel 2).

Rezultate interesante au fost obținute și la alte specii de insecte. Astfel, la *Nomophila nearctica* (*Pyralidae*), au fost evidențiate 6 vârste, pentru intervalul de temperatură cuprins între 15 și 33°C, iar lățimea capsulei cefalice a evoluat între 0,249 mm (L_I) — 1,768 mm (L_{VI}). Rata de variație (R_v), de la o vârstă la alta, a lățimii capsulei cefalice la această specie a fost în medie de 1,54 [10]. Cercetări laborioase arată că rata de variație a lățimii capsulei între vârste succesive, la lepidoptere, este în jur de 1,4 [19]. Valoarea medie obținută pentru *M. brassicae*

Tabel 2

Durata perioadei de dezvoltare (zile) a larvelor *Mamestra brassicae*, la nivelul vârstelor, în condițiile creșterii pe dietă artificială la 5 temperaturi constante în condiții de laborator
Intervalul de variație a fost de $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$

T ($^{\circ}\text{C}$)	Durata de dezvoltare (\bar{x} zile \pm AS) pe vârste*						Prepupă
	I	II	III	IV	V	VI	
10	$12,8 \pm 2,1^{\text{al}}$	$14,8 \pm 1,0^{\text{al}}$	—	—	—	—	—
15	$9,2 \pm 0,4^{\text{bmp}}$	$10,2 \pm 0,7^{\text{bp}}$	$8,0 \pm 1,3^{\text{am}}$	$8,8 \pm 1,6^{\text{amp}}$	$7,8 \pm 2,2^{\text{am}}$	$7,8 \pm 2,8^{\text{am}}$	5,1
20	$4,4 \pm 0,5^{\text{cr}}$	$5,4 \pm 0,8^{\text{cu}}$	$5,0 \pm 0,9^{\text{bnr}}$	$4,6 \pm 1,1^{\text{bur}}$	$4,3 \pm 1,0^{\text{br}}$	$3,8 \pm 1,6^{\text{br}}$	3,1
25	$2,4 \pm 0,1^{\text{do}}$	$2,2 \pm 0,5^{\text{do}}$	$2,8 \pm 0,6^{\text{cop}}$	$3,0 \pm 0,6^{\text{cop}}$	$3,5 \pm 0,8^{\text{bp}}$	$4,2 \pm 0,8^{\text{bp}}$	2,5
30	$2,5 \pm 0,2^{\text{do}}$	$2,0 \pm 0,3^{\text{do}}$	$2,2 \pm 0,5^{\text{co}}$	$1,8 \pm 0,2^{\text{do}}$	$2,4 \pm 0,4^{\text{bo}}$	$3,1 \pm 0,6^{\text{bo}}$	2,2

* Aceeași literă indică diferențe nesemnificative: în cadrul fiecărei vârste, în funcție de temperatură (grupul a, b, c, d, e); pentru aceeași temperatură, dar între vârste (grupul l, m, n, o, p, r); D'sNMRT; P = 0,05.

în cercetările efectuate pentru acest studiu este de 1,586. Dyar [citat în 12] a fost primul care în 1890 a arătat că lățimea capsulei cefalice între vârste succesive a crescut cu un factor constant, la o specie dată. Diferite combinații dintre temperatură și fotoperioadă au indicat prezența a 5, 6, 7 și 8 vârste la *Xestia c-nigrum*. La $18,5^{\circ}\text{C}$ și 16 : 8 ore (lumină : întuneric) au existat 6 vârste și dezvoltarea larvară completă a durat cca 30 zile. La un regim fotoperiodic de zi scurtă (10 : 14), majoritatea larvelor au prezentat tot 6 vârste, dar durata de dezvoltare larvară a fost mai mare. Un număr mic de larve au prezentat 7 și 8 vârste, iar o singură larvă chiar 9 vârste [8]. La *Agrotis ipsilon* pentru valorile de temperatură de 13, 20, 27 și 34°C au existat dominant 7 vârste, dar și 6, 8 și chiar 9 vârste [1]. După diverși autori citați, această variație a numărului a fost dependentă de hrană, umiditate și temperatură. Modelul de evoluție al dimensiunilor capsulei cefalice nu a evidențiat însă existența unui factor constant al ratei în trecerea succesivă de la o vârstă la alta. Valoarea medie a fost 1,61, 1,39 și 1,49, pentru stadiul cu 6, 7 și, respectiv, 8 vârste. În plus, la această specie se remarcă alte două aspecte: pentru primele 3 vârste nu au existat diferențe privind variația dimensiunilor; în paralel cu creșterea numărului de vârste s-a observat și o creștere a mărimii larvelor începând cu vârsta IV. Factorul de variație a lățimii capsulei cefalice la specia *Aproaerema modicella* (Gelechiidae) a fost cuprins între 1,39 și 1,67 [12]. La aceeași specie un studiu anterior a avut valoarea medie 1,61. La specia *Grapholitha molesta* s-au evidențiat 4—5 vârste larvare [11], constatând că temperaturile ridicate (30°C) au favorizat apariția unei populații larvare mixte, cu 4 și cu 5 vârste. Vârsta a V-a a apărut numai la temperaturile ridicate, la care și dezvoltarea a fost rapidă. Pe de altă parte, vârsta a V-a a fost prezentă și atunci când dezvoltarea

Influența temperaturii asupra duratei stadiului larvar, supraviețuirii și mortalității la specia *Mamestra brassicae*, în condițiile creșterii în laborator pe dietă artificială, D152—M
Intervalul de variație pentru fiecare temperatură a fost de $\pm 0,5-1^{\circ}\text{C}$

Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	Durata stadiului larvar (\bar{x} zile \pm AS)	Larve moarte C_v^* (%)	Prepupe moarte (%)	Supraviețuire (%)	
10	—	—	—	—	
15	$56,34 \pm 2,86$	3,254	16,45	28,71	54,84
20	$30,61 \pm 1,17$	2,416	5,86	5,97	88,17
25	$21,08 \pm 0,76$	1,822	7,97	7,77	84,26
30	$16,28 \pm 0,62$	4,168	28,84	12,63	58,55

* Coeficientul de variație.

larvară a fost încetinită, fie de temperaturi scăzute, fie de o calitate slabă a hranei. Referitor la variațiile dimensiunilor capsulei cefalice, la temperaturi de $17,5$ și 20°C media lățimii a fost similară (corespunzător pentru aceeași vârstă), în timp ce la 15°C au fost semnificativ mai mici. În plus, măsurătorile au sugerat o lățime mai mare a capsulei imediat după năpârlire (pentru toate vârstele), comparativ cu oricare alt moment din perioada unei vârste. La specia *Pyrrharctia (Isia) isabella*, timpul de dezvoltare și numărul de vârste au crescut în cazul unei fotofaze mai mari de 14 ore, fotoperioada fiind mai importantă decât temperatura [7].

Creșterea și supraviețuirea larvelor în relație cu temperatura. Pentru stadiul larvar analizat ca o entitate distinctă, rezultatele sunt prezentate în Tabelul 3. În ceea ce privește influența temperaturii asupra stadiului larvar luat ca întreg, pe intervalul studiat, durata stadiului s-a redus progresiv odată cu creșterea temperaturii. Un optim a existat pe intervalul $20-25^{\circ}\text{C}$. S-a constatat însă că valorile termice de la marginea intervalului au determinat o creștere a mortalității la larve și pupe și o reducere a ratei de supraviețuire, aspecte ilustrate și de valorile coeficientului de variație.

Pe intervalul $15-30^{\circ}\text{C}$, relația dintre temperatură și rata de dezvoltare (r_d ; $1/t$) a fost în mod eficient analizată cu ajutorul ecuației de regresie (Tabel 4). Ilustrarea trendului dreptelor de regresie la nivelul fiecărei vârste, comparativ cu evoluția pentru întreg stadiul larvar, pune în evidență amplitudinea și modelul particular sau specific al relației între cei doi parametri. În paralel cu trecerea de la o vârstă la alta a crescut și numărul de unități termice cumulate (grade-zile; $^{\circ}\text{Z}$) necesare pentru o dezvoltare completă a stadiului larvar, dar valoarea temperaturii pragului inferior de dezvoltare (p_i ; K) a scăzut, larvele tinere fiind astfel mult mai sensibile. Pentru întregul stadiu larvar valoarea pragului termic inferior reprezintă aproximativ o medie a valorilor în-

Tabel 4

Ecuatiile de regresie ale ratei de dezvoltare a larvelor pe vârste la *Mamestra brassicae*, în relație cu temperatura (pe intervalul 10–25°C)

Vârsta	Ecuație de regresie ^a	R ²	°Z ^b	p _i ^c
I	$Y = -0,16024 + 0,092X$	0,842	38,49	11,4
II	$Y = -0,12761 + 0,062X$	0,886	47,05	10,2
III	$Y = -0,09812 + 0,040X$	0,924	53,89	9,6
IV	$Y = -0,02872 + 0,082X$	0,908	59,68	9,2
V	$Y = -0,05641 + 0,066X$	0,948	81,49	7,4
VI	$Y = -0,06722 + 0,009X$	0,968	100,77	5,7
Larva	$Y = -0,08038 + 0,006X$	0,926	381,85	8,92

^a Nu au fost înregistrate deviații de la liniaritate ($P = 0,05$) pentru intervalul termic 15–25°C, pentru toate vârstele și întregul stadiu larvar.

^b Numărul de unități termice cumulate (grade-zile).

^c Pragul inferior de dezvoltare.

Tabelul 5

Numărul de unități termice cumulate (grade-zile) necesare pentru fiecare vârstă a larvelor de *Mamestra brassicae* la nivelul a 4 valori ale regimului termic folosit în testările din laborator

Vârsta larvară	Valoarea lui Z (grade-zile) pentru 4 regimuri termice experimentate				
	10°C	15°C	20°C	25°C	Media
I	13,31	38,91	64,51	37,26	38,49
II	19,14	47,29	75,44	46,32	47,05
III	26,75	53,50	80,50	54,84	53,89
IV	35,92	59,93	83,94	58,94	59,68
V	62,52	85,27	102,02	76,15	81,49
VI	81,30	109,45	119,60	92,27	100,77
Larva	238,94	393,65	526,01	365,78	381,85

registrate pentru vârstele larvare. Dinamica valorilor lui °Z, la nivelul fiecărei vârste larvare, a evidențiat că numărul cel mai mare de unități termice cumulate necesare pentru o dezvoltare completă a stadiului larvar a fost înregistrat la 20°C (Tabel 5).

Un model similar al ecuației de regresie în relația dintre temperatură și rata de dezvoltare a fost obținut pentru *Mamestra brassicae* și în condițiile în care studiul a fost efectuat la o linie de creștere recent aclimatizată pentru un studiu de creștere simultană a mai multor specii de insecte dăunătoare, pe o dietă artificială plurispecifică (Tabel 6). Trendul dreptelor de regresie obținute prin reprezentare grafică

Tabel 6

Studiul relației dintre rata de dezvoltare (r_d) a stadiului larvar și temperatură (pe intervalul 16–28°C), în condiții de laborator, pentru 4 specii de lepidoptere noctuide

r^2 = gradul de determinare; K = temperatura de prag minim de dezvoltare

Specia	Ecuatia de regresie	r^2	K
M. brassicae	$Y = -0,07036 + 0,00491 X$	0,92	10
X. c-nigrum	$Y = -0,02244 + 0,09868 X$	0,88	8
L. oleracea	$Y = -0,06644 + 0,12487 X$	0,96	10
P. bombycina	$Y = -0,01212 + 0,10124 X$	0,86	9

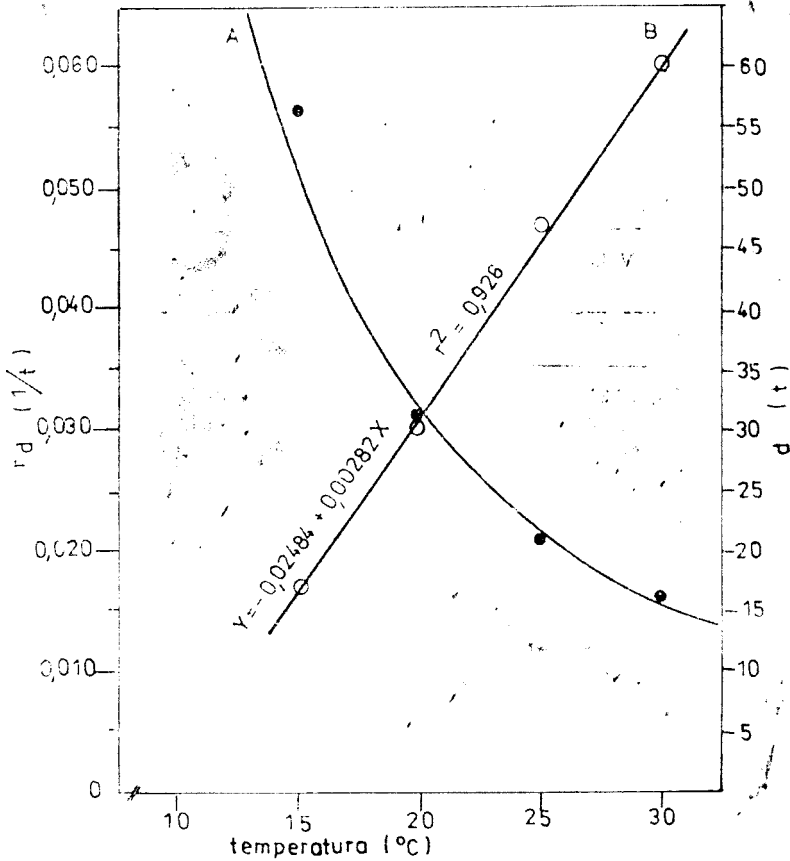


Fig. 1. Relația dintre temperatură și durata de dezvoltare (d) în zile (A) sau rata de dezvoltare (r_d) (B) a larvelor de Mamestra brassicae în condițiile creșterii speciei în laborator.

pune în evidență modelul specific particular al dezvoltării, iar abaterile înregistrate constituie o sursă de informații asupra nivelului de deviație de la normalitate și sugerează gradul de influență al factorului analizat sau calitatea populației.

Reprezentarea grafică a relației dintre temperatură și durata de dezvoltare (d ; t) se derulează după modelul unei relații exponențiale de tipul $Y = 114,6e^{-0,57X}$. În schimb, pentru rata de dezvoltare (r_d ; $1/t$) s-a obținut o dreaptă de regresie (cu ecuația de tipul $Y = 0,025 + 0,003X$) care evidențiază mai corect relația cu temperatura, iar pentru intervalul 15—30°C nu s-a observat o abatere de la liniaritate (Fig. 1). Rezultate similare s-au obținut și în situația în care a fost analizată relația dintre temperatură (\log) și rata de dezvoltare la nivelul unităților reciproce de dezvoltare (URD) (Fig. 2).

Datele din literatura de specialitate arată că este eficientă luarea în considerare a ratei de dezvoltare pentru a atenua impreciziile care apar la extremitățile intervalelor termice analizate. Chiar și în această situație, la acest nivel liniaritatea relației poate fi afectată și la multe specii s-a dovedit a exista în realitate o relație ilustrată de o curbă. Nu este exclus ca acest model să fie valabil și pentru *Mamestra bras-*

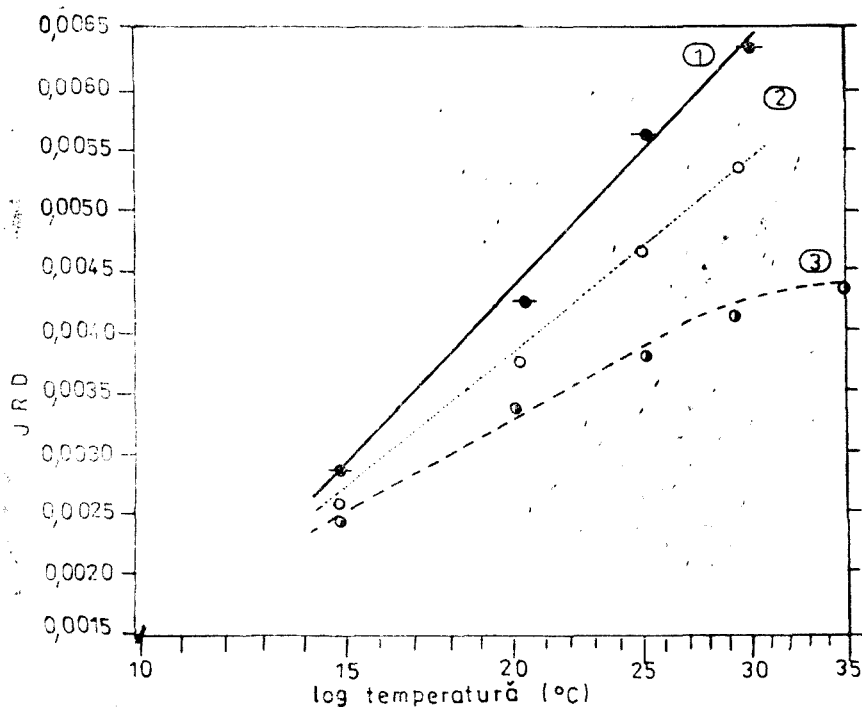


Fig. 2. Ecuatiile de regresie pentru unitățile reciproce de dezvoltare ale stadiului larvar pe vierse, la specia *Mamestra brassicae* (1) în funcție de temperatură (\log); comparativ sunt prezentate date pentru *Nestia c-nigrum* (2) și *Autographa gamma* (3).

sicae în condițiile extinderii intervalului termic, dar deocamdată liniaritatea s-a păstrat.

În aceste studii făcute la *M. brassicae*, pe intervalul termic 10—30°C, rata de supraviețuire cea mai ridicată a fost obținută la 20°C. La temperaturi mai mici și mai mari, mortalitatea a crescut progresiv, atât la larve cât și la pupe. Pentru populații din Norvegia ale acestei specii cel mai mare procent de supraviețuire al larvelor a fost înregistrat la 18°C, în condițiile unui interval cuprins între 5—23°C [9]. Diferențele sunt evident asociate cu comportamentul populațiilor geografice, dependent de regimul termic care acționează diferit în funcție de latitudinea geografică.

În condiții de laborator, valorile de prag termic inferior au fost corelate la *M. brassicae* cu vârsta larvară și valoarea a scăzut progresiv odată cu înaintarea în vârstă. Pentru intervalul 10—25°C, valoarea medie de prag a fost 8,92°C, iar pentru dezvoltarea completă a stadiului larvar a fost nevoie de cca 382 grade-zile. Pentru fiecare regim termic analizat, valoarea cea mai mare a fost obținută la 20°C (Tabelele 4 și 5). Studii făcute și la alte linii, în aceleași condiții, au pus în evidență și valori mai apropiate de 10°, zonă în care sunt situate și alte specii de noctuide din România (Tabel 6). Date recente, obținute pentru populațiile speciei *M. brassicae* din Norvegia, arată că valoarea de prag inferior a fost de 5,4°C și au fost necesare 496 grade-zile pentru dezvoltarea stadiului larvar [9].

Deosebiri evidente există și în ceea ce privește influența temperaturilor extreme asupra modelului comportamental, dar și din punct de vedere fiziologic. Temperaturile scăzute au indus un comportament locomotor activ, periodicitatea hrănirii este frecvent întreruptă, iar durata stadiului larvar se prelungeste mult. În schimb, la temperaturi ridicate, activitatea locomotoare se diminuează, hrănirea aparent decurge normal, dar mortalitatea apare ca rezultat al modificărilor ireversibile ale metabolismului [19].

Consumul, utilizarea și conversia hranei în relație cu temperatura. Rezultatele obținute constituie primele informații privind cantitatea de hrană consumată și modul de utilizare de către larvele de *Mamestra brassicae*. Temperatura a influențat și evoluția valorilor parametrilor de estimare a consumului și conversiei hranei. Valorile obținute la 30°C arată o diminuare a activității de hrănire (Tabel 7).

Pentru larvele mature datele indică un consum cantitativ semnificativ al dietei artificiale, iar valorile indicilor referitori la eficiența conversiei hranei sunt situate la 34,57% pentru E_{CHIn} și 33,95% pentru E_{CHD} . Datele au evidențiat că, paralel cu o creștere a temperaturii pe intervalul 15—30°C, a scăzut cantitatea hranei ingerate. O evoluție similară au înregistrat și valorile indicelui sporului în greutate, ale ratei de creștere și ale ratei de consum. Pentru indicii E_{CHIn} (eficiența conversiei hranei ingerate) și E_{CHD} (eficiența conversiei hranei digerate), o creștere a temperaturii pe intervalul 15—30°C a coincis cu o scădere progresivă a valorilor medii ale acestora. O extindere a studiului pe intervalul 20—25°C arată

Tabel 7

**Variația consumului de hrană și a valorii de utilizare și conversie a
dietei artificiale la larvele de *Mamestra brassicae*, în relație cu
temperatura**

Date pentru larve de vârsta V. N = 120—186; 4 generații diferite; două linii de creștere

Temp. (°C)	P a r a m e t r i *							
	C _{GU} (mg)	Ex _{GU} (mg)	S _{GU} (mg)	R _{CR} (mg/mg/zi)	R _{CoR} (mg/mg/zi)	A (%)	E _{CHIn} (%)	E _{CHD} (%)
15	361,26	232,17	115,12	0,64	2,46	51,64	38,16	38,14
20	358,16	226,55	112,16	0,52	2,48	50,12	39,71	36,12
25	346,22	218,96	109,28	0,41	2,04	49,64	36,27	31,32
30	286,12	180,99	92,12	0,30	2,10	51,03	24,12	30,22

* C_{GU} — Cantitatea de hrană consumată (în greutate uscată). Ex_{GU} — Cantitatea de excremente (în greutate uscată). S_{GU} — Sporul în greutate sau câștigul în greutate (uscată). R_{CR} — Rata relativă de creștere. R_{CoR} — Rata relativă de consum. A — Asimilația (digestibilitatea aproximativă). E_{CHIn} — Eficiența conversiei hranei ingerate. E_{CHD} — Eficiența conversiei hranei digerate.

însă că cele mai mari valori medii s-au obținut la 23°C. Aceasta indică o valoare termică optimă pentru o utilizare eficientă a hranei, dar, și în acest caz, a existat o variabilitate în funcție de linie și generație.

Analiza și cunoașterea modelelor comportamentale specifice, referitor la relația dintre parametrii creșterii și dezvoltării și factorii interni și externi care au influență directă, prezintă importanță atât din punct de vedere teoretic cât și practic. Dacă modele similare caracterizează diferite specii de insecte, se poate stabili o strategie eficientă de monitorizare sau combatere a speciilor importante din punct de vedere economic. Creșterea, dezvoltarea, reproducerea sau comportamentul pot fi modificate prin variațiile provocate la nivelul factorilor de influență. Pe de altă parte, cunoașterea și înregistrarea valorilor optime sau a celor extreme și negative oferă indicii asupra capacității și tendinței de evoluție a populațiilor în condiții naturale, într-o anumită perioadă de timp.

Concluzii. 1. Studiile efectuate în condiții de laborator asupra unor populații de *Mamestra brassicae* au evidențiat influența deosebită a temperaturii asupra creșterii, dezvoltării, consumului și utilizării hranei.

2. Un regim termic constant (pe intervalul 10—30°C) a influențat numărul vârstelor larvare, mortalitatea larvelor și prepupelor și procentul de supraviețuire. Regimul termic optim a fost cuprins pe intervalul 20—23°C și o fotoperioadă de 16 : 8 ore (lumină : întuneric). Temperaturi < 8°C și > 30°C au avut efect negativ asupra creșterii și dezvoltării.

3. În cercetări experimentale, studiul relației dintre temperatură și rata de dezvoltare cu ajutorul ecuației de regresie, paralel cu determinarea valorii de prag inferior și înregistrarea sumei de grade-zile necesare pentru o dezvoltare completă, este o modalitate eficientă de analiză și interpretare a influenței temperaturii asupra creșterii și dezvoltării larvare.

4. Temperatura a influențat cantitatea de hrană consumată și conversia acesteia în biomasă și a fost analizată pentru prima dată cu ajutorul unor indici speciali (rata de creștere, rata de consum, asimilația, eficiența conversiei hranei ingerate și digerate). Valori optime pentru acești parametri s-au obținut la *Mamestra brassicae* în jur de 23°C, iar ca valori absolute s-au situat în limitele optime evidențiate pentru alte câteva specii de lepidoptere, fapt care evidențiază calitatea hranei și a populațiilor.

BIBLIOGRAFIE

1. Archer, T. L., Musick, G. L., Murray, R. L., *Influence of temperature and moisture on black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) development and reproduction*, „Can. Entomol.”, **112**, 1980, 665–673.
2. Arnold, C. Y., *The determination and significance of the base temperature in linear heat unit system*, „Amer. Soc. Hort. Sci.”, **74**, 1959, 430–445.
3. Bari, M. A., Lange, W. H., *Influence of temperature on the development, fecundity, and longevity of the Artichoke plume moth*, „Environ. Entomol.”, **9**, 1980, 673–676.
4. Brewer, F. D., King, E. G., *Consumption and utilization of soyflour-wheat germ diets by Heliothis spp.*, „Ann. Entomol. Soc. Amer.”, **72**, 1979, 415–417.
5. Campbell, A., Frazer, B. D., Gilbert, N., Gutierrez, A. P., Mackauer, M., *Temperature requirements of some aphids and their parasites*, „J. Appl. Ecol.”, **11**, 1974, 431–438.
6. Fye, R. E., McAda, W. C., *Laboratory studies on the development, long vity, and fecundity of six lepidopterous pests of cotton in Arizona*, „Arizona Agric. Exp. Stn., Techn. Bull.”, Nr. 1454, 1972.
7. Goettel, M. S., Philogene, J. R., *Effects of photoperiod and temperature on the development of a univoltine population of the banded woollybear, Pyrrharetia (Isia) isabella*, „J. Insect Physiol.”, **24**, 1978, 523–527.
8. Goto, C., Tsutsui, H., Shimada, K., *Effects of photoperiod and low temperature on larval development and freezing-tolerance of Xestia c-nigrum L. (Lepidoptera: Noctuidae)*, „Appl. Entomol. Zool.”, **21** (1), 1985, 143–152.
9. Johansen, N. S., *Influence of temperature on development, fecundity and survival of the cabbage moth Mamestra brassicae (L.) (Lepidoptera: Noctuidae) in relation to the improvement of forecasting and control methods*, „J. Appl. Entomol.”, **12** (2), 1997, 81–88.
10. Miller, F. D., Maddox, J. V., *Effect of temperature on development rate and survival of Nomophila nearctica (Lepidoptera: Pyralidae)*, „Great Lakes Entomol.”, **24** (4), 1991, 281–286.
11. Roberts, W. P., Proctor, J. R., Philips, J. H. H., *Effect of constant temperatures on the number of larval instars of the oriental fruit moth, Grapholitha molesta (Lepidoptera: Tortricidae)*, „Can. Entomol.”, **110**, 1978, 623–626.
12. Shanower, T. G., Gutierrez, A. P., Wightman, J. A., *Effect of temperature on development rates, fecundity and longevity of the groundnut leaf miner, Aproaerema modicella (Lepidoptera: Gelechiidae), in India*, „Bull. Entomol. Res.”, **83**, 1993, 413–419.

13. Shorey, H. H., *The biology of Trichoplusia ni (Lepidoptera: Noctuidae)*. IV. *Environmental control of mating*, „Ann. Entomol. Soc. Amer.”, **59**, 1966, 502–506.
14. Stan, G., *Metode statistice cu aplicații în cercetări entomologice*, „Bul. Inf. Soc. Lepidopterol. Rom.”, **4** (3), 1993, 129–160.
15. Stan, G., Chiș, V., *Studiul capacității reproductive la Mamestra brassicae L. (Lepidoptera: Noctuidae): Evaluarea numărului de spermatozoari și ouă la diferite generații și linii de creștere în laborator și la femelele capturate la capcana luminoasă (1986–1991)*, „Bul. Inf. Soc. Lepidopterol. Rom.”, **6** (3–4), 1995, 247–265.
16. Stan, G., Coroiu, I., Chiș, V., Tomescu, N., *Creșterea și reproducerea speciei Mamestra brassicae L. (Lepidoptera: Noctuidae) în condiții de laborator, în relație cu dietele artificiale*, „Lucr. A III-a Conf. Entomol., Iași, 1983”, 1986, 233–240.
17. Waldbauer, G. P., *The consumption and utilisation of food by insects*, „Adv. Insect Physiol.”, **5**, 1968, 229–288.
18. Waldbauer, G. P., Cohen, R. W., Friedman, S., *Self-selection of an optimal nutrient mix from defined diets by larvae of the corn earworm, Heliothis zea (Boddie)*, „Physiol. Zool.”, **57**, 1984, 590–597.
19. Wigglesworth, V. B., *The Principles of Insect Physiology*, Methuen, London, 1974.

REZULTATELE RECENSĂMÂNTULUI DE BERZE
(*CICONIA CICONIA* L.) ÎN JUDEȚUL CLUJ ÎN ANUL 1996

FERENC KOSA*, DAN MUNTEANU**, LÁSZLÓ PÉTER PAP*,
ATTILA D. SANDOR* și ZOLTÁN D. SZABÓ*

SUMMARY. — Results of the White Stork (*Ciconia ciconia* L.) Count in the Cluj County in 1996. Two kinds of white stork censuses were conducted in 1996: an indirect census and a direct one. The indirect census was carried out with the aid of questionnaires; these were sent to 63 schools in June. The direct census was carried out by the authors and involved visits to 42 nest sites in July. In 1996, 72 nests (H) were recorded in 55 localities, 60 nests were occupied by nesting pairs (HPa) and 3 nests by single adults (HE). The remaining 9 nests were unoccupied (uH). There were 47 pairs (HPm) with a total number of 151 fledged young (JZG). The JZa and JZm values are 2.51 and 3.14, respectively. The number of dead young (JZu) was 12. Four pairs were without young (HPo), and the number of pairs where the breeding success is unknown (HPx) was 8. The mean population density (StD) was 0.90 nesting pairs (HPa)/100 km². 59.72% of all nests are on electric posts, 31.94% on buildings (roofs, chimneys, sheds) and 4.16% on trees. The vertical distribution of the nests is the following: 48.61% of all nests are situated at altitudes between 300—500 m above sea level, 30.55% between 100—300 m, 19.94% between 500—700 m and only 1.38% between 700—900 m.

Barza albă este o specie ocrotită pe plan mondial al cărei efectiv este într-un regres continuu [5]. Reducerea efectivelor de berze se datorează unui complex de factori care acționează direct asupra păsărilor sau asupra mediului din arealul de cuibărire și din zonele de migrație și iernare [1, 5, 10, 16].

Recensământurile reprezintă primul pas necesar în protecția acestei specii. Prin asemenea acțiuni pot fi urmărite în timp variațiile numărului de berze albe, amplitudinea acestor variații și pot fi determinate cauzele locale care duc la scăderea numărului de berze. Datele obținute pot servi la stabilirea unor măsuri concrete de protecție a berzelor albe, cum ar fi de exemplu montarea unor suporturi artificiale în cazul cuiburilor amplasate pe stâlpi electrici.

În județul Cluj primul recensământ a fost efectuat de către Béldi [2] în anul 1956 cu ajutorul chestionarelor trimise în toate localitățile fostului raion Cluj. În urma acestui recensământ au fost găsite 48 cuiburi în 30 de localități. Din nefericire, în cadrul acestui recensământ nu s-au urmărit aspectele legate de biologia cuibăritului și astfel lipsesc datele referitoare la numărul puilor, numărul perechilor cu și fără pui etc.

* Universitatea Babeș-Bolyai, Catedra de fiziologie animală, 3100 Cluj-Napoca, România

** Institutul de Cercetări Biologice, 3100 Cluj-Napoca, România

Deși în țara noastră au fost organizate mai multe recensământuri naționale (1980, 1990, 1994) [9, 10, 15, 17, 18], din județul Cluj s-au raportat date privind cuibăritul berzei albe în general numai din 15—16 localități — majoritatea acestora fiind situate de-a lungul drumului național Cluj — Dej.

Date sporadice privind cuibăritul speciei în județul Cluj mai apar și în unele lucrări publicate de către Filipașcu [8], Béli și Mannsberg [3], Kováts [12], Salmen [14], Munteanu [13], Klemm și Kohl [11], Cristea [6], Béczy [4].

În această lucrare prezentăm datele privind distribuția și cuibăritul berzei albe din județul Cluj, obținute în urma efectuării celui mai amplu recensământ pe teritoriul acestui județ.

Metoda de lucru. Recensământul berzei albe s-a efectuat prin metoda directă și indirectă. Recensământul direct a fost realizat de către autori prin deplasările efectuate în iulie 1996 la 42 de locuri de cuibărit. În total s-au parcurs 700 de km cu mașina. Metoda indirectă s-a realizat cu ajutorul unor chestionare, care au fost trimise în luna iunie 1996 la 63 școli din județ, împreună cu o scrisoare conținând informații privind modul de efectuare a recensământului. Pe baza datelor obținute, pentru fiecare cuib s-a întocmit o fișă, care conține informațiile legate de cuib (localitatea, codul UTM și codul poștal, suportul și vechimea cuibului, altitudinea, schița localității cu indicarea cuibului). Fișa conține, de asemenea, și un spațiu separat pentru fotografia cuibului. În aceste fișe vor fi trecute în anii următori, într-un mod unitar, toate datele legate de cuibărit.

În cursul prelucrării datelor au fost folosite prescurtările internaționale [5]:

HPa — numărul perechilor de berze (HPa = HPm + HPo + HPx);

HPm — numărul perechilor cu pui zburători;

HPo — numărul perechilor fără pui zburători;

HPx — numărul perechilor la care nu se cunoaște exact numărul puilor și sau reușita cuibăritului;

HE — numărul cuiburilor ocupate de un singur exemplar;

H — numărul total al cuiburilor;

uH — cuiburi părăsite;

JZG — numărul puilor zburători;

JZu — numărul puilor morți;

JZa — numărul puilor/numărul perechilor de berze (JZG : HPa);

JZm — numărul puilor/numărul perechilor cu pui zburători (JZG : HPm);

StD — numărul perechilor (HPa) 100 km².

Rezultate și discuții. În cursul recensământului din 1996 au fost controlate 78 de localități. Dintre acestea, în 55 de localități au fost găsite 72 de cuiburi (Tabel 1).

Din tabel reiese că în majoritatea localităților (45—81,8%) se găsește un singur cuib, două cuiburi se găsesc în 6 localități (10,9%), trei cuiburi în două localități (3,63%) și doar într-o singură localitate se găsesc patru cuiburi. Cele mai multe cuiburi au fost găsite în Sucutard.

Din cele 72 de cuiburi (H) 63 au fost ocupate, iar 9 cuiburi erau părăsite (uH). În cursul anului au fost distruse 3 cuiburi: la Așchileu Mare un cuib a fost doborât de furtună, la Dej cuibul a fost îndepărtat toamna de către RENEL, iar la Cojocna un cuib a ars.

Numărul total al perechilor de berze (HPa) a fost 60, ceea ce corespunde la o densitate (StD) de 0,90 perechi/100 km². Cu ocazia re-

Tabel 1

Datele privind distribuția și culbăritul berzei albe în județul Cluj în anul 1996

Nr.	LOCALITATE	Nr. perechilor								Nr. puilor			Suportul cuibului			
		H	uH	HE	HPa	HPm	HPo	HPx	JZG	JZu	Stalp	Acopari	Horn	Șură/grajd	Copac	Alte
1.	Aghireșu	1			1	1			4		1					
2.	Apahida	1			1	1			4				1			
3.	Așchileu Mare	2	1		1		1			4	2					
4.	Băbuțiu	1			1	1			3		1					
5.	Băgara	1			1	1			3	1					1	
6.	Bologa	1			1	1			4		1					
7.	Brăișoru	4	1		3	3			3/3/3		1				3	
8.	Bunești	1			1	1			4		1					
9.	Buteni	1			1	1			2						1	
10.	Călata	1			1	1			4		1					
11.	Călărași-Gară	1			1			1			1					
12.	Cămărașu	1			1	1			4							1
13.	Căpușu-Mare	2	1		1	1			2				1		1	
14.	Căpușu Mic	2	1		1			1							1	
15.	Câmpenești	1	1								1					
16.	Câmpia Turzii	1			1	1			3			1				
17.	Chinteni	1			1	1			3		1					
18.	Cojocna	1			1	1			1						1	
19.	Crăești	1			1						1					
20.	Cuzdrișoara	1	1								1					
21.	Dej	1			1				1			1				
22.	Dirja	1			1	1			5			1				
23.	Dumbrava	1	1								1					
24.	Fodora	2			2	2			3/2		2					
25.	Fundătura	1			1	1			3		1					
26.	Geaca	1			1	1			4		1					
27.	Gheorghieni	1			1	1			4	1					1	
28.	Gilău	1			1			1			1					
29.	Hodaie	1			1	1			3		1					
30.	Iclod	1			1	1			4							
31.	Livada	1			1	1			4		1					
32.	Luna	1			1	1			3			1				
33.	Mănăstirea	1			1	1			2							1
34.	Mihăești	1			1	1			2				1			
35.	Mintiul Gherlii	1			1	1			3		1					
36.	Morlaca	2			2	1		1	3						2	
37.	Nădășelu	1			1	1			3	1		1				
38.	Nîma	1			1	1			5		1					
39.	Panticeu	1			1	1			4		1					
40.	Pata	1			1	1			2	1					1	
41.	Păniceni	1			1	1			3		1					
42.	Răscruci	2			2			2			2					
43.	Recea Cristur	3		1	2	1		1	2		2				1	
44.	Sălicea	1		1							1					
45.	Săncraiu	1			1	1			4	1	1					
46.	Sănpaul	1			1	1			4		1					
47.	Suatu	1			1	1			3							1
48.	Sucutard	5	1	1	3	3			2/3/2		5					
49.	Șoimeni	1			1			1			1					
50.	Șutu	1			1	1			3	1	1					
51.	Turda	1			1	1			2		1					
52.	Tureni	1			1			1			1					
53.	Țaga	1			1	1			5		1					
54.	Văleni	1	1												1	
55.	Viișoara	3			3	3			3/3/3	1/1	2					1
Total :		72	9	3	60	48	4	8	151	12	43	6	3	14	3	1

censământului efectuat în 1956, Béli [2] a calculat pentru StD o valoare de 2,4 HPa/100 km². Comparând această valoare cu valoarea StD obținută de noi, putem constata că în ultimii 40 de ani densitatea perechilor de berze în județul nostru s-a redus cu aproximativ 50—60%.

Deși în cursul recensământului nu s-au putut obține date din fiecare localitate a județului, totuși putem face o comparație între numărul perechilor de berze din județul Cluj și valorile HPa obținute în ultimii ani în alte județe [18]. În urma acestor comparații putem trage concluzia că județul Cluj poate fi inclus în seria județelor care au puține, în jur de 100 de perechi de berze.

Din cele 60 de perechi de berze, 48 de perechi (HPm) au avut în total 151 de pui zburători (JZG). Repartiția numărului de pui/cuib este următoarea: 1 cuib cu 1 pui (2,08%), 11 cuiburi cu 2 pui (22,91%), 20 cuiburi cu 3 pui (41,66%), 13 cuiburi cu 4 pui (27,08%), 3 cuiburi cu 5 pui (6,25%). Numărul înregistrat al puilor morți (JZu) a fost 12. Un pui a fost inelat la Cojocna de către Pap Péter László.

Valorile JZa și JZm calculate sunt 2,51, respectiv 3,14. Pe baza datelor bibliografice [1, 5, 16] putem afirma că aceste valori indică o rată de reproducere bună a populației de berze din județul Cluj pentru anul 1996. Dacă calculăm un JZm numai pentru HPm-urile care au construit cuiburile pe stâlpi electrici și separat un alt JZm pentru HPm-urile care au construit cuiburile pe clădiri obținem două valori: 3,35 (stâlpi) și 2,83 (clădiri). Din aceste valori rezultă că perechile care au construit cuiburile pe stâlpi electrici au avut, în general, mai mulți pui decât perechile care și-au făcut cuiburile pe clădiri. Ar fi interesant de urmărit și în viitor acest aspect atât în județul Cluj, cât și în alte județe, pentru a vedea dacă aceste valori reflectă vreun avantaj evolutiv al modului de cuibărire pe stâlpi electrici.

Numărul total al perechilor care nu au avut pui (HPo) a fost doar 4, reprezentând 6,66% din totalul de HPa, indicând, de asemenea, că anul 1996 a fost, din punctul de vedere al reproducerii, un an bun pentru populația de berze din județul Cluj. Numărul perechilor la care lipsesc datele privind cuibăritul (HPx) a fost 8, iar numărul cuiburilor cu un singur adult (HE) era 3.

Numărul total al berzelor observate a fost 273 (122 adulți + 151 pui).

Gradul de agregare a populației de berze din județul Cluj s-a calculat cu ajutorul indicelui de dispersie al lui Elliott [7]. Valoarea acestui indice este mică: 4,04 și este caracteristică zonelor colinare cu valori StD mici, în care predomină localitățile cu un singur cuib.

Repartiția cuiburilor în funcție de suport este următoarea: 59,72% din cuiburi sunt amplasate pe stâlpi electrici, 31,94% pe clădiri (acoperiș, horn, șură/grajd), 4,16 pe copaci, 1,38% pe ruină. În cazul cuibului din Cuzdrioara și al unui cuib din Căpușu Mic lipsesc datele privind suportul cuibului. Repartiția actuală a cuiburilor în funcție de suport diferă esențial de cea din 1956: atunci 75% din cuiburi se găseau pe clădiri,

14,50% pe copaci și nu s-a găsit nici un cuib construit pe stâlpi electrici (la 5 cuiburi, reprezentând 10,40% nu s-a raportat suportul cuibului) [2]. Deoarece în ultimii 40 de ani nu s-a făcut nici un recensământ al berzelor în județul Cluj, nu putem stabili din nefericire intervalul de timp în care s-a trecut la construirea cuiburilor pe stâlpi electrici.

Repartiția actuală a cuiburilor pe suporturi este asemănătoare cu cea a județelor din mijlocul și vestul Transilvaniei (Mureș, Satu Mare, Timiș, Bihor) unde predomină, de asemenea, cuiburile construite pe stâlpi electrici și se deosebește de județele din sudul și estul Transilvaniei unde predomină cuiburile amplasate pe clădiri [10, 11, 18].

Repartiția verticală a cuiburilor este următoarea: cele mai multe cuiburi sunt situate între altitudinile de 300—500 m (48,61%) și 100—300 m (30,55%); 19,94% dintre cuiburi se găsesc între 500—700 m și numai 1,38% între 700—900 m. Deoarece în alte țări există o tendință privind retragerea treptată a berzelor din zonele cu altitudini joase spre cele înalte [1, 5], în viitor va fi interesant de urmărit dacă repartiția verticală actuală a cuiburilor se va modifica sau nu în acest sens și în județul Cluj.

În **concluzie** putem afirma că efectivul populației de berze din județul Cluj în anul 1996 a fost de cel puțin 60 de perechi. S-au putut identifica 72 de cuiburi de berze în 55 de localități. Majoritatea cuiburilor se găsesc pe stâlpi electrici și sunt situate la altitudini cuprinse între 100—500 m. Valorile ridicate ale JZa și JZm, precum și procentul mic al HPo indică o rată de reproducere bună a populației de berze din județul Cluj în anul 1996.

BIBLIOGRAFIE

1. Bairlein, F., *Population studies of White Storks (Ciconia ciconia) in Europe*, în Perrins, C. M., Lebreton, J.-D., Hiron, G. J. M. (Eds.), *Bird Population Studies*, p. 207—229, Oxford Univ. Press, 1991.
2. Béli, M., *White Stork of the Kolozsvár (Cluj) area in 1956*, „Aquila”, **66**, 1959, 305—306.
3. Béli, M., Mannsberg, A., *A Kis-Szamos vízgyűjtő területének madárvilága*, „Aquila” **76—77**, 1969—1970, 165—172.
4. Béczy, T., *Az európai gólyapopulációk vizsgálatának kérdése nemzetközi és hazai vonatkozásban*, în Németh, J. (Szerk.), *Pro Natura*, p. 125—132, Kriterion, București, 1994.
5. Boettcher-Streim, W., Schütz, E., *Bericht über die IV Internationale Bestandsaufnahme des Weißstorchs 1984 und Vergleich mit 1974 (6. Übersicht)*, în Rheinwald, G., Ogden, J., Schulz, H. (Eds.), *Weißstorch -- White Stork -- Proc. I Int. Stork Conserv. Symp.*, p. 195—221, Braunschweig, 1989.
6. Cristea, V., *Date privind cuiburile de barză albă pe itinerariul Satu Mare—Șieu—Maghieraș Mai 1993*, „Bul. Inf. Soc. Ornitol. Rom.”, Nr. 3, 1993, 5—6.
7. Elliot, J. M., *Some Methods for Statistical Analysis of Samples of Benthic Invertebrates*, Freshwater Biol. Assoc., London, 1971.
8. Filipașcu, A., *Fauna ornitologică a lacurilor de la Geuca (Cîmpia Transilvaniei) după 100 de ani*, „Ocot. Nat.”, **12** (1), 1968, 21—41.

9. Klemm, W., *Rezultatele recensământului de berze albe în România în 1980*, „Ocrot. Nat. Med. Înconj.”, **26** (1-2), 1982, 34-36.
10. Klemm, W., *Zur Lage des Weißstorchs (Ciconia ciconia) in der S.R. Rumänien*, „Ökol. Vogel (Ecol. Birds)”, **5**, 1983, 283-293.
11. Klemm, W., Kohl, S., *Die Ornithologie Siebenbürgens. Beiträge zu einer Monographie der Vogelwelt dieses Landes*, **III**, p. 17-28, Böhlau Verlag, Köln-Wien, 1988.
12. Kováts, L., *Situația populației de berze (Ciconia ciconia L.) din bazinul Crișului Repede în vara anului 1972*, in „Centenar Muzeal Orădean”, 1972, 749-770.
13. Munteanu, D., *Avifauna masivului Vlădeasa*, „Nymphaea”, **10**, 1982, 269-281.
14. Salmen, H., *Die Ornithologie Siebenbürgens. Beiträge zu einer Monographie der Vogelwelt dieses Landes*, **I**, p. 133-148, Böhlau Verlag, Köln-Wien, 1980.
15. Sárkány-Kiss, E., *Recensământul berzelor albe (Ciconia ciconia) în România*, „Bul. Inf. Soc. Ornitol. Rom.”, Nr. 2, 1990, 9-10.
16. Schulz, H., *White Stork*, in Tucker, G. M., Heath, M. F. (Eds.), *Birds in Europe: Their Conservation Status*, BirdLife Conservation Series No. 3, p. 100-101, BirdLife International Cambridge, 1994.
17. Weber, P., *Bestandserfassung Weißstorch (Ciconia ciconia L.), Rumänien -- 1993*, „Acta Musei Devensis Sargetia, Ser. Sci. Nat.”, **16**, 1994, 159-163.
18. Weber, P., *Rezultatele cuibăritului berzei albe (Ciconia ciconia) în România -- 1994*, „An. Banatului, Științ. Nat.”, **3**, 1996, 53-58.

AVIFAUNA FOSILĂ A PEȘTERII GURA CHEII DE LA RĂȘNOV (JUD. BRAȘOV)

ERIKA GÁL*

SUMMARY. — **The Fossil Avifauna of the Gura Cheii Cave in Râșnov (Brașov County).** Thirty-four fossil bird bones coming from 3 levels of the Gura Cheii cave of Upper Pleistocene age were studied. Fifteen species belonging to 6 families and 4 orders were identified. Eight of the species (54%) are characteristic for open rocky environment, five (33%) of them are forest species and only two species (13%) are typical of open humid environment. *Monticola saxatilis* appears for the first time in the fossil avifauna of Romania. None of the pieces shows human work. The bones probably come from owl pellets. The composition of the fossil avifauna reflects the paleoclimatic and environmental conditions.

Peștera Gura Cheii se situează la cca 8 km SE de orașul Râșnov (jud. Brașov), într-un masiv de calcar jurasic titonic, pe partea dreaptă a firului de apă. Este lungă de 13 m, lată de 4 m, la o altitudine absolută de 750 m și altitudine relativă de 5 m.

Primele cercetări au fost efectuate în 1925 de către Fr. Podek, urmat de A. Prox între 1934—1935. Cercetările au fost reluate în 1955 și continuate în 1959 de către colectivul condus de C. S. Nicolăescu-Plopșor (Alexandra Bolomey, Alexandru Păunescu și alții), săpând până la patul peșterii.

Depozitul sedimentar are o grosime de cca 220 cm, depunerea materialului făcându-se în diferite condiții. Din acest depozit s-au evidențiat urmele diferitelor culturi paleolitice, precum și materiale fosile (polen, oase de vertebrate, printre care și resturi de păsări).

Peste patul calcaros se află un strat gros de 40 cm (210—170 cm) alcătuit în mare parte din argilă și nisip fin. Stratul conține polen fosil, mai cu seamă polen de *Quercus* (7,6%), *Ulmus* (3,4%), *Fagus* (2,8%), *Tilia* (2,3%) și *Carpinus* (1,5%). Coniferele se întâlnesc mai rar, iar ierbaceele sunt reprezentate prin *Compositae* (19,6%), *Gramineae* (32,4%) și *Polypodiaceae* (10,0%). În acest strat au fost găsite puține piese scheletice.

Conținutul mare de argilă al acestui strat, precum și flora indică un climat umed și destul de călduros.

Stratul următor (170—140 cm) devine mai bogat în materiale scheletice. Cantitatea de humus este redusă. Se observă prezența dominantă a pinului (55,7%) și prezența mai puțin semnificativă a stejarului (4%) și a celorlalte foioase. Gramineele rămân destul de bine răspândite (23,7%), alături de compozite (13,1%) și ciperacee (11,5%). În acest strat s-au evidențiat resturi de *Ursus spelaeus* (85,6%), *Vulpes vulpes*, *Cervus*

* Universitatea Babeș-Bolyai, Catedra de zoologie, 3100 Cluj-Napoca, România

elaphus și *Capra ibex*. Menționăm că nici acest strat nu conține resturi de păsări. Cantitatea redusă a humusului și componența florei și faunei indică o oarecare răcire în acest interval. S-au mai găsit în acest strat așchii și piese atipice, majoritatea lor fiind din cvartș și gresie.

Secvența cuprinsă între 210—140 cm corespunde mousterianului final.

Depozitul cuprins între 210—160 cm s-a format în timpul oscilației Ohaba A în cadrul complexului interstadial Ohaba. Această oscilație este urmată de o perioadă de răcire care o desparte de a doua oscilație climatică caldă specifică acestui complex interstadial.

Stratul cuprins între 140—100 cm conține multă argilă, precum și nisip fin și grosier. În acest depozit s-au găsit urmele unor specii de arbori și resturi de vertebrate. Se constată prezența dominantă a pinului (63,8%) și a molidului (11,4%) și prezența redusă a stejarului (1%). Procentajul stejarului se ridică la 4% în stratul de la 120 cm. În secvența cuprinsă între 140—100 cm s-au găsit resturi de urs de peșteră, vulpe, capră și apar primele urme de păsări (9 piese). Din punct de vedere arheologic, acest strat se consideră steril, deoarece nu conține materiale prelucrate. Frațiunile granulometrice, precum și componența florei și cea a faunei indică un climat umed și rece, puțin ameliorat spre sfârșitul acestui interval.

Se consideră că depozitul cuprins între 130—100 cm s-a format în timpul oscilației Ohaba B în cadrul complexului interstadial Ohaba.

Sedimentul aflat între 100—90 cm este de textură luto-nisipoasă și este lipsit de material fosil și arheologic.

În depozitul cuprins între 90—70 cm se diminuează cantitatea fracțiunilor argiloase și a humusului, iar cantitatea nisipului grosier crește. Cantitatea mică a polenilor de arbori (16,9%), precum și observațiile privind structura depozitului arată că transformările climatice au favorizat formarea unui peisaj alpin, în componența căruia au predominat gramineele (41,4%) și ciperaceele (13,2%). Pădurea era alcătuită din pin (10,5%), salcie (4,4%), arin (2,2%) și au dispărut arborii termofili. Într-o fază ulterioară, corespunzând nivelului de 80 cm, revine peisajul silvestru, dar nu prin reapariția speciilor termofile, ci prin răspândirea mai accentuată a celor existente deja (pinul — 39,0%, salcia — 6%). Această componență a vegetației ne indică o oarecare ameliorare a cliimei. Piese scheletice din acest strat provin de la *Ursus spelaeus* (40,8%), *Capra ibex* (15,2%), *Vulpes vulpes* și păsări (5 piese).

Din această secvență provin materiale paleolitice de silex și gresie, aparținând culturii aurignaciene.

Se consideră că sedimentarea depozitului sus amintit s-a produs în oscilația climatică Herculane I din finalul complexului interstadial Ohaba. Oscilația climatică Herculane I a fost premersă de o fază rece care o desparte de oscilația climatică Ohaba B.

Textura stratului cuprins între 70—30 cm este nisipo-lutoasă și conținutul depozitului ne indică un climat stepic, rece și uscat. Polenii arborilor provine de la specii caracteristice acestui habitat: pin, salcie.

ienupăr, mesteacăn și arin, dar într-un procentaj redus (10%). Se constată dominanța gramineelor (42,5%), a compozitelor (25%) și a ciperaceelor (28,1%). Stratul cuprinde resturi de *Ursus spelaeus*, *Canis lupus*, *Vulpes vulpes*, *Mustela*, *Capra ibex*, *Cervus elaphus*, *Equus*, *Sus scrofa* și de păsări (20 piese).

În acest strat s-au găsit o serie de materiale prelucrate, majoritatea lor fiind din silex. Ele aparțin culturii gravettiene.

Din cele arătate reiese că formarea stratului poate fi atribuită unor condiții dintr-un stadiu glaciatic.

Stratul superficial între 30—0 cm cu o textură luto-nisipoasă provine din Holocen, cuprinzând ceramică din epoca bronzului și din timpuri istorice, elemente de floră și faună holocenă.

Datele sus amintite provin din surse bibliografice [1, 4].

Material și modul de lucru. Resturile de păsări provin din săpăturile efectuate în anii 1955 și 1959, sub conducerea lui C. S. Nicolăescu-Plopșor. Materialul a fost depozitat în Institutul de Tracologie din București și la Muzeul Județean din Brașov, și ne-a fost încredințat spre determinare de Alexandru Păunescu.

În 1988, Jurcsák și Kessler [6] publică o listă de specii provizorie, rezultată prin determinarea parțială a materialului din acest loc fosilifer, însă fără o descriere detaliată a pieselor.

Piese scheletice de păsări aparțin în totalitate centurii scapulare și membrilor.

Cele 3 straturi care conțin oase de păsări sunt următoarele: a) 130—102 cm, b) 70 cm și c) 30—70 cm.

Depozitul cuprins între 130—102 cm conține 8 piese (2 ulne, 2 radiusuri, 1 carpometacarp, 1 tibiotars și 2 tarsometatarse), din care 6 sunt fragmentate și doar două sunt întregi. Culoarea oaselor este omogenă naturală, doar o piesă este foarte deschisă la culoare.

La 70 cm s-au găsit 5 piese (2 coracoizi și 3 ulne), toate fiind fragmentate. Nu se observă nimic deosebit în culoarea lor.

Stratul cuprins între 70—30 cm depozitează 21 piese de păsări (2 coracoizi, 1 scapulă, 6 humerusuri, 1 ulnă, 4 carpometacarpe, 3 tibiotarsuri și 4 tarsometatarsuri), din care 9 sunt întregi. De la adâncimea de 60 cm provine un fragment de humerus, destul de închis la culoare. La nivelul de 50 cm s-au găsit: un fragment de tarsometatars foarte deschis la culoare și un carpometacarp (aproape) întreg, melanic. La fel de închis la culoare este și fragmentul de carpometacarp de la 47 cm.

Diferența de colorit este urmarea dispersării pieselor în depozitul fosilifer și se datorează variațiilor de impregnare cu diferite săruri minerale.

Din cele 34 de piese 2 provin de la exemplare nedezvoltate complet, dar și în cazul acestora caracterele morfologice sunt evidente, oasele au putut fi identificate și măsurate, doar dimensiunile se situează puțin sub valorile medii caracteristice pentru speciile respective.

La identificarea pieselor s-a folosit colecția comparativă de oase de păsări a Catedrei de zoologie a Universității Babeș-Bolyai. Datele bibliografice referitoare la materialele fosile provenite din alte locuri [2, 3] de asemenea, au fost luate în considerație.

Pentru măsurarea caselor am folosit standarde uzuale folosite în literatura de specialitate, precum și unele calcule, cum ar fi raportul unor valori (de ex. lățimea sau grosimea epifizei/lățimea diafizei; lungimea piesei/lățimea diafizei), care permit diferențierea speciilor înrudite, ale căror dimensiuni se suprapun. Măsurătorile s-au efectuat cu șubler digital, având o marjă de eroare de 0,01 mm.

Identificarea pieselor prima dată se face pe baza caracterelor anatomice cu ajutorul colecției comparative recente. Pas cu pas se exclud grupurile cu care

piesa nu prezintă asemănări morfologice, ajungând astfel la ordinul, respectiv familia corespunzătoare. Uneori se pot separa chiar și genurile după caracterele morfologice. După ce s-a ajuns la cea mai mică grupă sistematică prin modul amintit, sunt luate în considerare și dimensiunile prin care pot fi eliminate speciile cu o talie prea mult diferită, fiind menținute pentru studiu comparativ doar speciile cu date osteometrice apropiate de materialul în curs de identificare. Menționăm că oasele păsărilor adulte (din punct de vedere osteologic aici se cuprind toate exemplarele capabile deja de zbor, indiferent de maturizarea lor sexuală sau de aspectul penajului, caractere care pot apare la luni sau ani de zile după dobândirea capacității de zbor) prezintă dimensiuni între limite destul de exacte și caracteristice pentru fiecare specie.

Dacă dimensiunile speciilor aparținând aceluiași gen se suprapun și nu pot fi evidențiate diferențe privind caracterele anatomice, se utilizează și raporturile mai sus amintite.

La unele ordine, cum ar fi galiformele, răpitoarele etc., se ia în considerare și dimorfismul sexual.

Ultima fază a identificării constă în compararea și verificarea datelor cu cele existente în bibliografie.

Rezultate și discuții. Au fost identificate toate cele 34 de piese scheletice: 4 coracoide, 1 scapula, 6 humerusuri, 6 ulne, 2 radiusuri, 5 carpometacarpe, 4 tibiotarsuri și 6 tarsometatarsuri. Pe lângă absența pieselor fragile, cum ar fi craniul, sternul, bazinul (care se întâlnesc mai rar în materiale fosile), se remarcă lipsa femurului din prezentul material.

Oasele provin de la 15 specii, aparținând la 6 familii (*Tetraonidae*, *Rallidae*, *Strigidae*, *Bombycillidae*, *Corvidae*, *Turdidae*) și 4 ordine (*Galiformes*, *Gruiformes*, *Strigiformes*, *Passeriformes*) (Tabel 1).

Piesele identificate din stratul de 130—102 cm provin din stadiul Würm II, cele prezente la nivelul 70 cm s-au acumulat la sfârșitul interstadialului Würm II — Würm III, corelat cu aurignacianul mijlociu, iar piesele care sunt depozitate între 70—30 cm s-au sedimentat la finalul stadiului Würm III, corelat cu nivelul gravettian [4].

Prin analiza listei de specii putem constata că majoritatea speciilor care alcătuiesc avifauna fosilă din peștera Gura Cheii preferă sau suportă climatul rece.

Din cele 15 specii cristelul de iarbă (*Crex crex*), creștețul pestriț (*Porzana porzana*) și mierla de piatră (*Monticola saxatilis*) sunt oaspeți de vară, iar mătăsarul (*Bombycilla garrulus*) este oaspete de iarnă. Restul speciilor sunt sedentare.

Prin prezența primelor trei specii enumerate mai sus putem constata că la vremea respectivă verile erau îndeajuns de calde pentru condițiile preferate în perioada de reproducere. Se menționează că mierla de stâncă apare pentru prima dată în avifauna fosilă a României [5, 6]. Cauzele prezenței mătăsarului pot fi elucidate mai dificil, deoarece această specie paleartică astăzi apare în țara noastră numai sub formă de invazii în iernile mai lungi și geroase. În condițiile climatice ale pleistocenului superior, specia putea să fi avut o răspândire și mai sudică, până în lanțul Carpatic.

Numărul relativ mare al formelor caracteristice zonei de stâncărie (speciile *Lagopus*, *Pyrrhocorax graculus* și *Monticola saxatilis*) eviden-

Avifauna fosilă a peșterii Gura Cheli

Taxoni	Strat (cm)		Piesa	Dimensiunile (mm)								
	130-102	70-30		A	B	C	D	E	F	G	H	
GALLIFORMES												
<i>Tetraonidae</i>												
Lyrurus tetrix	×		tmts.			9,73		4,30				
Tetrastes bonasia			× hum.					4,80	9,71	6,20		
Lagopus lagopus			× cor.	43,20	39,70	6,10	8,00	4,20	15,92	11,60		
			× ulna					4,40	6,40	7,88		
			× cmcp.	32,81	29,19	9,36	6,25	3,05	6,80	4,58	4,60	
			× cmcp.			9,23	6,30	6,10				
								2,73				
			× tib.					3,55	7,15	7,30		
Lagopus mutus	×		rad.			4,58	3,94	2,30				
			× ulna					4,36	5,95	7,56		
			× cor.					5,66	6,00			
			× scap.		8,30			5,00	3,57			
			× tmts.	34,54		7,66	7,00	3,15	8,12	5,07		
GRUIFORMES												
<i>Rallidae</i>												
Crex crex			× hum.		10,95	8,91	8,37	2,83				
Porzana porzana			× cmcp.	21,62				1,77	2,70	1,80	4,58	
SRIGIFORMES												
<i>Strigidae</i>												
Athene noctua	×		× ulna					2,94	4,10	4,70		
Aegolius funereus			× tmts.			6,76	6,34					
PASSERIFORMES												
<i>Bombycillidae</i>												
Bombycilla garrulus			× hum.	24,63	8,31	7,90	6,60	2,49	6,46	3,34		
<i>Turdidae</i>												
Turdus viscivorus	×		× tmts.	34,76		5,10		1,90	4,11	2,52		
Turdus philomelos		×	× cor.	19,77		1,80	3,12	1,30				
Turdus iliacus			× cmcp.	17,08				3,33	3,74	1,77	2,90	
								1,68				
			× tib.					1,73	3,22	3,04		
Monticola saxatilis			× hum.		9,48			6,80	2,44			
<i>Corvidae</i>												
Pyrrhocorax graculus	×		× ulna					4,43	5,36	7,70		
			× cmcp.	36,41	30,95	9,34	4,70	3,64	9,40	3,62	6,23	
			× cor.					7,10	2,75			
			× ulna					3,73	4,22	6,82		
			× ulna					3,85	4,75	7,35		
			× hum.	42,85	19,18	14,38	14,00	4,92	11,77	6,14		
			× hum.					4,58	11,10	5,31		
			× tib.					3,46	6,50	6,75		
			× tmts.	34,54		7,66	7,00	3,15	8,12	5,07		
			× tmts.					7,00	3,66			
Nucifraga	×		rad.			3,20	2,64	2,10				
car yocatactes	×		tib.					3,16	5,76	6,22		

NOTĂ EXPLICATIVĂ PENTRU PRESCURTĂRILE FOLOSITE ÎN TABEL

Piesa. cor. - coracoid. scap. - scapula. hum. - humerus. rad. - radius. cmcp. - carpometacarp. tib. - tibio-tars. tmts. - tarsometatars.

Dimensiunile. A - Lungimea totală a piesei. B - Lungimea relativă a piesei. C - Lățimea epifizei proximale. D - Grosimea epifizei proximale. E - Lățimea diafizei/lățimea metacarpului II. la carpometacarp. F - Lățimea epifizei distale. G - Grosimea epifizei distale. H - Înălțimea sinuozitei carpometacarpale (distale).

țiază densitatea lor mai mare pe acest teritoriu. Speciile de *Lagopus* (potârnichea polară și alpină) au putut fi mai ușor capturate de prădători, deoarece au o capacitate de zbor mai redusă și stau mult timp pe sol.

Aceste specii, împreună cu cele două ralide, indică prezența unui mediu deschis, stâncos cu vegetația arborescentă, respectiv un habitat umed.

Gaița de munte și cocoșul de mesteacăn, prin prezența lor, indică existența în apropiere și a vegetației de conifere. Totodată, ierunca și speciile de sturzi presupun existența unor păduri mixte sau păduri de foioase. Aceste observații sunt confirmate și prin analize palinologice.

Faptul că niciuna din piese nu prezintă urme de roaderie sau de prelucrare atestă mai mult ca sigur că ele au fost capturate de strigiforme de talie mare. Speciile de bufniță identificate nu puteau fi prădătorii păsărilor de pe listă din cauza taliei lor mici, ci și ele puteau servi drept pradă bufnițelor mai mari. Procentul destul de mare (23,5%) al pieselor întregi dovedește proveniența lor din ingluvii. Se remarcă totodată lipsa totală a răpitoarelor de zi.

Ornitofauna din împrejurimile peșterii era clar dominată deci de specii de zonă deschisă stâncoasă (54%) și de pădure (33%).

Concluzii. 1. Componenta avifaunei peșterii corespunde condițiilor climatice și de mediul vegetal caracteristic pleistocenului superior.

2. În comparație cu alte asociații avifaunistice de aceeași vârstă (Nandru, Ohaba Ponor, Băile Herculane), în avifauna peșterii Gura Cheii se remarcă absența speciilor acvatice și a răpitoarelor de zi.

3. Avifauna fosilă identificată prezintă multe similitudini cu cea cunoscută din pleistocenul superior al Bazinului Carpatic.

4. Talia speciilor și aspectul pieselor sugerează proveniența lor din ingluvii de bufniță. Lipsa urmelor de prelucrare, de preparare la foc și a urmelor de roaderie exclude proveniența resturilor în urma activității umane sau din prada unor mamifere carnivore, ceea ce este confirmat și prin cele 8 piese găsite într-un strat steril din punct de vedere arheologic.

BIBLIOGRAFIE

1. Cărciumaru, M., *Mediul geografic în Pleistocenul superior și culturile paleolitice din România*, Ed. Acad. Rom., București, 1980.
2. Jánossy, D., *Plio-Pleistocene bird remains from the Carpathian Basin. VI. Systematical and geographical catalogue*, „Aquila”, **87**, 1980, 9–22.
3. Jánossy, D., *Humeri of Central European smaller Passeriformes*, „Fragm. Mineral. Paleontol.”, **11**, 1983, 85–112.
4. Jungbert, B., *Repertoriul localităților cu descoperiri paleolitice din Transilvania. IV*, „Acta Musei Napocensis”, **22–23**, 1985–1986, 385–400.
5. Jursák, T., Kessler, E., *Evoluția avifaunei pe teritoriul României. I*, „Crisia”, **16**, 1986, 577–615.
6. Jursák, T., Kessler, E., *Evoluția avifaunei pe teritoriul României. III*, „Crisia”, **18**, 1988, 647–688.

SINTEZA DE CARDENOLIDE ÎN CULTURI CELULARE DE *DIGITALIS LANATA*

CONSTANTIN DELIU*, CRISTINA BOTA**, CORNELIA MUNTEANU-DELIU***,
VICTORIA CRISTEA* și SIMONA MOCANU*

SUMMARY. — **Synthesis of Cardenolides in Cell Cultures of *Digitalis lanata*.** Applying different concentrations of cholesterol as a selecting agent, a few cell lines of *Digitalis lanata* were isolated. They were maintained in liquid Murashige-Skoog medium supplemented with 2,4-D and BA. Monitoring such parameters as growth indices, protein content, peroxidase activity, absorption of some nutrients from the medium, changes in the pH value of the medium, water content of cells and synthesis of cardenolides, it was ascertained that these parameters differ among the cell lines. Thus, the cell lines isolated on media with a higher concentration of cholesterol grow to a lesser extent, but they synthesize higher amounts of digoxin. The biosynthesis of digoxin is maximal during distinctive phases of the cycle of cell growth, depending on the cell line. In all cases, a positive correlation was found between the accumulations of proteins and digoxin.

Dintre glicozidele cardiotonice extrase din specii ce aparțin genului *Digitalis*, cel mai frecvent se utilizează digoxina și derivații ei, lanatozida C și dezlanatozida, compuși izolați din *Digitalis lanata*. Aceste cardenolide și, în special, digoxina sunt prescrise în diferite boli cardiace. Pentru un tratament îndelungat un pacient are nevoie de 1 mg/zi de digoxină, astfel că pe an sunt necesare câteva tone pentru toți pacienții [3]. Cu toate că multe monoglicozide cardiotonice au fost sintetizate pe cale chimică, preparatele farmaceutice sunt încă obținute din plante.

Culturile de țesuturi și celule vegetale de *Digitalis*, plante ce prezintă principala sursă a celor mai importante cardenolide, au fost utilizate fie pentru propagarea clonală a acestora, fie pentru producerea de cardenolide sau a biotransformării lor.

Scopul lucrării noastre a constat în izolarea de linii celulare înalt productive de *Digitalis lanata*, prin utilizarea colesterolului ca agent de selecție, având în vedere faptul că el constituie o etapă cheie în biosinteza cardenolidelor. Pentru caracterizarea liniilor selectate s-au urmărit mai mulți parametri cum ar fi creșterea celulară, absorbția unor nutrienți din mediu și biosinteza de metaboliți primari și secundari.

Material și metode. a) *Obținerea culturilor celulare.* Culturile celulare de *Digitalis lanata* au fost obținute prin transferul calusurilor induse din frunzulițe de plantule germinate steril, într-un mediu lichid Murashige-Skoog [9]

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

** Universitatea de Medicină și Farmacie, 3400 Cluj-Napoca, România

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

(MS), cu 2,4-D (1 mg l⁻¹) și BA (2 mg l⁻¹). pH-ul mediului a fost reglat la valoarea de 5,7 înainte de autoclavare. Culturile au fost crescute în vase Erlenmeyer de 200 ml cu 30 ml mediu. Ele au fost menținute pe un agitator rotativ orizontal (100 rpm) la o fotoperioadă de 16 ore și la o temperatură de 25°C. Subcultivările s-au efectuat la un interval de 14 zile, raportul dintre inocul și mediul proaspăt fiind de 1:4.

b) *Selecția liniilor celulare* s-a realizat în două etape. Prima etapă a constat în dispersia de mici agregate celulare (10—50 celule/agregat) obținute prin filtrarea suspensiilor celulare, pe medii solidificate cu agar (0,8%) cu aceeași compoziție relatată mai sus, la care s-a adăugat, în anumite variante, colesterol (soluție alcoolică) în concentrații de 50, 100 și 150 mg l⁻¹. În cea de a doua etapă, coloniile calusale dezvoltate din micile agregate (cu excepția variantei cu colesterol 150 mg l⁻¹ pe care celulele s-au necrozat) au fost transferate din nou într-un mediu lichid normal, fără colesterol. În acest mod am reușit să izolăm mai multe linii celulare din care trei au fost luate în studiu și anume: 11 (de pe mediu fără colesterol), 21-C50 (de pe mediu cu colesterol 50 mg l⁻¹) și 13-C100 (de pe mediu cu colesterol 100 mg l⁻¹).

În scopul determinării creșterii celulare, s-a recoltat și cântărit biomasa celulară (proaspătă sau uscată) din două în două zile din 5—8 vase de cultură, probe care au fost utilizate și pentru analizele biochimice. În acest mod au fost determinate și creșterea absolută (C.a.), rata specifică de creștere (μ) și timpul de dublare a biomasei celulare (T.d.). Conținutul în apă al celulelor s-a determinat prin raportul dintre biomasa celulară proaspătă și cea uscată (S.p./S.u.).

c) *Analize biochimice.* Azotații și zaharoza absorbită din mediu de către celule au fost determinați după metoda Koch și Koch [6] și, respectiv, după metoda Somogyi [12], spectrofotometric. Proteinele s-au dozat spectrofotometric după metoda Lowry și colab. [7]. Activitatea guaiacol-peroxidază a fost determinată spectrofotometric după metoda Bouchet și colab. [1].

Extractia și dozarea cardenolidelor s-a realizat după metoda dată de Jones și Veliky [5]. Cardenolidele au fost extrase din substanța uscată cu 20 ml etanol (70%) prin refluxare la 70°C timp de 20 min. Extractele răcite la temperatura camerei se tratează cu o soluție apoasă de acetat de plumb (3 ml) (pentru precipitarea fenolilor), după 5 min se centrifughează, iar la supernatant se adaugă 6 ml de Na₂HPO₄ (10%). După alte 5 min de incubație amestecul se centrifughează din nou. Supernatantul este extras o dată cu 30 ml cloroform și de două ori cu 20 ml amestec cloroform: metanol (1:1). Fazele organice se combină și se evaporă la sec. Reziduul se reia cu 0,5 ml cloroform: metanol (1:1). Soluția rezultată se aplică pe placa cromatografică. Faza staționară: plăci cu silicagel. Faza mobilă: acetat de etil: metanol: apă (81:11:8). Identificarea s-a realizat prin compararea cromatografică a extractelor cu probe etalon de digoxină, digitoxină și lanatozida C. Pentru determinarea cantitativă a glicozidelor cardiotonice, plăcile cromatografice au fost spreiate cu reactivul cloramina T și citite apoi la 380 nm cu un densitometru DESAGA CD 60. Curba etalon a fost realizată pentru concentrații de 0,2—0,6 μ g digoxină/spot.

Toate experimentele și analizele au fost repetate de trei ori.

Rezultate și discuții. Deși toate liniile celulare de *D. lanata* au fost cultivate în același tip de mediu (MS cu 2,4-D și BA), se observă că există diferențe între ele, atât din punct de vedere al creșterii celulare, cât și al altor parametri. Astfel, linia celulară 11 etalează valori ale C.a. mult mai mari decât ale celorlalte linii. În schimb, valorile μ și ale T.d. sunt mai scăzute, ceea ce dovedește faptul că această linie are o viteză mai mică de creștere (Tabel 1). Cu toate acestea, doar la liniile selectate de pe mediul fără colesterol biomasa celulară ajunge la peste 12 g s.u. l⁻¹ în faza staționară. Alte diferențe constau și în durata ciclului celular și fazele de creștere. Astfel, dacă la liniile 11 și 21—C50 există

Tabel 1

Creșterea liniilor celulare de *D. lanata* în mediul MS cu 2,4-D și BA

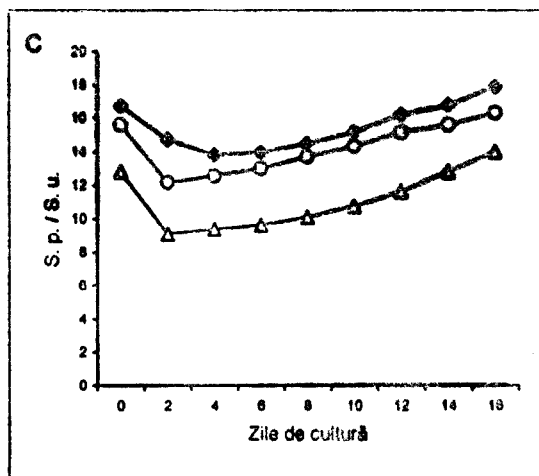
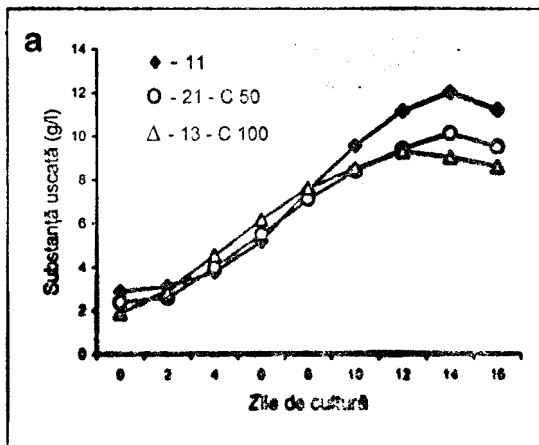
Indicii de creștere	Linia celulară		
	11	21—C50	13—C100
Creșterea absolută	0,76	0,65	0,50
Rata specifică de creștere (g s.u. l ⁻¹ zi ⁻¹)	0,15	0,18	0,23
Timpul de dublare a biomasei celulare (zile)	4,65	3,90	3,10

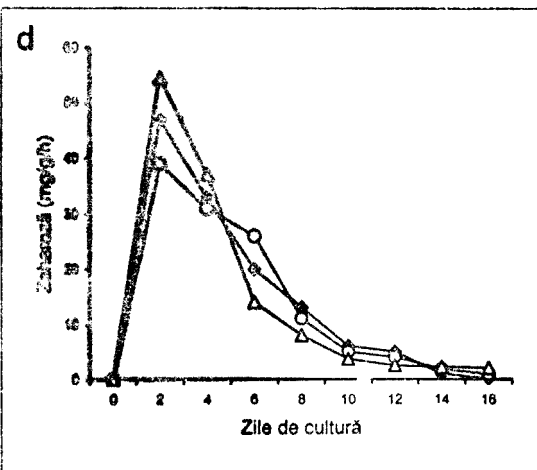
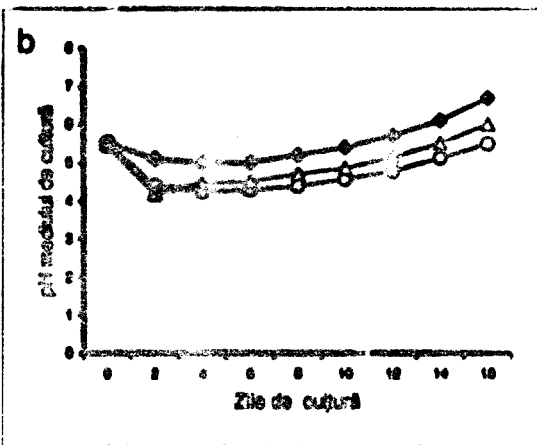
toate stadiile ciclului celular, linia 13—C100 nu are faza de lag, ea trecând direct din momentul inoculării în faza exponențială. De asemenea, această linie ajunge în faza staționară în ziua a 12-a de cultură și nu în cea de a 14-a ca celelalte două linii (Fig. 1a). Conținutul în apă al celulelor (S.p./s.u.) (Fig. 1c) variază de la o linie la alta, fiind mult mai mic în cazul liniei 13—C100. Pe parcursul perioadei de cultură raportul S.p./S.u. parcurge o curbă similară la toate cele trei linii. El scade marcant în timpul fazei exponențiale, se menține constant în cea lineară și se mărește spre sfârșitul perioadei de cultură concomitent cu mărirea volumului celulelor. Modificările pH-ului mediului de cultură (Fig. 1b) se produc într-un mod foarte asemănător cu cel înregistrat la S.p./S.u. și tot linia 13—C100 etalează nivelele cele mai scăzute ale acestui parametru.

Zaharoza este consumată aproape complet din mediu spre sfârșitul perioadei de cultură doar în cazul liniei 11, dar în primele zile ea este absorbită în cantități mult mai mari de către celulele liniei 13—C100 în comparație cu celelalte linii (Fig. 1d). Absorbția azotatului este maximă ca și cea a zaharozei în primele zile doar la liniile 21—C50 și 13—C100, linia 11 remarcându-se prin prezența a două maxime de consum al acestui ion în fazele de lag și lineară ale ciclului ei de creștere (Fig. 1e).

Modificarea unor parametri cum este conținutul în apă al celulelor poate fi explicată, așa cum arăta și Luckner și Dietrich [8], prin prezența unei anumite cantități de zaharoză în mediu, principala componentă activă osmotic. De asemenea, zaharoza este probabil, alături și de alți compuși, unul din factorii ce limitează creșterea.

Calitativ, activitatea peroxidazelor solubile este similară la toate cele trei linii celulare și este legată în special de creșterea celulară (Fig. 1g). Astfel, pe timpul perioadei de cultură, activitatea peroxidazică se mărește în faza exponențială, scade în cea lineară și se intensifică din nou în faza staționară. După Gaspar și colab. [4] este posibil ca aceste fenomene să se producă datorită acțiunii peroxidazelor asupra acumulării acidului 3-indolilacetic (AIA) și a rigidizării peretelui celular. În primul caz, o explicație a acestui fenomen constă în faptul că AIA intracelular, acumulat într-o cantitate excedentară, poate fi un





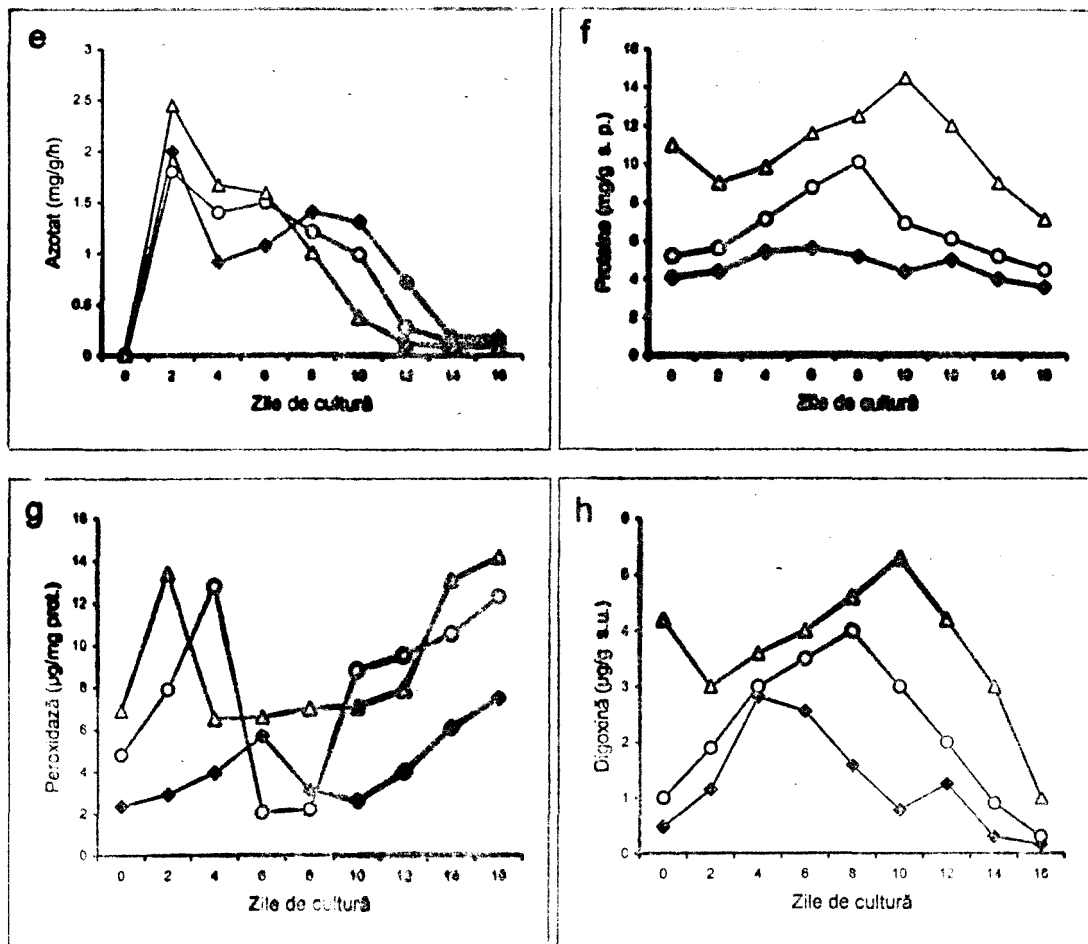


Fig. 1. Parametri caracteristici liniilor celulare 11 (◆), 21 (○) și 13-C100 (△) de *Digitalis lanata*, pe timpul perioadei de creștere.

a — Creșterea celulară. b — pH-ul mediului de cultură. c — Conținutul în apă al celulelor. d — Absorbția zaharozei din mediul de cultură. e — Absorbția azotaților din mediul de cultură. f — Biosinteza proteinelor. g — Activitatea guaiacol-peroxidazică. h — Biosinteza digoxinei.

factor inhibitor al creșterii și că peroxidazele pot să-l dezactiveze prin decarboxilare. Deci, în faza exponențială, în care se pot întâlni acumulări mai mari de AIA, activitatea peroxidazelor se mărește. În cel de al doilea caz, explicația constă în faptul că celulele culturilor ajunse în faza staționară sunt mature și au nevoie de un perete celular cât mai solid, perete care să le protejeze de factorii externi, impunându-se o rigidizare a acestuia, rigidizare care se produce printr-o intensificare a sintezei de peroxidaze. Totuși, și din punct de vedere cantitativ există diferențe între cele trei linii, linia 13—C100 etalând constant valori ale activității peroxidazice mai mari decât cele ale celorlalte linii.

Părerile despre modul de manifestare a metabolismului secundar sunt împărțite. Astfel, după unii autori [8], această manifestare este integrată în programele de exprimare a genelor și de dezvoltare, programe ce conduc la specializarea celulelor. Ei consideră că și sinteza cardenolidelor în culturi celulare de *Digitalis* este dependentă de diferențierea morfologică. Totuși, alții au găsit că unele culturi celulare de *Digitalis*, chiar nediferențiate morfologic, sunt capabile să acumuleze glicozide cardiotonice, dar în cantități foarte mici [2].

În urma analizelor efectuate se remarcă faptul că toate liniile celulare de *Digitalis lanata*, selecționate de noi, sunt capabile să sintetizeze cardenolide, respectiv digoxină. Cantitatea de digoxină acumulată este foarte mică ($\mu\text{g g}^{-1}$ s.u.), dar o întrece pe cea obținută cu alte culturi celulare de *Digitalis*, fie nediferențiate [2], fie diferențiate morfologic [10].

Între cele trei linii există diferențe nu numai din punct de vedere al intensității biosintezei de digoxină, dar și din cel al momentului în care nivelul atins de ea este maxim. Astfel, linia 11 acumulează cantitățile cele mai mari în ziua a 4-a de cultură ($2,82 \mu\text{g g}^{-1}$ s.u.) și în ziua a 12-a ($1,58 \mu\text{g g}^{-1}$ s.u.). La linia 21—C50, acumularea maximă are loc numai în ziua a 8-a de cultură — $4,0 \mu\text{g g}^{-1}$ s.u., iar linia 13—C100 prezintă cele mai crescute valori în ziua a 2-a ($4,2 \mu\text{g g}^{-1}$ s.u.) și în ziua a 10-a ($5,3 \mu\text{g g}^{-1}$ s.u.) (Fig. 1h).

Acest proces se poate datora faptului că în aceste zile de cultură, activitatea digitoxin-12 β -hidroxilazei, enzimă ce catalizează ultimele etape ale biosintezei glicozidelor cardiotonice, respectiv a digoxinei, să crească. În plus, tot în aceste perioade, s-a constatat că toate liniile celulare acumulează cantitățile cele mai mari de proteine totale (Fig. 1f). Astfel, există posibilitatea ca o anumită parte din ele să fie reprezentată de sistemele enzimatice ce intră în calea de biosinteză a cardenolidelor. În sprijinul acestor afirmații stau experiențele realizate de Petersen și colab. [11] cu culturi celulare de *D. lanata*, autori ce au descoperit că activitatea maximă a enzimei digitoxin-12 β -hidroxilaza este în concordanță cu acumularea de proteine și are loc doar într-o singură etapă.

În liniile celulare selectate de noi, prezența digitoxinei nu a fost detectată nici cantitativ și nici calitativ. Desigur, fenomenul este normal, deoarece unele cardenolide se găsesc în cantități foarte mici, nedetectabile prin metoda de analiză utilizată de noi care este mai puțin sensibilă decât ELISA sau HPLC.

Așa cum arătam mai sus, există diferențe marcante între cele trei linii din punct de vedere al intensității biosintezei de digoxină, liniile selectate de pe mediile cu colesterol — liniile 21—C50 ($4,0 \mu\text{g g}^{-1}$ s.u.) și 13—C100 ($5,3 \mu\text{g g}^{-1}$ s.u.) — conținând cantități mult mai mari decât cea selectată de pe mediu fără colesterol — linia 11 ($2,82 \mu\text{g g}^{-1}$ s.u.) (Fig. 1h). Se cunoaște că o etapă esențială în biosinteza cardenolidelor o constituie ruperea catenei laterale a colesterolului, reacție în urma căreia rezultă pregnenolonul, un precursor al cardenolidelor [10]. Probabil că celulele acestor linii izolate de pe mediile cu colesterol sunt capabile să metabolizeze colesterolul intracelular (ele au fost transferate și menținute în continuare într-un mediu MS fără colesterol) și să-l utilizeze pentru sinteza cardenolidelor. Deci, metoda de selecție clonală de linii celulare înalt productive de *Digitalis lanata* folosită de noi a dat rezultate bune și poate fi utilizată, alături de alte metode [2, 10], pentru obținerea de linii celulare înalt productive de cardenolide.

Concluzii. 1. Prin clonarea de mici agregate celulare pe medii cu colesterol se pot izola linii celulare înalt producătoare de digoxină.

2. Cele mai importante diferențe, care există între liniile celulare studiate, constau în intensitatea biosintezei de proteine și digoxină, precum și în activitatea peroxidazică.

3. Între sinteza proteinelor și cea a cardenolidelor există întotdeauna o corelație pozitivă, indiferent de linia celulară.

BIBLIOGRAFIE

1. Bouchet, M., Joassin, L., Schwind, F., Gaspar, T., *Effets à court et à long terme d'une variation de température et d'un traitement chimique sur les peroxidases de la betterave sucrière*, „Med. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent”, **42**, 1977, 1671—1679.
2. Cacho, M., Morán, M., Tárigo, F. J., Corchete, P., *Calcium restriction induces cardenolide accumulation in cell suspension cultures of Digitalis thapsi L.*, „Plant Cell Reports”, **14**, 1995, 786—789.
3. Evans, W. C., *Pharmacognosy*, 13th Ed., p. 504—513, Baillière Tindall, London, 1989.
4. Gaspar, T., Penel, C., Hagege, D., Greppin, H., *Peroxidases in plant growth, differentiation, and development processes*, in Lobarzewski, J., Greppin, H., Penel, C., Gaspar, T. (Eds.), *Biochemical, Molecular, and Physiological Aspects of Plant Peroxidases*, p. 249—280, Univ. Genève, Switzerland, 1991.
5. Jones, A., Veliky, I. A., *Biotransformation of cardenolides by plant cell cultures*, „Planta Med.”, **42**, 1981, 160—166.
6. Koch, C. G., Koch, C. A., *Handbuch der Spurenanalyse*, Springer, Berlin, 1964.
7. 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.
8. Lunkner, M., Diettrich, B., *The integration of cardenolide biosynthesis in the differentiation program "somatic embryogenesis" of Digitalis lanata*, in Kurz, W. G. W. (Ed.), *Primary and Secondary Metabolism of Plant Cell Cultures*, p. 117—124, Springer, Berlin, 1989.

9. Murashige, T., Skoog, F., *A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures*, „Physiol. Plant.”, **15**, 1962, 473–497.
10. Pálazon, J., Bonfill, M., Cusido, R. M., Pinol, M. T., Morales, C., *Effects of auxin and phenobarbital on morphogenesis and production of digitoxin in Digitalis callus*, „Plant Cell Physiol.”, **36**, 1995, 247–252.
11. Petersen, M., Seitz, H. U., Alfermann, A. W., *Digitoxin 12 β -hydroxylase, a cytochrome P-450-dependent enzyme from cell cultures of Digitalis lanata Ehrh.*, in Kurz, W. G. W. (Ed.), *Primary and Secondary Metabolism of Plant Cell Cultures*, p. 110–116, Springer, Berlin, 1989.
12. Somogyi, M., *Notes on sugar determination*, „J. Biol. Chem.”, **195**, 1952, 19–23.

WIRKUNGEN VON N-ÄTHYLMALEIMID (NEM) AUF DIE CYTOPLASMASTRÖMUNG UND DAS POLLENSCHLAUCHWACHSTUM

ROZALIA VINTILA*, MARTIN KEUL*, ERICA-CLAUDIA FEDIUC* und
GEORGETA LAZAR-KEUL*

SUMMARY. — **Effects of N-Ethylmaleimide (NEM) on Cytoplasmic Streaming and Pollen Tube Growth.** The effects of single and combined treatments with NEM (0.001—0.1 mM) and cysteine (0.1 mM) on the cytoplasmic streaming rate within wheat root hairs, pollen germination and pollen tube growth of *Cyclamen* sp. were investigated. A treatment with NEM alone induced a strong and concentration-dependent inhibition of streaming rate until the cessation of all movements. The inhibitory action of NEM was significantly reduced in a mixed treatment with NEM (0.02 mM) and cysteine (0.1 mM). The inhibition caused by treatment with NEM for 30 min followed by washing out with cysteine could not restore the motion at the control level indicating the formation of stable links between NEM and endogenous -SH groups. NEM shows also a strong inhibitory action on pollen germination and pollen tube growth. Our results demonstrate that thiol groups could be involved in the mechanisms of cytoplasmic streaming, pollen germination and pollen tube growth.

Neuere Untersuchungen konnten belegen, daß viele intrazelluläre Bewegungserscheinungen bei Pflanzen F-Aktin-abhängig sind, wobei der beteiligte molekulare Mechanismus auf der dynamischen Wechselwirkung zwischen Aktin-Filamenten und Myosin beruht [4, 14, 19, 26]. In den Wurzelhaaren vieler Pflanzen kommt die Cytoplasmaströmung vorwiegend als Rotations- oder Zirkulationsbewegung sehr lebhaft zum Ausdruck [3, 8, 9, 25]. Neben den als klassische Versuchsobjekte zu Untersuchung intrazellulärer Bewegungen herangezogenen Internodialzellen von *Chara* und *Nitella* oder *Physarum*-Plasmodien [8, 9] stellen die Wurzelhaare ebenfalls günstige Zellmodelle dar, die sowohl zur Erforschung der Cytoplasmaströmung [2, 3, 19, 25], als auch zur Durchführung anderer zellbiologischer Experimente eingesetzt werden, wie z.B. zur Untersuchung der Protonen-Pumpen der plasmatischen Membran [13], bei genetischen Analysen [17] oder bei Untersuchungen hinsichtlich der Wechselwirkungen zwischen Pflanzenzellen und Stickstoff-fixierenden Mikroorganismen [16].

Frühere Untersuchungen haben gezeigt, daß die Zufuhr von SH-Gruppen, insbesondere in Form von Cystein, eine fördernde Wirkung auf die Protoplasmaströmung ausübt [9, 22]. Nach Verabreichung spezifischer Hemmstoffe der SH-Gruppen wird die Cytoplasmaströmung dagegen gehemmt oder sogar sistiert [1, 5—7, 12, 14]. Derartige Versuche

* Institut für Biologische Forschungen, 3100 Cluj-Napoca, Rumänien

unterstreichen die Bedeutung der endogenen SH-Gruppen für den Mechanismus der Cytoplasmaströmung.

Zum Nachweis der Beteiligung eines Aktomyosin-Systems als strukturelle Grundlage für den Mechanismus der Cytoplasmaströmung bzw. bei der Verlagerung von Zellorganellen wird der primär auf Myosin einwirkende Hemmstoff N-Äthylmaleimid (NEM) verwendet [5, 10, 14].

In vorliegender Arbeit werden die Versuchsergebnisse über die durch NEM induzierten Wirkungen auf die Cytoplasmaströmung in den Wurzelhaaren von Weizenkeimlingen in einigen experimentellen Varianten vorgeführt. Es handelt sich um singuläre NEM-Behandlungen, sowie um kombinierte Verabreichungen von NEM und Cystein als SH-Gruppen-Donator. Parallel wurden Versuche über NEM-Wirkungen auf die Pollenkeimung und das Pollenschlauchwachstum durchgeführt, da bekannt ist, daß beim Streckungswachstum der Zellen ebenfalls aktomyosinartige Systeme von Mikrofilamenten beteiligt sind [4, 15].

Material und Arbeitsmethoden. 1. *Die Messung der Geschwindigkeit der Cytoplasmaströmung.* Die Versuche wurden mit abgetrennten, etwa 1,5–2 cm langen Wurzelspitzen von Weizenkeimlingen (*Triticum aestivum* L., cv. Transilvania) durchgeführt. Die Weizenkaryopsen wurden in Petri-Schalen auf mit Leitungswasser angefeuchtetem Filterpapier bei 22–23°C im Dunkeln gekeimt. Nach 2–3 Tagen wurden die abgetrennten Wurzelspitzen auf einem Objektträger mit Deckglasföbchen in einem Gemisch aus Leitungs- und destilliertem Wasser (1:1) präpariert.

Die Geschwindigkeit der Cytoplasmaströmung wurde phasenkontrastoptisch (Objektiv 40x, Okular 16x) mittels einer Stoppuhr und eines Okularmikrometers ermittelt. Die Länge der untersuchten Wurzelhaare betrug 750–1000 μ m, da die Geschwindigkeit der Rotationsströmung von der Länge der Zelle [18] und von der Wachstumsrate [20] abhängig ist. Vor dem eigentlichen Versuchsbeginn verblieb das Präparat 30 min im Lichtfeld des Mikroskopes, um einerseits den Traumaschock abklingen zu lassen, bzw. um andererseits die photodinetische Lichtwirkung [11] zu stabilisieren. Nach der Registrierung der Kontrollgeschwindigkeit wurden die zu untersuchenden Versuchslösungen durch Infiltration unter dem Deckglas durchgesaugt [22, 23, 25]. Die NEM-Lösungen (Serva Feinbiochemica, Heidelberg) wurden in destilliertem Wasser vorbereitet. Die Versuchsvarianten wurden nach folgendem Schema durchgeführt: 1. singuläre Behandlung mit NEM (0,01, 0,02, 0,1 mM); 2. singuläre Cystein-Behandlung (0,1 mM); 3. kombinierte NEM-Cystein-Behandlungen durch Auswaschungsversuche mit Cystein (0,1 mM) nach 30 min NEM-Behandlung (0,02 mM); 4. gleichzeitige Verabreichung von NEM (0,02 mM) und Cystein (0,1 mM).

Jede Versuchsvariante wurde 3–5mal wiederholt. Die Versuchsdauer betrug 120 min. Die Lösungen unter dem Deckglas wurden alle 15 min durch Infiltration erneuert. In den Zeitintervallen zwischen zwei aufeinanderfolgenden Infiltrationen wurden je 40–50 Messungen durchgeführt, aus denen mittlere Werte der Geschwindigkeit berechnet wurden. Jeder Punkt in den Abbildungen stellt demnach ein Mittel von 120 Einzelmessungen dar. Eine derart hohe Anzahl von Einzelwerten kann die natürliche Variabilität im Ablauf der Strömungsgeschwindigkeit weitgehend ausschalten [3].

2. *Pollenkeimung und Messung des Pollenschlauchwachstums.* Für diesen Test wurden frisch gesammelte Pollen von *Cyclamen* sp. unter Verwendung von Hohlschliff-Objektträgern verwendet. Das halbflüssige Kulturmedium bestand aus 0,25% Agar, 8% Saccharose und 0,01% Borsäure. Die Inkubation erfolgte in einem Thermostaten bei 25°C. NEM wurde dem Kulturmedium bis zu einer Endkonzentration von 0,01, 0,002 bzw. 0,001 mM zugesetzt. Die Pollenkeimung wurde

alle 30 min ausgewertet. Die Länge der Pollenschläuche wurde nach einer Inkubationsdauer von 2 Stunden gemessen. Die Versuche wurden in 3 Wiederholungen je Variante durchgeführt und die Ergebnisse statistisch verarbeitet.

Ergebnisse und Diskussion. 1. *Der Verlauf der Cytoplasmaströmung unter der Einwirkung von NEM.* Vorversuche zeigten, daß nur eine relativ niedrige NEM-Konzentration unter 0,1 mM für dieses Versuchsmodell in Frage kommt, da eine höhere Konzentration von 1 mM zum plötzlichen und von morphologischen Änderungen des Zellinhaltes begleiteten irreversiblen Stillstand der Cytoplasmaströmung führte.

Die nach der Einwirkung von 0,1, 0,02 und 0,01 mM NEM erzielten Ergebnisse sind in Abb. 1 als Prozentwerte gegenüber der Kontrolle dargestellt.

Innerhalb eines bestimmten Konzentrationsbereiches (0,01 und 0,02 mM) verursacht die Zufuhr von NEM eine konzentrationsabhängige und mit der Behandlungsdauer fortschreitende Hemmung der Strömungsgeschwindigkeit. Auch in diesem Konzentrationsbereich wurde je-

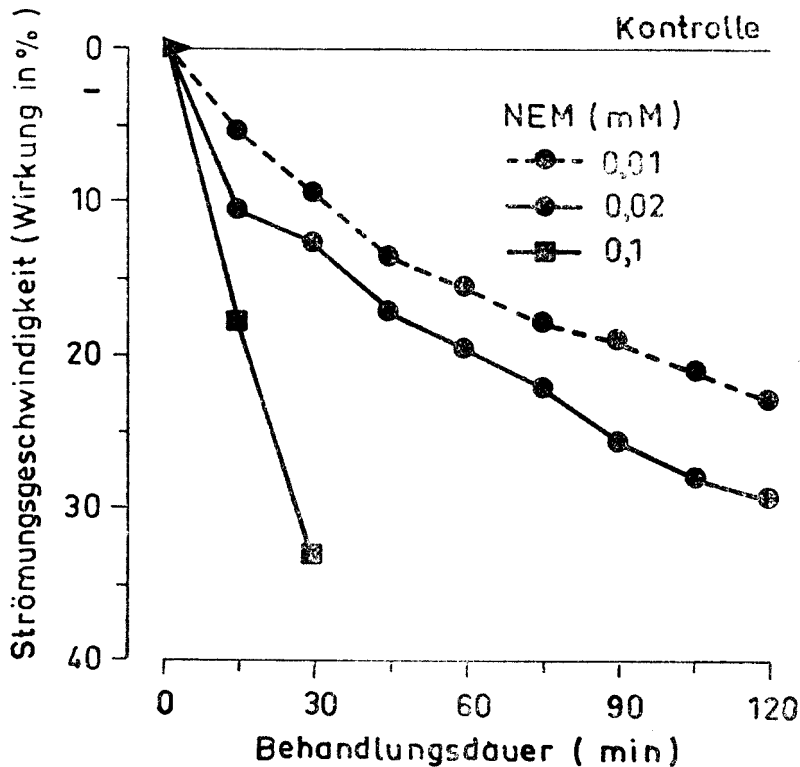


Abb. 1. Die Wirkung verschiedener NEM-Konzentrationen auf die Cytoplasmaströmung in den Wurzelhaaren von Weizenkeimlingen (*Triticum aestivum* L.).

doch eine Gradation in der Wirkungsweise von NEM festgestellt. Nach einer NEM-Zufuhr von 0,01 mM reagiert die Cytoplasmaströmung bei den untersuchten Wurzelhaaren ziemlich homogen, wobei die Hemmung der Geschwindigkeit mit der Behandlungsdauer fortschreitet. Bei Anwendung einer höheren Konzentration von 0,02 mM treten heterogene Reaktionen auf, indem die typische Rotation allmählich in Turbulenzbewegungen übergeht. Erreicht der Hemmstoff in der Zelle nach Zufuhr von 0,1 mM NEM eine gewisse Konzentration, dann schreitet die Hemmwirkung rasch fort und die Cytoplasmaströmung kommt im Verlauf von 15—30 min plötzlich zum endgültigen Stillstand (Abb. 1.).

Der durch NEM verursachte plötzliche Stillstand der Cytoplasmaströmung in den Wurzelhaaren von Weizenkeimlingen kann, ähnlich wie bei der NEM-induzierten Blockierung der Chloroplastenbewegung in Mesophyllzellen bei *Vallisneria* [14], als „Erstarrungszustand“ bezeichnet werden. Es besteht demnach eine gute Übereinstimmung zwischen unseren Ergebnissen hinsichtlich der NEM-Wirkung auf die Cytoplasmaströmung in den Weizenwurzelhaaren und den nach der Einwirkung von 0,3 mM NEM induzierten Hemmwirkungen auf die Chloroplastenbewegung [14]. Die erzielten Ergebnisse zeigen, daß die Wurzelhaare empfindlicher auf NEM reagieren, so daß der Stillstand der Cytoplasmaströmung schon nach Verabreichung von 0,1 mM NEM eingeleitet wird. Nach den oben zitierten Autoren ist die Verwendung von NEM der beste Test zum Nachweis der Myosin-Funktion „*in vivo*“, wobei NEM wahrscheinlich zur Ausbildung starrer Molekül-Komplexe zwischen Aktin und Myosin führt. Unsere Ergebnisse können demnach als Argumente für die Anwesenheit eines NEM-empfindlichen Myosins in den Weizenwurzelhaaren und für dessen Beteiligung am Mechanismus der Rotationsströmung ausgelegt werden.

2. *Die Wirkung kombinierter Behandlungen mit NEM und Cystein auf die Cytoplasmaströmung.* Bevor auf diese Ergebnisse eingegangen wird, sollen einige Betrachtungen über die Cystein-Wirkung auf die Cytoplasmaströmung vorangestellt werden. Die bei der Untersuchung intrazellulärer Bewegungen an verschiedenen Versuchsmoellen mit Cystein durchgeführten Versuche konnten die fördernde Wirkung einer SH-Gruppen-Zufuhr auf die Cytoplasmaströmung belegen [1, 9], insbesondere wenn die Cystein-Wirkung mit der Wirkung von Cystin oder Methionin ohne aktive Sulfhydryl-Gruppen verglichen wird [6, 22].

Die in Abb. 2 dargestellten Ergebnisse bestätigen die Wirksamkeit von Cystein auf die Cytoplasmaströmung in den Wurzelhaaren der Weizenkeimlinge.

Zur Durchführung kombinierter Behandlungen mit den beiden Reagenzien wurden Auswaschungsversuche mit Cystein nach einer Behandlungsdauer von 30 min NEM vorgenommen. Die Ergebnisse dieser Versuche zeigen, daß die durch NEM induzierte Hemmwirkung nach Auswaschung mit Cystein nicht weiter fortschreitet, sondern stationär bis zum Versuchsende fort dauert (Abb. 2). Nach gleichzeitiger Verabreichung beider Reagenzien heben sich die nach singulären Behandlungen

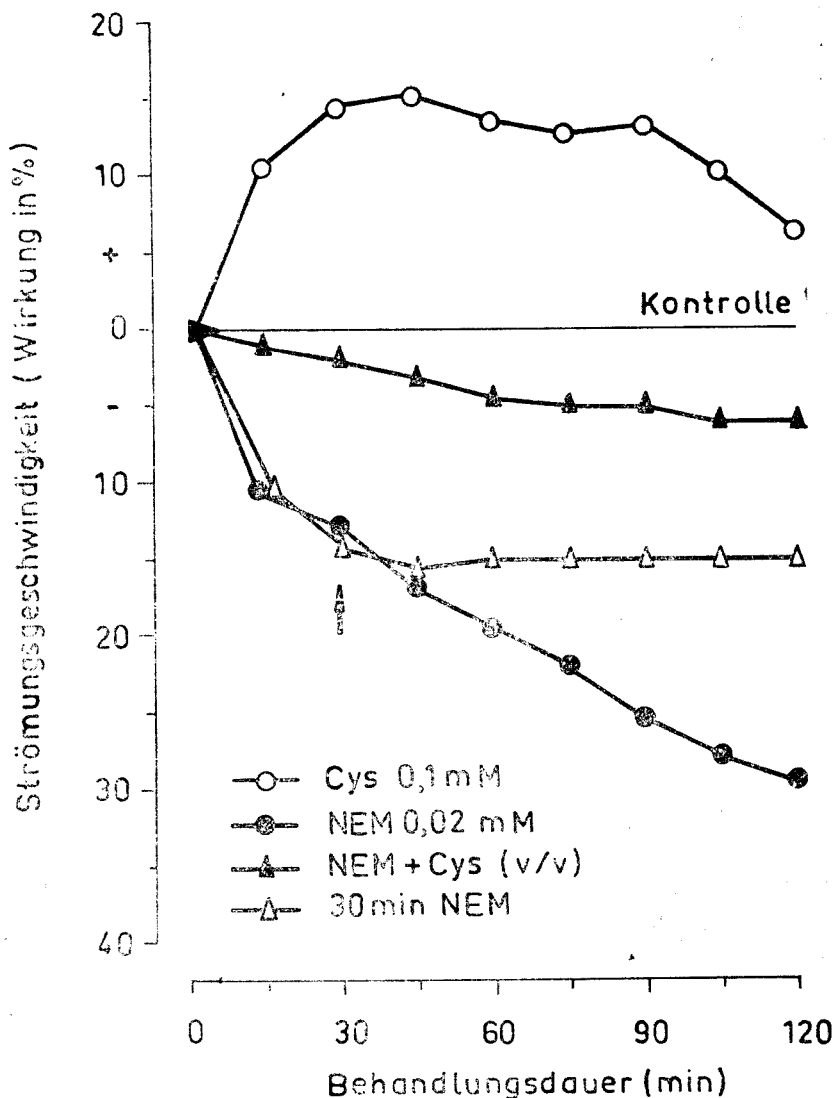


Abb. 2. Die Wirkung singulärer und kombinierter NEM- und Cystein-Behandlungen auf die Cytoplasmastromung in den Wurzelhaaren von Weizenkeimlingen (*Triticum aestivum* L.). Der Pfeil markiert den Beginn der Auswaschungsversuche mit Cystein.

mit NEM und Cystein induzierten spezifischen Förder- bzw. Hemmwirkungen gegenseitig weitgehend auf (Abb. 2).

Aus diesen Versuchen kann auf eine stabile Bindung von NEM an die endogenen Thiol-Gruppen geschlossen werden, so daß eine Auswaschung mit Cystein zur Aufhebung der NEM-Wirkung unwirksam ist.

Gleichzeitig unterstreichen diese Ergebnisse die Bedeutung der reaktiven SH-Gruppen für die intrazellulären Bewegungserscheinungen in den Wurzelhaaren der Weizenkeimlinge.

3. Die Wirkung von NEM auf die Pollenkeimung und das Pollenschlauchwachstum bei *Cyclamen sp.* Pollenschläuche zeichnen sich ähnlich wie Wurzelhaare durch ein ausgesprochen apikales Wachstum und eine bestimmte cytoplasmatische Zonierung aus [4, 15, 21]. Die Kontrollmechanismen der Pollenkeimung und des Pollenschlauchwachstums sind nicht endgültig geklärt, doch zeigen experimentelle Befunde, daß sowohl bei der Cytoplasmaströmung als auch beim Pollenschlauchwachstum kontraktile Mikrofilament-Systeme beteiligt sind [4, 15].

Die Wirkungen verschiedener NEM-Konzentrationen (0,01, 0,002 und 0,001 mM) auf die Pollenkeimung und das Pollenschlauchwachstum

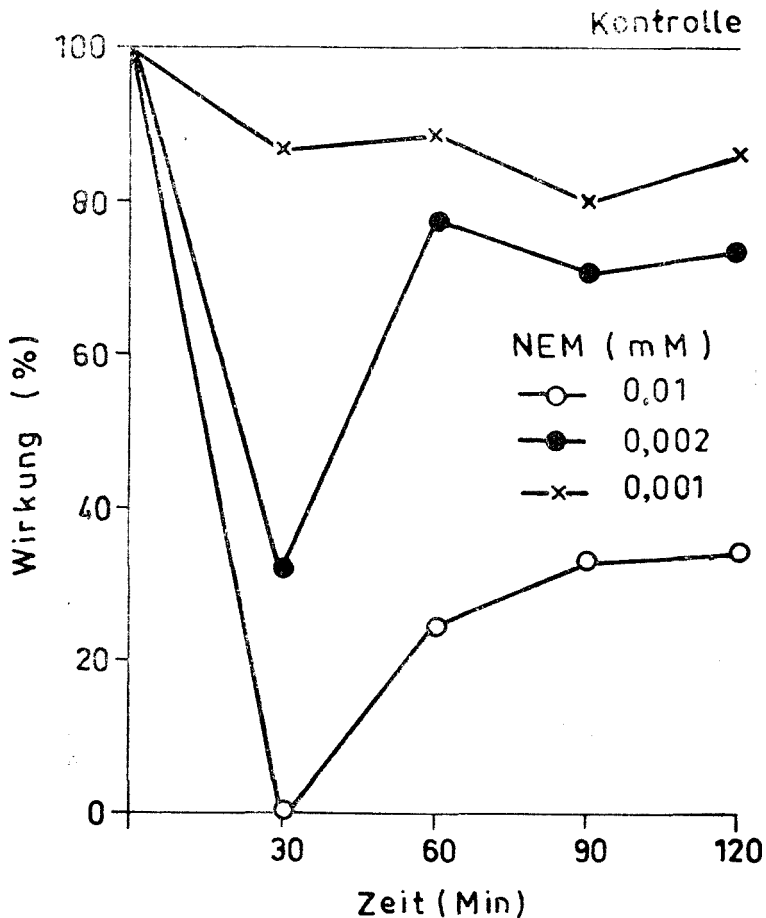


Abb. 3. Die NEM-Wirkung auf die Keimung von *Cyclamen*-Pollen „in vitro“.

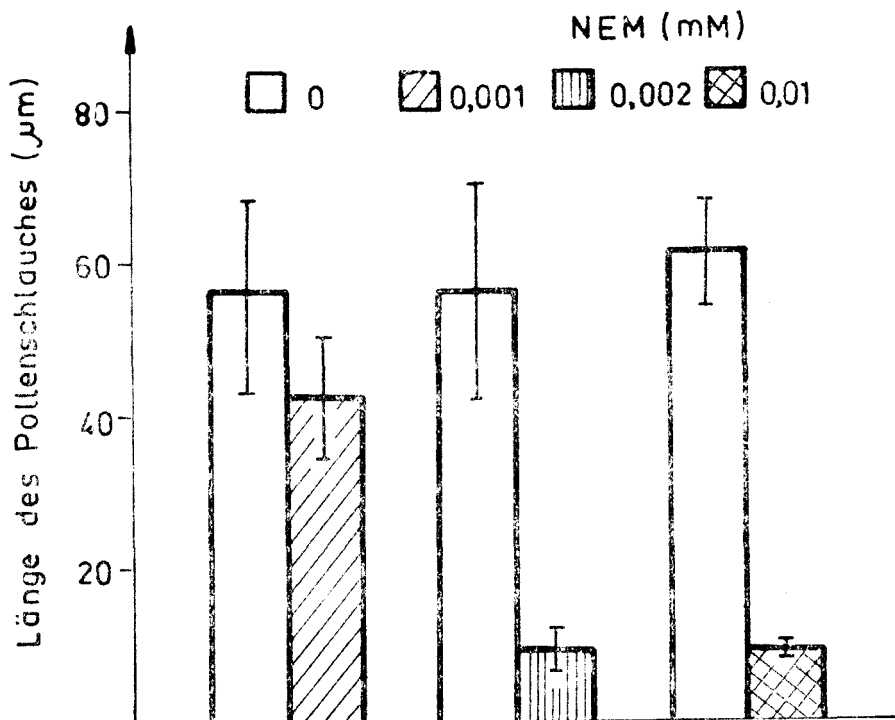


Abb. 4. Die NEM-Wirkung auf das Pollenschlauchwachstum bei *Cyclamen sp.*

bei *Cyclamen sp.* sind in Abb. 3 und 4 dargestellt. Die Keimung des *Cyclamen*-Pollens schreitet „in vitro“ rasch fort, wobei die Keimprozentage mit der Inkubationsdauer zunehmen [24]. Im Vergleich zu den Kontrollproben wird die Pollenkeimung in Anwesenheit von NEM mit steigender Konzentration zunehmend verzögert (Abb. 3). Nach einer Inkubationsdauer von 60 min wird eine stationäre Hemmung der Pollenkeimung von 70 bzw. 30% durch 0,01 bzw. 0,002 mM NEM über die gesamte Versuchsdauer erreicht. Dagegen werden bei 0,001 mM NEM nur mäßige Hemmungen (10–15%) induziert.

Nach einer Inkubationsdauer von 2 Stunden wurde die Länge der Pollenschläuche gemessen. Die erzielten Ergebnisse zeigen (Abb. 4), daß die Hemmung des Pollenschlauchwachstums ebenfalls von der applizierten NEM-Konzentration abhängig ist. Auch in diesem Fall wird das Wachstum schon durch relativ niedrige NEM-Konzentrationen (wie auch durch andere SH-Gruppen-Hemmstoffe) plötzlich eingestellt. Diese Ergebnisse belegen die hohe Empfindlichkeit des verwendeten Testmodells gegenüber NEM und lassen auf die Beteiligung von SH-Gruppen bzw. von motrischen Proteinen [4, 15, 21] im Mechanismus der untersuchten Erscheinungen schließen.

Schlussfolgerungen. Die vorliegenden Versuchsergebnisse über die Wirkung des spezifischen SH-Gruppen-Hemmstoffes NEM deuten darauf hin, daß die endogenen Sulfhydryl-Gruppen eine wesentliche Rolle im Mechanismus der Cytoplasmaströmung, bei der Pollenkeimung und beim Pollenschlauchwachstum spielen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Abe, S., *The effect of p-chloromercuribenzoate on rotational protoplasmic streaming in plant cells*, „Protoplasma”, **58**, 1964, 483—492.
2. Ayling, S. M., Brownlee, C., Clarkson, D. T., *The cytoplasmic streaming response of tomato root hairs to auxin: observations of cytosolic calcium levels*, „J. Plant Physiol”, **143**, 1994, 184—188.
3. Ayling, S. M., Butler, R. C., *Time-series analysis of measurements on living cells illustrated by analysis of particle movement in the cytoplasm of tomato root hairs*, „Protoplasma”, **172**, 1993, 124—131.
4. Cai, G., Moscatelli, A., Del Casino, C., Cresti, M., *Cytoplasmic motors and pollen tube growth*, „Sex Plant Reprod.”, **9**, 1996, 59—64.
5. Chen, J. C. W., Kamiya, N., *Localization of myosin in the internodal cell of Nitella as suggested by differential treatment with N-ethylmaleimide*, „Cell Structure Function”, **1**, 1975, 1—9.
6. Fabian, A., Vintilă, R., *Studii privind efectul metioninei și glutatoniului asupra mișcării protoplasmice*, „Stud. Univ. Babeș—Bolyai, Biol.”, **15** (2), 1970, 69—75.
7. Fabian, A., Vintilă, R., *Repercursiunile blocării cu salyrgan a grupărilor sulfhidrice celulare asupra curenților protoplasmatici din perii radiculari*, „Stud. Univ. Babeș—Bolyai, Biol.”, **16** (2), 1971, 49—59.
8. Haupt, W., *Bewegungsphysiologie der Pflanzen*, Thieme, Stuttgart, 1977.
9. Kamiya, N., *Protoplasmic Streaming*, in *Protoplasmatologia, Handb. Protoplasmaforschung*, VIII/3a, Springer, Wien, 1959.
10. Karlsson, R., Lindberg, U., *Changes in the organization of actin and myosin in non-muscle cells induced by N-ethylmaleimide*, „Exp. Cell Res.”, **157**, 1985, 95—115.
11. Keul, M., *Das Wirkungsspektrum der Photodinese in den Wurzelhaaren der Gerste (Hordeum vulgare L.)*, „Z. Pflanzenphysiol.”, **79**, 1976, 40—52.
12. Lazăr—Keul, G., Vintilă, R., Fabian, A., *Cercetări privind efectul ATP și al salyrganului asupra curenților de rotație din perii radicali de orz (Hordeum vulgare)*, „Stud. Univ. Babeș—Bolyai, Biol.”, **17** (1), 1972, 49—56.
13. Lew, R. R., *Electrogenic transport properties of growing Arabidopsis root hairs. The plasma membrane proton pump and potassium channels*, „Plant Physiol.”, **97**, 1991, 1527—1534.
14. Liebe, S., Menzel, D., *Actomyosin—based motility of endoplasmic reticulum and chloroplasts in Vallisneria mesophyll cells*, „Biol. Cell.”, **85**, 1995, 207—222.
15. Mascarenhas, J. P., *Molecular mechanisms of pollen tube growth and differentiation*, „Plant Cell”, **5**, 1993, 1303—1314.
16. Peterson, R. L., Farquhar, M. L., *Root hairs: specialized tubular cells extending root surfaces*, „Bot. Rev.”, **62**, 1996, 1—40.
17. Ridge, R. W., *Recent developments in the cell and molecular biology of root hairs*, „J. Plant Res.”, **108**, 1995, 399—405.
18. Sattelmacher, B., Heinecke, I., Mühling, K. H., *Influence of minerals on cytoplasmic streaming in root hairs of intact wheat seedlings (Triticum aestivum L.)*, „Plant Soil”, **155/156**, 1993, 107—110.

19. Shimmen, T., Hamatani, M., Saito, S., Yokota, E., Mimura, T., Fusetani, N., Karaki, H., *Roles of actin filaments in cytoplasmic streaming and organization of transacuolar strands in root hair cells of Hydrocharis*, "Protoplasma", **185**, 1995, 188—193.
20. Soran, V., Lazăr-Keul, G., *Relationship between cell growth and rate of protoplasmic streaming*, "Cytologia", **43**, 1978, 265—271.
21. Steer, M. W., Steer, J. M., *Pollen tube tip growth*, "New Phytol.", **111**, 1989, 323—358.
22. Vintilă, R., Fabian, A., *Efectul unor compuși sulfhidrilici asupra curenților protoplasmatici*, „Stud. Univ. Babeș—Bolyai, Biol.”, **15** (1), 1970, 55—61.
23. Vintilă, R., Fabian, A., Lazăr-Keul, G., *Controlul mișcării protoplasmatice în perii radiculari prin ATP, grupările -SH și ionii Ca^{2+}* , „Stud. Univ. Babeș—Bolyai, Biol.”, **18** (1), 1973, 47—54.
24. Vintilă, R., Fediu, E. C., Lazăr-Keul, G., Keul, M., *Efectul PCMB asupra germinării și creșterii tubului polinic de Cyclamen sp.*, „An. Univ. Oradea, Biol.” (în Druck).
25. Vintilă, R., Lazăr-Keul, G., Keul, M., *The effect of single and combined UV-radiation and lead treatment on the cytoplasmic streaming rate within wheat (Triticum aestivum L.) root hairs*, „Stud. Univ. Babeș—Bolyai, Biol.”, **42** (1—2), 1997, 129—135.
26. Williamson, R. E., *Organelle movements*, „Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.”, **44**, 1993, 181—202.

PCMB-WIRKUNGEN AUF DIE ROTATIONSSTRÖMUNG IN WEIZENWURZELHAAREN (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

ROZALIA VINTILĂ*, MARTIN KEUL*, GEORGETA LAZĂR-KEUL* und
ERICA-CLAUDIA FEDIUC*

SUMMARY. — Effects of PCMB on the Cytoplasmic Streaming Rate within Wheat (*Triticum aestivum* L.) Root Hairs. The effects of PCMB (0.1, 0.5 and 1 mM) applied in single and combined treatment with cysteine (1 mM) on the cytoplasmic streaming rate within wheat root hairs were studied. While cysteine has a stimulatory effect, PCMB induces a concentration-dependent inhibition of the streaming rate. Over a time period, depending on the applied PCMB concentration, the cytoplasmic streaming is suddenly stopped. The inhibition of PCMB can be prevented by a treatment with a mixed solution of PCMB and cysteine, but not if the reagent is added and then followed by washing out with cysteine; the effect is probably caused by the formation of stable links between PCMB and thiol groups. The present results demonstrate that thiol groups play a key role in cytoplasmic flow within wheat root hairs.

Die Beteiligung von Aktomyosin-Filamenten und anderen Elementen des Cytoskelettes (Mikrotubuli) als grundlegende funktionelle Strukturen für viele Typen intrazellulärer Bewegungen bei Pflanzen ist an besonders günstigen Zellmodellen biochemisch und ultrastrukturell einwandfrei nachgewiesen worden [6, 15, 16, 25, 33].

Die Cytoplasmaströmung kommt in den Wurzelhaaren vieler Pflanzen je nach dem vorliegenden Zelltyp meistens als Rotations- oder Zirkulationsbewegung vor [10] und kann phasenkontrastoptisch bei voller Vitalität der Zelle relativ leicht beobachtet und quantitativ ausgewertet werden. Als einzellige Versuchsmodelle werden die Wurzelhaare nicht nur zur Untersuchung cytoplasmatischer Bewegungen herangezogen [2, 21, 25, 32], sondern sie erweisen sich darüber hinaus auch als besonders günstige Versuchsobjekte zur Durchführung zell- und molekularbiologischer Analysen [5, 14, 19, 20].

Wesentliche strukturelle, biochemische und zellenergetische Argumente zur Unterstützung der Hypothese des kontraktiven Mechanismus intrazellulärer Bewegungen bei Pflanzen wurden insbesondere durch Untersuchungen an den experimentell relativ leicht zugänglichen Internodialzellen von *Chara* und *Nitella* oder *Physarum*-Plasmodien erzielt [1, 10, 27]. Für den Nachweis ähnlicher kontraktiver Funktionsmechanismen bei der Cytoplasmaströmung in den experimentell weniger günstigen Wurzelhaaren ist man dagegen mehr auf indirekte Beweise zellphysiologischer Natur angewiesen, wie z.B. auf Versuche mit spezifischen Hemmstoffen [8, 12, 29, 31].

* Institut für Biologische Forschungen, 3100 Cluj-Napoca, Rumänien

In einer früheren Arbeit wurde die Hemmwirkung des Hg-freien SH-Gruppen-Giftes N-Äthylmaleimid (NEM) auf die Cytoplasmaströmung in den Weizenwurzelhaaren untersucht [31]. Bekanntlich hemmt NEM die SH-Gruppen der Cytoskelettproteine und insbesondere die des Myosins reversibel [15], so daß die mit diesem Hemmstoff erzielten Angaben als Hinweis für die Beteiligung aktomyosinartiger Strukturen an der Cytoplasmaströmung in den Weizenwurzelhaaren ausgelegt werden können.

Vorliegende Arbeit ist eine Fortsetzung dieser Untersuchungen mit einem Hg-haltigen SH-Gruppen-Hemmstoff, dem Na-Salz der 4-Hydroxy-mercuribenzoessäure (PCMB), wobei Ähnlichkeiten und Unterschiede in der Wirkung von PCMB und NEM auf die Cytoplasmaströmung in den Weizenwurzelhaaren herausgestellt werden. Durch Versuche mit Hg-haltigen SH-Hemmstoffen wurden bisher bedeutende Ergebnisse bei der Aufklärung des Mechanismus intrazellulärer Bewegungen erzielt [1, 22—24, 27]. Andererseits werden diese Reagenzien auch als molekulare Marker bei Untersuchungen über den Membrantransport eingesetzt, wodurch es gelungen ist, die Beteiligung von Proteinen am Membrantransport nachzuweisen [3, 4, 7, 17, 18].

Material und Arbeitsmethoden. 1. *Pflanzenmaterial.* Weizenkaryopsen (*Triticum aestivum* L., cv. Transilvania) wurden in Petri-Schalen auf mit Leitungswasser angefeuchtem Filterpapier, bei 22—23°C im Dunkeln gekeimt. Am 3. Tag nach dem Ansetzen wurden die 1,5—2 cm langen Wurzelspitzen abgetrennt und auf einem Objektträger mit Deckglasfüßchen in einem Tropfen Kontrollmedium präpariert. Als Kontrollmedium diente die zur Auflösung von PCMB verwendete und anschließend mit HCl und NaCl neutralisierte NaOH-Lösung [1].

Für die Versuche wurden Wurzelhaare von 750—1000 μm Länge verwendet, da sich die Werte der Rotationsgeschwindigkeit in diesem Entwicklungsstadium der Wurzelhaare gegenüber Länge [26] und Wachstumsrate der Zelle [21] weitgehend stabilisieren.

2. *Die Messung der Geschwindigkeit der Cytoplasmaströmung.* Die Geschwindigkeit der Cytoplasmaströmung wurde phasenkontrastoptisch (Obj. 40x, Ok. 16x) mittels einer Stoppuhr und eines Okularmikrometers gemessen. Vor dem eigentlichen Versuchsbeginn verblieb das Präparat 30 min im Lichtfeld des Mikroskopes, um einerseits den Traumaschock abklingen zu lassen, bzw. um andererseits die photodinetische Lichtwirkung [11] zu stabilisieren.

Nach Messung der Kontrollgeschwindigkeit im neutralisierten Lösungsmittel von PCMB wurden die zu untersuchenden Versuchslösungen durch Infiltration unter dem Deckglas durchgesaugt. Die Versuchsdauer betrug jeweils 120 Minuten. Die Versuchslösungen unter dem Deckglas wurden alle 15 min durch Infiltration erneuert. In den Zeitintervallen zwischen zwei aufeinanderfolgenden Infiltrationen wurden je 50 Messungen durchgeführt, aus denen mittlere Geschwindigkeitswerte berechnet wurden. Andere technische Einzelheiten sind früheren Arbeiten zu entnehmen [8, 13, 26, 28, 29, 31, 32].

3. *Die PCMB-Behandlungen.* PCMB ist weder in Wasser noch in Säuren löslich. Das Reagenz (Fluka) wurde deshalb nach Abe [1] in NaOH aufgelöst und die Lösung anschließend mit HCl und NaCl neutralisiert. Die Endkonzentrationen von NaOH, HCl und NaCl wurden bei allen Versuchslösungen konstant gehalten. Die PCMB-Behandlungen wurden nach folgendem Versuchsschema durchgeführt: 1. singuläre PCMB-Behandlung (1, 0,5 und 0,1 mM); 2. gleichzeitige Behandlung mit 0,5 mM PCMB und 1 mM Cystein (v/v); 3. kontinuierliche Aus-

waschung mit Cystein (1 mM) nach 30 min PCMB-Einwirkung (0,5 mM); 4. singuläre Behandlung mit Cystein (1 mM); 5. singuläre Behandlungen mit PCMB und NEM gleicher Molaritäten (0,1 mM).

Jede Versuchsvariante wurde 3–5mal wiederholt. Jeder Punkt in den Abbildungen stellt demnach ein Mittel von mindestens 150 Einzelmessungen der Strömungsgeschwindigkeit dar. Durch diese hohe Anzahl von Einzelwerten kann die natürliche Variabilität im Ablauf der Strömungsgeschwindigkeit weitgehend ausgeschaltet werden [2].

Ergebnisse und Diskussion. 1. *Die PCMB-Wirkung auf die Cytoplasmaströmung.* Der Ablauf der relativen Strömungsgeschwindigkeit in den Wurzelhaaren der Weizenkeimlinge unter der Einwirkung von PCMB (1, 0,5 und 0,1 mM) ist in Abb. 1 in Prozentwerten gegenüber der Kontrolle dargestellt. Anhand der erzielten Ergebnisse können einige Merkmale der PCMB-Wirkung *in vivo* formuliert werden.

PCMB hemmt die Strömungsgeschwindigkeit und führt schließlich zum vollständigen Stillstand der Cytoplasmaströmung. Ein charakteristisches Merkmal der Wirkung von PCMB auf die Cytoplasmaströmung besteht darin, daß die Hemmung der Strömungsgeschwindigkeit im gesamten untersuchten Konzentrationsbereich plötzlich eintritt und kurz darauf zum Stillstand der Strömung führt. Dieser Effekt tritt in Abhängigkeit von der verabreichten PCMB-Konzentration nach verschiedenen Zeitintervallen auf (30 min nach 1 mM, 60 min nach 0,5 mM und 105 min nach 0,1 mM). Die Beziehung zwischen der verabreichten PCMB-Lösung und der plötzlich eintretenden Hemmung der Strömungsgeschwindigkeit ist streng konzentrationsabhängig, wobei die Geraden für die verschiedenen Konzentrationen parallel verlaufen (Abb. 1). Da PCMB eine hohe Spezifität für SH-Gruppen aufweist [1, 23], können die induzierten Hemmungen bzw. die Sistierung der Strömung auf eine Blockierung der endogenen SH-Gruppen der am Mechanismus der Cytoplasmaströmung beteiligten kontraktilen Proteine zurückgeführt werden. Allerdings werden durch PCMB nicht nur die SH-Gruppen kontraktiler Proteine blockiert, sondern auch andere von SH-Gruppen abhängige Zellprozesse gehemmt, wie z.B. die Pollenkeimung und das Pollenschlauchwachstum [30]. Trotz dieser Einschränkung haben die mit PCMB erzielten Hemmwirkungen die Bedeutung der SH-Gruppen für den Ablauf und die Regulierung der Dinese in den Wurzelhaaren hervor.

Die Anwendung von PCMB führt in diesem Konzentrationsbereich (10^{-3} und 10^{-4} M) zur Hemmung und Sistierung der Cytoplasmaströmung in den Internodialzellen von *Nitella* und in den Zellen anderer Pflanzen [1]. Durch vakuolare Perfusion verabreicht [27], führt PCMB (1 mM) zum sofortigen Stillstand der Strömung oder induziert eine zunehmende Hemmung der Strömung (0,1 mM) bei *Nitella*. Unsere im selben Konzentrationsbereich durchgeführten Untersuchungen zur PCMB-Wirkung auf die Cytoplasmaströmung in den Wurzelhaaren von Weizenkeimlingen ergaben mit diesen Angaben übereinstimmende Ergebnisse, die auf die Beteiligung ähnlicher Bewegungsmechanismen für die Cytoplasmaströmung bei *Nitella* und in den Wurzelhaaren schließen lassen.

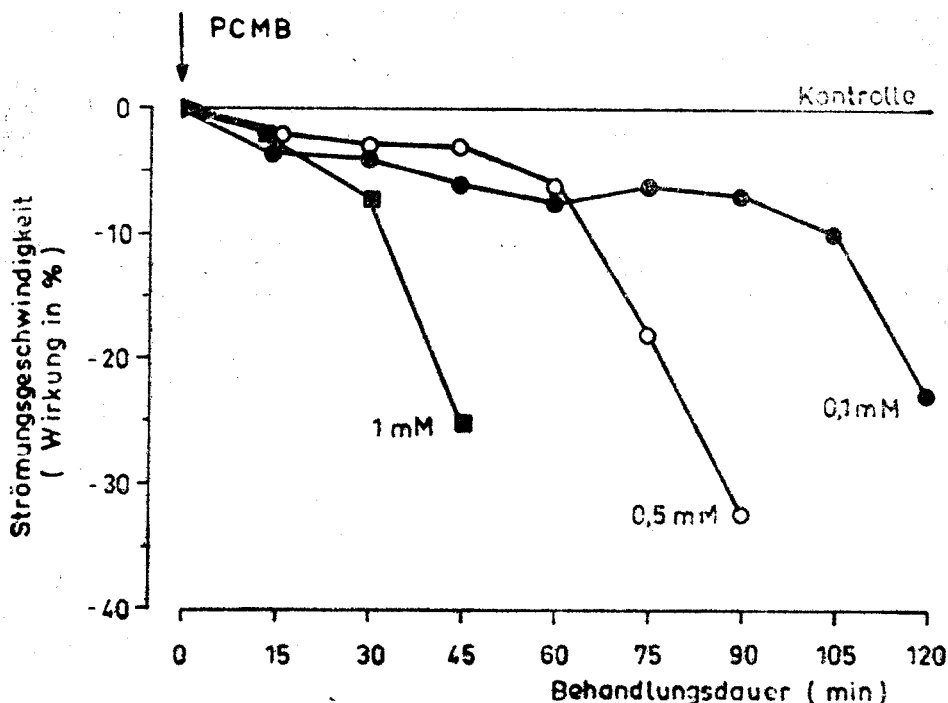


Abb. 1. Die Wirkung verschiedener PCMB-Konzentrationen auf die Cytoplasmaströmung in Weizenwurzelhaaren (*Triticum aestivum* L.).

Unter den verschiedenen intrazellulären Bewegungstypen ist die Chloroplastenverlagerung wohl am eingehendsten untersucht worden [9, 15, 22, 23, 33]. Die lichtinduzierte Chloroplastenorientierung bei *Mougeotia* und die Haftung des Chloroplasten am wandständigen Cytoplasma reagieren sehr empfindlich auf PCMB (5×10^{-4} M), wobei die induzierte Hemmwirkung durch Cystein, jedoch nicht durch Serin oder ATP aufgehoben werden kann [22—24]. Auf Grund dieser Ergebnisse wird vermutet, daß für die Verlagerung der Chloroplasten kontraktile Proteine (ATPasen) verantwortlich sind, die sehr empfindlich auf SH-Blocker reagieren. Neuere, mit hochempfindlichen Methoden (selektive Inhibitoren für *in vivo*-Untersuchungen, Immunofluoreszenz, Fixierung mit Mikrowellen, Antikörper) durchgeführte Untersuchungen unterstützen die Hypothese, wonach Aktomyosin-Mikrofilamente die funktionellen Strukturen sowohl für die Cytoplasmaströmung als auch für die Chloroplastenverlagerung darstellen [15, 25, 33].

2. Zur Reversibilität der PCMB-Wirkung durch Cystein. Die Bedeutung der SH-Gruppen für das Zustandekommen und die Regulation der Cytoplasmaströmung in den Weizenwurzelhaaren, sowie die Umstände, unter denen die Hemmwirkung von PCMB durch eine Zufuhr von SH-Gruppen reversiert werden kann, wurde in kombinierten Be-

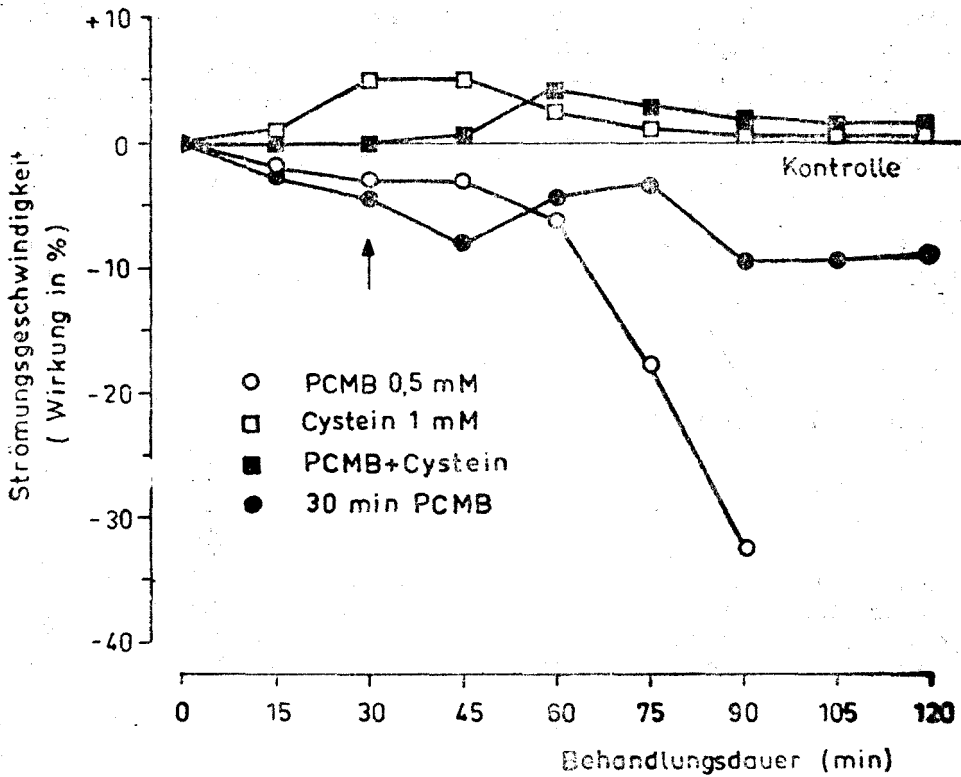


Abb. 2. Singuläre und kombinierte Wirkungen von PCMB und Cystein auf die Cytoplasmaströmung in den Wurzelhaaren von Weizenkeimlingen (*Triticum aestivum* L.). Der Pfeil markiert den Beginn der Auswaschung mit Cystein nach Vorbehandlung mit PCMB.

handlungen mit PCMB (0,5 mM) und Cystein (1 mM) im Vergleich zur singulären Wirkung der beiden Stoffe untersucht (Abb. 2).

Früher durchgeführte Versuche konnten zeigen, daß eine Zufuhr von SH-Gruppen in Form von Cystein eine Beschleunigung der Strömungsgeschwindigkeit verursacht, wobei das Ausmaß der Stimulierung von der Cystein-Konzentration, dem Pflanzentest und wahrscheinlich auch vom endogenen SH-Gruppen-Spiegel abhängig ist [10, 28, 31]. Die in Abb. 2 dargestellten Ergebnisse bestätigen, daß die Verabreichung von Cystein (1 mM) die Geschwindigkeit der Cytoplasmaströmung in den Weizenwurzelhaaren beschleunigt.

In den kombinierten PCMB-Cystein-Behandlungen heben sich die spezifischen Wirkungen (Stimulationswirkung von Cystein und Hemmwirkung von PCMB) der beiden Reagenzien gegenseitig auf, wobei insbesondere die Hemmwirkung von PCMB durch ein Angebot an Cystein unterdrückt wird (Abb. 2). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß

PCMB die SH-Gruppen des Cysteins kompetitiv blockiert, so daß die endogenen SH-Gruppen funktionsfähig bleiben.

Auswaschungsversuche mit Cystein nach einer PCMB-Behandlung von 30 min zeigen, daß die PCMB-induzierte Hemmung noch eine Zeitlang fortschreitet, wonach eine langsame, wahrscheinlich durch die Zufuhr von SH-Gruppen bedingte vorübergehende Erholung bis zu einer stationären Phase auf dem Niveau der durch PCMB induzierten Hemmung eintritt (Abb. 2).

Aus diesen Ergebnissen kann geschlußfolgert werden, daß sich PCMB stabil an die endogenen SH-Gruppen der Weizenwurzelhaare bindet. Ähnliche Effekte wurden auch durch die Verwendung von NEM erzielt [31]. Die mit Cystein durchgeführten Auswaschungsversuche (Abb. 2) und der Versuch, den endogenen SH-Gruppen-Spiegel wiederherzustellen, führte nicht, wie im Falle anderer Untersuchungen [1, 23], zu einer vollständigen Aufhebung der durch PCMB induzierten Hemmwirkung. Die PCMB-induzierte Hemmung wurde jedoch vollständig unterdrückt, wenn PCMB (0,5 mM) gleichzeitig mit im Überschuß gebotenem Cystein (1 mM) verabreicht wurde.

3. Die Wirkung von PCMB und NEM gleicher Molarität. Eine vergleichende Darstellung der Hemmwirkungen, die durch PCMB und NEM gleicher Molaritäten (0,1 mM) auf die Cytoplasmaströmung in den Weizenwurzelhaaren induziert werden, ist in Prozentwerten der Kontrolle in Abb. 3 dargestellt. Die Ergebnisse zeigen, daß die Behandlung mit

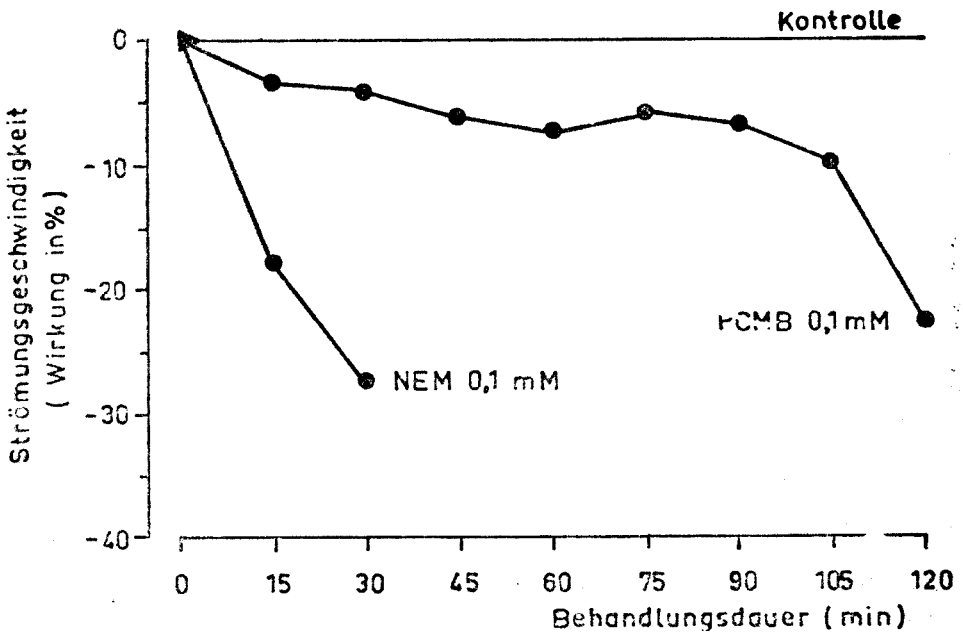


Abb. 3. Die vergleichende Wirkung von PCMB und NEM gleicher Molarität auf die Cytoplasmaströmung in den Wurzelhaaren von Weizenkeimlingen (*Triticum aestivum* L.).

NEM innerhalb von 15 min zur Sistierung der Strömung führt, während dieser Effekt nach Verabreichung von PCMB erst nach einer erheblich längeren Einwirkungsdauer von 105 min eintritt. Bis zu einer Einwirkungsdauer von 105 min bleibt die PCMB-induzierte Hemmung relativ stationär (5%, nach 30 min bzw. 7% nach 90 min), was im Vergleich zu NEM auf eine schwerere Aufnahme von PCMB in die Zelle hinzudeuten scheint. Wahrscheinlich wird der plötzliche Stillstand der Cytoplasmastromung bei dieser Konzentration (0,1 mM) nach dem Erreichen einer gewissen intrazellulären Menge von PCMB und NEM eingeleitet, und in dieser Hinsicht sind die Wirkungen der beiden Reagenzien ähnlich. Der Unterschied besteht in der Dauer der Zeitspanne bis zur Induktion dieser Wirkung, ein Effekt den wir durch Unterschiede in der Aufnahme der beiden Reagenzien in die Zelle interpretieren.

Schlußfolgerungen. Die in vorliegender Arbeit mit den SH-Gruppen-Hemmstoffen PCMB und NEM erzielten Ergebnisse unterstreichen die funktionelle Bedeutung endogener SH-Gruppen für den ungestörten Ablauf der Cytoplasmastromung in den Weizenwurzelhaaren und stellen zellphysiologische Hinweise für die Beteiligung kontraktiler SH-Gruppenhaltiger Proteine am Mechanismus der Rotationsströmung dar.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Abe, S., *The effect of p-chloromercuribenzoate on rotational protoplasmic streaming in plant cells*, „Protoplasma“, **58**, 1964, 483—492.
2. Ayling, S. M., Butler, R. C., *Time—series analysis of measurements on living cells illustrated by analysis of particle movement in the cytoplasm of tomato root hairs*, „Protoplasma“, **172**, 1993, 124—131.
3. Benga, G., Popescu, O., Borza, V., Pop, V. I., Hodârnu, A., *Water exchange through erythrocyte membranes: biochemical and nuclear magnetic resonance studies re-evaluating the effects of sulphydryl reagents and of proteolytic enzymes on human membranes*, „J. Membrane Biol.“, **108**, 1989, 105—113.
4. Benga, G., Popescu, O., Borza, V., Pop, V. I., Mureşan, A., Mocsy, I., Brain, A., Wrigglesworth, Y., *Water permeability in human erythrocytes: identification of membrane proteins involved in water transport*, „Eur. J. Cell Biol.“, **41**, 1986, 252—262.
5. Bhaskar, V., Berlyn, G. P., Connolly, J. H., *Root hairs as specialised respiratory cells: a new hypothesis*, „J. Sustainable For.“, **1**, 1993, 107—125.
6. Cai, G., Moscatelli, A., DelCasino, C., Cresti, M., *Cytoplasmic motors and pollen tube growth*, „Sex Plant Reprod.“, **9**, 1996, 59—64.
7. Chrispeels, M. J., Maurel, C., *Aquaporins: the molecular basis of facilitated water movement through living plant cells*, „Plant Physiol.“, **105**, 1994, 9—13.
8. Fabian, A., Vintilă, R., *Reperкусиunile blocării cu salyrgan a grupărilor sulfhidrice celulare asupra curentilor protoplasmatici din perii radiculari*, „Stud. Univ. Babeş—Bolyai, Biol.“, **16** (2), 1971, 49—59.
9. Haupt, W., Wagner, G., *Chloroplast movement*, in Colombetti, G., Lenzi, F. (Eds.), *Membranes and Sensory Transduction*, p. 331—375, Plenum Press, New York—London, 1984.
10. Kamiya, N., *Protoplasmic Streaming*, in *Protoplasmatologia, Handb. Protoplasmaforschung*, VIII/3a, Springer, Wien, 1959.

11. Keul, M., Das Wirkungsspektrum der Photodinese in den Wurzelhaaren der Gerste (*Hordeum vulgare* L.), „Z. Pflanzenphysiol.“, **79**, 1976, 40–52.
12. Lazăr-Keul, G., Keul, M., Wagner, G., Reversible Hemmung der Protoplasmaströmung in den Wurzelhaaren der Gerste (*Hordeum vulgare* L.) und Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) durch Cytochalasin B, „Z. Pflanzenphysiol.“, **90**, 1978, 461–466.
13. Lazăr-Keul, G., Vintilă, R., Fabian, A., Cercetări privind efectul ATP și al salycivanului asupra curentului de rotație din perii radicali de orz (*Hordeum vulgare*), „Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Biol.“, **17** (1), 1972, 49–56.
14. Lew, R. R., Electrogenic transport properties of growing *Arabidopsis* root hairs. The plasma membrane proton pump and potassium channels, „Plant Physiol.“, **97**, 1991, 1527–1534.
15. Liebe, S., Menzel, D., Actomyosin-based motility of endoplasmic reticulum and chloroplasts in *Vallisneria mesophyll* cells, „Biol. Cell.“, **85**, 1995, 207–222.
16. Mascarenhas, J. P., Molecular mechanisms of pollen tube growth and differentiation, „Plant Cell“, **5**, 1993, 1303–1314.
17. Narvaez-Vasquez, J., Orozco-Cardenas, M. L., Ryan, C. A., A sulfhydryl reagent modulates systemic signalling for wound-induced and systemin-induced proteinase inhibitor synthesis, „Plant Physiol.“, **105**, 1994, 725–730.
18. Perez-Alfocea, F., Larher, F., Effects of phlorizin and p-chloromercuribenzenesulfonic acid on sucrose and proline accumulation in detached tomato leaves submitted to NaCl and osmotic stresses, „J. Plant Physiol.“, **145**, 1995, 367–373.
19. Peterson, R. L., Farquhar, M. L., Root hairs: specialized tubular cells extending root surfaces, „Bot. Rev.“, **62**, 1996, 1–40.
20. Ridge, R. W., Recent developments in the cell and molecular biology of root hairs, „J. Plant Res.“, **108**, 1995, 399–405.
21. Sattelmacher, B., Heinecke, I., Mühling, K. H., Influence of minerals on cytoplasmic streaming in root hairs of intact wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.), „Plant Soil“, **155/156**, 1993, 107–110.
22. Schönbohm, E., Die Hemmung der lichtinduzierten Bewegung des Mougeotia Chloroplasten durch p-Chloromercuribenzoat (Versuche zur Mechanik der Chloroplastenbewegung), „Z. Pflanzenphysiol.“, **61**, 1969, 250–260.
23. Schönbohm, E., Experiments on the mechanism of chloroplast movement in light oriented chloroplast arrangement, „Acta Protozool.“, **11**, 1972, 211–223.
24. Schönbohm, E., Die Wirkung von SH-Blockern sowie von Licht und Dunkel auf die Verankerung der Mougeotia-Chloroplasten im cytoplasmatischen Wandbelag. 2. Zur Mechanik der Chloroplastenbewegung, „Z. Pflanzenphysiol.“, **66**, 1972, 113–132.
25. Shimmen, T., Hamatani, M., Saito, S., Yokota, E., Mimura, T., Fusetani, N., Karaki, H., Roles of actin filaments in cytoplasmic streaming and organization of transcellular strands in root hair cells of *Hydrocharis*, „Protoplasma“, **185**, 1995, 188–193.
26. Soran, V., Lazăr-Keul, G., Relationship between cell growth and rate of cytoplasmic streaming, „Cytologia“, **43**, 1978, 265–271.
27. Tazawa, M., Motive force of the cytoplasmic streaming in *Nitella*, „Protoplasma“, **65**, 1968, 207–222.
28. Vintilă, R., Fabian, A., Efectul unor compuși sulfurici asupra curentilor protoplasmatici, „Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Biol.“, **15** (1), 1970, 55–61.
29. Vintilă, R., Fabian, A., Lazăr-Keul, G., Controlul mișcării protoplasmatică în perii radiculari prin ATP, grupările -SH și ionii Ca^{2+} , „Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Biol.“, **18** (1), 1973, 47–54.
30. Vintilă, R., Fediuc, E.-C., Lazăr-Keul, G., Keul, M., Efectul PCMB asupra germinării și creșterii tubului polinic de *Cyclamen* sp., „An. Univ. Oradea, Biol.“ (în Druck).

31. Vintilă, R., Keul, M., Fediuc, E.-C., Lazăr-Keul, G., *Wirkungen von N-Äthylmaleimid (NEM) auf die Cytoplasmaströmung und das Pollenschlauchwachstum*, „Stud. Univ. Babeş-Bolyai, Biol.“, **43** (1–2), 1998, 85–93.
32. Vintilă, R., Lazăr-Keul, G., Keul, M., *The effect of single and combined UV-radiation and lead treatment on the cytoplasmic streaming rate within wheat (Triticum aestivum L.), root hairs*, „Stud. Univ. Babeş-Bolyai, Biol.“, **42** (1–2), 1997, 129–135.
33. Williamson, R. E., *Organelle movements*, „Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.“, **44**, 1993, 181–202.

COMPARATIVE HISTOLOGICAL STUDIES CONCERNING
THE NEPHROTOXICITY OF TWO PLATINUM-CONTAINING
PRODUCTS: CARBOPLATIN AND CISPLATIN

CRISTINA PASCA*, VIOREL MICLAUȘ**, ERIKA KIS*,
VICTORIA DOINA SANDU*, IOAN CLAUDIUS LISOVSCI-CHELEȘANU**
and MIRCEA PUȘCĂȘIU***

SUMMARY. — Cisplatin (Platinol) and Carboplatin (Paraplatin) are two platinum-containing products, widely and successfully used in the chemotherapy of many types of cancer. Since nephrotoxicity is the dose limiting effect of Cisplatin, an analogue was created, namely Carboplatin, with less nonhematologic toxicity, especially nephrotoxicity, and a similar spectrum of antineoplastic activity as the parent compound. Our researches tried to evaluate comparatively the histological modifications induced by similar doses of Cisplatin and Carboplatin on the rat kidney in concordance with the moment of the sacrifice. The histological studies of the kidney sections showed the existence of some lesions, the intensity of which was different, the spreading and gravity of these modifications depending on the type of drug. Thus, the modifications appeared in the groups treated with Carboplatin were less grave, affecting small areas, and they did not aggravate significantly during the 18 days of the experiment. On the contrary, at the level of the groups treated with Cisplatin, the lesions were graver, affected wider areas, and they progressively and significantly grew worse during the experiment. In addition, the histological modifications were different. Carboplatin induced a discreet edema of the Bowman's space, correlated with the appearance of a polymorphous granular material inside it; uriniferous tubules appeared dilated, with necrosis processes of the epithelial cells and full of a hyaline material. Cisplatin induced a very significant swelling of the renal tubules, especially between the cortex and medulla of the kidney, a distension of the epithelial cells, the cytoplasm of which appeared homogeneous and in some areas the epithelium was atrophiated or detached. Besides, there was a granular material inside the renal tubules because of the necrosis processes of the epithelial cells. These data confirm the greater nephrotoxicity of Cisplatin as compared to Carboplatin.

Cisplatin (Platinol) and Carboplatin (Paraplatin) are two alkylating agents belonging to the family of platinum-containing-products, frequently used in the treatment of many malignant diseases. Their antineoplastic activity results from the interaction of the drugs with the DNA in the tumour cells. With isolated DNA, this interaction leads to the formation of different types of adducts through the reaction of the bifunctional platinum compounds with the N 7 atoms of the nucleobases guanine

* Babeș-Bolyai University, Department of Zoology, 3400 Cluj-Napoca, Romania

** University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Department of Histology, 3400 Cluj-Napoca, Romania

*** State University of Oradea, Department of Cellular Biology, 3700 Oradea, Romania

and adenine [3—5]. When the reactions proceed inside cells, these drugs can form DNA-protein cross-links [7]. Since the dose limiting effect of Cisplatin is its nephrotoxicity, it was necessary to create an analogue with less nephrotoxicity and a similar spectrum of antineoplastic activity. These conditions are completely satisfied by Carboplatin [1, 2, 7]. Although according to the previous studies the nephrotoxicity of this platinum-containing product is decreased, our researches tried to establish the histological modifications induced by equivalent doses of Carboplatin and Cisplatin on the Wistar rat kidney.

Material and methods. Our experiments were carried out with the following seven groups of healthy adult male Wistar rats, weighing 190 ± 10 g and maintained under bioclimatic laboratory conditions with no food for 18 hours before the treatment, but having water *ad libitum*:

- group U — untreated (control) group;
- groups C₁, C₂, C₃ — treated i.v. with 165 mg Carboplatin/m² body surface/day, for 3 days and sacrificed 4, 11, and 18 days after the treatment;
- groups S₁, S₂, S₃ — treated i.v. with 20 mg Cisplatin/m² body surface/day, for 3 days and sacrificed 4, 11 and 18 days after the treatment.

The animals were not fed for 18 hours before the sacrifice. Having sacrificed the animals, we took fragments from the kidneys. They were fixed in 10% neutral formal, processed by the paraffin technique and the sections of 6 microns were stained by the hematoxylin-eosin method [6].

On the stained sections we studied, by microscopic examination, the histological modifications induced by the two cytostatic drugs in concordance with the moment of the sacrifice.

Results and discussion. The microscopic examination of the kidney sections obtained from the rats treated with the two platinum-containing compounds demonstrated the appearance of certain histological modifications, the intensity, gravity and extension of which were different, depending on the type of cytostatic.

Thus, at the level of the groups treated with Carboplatin, discreet lesions already appeared 4 days after the treatment (group C₁), but they had a zonal character, not affecting wide areas. In some uriniferous tubules, in the cortex of the kidney, there was a polymorphous proteic granular material (Fig. 1), the result of some incipient necrosis processes of the tubule epithelium. The amount of this material was not significant, and the number of affected tubules was not large. At the level of the Malpighi corpuscles it could be seen a discreet edema of the Bowman's space, and in a small number of corpuscles the existence of a proteic granular material inside the Bowman's space was evident (Fig. 2).

After 11 days (group C₂), it could be noticed that the areas occupied by affected renal tubules were not wider than in the previous sacrificed group (group C₁), but some of them were a little dilatated as a result of a slight urinary stasis, the epithelium of these tubules was a little more affected, and in some of the tubules in the medulla a significant hyaline material appeared (Fig. 3). The granular material in



Fig. 1. Granular material in the lumen of some tubules in the cortex of the kidney ($\times 665$).



Fig. 2. Polymorphous granular material in the Bowman's space ($\times 665$).

Bowman's space persisted in some renal corpuscles, but the number of these corpuscles decreased compared to the group C_1 sacrificed after 4 days.

The aspects noticed after 18 days from the treatment (group C_3) were comparable with those which appeared after 11 days, but being more attenuated.

Concerning the groups treated with Cisplatin, the lesions were already obvious 4 days after the treatment (group S_1). Some uriniferous tubules in the cortex of the kidney appeared swollen, and the cytoplasm of the epithelial cells was homogeneous. In the lumen of some tubules there was a granular material having an obvious merging tendency. This material is a result of the necrosis processes of the cells in the tubule walls. It must be emphasized that these alterations appeared especially between the cortex and medulla, and they were more discreet in the medulla of the kidney.

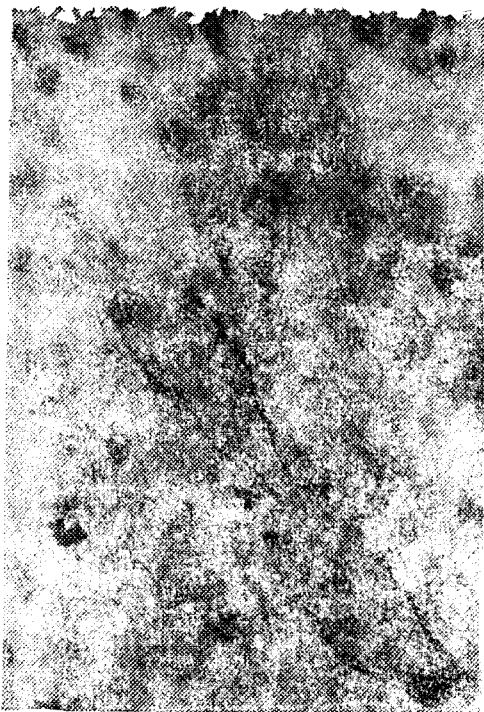


Fig. 3. Hyaline material in the lumen of some renal tubules in the medulla of the kidney ($\times 1049$).

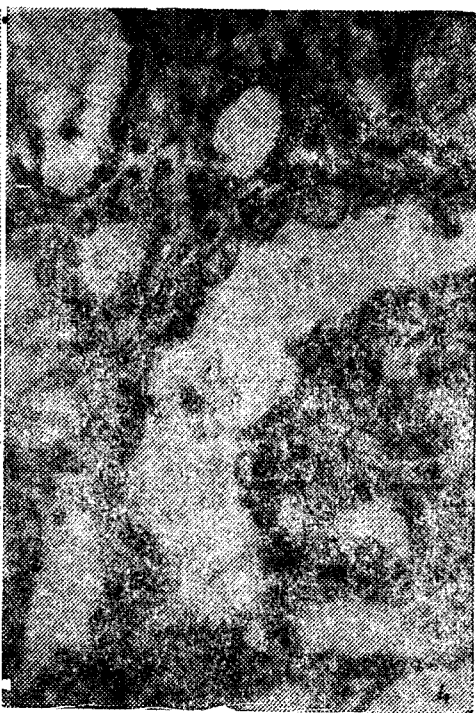


Fig. 4. Urinary stasis, necrosis of the epithelium in the uriniferous tubules between the cortex and medulla, followed by the detachment of the cells from the basement membrane ($\times 665$).

After 11 days (group S_2), some renal tubules showed a urinary stasis, these tubules being distended, while the cells in their walls were atrophied, and here and there they suffered necrosis processes. As a result of these processes, the cells detached from the basement membrane and made up the granular material noticed in a larger number of tubules than in group S_1 (Fig. 4). Besides, many cells in the epithelium were swollen alike with group S_1 . These degeneration phenomena were more obvious between the cortex and medulla of the kidney.

After 18 days (group S_3), these alteration processes not only persisted, but they got worse. Thus, the urinary stasis was significantly increased, some tubules being very distended, a very large number of cells in their walls appeared affected by necrosis and detached from the basement membrane (Figs. 5—7), and other ones were swollen, having an abnormal, peculiar aspect and dimensions three times larger

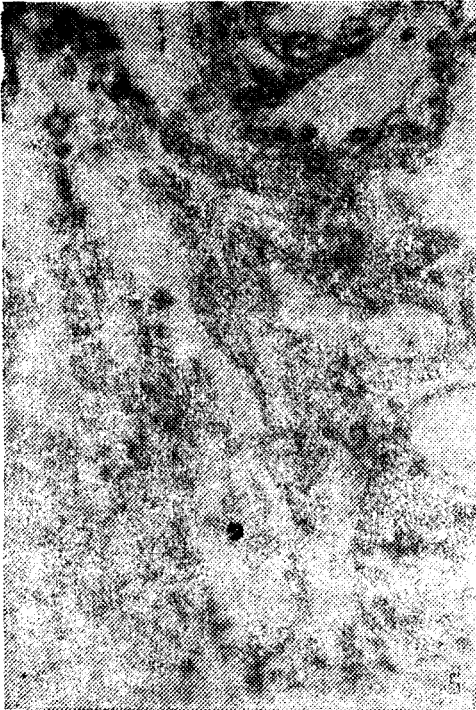


Fig. 5. Advanced necrosis of the epithelial cells in the renal tubules, many cells being detached from the basement membrane ($\times 665$).

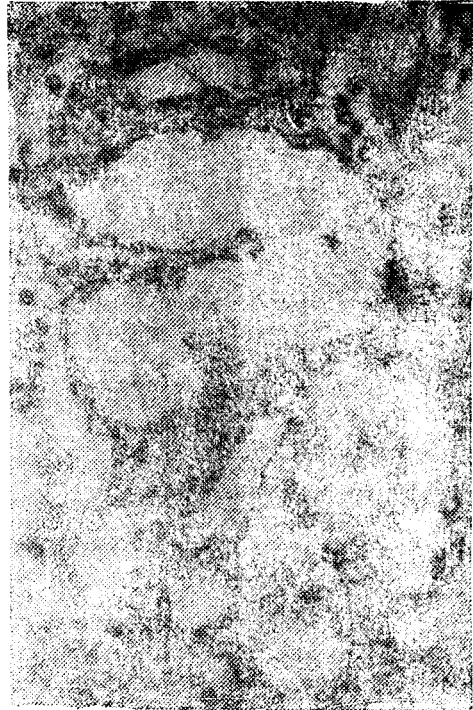


Fig. 6. Very advanced urinary stasis correlated with an obvious decreasing of the cell number on the basement membrane of the renal tubules ($\times 665$).

compared to normal cells (Fig. 8). The alteration processes were increased in the cortex, very increased between the cortex and medulla, and moderate in the medulla of the kidney.

All these modifications previously presented confirm the nephrotoxicity of the two anticancer drugs, and the difference between them concerning the extension and gravity of the lesions. Thus, the histological modifications induced by Carboplatin were less grave, affecting small areas and they did not aggravate significantly during the 18 days of the experiment; on the contrary, they decreased, while in the groups treated with Cisplatin the lesions were much more serious, affecting wider areas and they progressively and significantly aggravated during the experiment.

Our histological results emphasize again that Cisplatin has a more increased nephrotoxicity compared to Carboplatin, which has a moderate nephrotoxicity. Therefore, the latter platinum-containing product

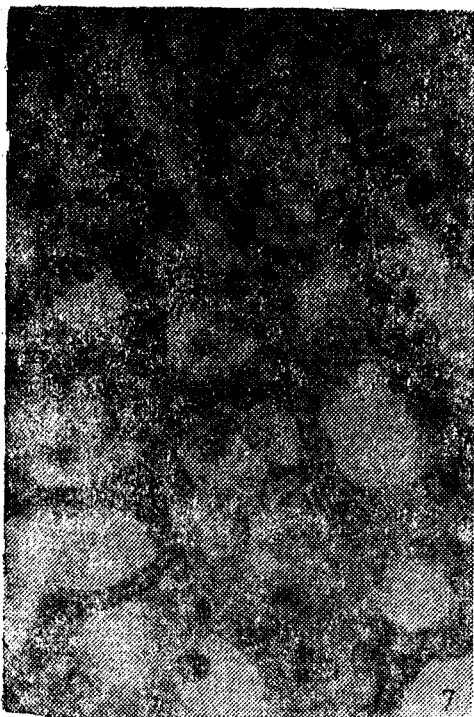


Fig. 7. Many swollen cells in the uriniferous tubules deep in the cortex of the kidney ($\times 665$).



Fig. 8. The appearance of some abnormal cells, having dimensions three times larger compared to normal cells, in the renal tubules ($\times 665$).

is indicated to be used in certain malignant diseases, when there is the possibility to choose between the two cytostatics.

Conclusions 1. The nephrotoxicity of the platinum-containing compounds has an intensity and gravity which depend on the type of the compound used.

2. Carboplatin has a moderate nephrotoxicity on some segments of the nephron, the lesions increasing slightly and progressively, but not being very grave during the experiment.

3. The nephrotoxicity of Cisplatin is more obvious, leading to some alteration processes which get worse progressively and significantly during the 18 days of the experiment.

4. From the point of view of nephrotoxicity, Carboplatin is better tolerated than Cisplatin.

REFERENCES

1. Calvert, A. H., Newell, D. R., Gumbrell, L. A., *Carboplatin dosage: Prospective evaluation of a simple formula based on renal function*, "J. Clin. Oncol.", **7**, 1989, 1748—1756.
2. Ettinger, L. J., Krailo, M. D., Gaynon, P. S., Hammond, G. D., *A phase I study of carboplatin in children with acute leukemia in bone marrow relapse. A report from the children's cancer group*, "Cancer", **72** (3), 1993, 917—922.
3. Fichtinger-Schepman, A. M. J., Lohman, P. H. M., Reedijk, J., *Detection and quantification of adducts formed upon interaction of diamminedichloroplatinum(II) with DNA, by anion-exchange chromatography after enzymatic degradation*, "Nucleic Acids Res.", **10**, 1982, 5345—5356.
4. Fichtinger-Schepman, A. M. J., van der Veer, J. L., den Hartog, J. H. L., Lohman, P. H. M., Reedijk, J., *Adducts of the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum(II) with DNA: formation, identification and quantitation*, "Biochemistry", **24**, 1985, 707—713.
5. Fichtinger-Schepman, A. M. J., van Oosterom, A. T., Lohman, P. H. M., Berends, F., *cis-Diamminedichloroplatinum(II)-induced DNA adducts in peripheral leukocytes from seven cancer patients: quantitative immunochemical detection of the adduct induction and removal after a single dose of cis-diamminedichloroplatinum(II)*, "Cancer Res.", **47**, 1987, 3000—3004.
6. Mureșan, E., Gaboreanu, M., Bogdan, A. T., Baba, A. I., *Tehnici de histologie normală și patologică*, Ed. Ceres, București, 1974.
7. Plooy, A. C. M., van Dijk, M., Lohman, P. H. M., *Induction and repair of DNA cross-links in Chinese hamster ovary cells treated with various platinum coordination compounds in relation to platinum binding to DNA, cytotoxicity, mutagenicity, and antitumor activity*, "Cancer Res.", **44**, 1984, 2043—2051.

HISTOLOGICAL EFFECTS OF TWO DIFFERENT DOSES OF EPIRUBICIN (FARMORUBICIN) ON THE RAT DIGESTIVE TRACT

CRISTINA PAȘCA*, VIOREL MICLAUȘ**, ERIKA KIS*,
VICTORIA DOINA SANDU* and DANA PUȘCĂȘIU***

SUMMARY. — Among anthracyclic antibiotics, Epirubicin is a chemotherapeutic agent widely applied in the treatment of many malignant diseases. Our studies intended to emphasize the histological modifications induced in the rat digestive tract by two different doses of Epirubicin (89 and 44.5 mg/m² body surface), administered i.v. By light microscopy of the esophagus, stomach, duodenum, jejunum, ileum and colon sections obtained from the treated rats it could be seen the appearance of some histological modifications, the intensity of which was different, depending on the moment of the sacrifice and especially on the dose of cytostatic. The dose of 44.5 mg/m² body surface induced only discreet modifications, slowly installed, without endangering the life of the animals, but the dose of 89 mg/m² caused obvious and grave lesions, which appeared very quickly and, in our opinion, could have contributed to the death of 30% of the animals. Moreover, the toxicity of this drug was observed especially on certain parts of the digestive tract, namely on the stomach and duodenum. At the level of the stomach, these modifications consisted of the appearance of some wide areas of detached epithelium, caused by the necrosis processes of the cells and the significant haemorrhages that justify the presence of a large number of erythrocytes in different stages of necrolysis inside the lumen of the stomach. At the level of the duodenum, a modified intestinal epithelium appeared, its cells being cuboidal, swollen and flattened here and there. There were also a few areas of detached epithelium and even a haemorrhagical intestinal mucosa. In addition, the length of the villi progressively decreased during the experiment, being atrophied in some areas; inside of the villi, in their lamina propria, an obvious edema occurred and an infiltration of lymphocytes and granulocytes (eosinophils) appeared. It must be emphasized that these modifications, both at the level of the stomach and duodenum persisted during the 18 days of our experiment, even more they increased progressively. No visible histological modifications appeared at the level of the esophagus and colon, at either of the two doses of Epirubicin.

Epirubicin is an anthracyclic antibiotic, the toxicity of which is lesser than that of other cytostatics which belong to the same drug family, such as Doxorubicin [1]. So, it is frequently used to treat many types of cancer in humans. Its antineoplastic activity results from the interaction of the drug with the DNA, blocking the DNA, RNA and protein syntheses and the activity of the topoisomerase II, which is involved in the DNA synthesis [1, 3, 5, 7, 8]. The dose limiting effect of Epirubicin is mainly myelotoxicity, particularly leukopenia [4]. In ad-

* Babeș-Bolyai University, Department of Zoology, 3400 Cluj-Napoca, Romania

** University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Department of Histology, 3400 Cluj-Napoca, Romania

*** State University of Oradea, Department of Histology, 3700 Oradea, Romania

dition, it has a cardiotoxic effect but less as compared to Doxorubicin, the analogue of which it is [2, 10, 11], and induces digestive disturbances consisting of: nausea, vomiting, diarrhoea, lesions of the mucosa of the oral cavity [6].

It must be emphasized that most studies concerning the toxicity of this cytostatic drug have been carried out on the ill organisms (on the malignant tumour-bearing organisms) and just a little on the healthy organisms. Moreover, the toxicity of Epirubicin on the digestive tract and especially the histological modifications induced by this chemotherapeutic agent are insufficiently studied. Therefore, our studies intended to reveal the alterations induced by two different doses of Epirubicin in different parts of the digestive tract of the healthy Wistar rats.

Material and methods. Our experiments were carried out with nine groups of adult male Wistar rats, weighing 190 ± 10 g. They were maintained under bioclimatic laboratory conditions, with no food for 18 hours before the treatment, but they had water *ad libitum*. The animals were divided into two series:

-- series A included the following four groups:

-- group U_A -- untreated (control) group;
-- groups T_{1A} , T_{2A} , T_{3A} treated i.v. with a single dose of 89 mg Epirubicin/m² body surface; the sacrifice of these animals was carried out 24 hours, 4 and 6 days after the treatment;

-- series B included the following five groups:

-- group U_B -- untreated (control) group;
-- groups T_{1B} , T_{2B} , T_{3B} , T_{4B} treated i.v. with a single dose of 44.5 mg Epirubicin/m² body surface, the sacrifice being carried out 24 hours, 4, 6, 11 and 18 days after the treatment.

Initially, we meant series A to include four groups which had to be sacrificed after 24 hours, 4, 11 and 18 days, the same as series B. But, after 5 days from the treatment the rats suddenly became sleepy and listless and in the 6th day, 30% of them died, so we had to sacrifice the rest of them.

Before the sacrifice, the animals were not fed for 18 hours. Having sacrificed the animals, we took fragments from the esophagus, stomach, duodenum, jejunum, ileum and colon. They were fixed in 10% neutral formal, processed by the paraffin technique and the sections of 6 microns were stained by the hematoxylin-eosin method [9].

On the stained sections we studied, by microscopic examination, the histological modifications induced by the two doses of Epirubicin in concordance with the moment of the sacrifice.

Results and discussion. By light microscopic examination of the sections obtained from the treated rats it could be seen the existence of some histological modifications, the gravity of which was different, depending on the digestive tract, the moment of the sacrifice and especially on the dose of Epirubicin.

Thus, in series B, which included rats treated with a single dose of 44.5 mg Epirubicin/m² body surface, the first modifications appeared at the level of the stomach after 4 days from the treatment (group T_{2B}); they were very discreet and consisted of the appearance of a slight congestion of the gastric mucosa.

After 11 days (group T_{3B}), a moderate edema appeared deep in the lamina propria of the gastric mucosa. In addition, a discreet epithelial necrosis could be noticed and in the lumen of the stomach there was a little amount of detritus made up of dead cell residues.

After 18 days from the treatment (group T_{3B}), a zonal necrosis of the epithelial cells appeared, followed by a zonal detachment of the surface epithelium and a haemorrhage which caused the accumulation of a significant amount of blood. Thus, in the lumen of the stomach it could be easily seen a large number of erythrocytes either isolated or in wider or smaller groups. Their aspect suggested that the haemorrhage had recently occurred, because most erythrocytes had an aspect and an affinity for the dyes almost like normal erythrocytes, they had not yet suffered a significant lysis process. Inside the lumen, besides the erythrocytes, there was a moderate number of cells detached from the gastric epithelium which were in different stages of necrosis.

At the level of the duodenum, the first modifications appeared after 4 days from the treatment (group T_{2B}), consisting of congestion and edema inside the lamina propria of the villi, while the epithelial cells that cover the villi were a little shorter compared to those in the group T_{1B}, sacrificed after 24 hours from the treatment. Just a few number of the cells detached from the basement membrane, which justifies the moderate amount of detritus in the intestinal lumen.

After 11 days (group T_{3B}), the congestion in the lamina propria was more obvious and there appeared a zonal necrosis of the enterocytes and microhaemorrhages. In the intestinal lumen there was a moderate amount of detritus which here and there had a haemorrhagical aspect and in other places this detritus consisted only of cell residues.

After 18 days (group T_B), the congestion, edema and zonal necrosis persisted. Besides, some microhaemorrhages occurred, which were demonstrated by the existence inside the intestinal lumen of a moderate amount of detritus consisting of erythrocytes and enterocyte residues.

At the level of jejunum, the histological aspects were comparable with those already described, but a little more discreet. Concerning the ileum, esophagus and colon, no visible histological modification could be seen by light microscopy.

In series A which included rats treated with a single dose of 89 mg Epirubicin/m² body surface, the modifications appeared earlier and they were graver as compared to those noticed in series B.

Thus, on the stained stomach sections, the first modifications already appeared after 24 hours from the treatment (group T_A), and they

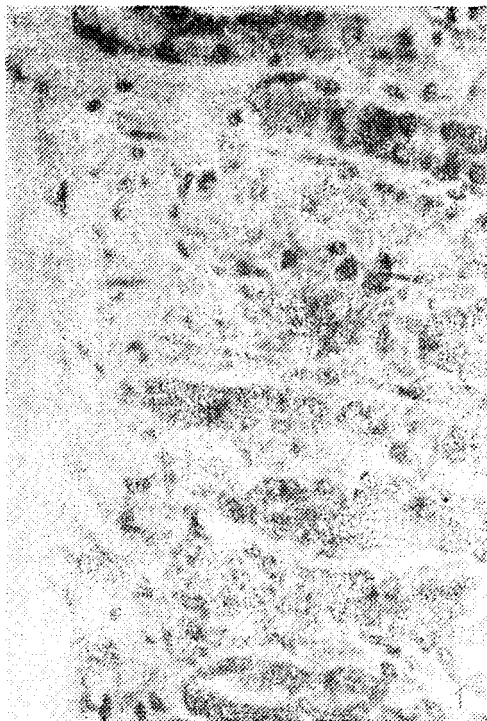


Fig. 1. Congestion of the gastric mucosa and advanced necrosis processes ($\times 665$).



Fig. 2. Obvious stasis inside the gastric glands and an abundant detritus in the lumen of the stomach ($\times 266$).

consisted of congestion and edema (Fig. 1), but after 4 days (group T_{2A}), all these were more obvious and they were correlated with a zonal necrosis of the gastric epithelium and haemorrhages.

After 6 days (group T_{3A}), the gastric epithelium was detached on wide areas because of the necrosis of a large number of epithelial cells. Besides, in these areas many haemorrhages and an obvious stasis of the gastric glands appeared (Fig. 2). Many cells detached from the epithelium of the gastric mucosa, which were in different stages of necrobiosis, and other cell residues made up an abundant detritus inside the gastric lumen (Figs. 3, 4).

At the level of the duodenum, after 24 hours from the treatment (group T_{1A}), there was an infiltration of lymphocytes and granulocytes deep in the lamina propria of the intestinal mucosa, among the Lieberkühn glands. The number of eosinophils was very large (Fig. 5). In the upper side of the lamina propria of the villi, besides an infiltration

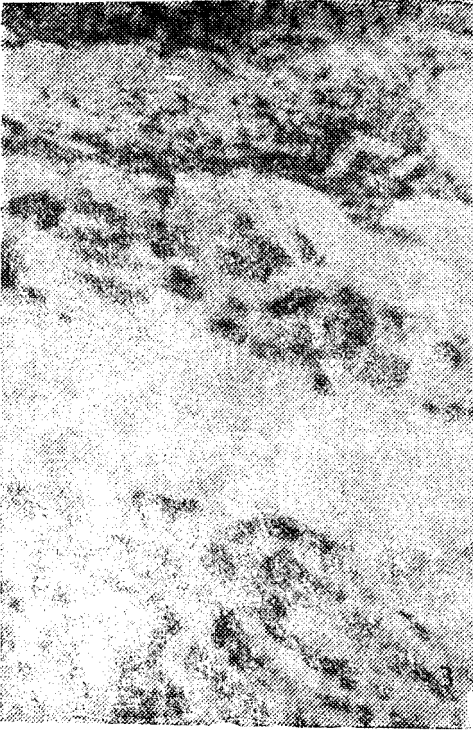


Fig. 3. Detritus in the lumen of the stomach consisting of cells detached from the gastric mucosa because of the necrosis processes ($\times 665$).

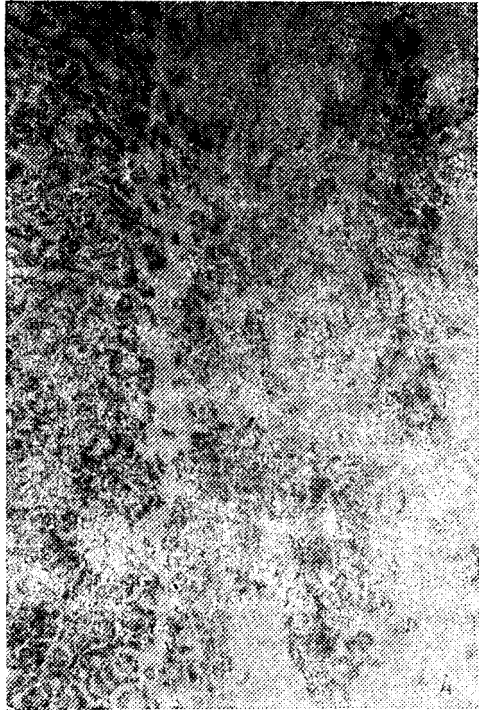


Fig. 4. Abundant detritus in the lumen of the stomach ($\times 266$).

resembling that already described, there appeared an edema more obvious near the basement membrane of the intestinal epithelium (Fig. 6). In a very few number of villi there were some erythrocytes which had come out from the capillaries (Fig. 7).

After 4 days (group T_{2A}), the villi were shorter as compared to those in the group T_{1A} , the intestinal epithelium was more altered, the cells not being columnar, here and there they were cuboidal, distended and on wide areas they appeared more or less flattened (Fig. 8). In some areas, the epithelium was detached and the intestinal mucosa had a haemorrhagical aspect.

After 6 days (group T_{3A}), the necrosis processes were more advanced, a few number of villi were atrophied and the intestinal lumen was full of detritus.

Similar modifications appeared in the jejunum, too, but they were less grave and appeared slower. The histological modifications in the

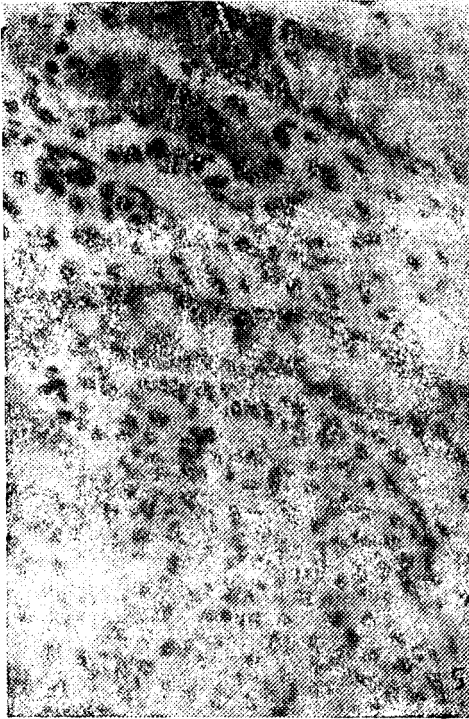


Fig. 5. Infiltration of lymphocytes and granulocytes (especially eosinophils) into the Lieberkühn glands ($\times 665$).



Fig. 6. Advanced necrosis and edema of the villi and an abundant detritus in the lumen of the jejunum ($\times 266$).

ileum were more discreet than in the jejunum. Concerning the esophagus and colon, no visible histological modification could be seen by light microscopy.

All these modifications induced by the two different doses of Epirubicin demonstrate that this anticancer drug has a significant toxicity on the digestive tract, especially on some parts of the tract. The gravest alterations have been noticed at the level of the stomach and duodenum, while at the level of the ileum they were more discreet and no visible histological modification could be seen by light microscopy in esophagus and colon.

The appearance and gravity of the lesions depended significantly on the dose of Epirubicin. Thus, when we administered a dose of 44.5 mg/m^2 body surface, the first modifications were noticed after 4 days, these increasing slowly, not being very grave even after 18 days from the treatment. On the contrary, when we administered 89 mg/m^2 , the lesions



Fig. 7. Recent microhaemorrhages at the level of gastric mucosa ($\times 266$).

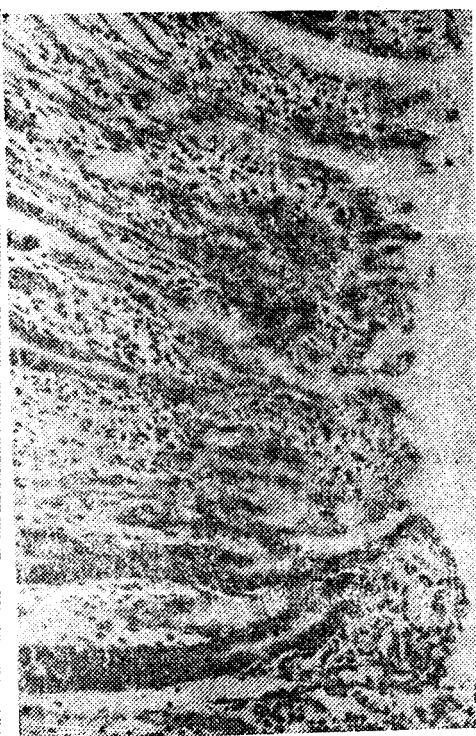


Fig. 8. The upper side of the villi which suffered a necrosis process, the epithelial cells of the mucosa flattened and detached from the basement membrane ($\times 266$).

already appeared after 24 hours, they quickly increased and they were graver. In this case, the lesions affected very seriously wide areas, so we consider that these lesions significantly contributed to the death of 30% of the treated rats.

It must be emphasized that both doses used by us do not exceed the maximum therapeutic dose (89 mg/m² body surface). Therefore, we consider that this maximum dose is too high, at least concerning the species on which we carried out our experiments. Moreover, we must take into consideration that people bearing tumours have to receive 6 chemotherapy cycles, this anticancer drug being able to have a significant toxicity on the digestive tract.

Conclusions. 1. Epirubicin has a toxic effect on the digestive tract of the Wistar rats, the intensity of which is more pronounced on certain organs, namely the stomach and duodenum.

2. The toxic effect of this anticancer drug depends on the dose, being more increased and quicker at 89 mg Epirubicin/m² body surface than at 44.5 mg Epirubicin/m².

3. The lesions appeared progressively, with no recovery tendency during the 18 days of the experiment.

REFERENCES

1. Bandak, S., Czejka, M., Schuller, J., Schernhammer, E., *Pharmacokinetic drug interaction between epirubicin and interferon- α -2b in serum and red blood cells*, „Drug Res.”, **45** (2), 1995, 212–215.
2. Della Torre, P., Podesta, A., Pinciroli, G., Iatropoulos, M., Mazue, G., *Long-lasting effect of desradoxane against anthracycline cardiotoxicity in rats*, „Toxicol. Pathol.”, **24** (4), 1996, 398–402.
3. Dranissaris, G., Tran, T. M., *Economic analyses of toxicity secondary to anthracycline-based breast cancer chemotherapy*, „Eur. J. Cancer”, **31** A(13–14), 1995, 2174–2180.
4. Goldwasser, F., Pico, J. L., Cerrina, J., Fernandez, H., Pons, J. C., Cosser, J. M., Hayat, M., *Successful chemotherapy including epirubicin in a pregnant non-Hodgkin's lymphoma patient*, „Leukemia Lymphoma”, **20**, 1995, 173–176.
5. Jong, S., Zijilstra, J. G., Vries, G., Mulde, I. N. H., *Reduced topoisomerase II activity and drug-induced DNA cleavage activity in an adriamycin-resistant human small cell lung carcinoma cell line*, „Cancer Res.”, **50**, 1990, 304–307.
6. Kiraz, S., Baltali, E., Guler, N., Barista, I., Benekli, M., Celik, I., Gullu, I. H., Kars, A., Tekuzman, G., Firat, D., *Ifosfamide, mesna and epirubicin as second line chemotherapy in advanced breast cancer*, „J. Chemother.”, **8** (4), 1996, 310–314.
7. Lebot, M. A., Glaise, D., Kernaleugen, D., Ratanasavanh, D., Carlhant, D., Riche, C., Guilouzo, A., *Metabolism of doxorubicin, daunorubicin and epirubicin in human and rat hepatoma cells*, „Pharmacol. Res.”, **24**, 1991, 243–252.
8. Mazue, G., Williams, G. M., Iatropoulos, M. J., Newman, A. J., Sammartini, U., Pulci, R., Castellino, S., Scampini, G., Brughera, M., Imondi, A. R., Podesta, A., *Anthracyclines: Review of genotoxicity and carcinogenicity studies*, „Int. J. Oncol.”, **8** (31), 1996, 525–536.
9. Mureșan, E., Gaboreanu, M., Bogdan, A. T., Baba, A. I., *Tehnici de histologie normală și patologică*, Ed. Ceres, București, 1974.
10. Schjott, J., Olsen, H., Berg, K., Jyunge, P., *Pretreatment with ischaemia attenuates acute epirubicin-induced cardiotoxicity in isolated rat hearts*, „Pharmacol. Toxicol.”, **78** (6), 1996, 381–386.
11. Stroescu, V., *Antibiotice care afectează moleculele de AND*, in Stroescu, V. (Red.), *Bazele farmacologice ale practicii medicale*, pp. 1074–1076, Ed. Med., București, 1995.

THAPSIGARGIN DEPLETES INTRACELLULAR CALCIUM STORES AND ACTIVATES AN INFLUX PATHWAY FOR DIVALENT CATIONS IN K562 CELLS

FERENC KÓSA*, MÁRIA MOGÓCSI** and BALÁZS SARKADI**

SUMMARY. — Thapsigargin — an inhibitor of the endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase was shown to elevate $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in the K562 erythroleukemia cell line at concentrations of 0.5–30 nM. The induced rise in the cytosolic calcium concentration was transient in Ca^{2+} -free media, but sustained in the Ca^{2+} -containing medium. The $[\text{Ca}^{2+}]_i$ rise resulted from the emptying of the intracellular calcium pools. The emptying of this internal Ca^{2+} stores (including IP_3 -sensitive stores) by thapsigargin stimulated calcium entry as indicated by a rise in the cytosolic free Ca^{2+} concentration after Ca^{2+} had been added to cells suspended in Ca^{2+} -free medium. Thapsigargin also stimulated Mn^{2+} entry in K562 cells.

The resin from the umbelliferous plant, *Thapsia garganica*, has for centuries been used as a counter-irritant for relief of rheumatic pains. Chemical investigations revealed the major active constituent to be a sesquiterpene lactone [16]. The compound was named thapsigargin. Initial pharmacological studies revealed that thapsigargin (TG) was a potent activator of different cell types involved in the inflammatory response [15]. In addition to the capacity of thapsigargin to induce acute cellular responses, it has long-term effects in promoting second-stage carcinogenesis in mouse skin [16]. Thapsigargin has been identified as a nonphorboid tumour promoter whose mode of action appears to result from the emptying of intracellular calcium stores. This effect has been shown to be a direct consequence of its specific inhibition of all the known cloned isoforms of the endoplasmic and sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPases [5, 6, 11]. Due to a substantial endogenous calcium leak through the endoplasmic reticulum membrane, inhibition of the Ca^{2+} -ATPases by TG produces a rapid release of Ca^{2+} from endomembrane calcium pools that include the IP_3 -sensitive compartment [4, 9, 14]. In a variety of cells, the addition of TG also results in the concomitant elevation of plasma membrane Ca^{2+} permeability [7, 19, 13].

To the best of our knowledge, TG has so far not been tested for its effects on Ca^{2+} release or Ca^{2+} influx in K562 human erythroleukemia cells. Therefore, in the present study, we examined the effects of TG on cytosolic calcium concentrations of this cell line.

* Babeş-Bolyai University, Department of Animal Physiology, 3400 Cluj-Napoca, Romania

** National Institute of Hematology, Blood Transfusion and Immunology, 1113 Budapest, Hungary

Materials and methods. Cells and culture conditions. K562 cells were grown in α -MEM medium without nucleosides, supplemented with 10% fetal calf serum, 2 mM glutamine at 37°C in a humidified atmosphere containing 5% CO₂.

Fluorescence [Ca²⁺]_i measurements. Fluorescence was measured according to Schaefer *et al.* [12]. The standard incubation medium for the fluorescence measurements contained 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 0.5 mM MgCl₂, 0.04 mM CaCl₂, 10 mM Hepes-Na (pH 7.4), 10 mM NaHCO₃, 5 mM Na₂HPO₄ and 10 mM glucose. For loading with the fluorescent calcium indicator, K562 cells (3–5 × 10⁶/ml) were incubated in culture medium with 1.5 μ M of fura-2/AM at 37°C for 30 min. After loading, the cells were kept at room temperature and the fluorescence measurements were carried out within 2 h. Before each measurement, an aliquot (1 ml) of the loaded cell suspension was rapidly centrifuged (10 s at 12,000 \times g) in an Eppendorf microcentrifuge and the pellet rinsed three times with the standard incubation medium and resuspended in 2 ml of incubation medium (1.5–2.5 × 10⁶ cells/ml). Fluorescence was measured in a Hitachi F-4000 fluorescence spectrophotometer at 37°C under continuous gentle stirring. For fura-2 the excitation wavelength was 340 nm, emission was measured at 500 nm (bandwidth, 5 nm). Cytoplasmic free calcium concentration was calculated by using the method of Grynkiewicz *et al.* [3].

Mn²⁺ quenching of fura-2 fluorescence. It was performed essentially according to Rink [10]. Cells loaded with fura-2 as described above were suspended in the standard incubation medium from which CaCl₂ was omitted. MnCl₂ (1 mM, final concentration) was added first and thapsigargin 2–3 min later. Fluorescence was excited at 360 nm, *i.e.* at the isobestic wavelength at which Ca²⁺ does not affect fura-2 fluorescence [10]. Emission was recorded at 500 nm.

All the chemicals used were of analytical grade. Thapsigargin was purchased from Sigma, fura-2/AM from Calbiochem; α -minimal essential medium (MEM) without nucleosides and fetal calf serum were obtained from Gibco.

Results and discussion. Effects of thapsigargin on [Ca²⁺]_i in Ca²⁺-containing and Ca²⁺-free medium. As can be seen from Fig. 1A, in the absence of extracellular Ca²⁺, the addition of 1–4 nM thapsigargin (TG) to a suspension of fura-2-loaded K562 cells, induced a concentration-dependent elevation of cytosolic Ca²⁺ concentration from the resting level of approximately 100 nM, followed by a decline to or slightly below the resting level. Maximal [Ca²⁺]_i elevation was obtained with 4 nM TG. At this dose, TG induced a transient [Ca²⁺]_i peaking at ~90 nM above the resting level. Since these [Ca²⁺]_i peaks appeared in cells suspended in the Ca²⁺-free medium, they can only originate from intracellular release. In other cell types, similar transients have been interpreted to reflect the unmasking of an endogenous Ca²⁺ leak from the endomembrane pool upon inhibition of the Ca²⁺-ATPase [9, 14, 16].

At lower TG concentrations, there was a short delay before [Ca²⁺]_i began to rise, and the peak level was reached after about 1–1.5 min. The elevation of cytosolic [Ca²⁺]_i is slower both at low and high TG concentrations than the rise in [Ca²⁺]_i seen with the K562 cell surface receptor agonist ATP (Fig. 2A), which increases [Ca²⁺]_i to a peak within a few seconds.

In the presence of external Ca²⁺, addition of 0.5 nM TG induced the development of sustained Ca²⁺ signals (Fig. 1B). The rise in [Ca²⁺]_i could be further increased by the addition of 0.5 nM TG (Fig. 1B, trace c). When starting the incubation with 4 nM TG, a maximal response in [Ca²⁺]_i was achieved which did not increase by further addition of the drug. After 10–12 min, the response appeared to result from Ca²⁺ entry

into the cells because it was rapidly reversed by the addition of excess EGTA (Fig. 1B, trace d). Maximally effective concentrations of TG elevated $[Ca^{2+}]_i$ by ~ 530 nM, from a resting level of ~ 140 nM.

The peak level of TG-induced calcium signal (at above 500 nM) was only slightly dependent on the external free Ca^{2+} concentration; at 40 μM this peak value was about 95% of than seen at 0.5 mM and there was no further measurable change in this value, when the external Ca^{2+} concentration was increased up to 2.5 mM (data not shown).

Source of the Ca^{2+} mobilized by the TG. To determine the origin of the Ca^{2+} mobilized by TG, we compared the changes in $[Ca^{2+}]_i$ mediated by TG and ATP in K562 cells suspended in Ca^{2+} -free medium. Fig. 2 shows the effects of sequential additions of ATP and TG on $[Ca^{2+}]_i$ in Ca^{2+} -free medium. When these agents were applied at their maximally effective concentrations, TG was capable of evoking further release of intracellular Ca^{2+} after a maximal stimulation by ATP (Fig. 2A). On the other hand, after the release of intracellular Ca^{2+} by a maximal dose of TG, ATP caused no further elevation in $[Ca^{2+}]_i$ (Fig. 2B). To ensure that the absence of the responses to the second agent (ATP) was not due solely to prolonged exposure of cells to low extracellular calcium levels, control experiments were performed using cells maintained in low $[Ca^{2+}]_i$ medium for 10 min prior to addition of the Ca^{2+} -mobilizing agent. This treatment did not decrease $[Ca^{2+}]_i$ over time, nor did it abolish the increase in $[Ca^{2+}]_i$ induced by ATP or TG (data not shown).

The results obtained suggest that the TG-sensitive intracellular Ca^{2+} pool is functionally larger than the ATP-sensitive pool and includes the latter. ATP is believed to release intracellular Ca^{2+} from IP_3 -sensitive Ca^{2+} pool(s) through activation of phospholipase C and subsequent formation of IP_3 [1, 8]. Thus, it appears that TG and ATP in K562 cells recruit Ca^{2+} from a common IP_3 -sensitive intracellular pool or from pools which substantially overlap. These results and data indicate either that TG can release Ca^{2+} from pools not accessible to ATP and, by inference, to IP_3 , or that a single pool can be emptied completely by TG and only partially by IP_3 .

Induction of Ca^{2+} influx by TG. To dissociate the intracellular Ca^{2+} release and Ca^{2+} influx responses, our experiments were carried out according to the Ca^{2+} -free/ Ca^{2+} -reintroduction protocol: excess EGTA had been added to cell suspensions 1 min before application of TG and Ca^{2+} was reintroduced into the medium 2–6 min after the drug, a time when the initial $[Ca^{2+}]_i$ response (i.e. intracellular Ca^{2+} release) was over. Addition of external Ca^{2+} after the TG-induced $[Ca^{2+}]_i$ transient resulted in a rise in $[Ca^{2+}]_i$ (Fig. 1A), which involved stimulation of Ca^{2+} entry. The rate and magnitude of Ca^{2+} entry were found to be proportional to the concentration of TG and to the extent of Ca^{2+} mobilized by this compound (Fig. 1A, traces a and b).

The observed calcium influx can be explained with the capacitative calcium entry model [9]. According to this model, the emptying of the intracellular calcium pool would activate, through the plasma membrane,

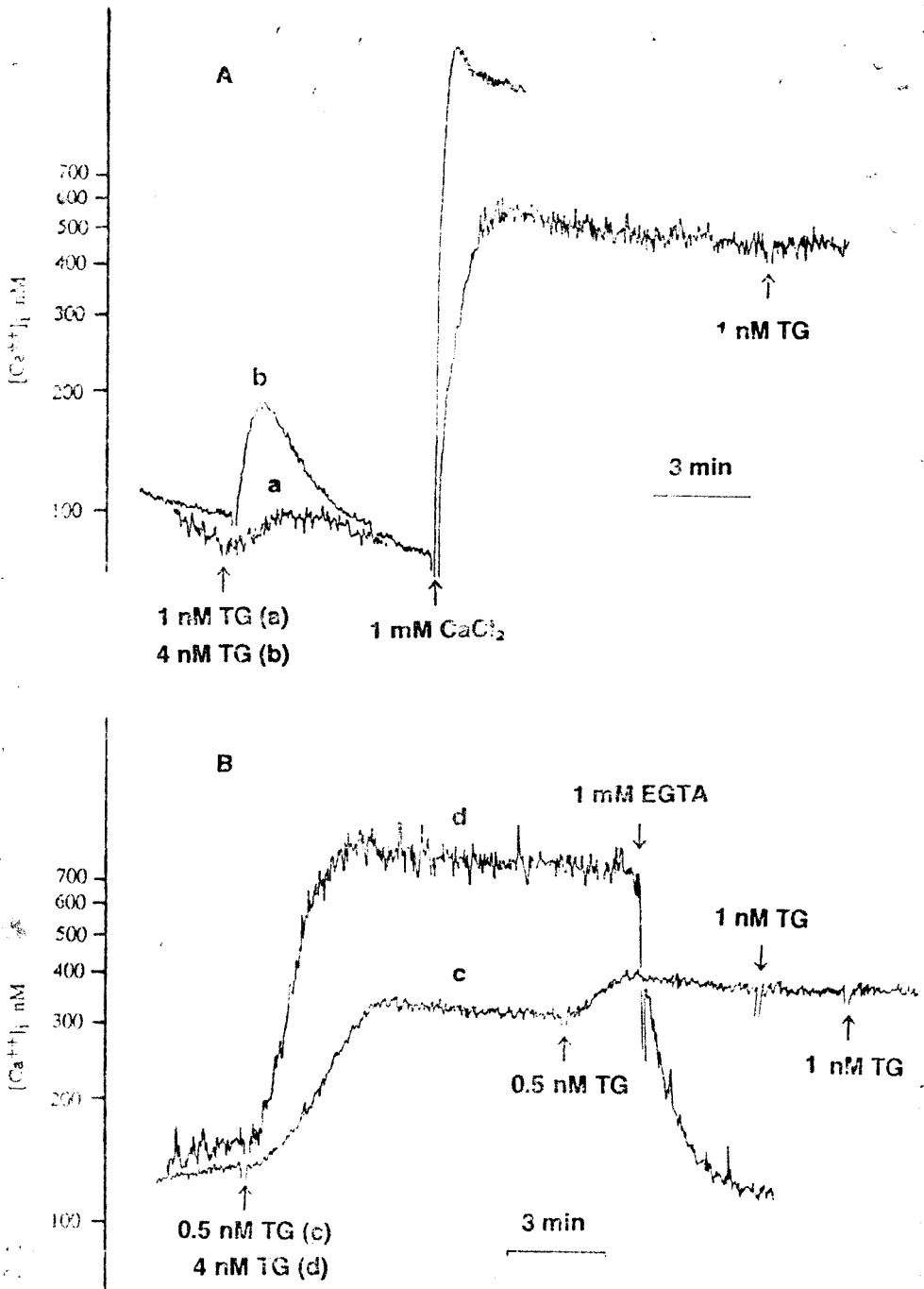


Fig. 1. Effect of thapsigargin (TG) on $[Ca^{2+}]_i$ in K562 cells in the absence (A) and presence of extracellular Ca^{2+} (B).

A: 1 and 4 nM thapsigargin, indicated by traces a and b, were added to fura-2-loaded K562 cell suspensions in nominally Ca^{2+} -free medium followed by addition of 1 mM $CaCl_2$. B: 0.5 (c) and 4 (d) nM TG were added to cell suspensions in the presence of extracellular Ca^{2+} . The following additions were made as indicated by arrows: trace c: 0.5, 1 and 1 nM TG; trace d: 1 mM EGTA. Fluorescence was measured at 500 nm (the excitation wavelength was 340 nm).

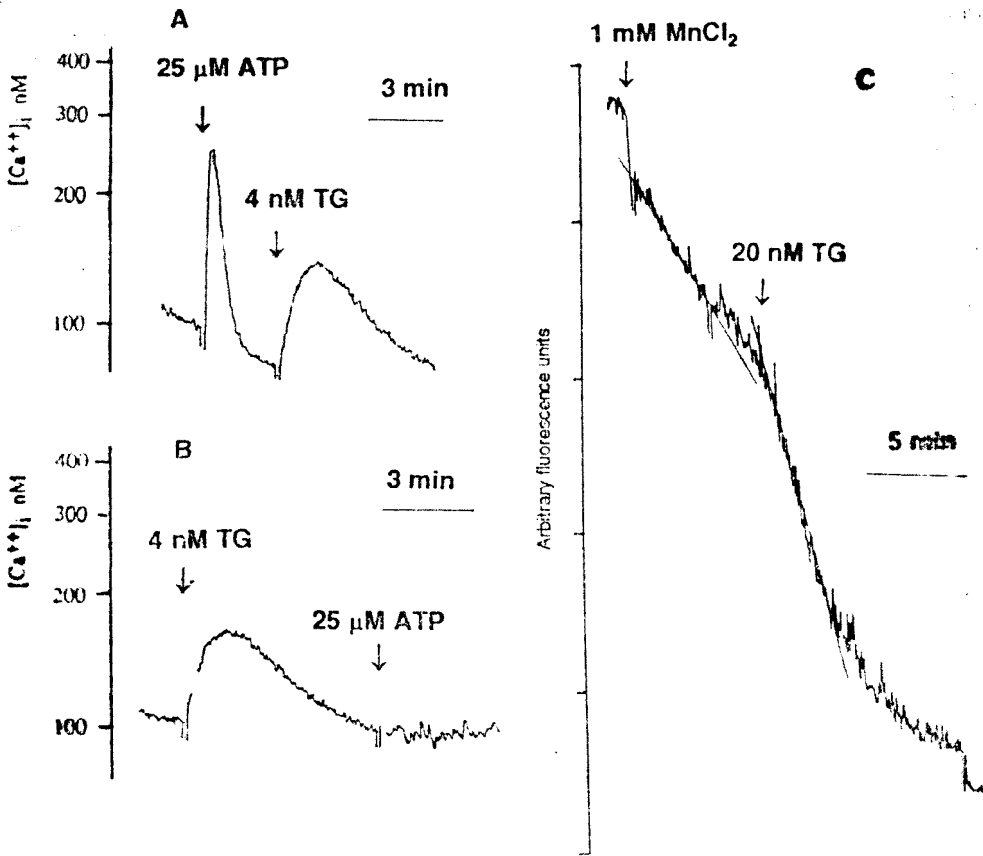


Fig. 2. Effects of the sequential addition of ATP and TG on $[Ca^{2+}]_i$ in K562 cells (A, B) and of the TG addition on Mn^{2+} uptake (C).

A, B: $25 \mu M$ ATP and $4 nM$ TG were added to fura-2-loaded K562 cell suspensions in nominally Ca^{2+} -free medium and fluorescence was measured at 500 nm (the excitation wavelength was 340 nm). In C: $1 mM$ $MnCl_2$ and $20 nM$ TG were added to fura-2-loaded cell suspensions in nominally Ca^{2+} -free medium and fluorescence was recorded at 500 nm (fluorescence was excited at 360 nm).

a pathway for its refilling. The model postulates that Ca^{2+} entry in many cell types is linked to the state of filling of the internal dischargeable Ca^{2+} pool, so that depletion of the pool promotes either entry into the pool by-passing the bulk of the cytosol, or an increased Ca^{2+} permeability of the plasma membrane allowing Ca^{2+} influx into the cytosol [9].

A second approach to measure the effect of TG on Ca^{2+} influx in K562 cells was to monitor divalent cation entry into fura-2-loaded cells in the presence of extracellular Mn^{2+} [2, 10]. Mn^{2+} can be used as a probe for Ca^{2+} influx in a variety of cells, because it enters cells by me-

mechanisms analogous to those of the Ca^{2+} entry, but it quenches fura-2-fluorescence [10]. Thus, replacement of extracellular Ca^{2+} with Mn^{2+} is useful to monitor divalent cation influx into cells. As can be seen in Fig. 2C, stimulation of K562 cells by 20 nM TG caused, after a short lag period, a rapid decrease in the fluorescence at 360 nm which indicates that the divalent cation Mn^{2+} has entered the cytosolic compartment.

In conclusion our results indicate that thapsigargin not only depletes IP_3 -sensitive Ca^{2+} stores but also activates an influx pathway for the divalent cations Ca^{2+} and Mn^{2+} . The action of TG in the K562 cell line is undistinguishable from its effects in other cell types.

REFERENCES

1. Barnard, E. A., Burnstock, G., Webb, T. E., *G protein-coupled receptors for ATP and other nucleotides: a new receptor family*, "Trends Pharmacol. Sci.", **15**, 1994, 67-70.
2. Foder, B., Scharff, O., Thastrup, O., *Ca^{2+} transients and Mn^{2+} entry in human neutrophils induced by thapsigargin*, "Cell Calcium", **10**, 1989, 477-490.
3. Grynkiewicz, G., Poenie, M., Tsien, R. Y., *A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties*, "J. Biol. Chem.", **260**, 1985, 3440-3450.
4. Inesi, G., Sagara, Y., *Specific inhibitors of intracellular Ca^{2+} transport ATPases*, "J. Membrane Biol.", **141**, 1994, 1-6.
5. Kijima, Y., Ogunbunmi, E., Fleischer, S., *Drug action of thapsigargin on the Ca^{2+} pump protein of sarcoplasmic reticulum*, "J. Biol. Chem.", **266**, 1991, 22912-22918.
6. Lytton, J., Westlin, M., Hanley, M. R., *Thapsigargin inhibits the sarcoplasmic or endoplasmic reticulum Ca -ATPase family of calcium pumps*, "J. Biol. Chem.", **266**, 1991, 17067-17071.
7. Mason, M. J., Garcia-Rodriguez, C., Grinstein, S., *Coupling between intracellular Ca^{2+} stores and the Ca^{2+} permeability of the plasma membrane*, "J. Biol. Chem.", **266**, 1991, 20856-20862.
8. Murgó, A. J., Contrera, J. G., Sistare, F. D., *Evidence for separate calcium-signaling $\text{P}_{2\text{T}}$ and $\text{P}_{2\text{U}}$ purinoreceptors in human megakaryocytic Dami cells*, "Blood", **83**, 1994, 1258-1267.
9. Putney, J. W., *Capacitative calcium entry revisited*, "Cell Calcium", **11**, 1990, 811-824.
10. Rink, T. J., *Receptor-mediated calcium entry*, "FEBS Lett.", **26B**, 1990, 381-385.
11. Sagara, Y., Fernandez-Beides, F., de Meis, L., Inesi, G., *Characterization of the inhibition of intracellular Ca^{2+} transport ATPases by thapsigargin*, "J. Biol. Chem.", **267**, 1992, 12606-12613.
12. Schaefer, A., Magócsi, M., Stocker, U., Kósa, F., Marquardt, H., *Early transient suppression of c-myc mRNA levels and induction of differentiation in Friend erythroleukemia cells by the $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -increasing agents cyclopiazonic acid and thapsigargin*, "J. Biol. Chem.", **12**, 1994, 8786-8791.
13. Takemura, H., Hughes, A. R., Thastrup, O., Putney, J. W., *Activation of calcium entry by the tumor promoter thapsigargin in parotid acinar cells*, "J. Biol. Chem.", **264**, 1989, 12266-12271.
14. Thastrup, O., *Role of Ca^{2+} -ATPases in regulation of cellular Ca^{2+} signalling, as studied with the selective microsomal Ca^{2+} -ATPase inhibitor thapsigargin*, "Agents Actions", **29**, 1990, 8-15.

15. Thastrup, O., Cullen, P. J., Drobak, B. K., Hanley, M. R., Dawson, A. P., *Thapsigargin, a tumor promoter, discharges intracellular Ca^{2+} stores by specific inhibition of the endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase*, "Proc. Natl. Acad. Sci. USA", **87**, 1990, 2466-2470.
16. Thastrup, O., Dawson, A. P., Scharff, O., Foder, B., Cullen, P. J., Drobak, B. K., Bjerrum, P. J., Christensen, S. B., Hanley, M. R., *Thapsigargin, a novel molecular probe for studying intracellular calcium release and storage*, "Agents Actions", **27**, 1989, 17-23.

CONTRIBUTIONS TO THE STUDY OF THE HEMAGGLUTINATION CAPACITY OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

DOMNICA ANDRONESCU*, ELENA DAVID*, STELA COCEAN*
and DOINA ȘERBAN**

SUMMARY. — Hemagglutination typing of 118 *Pseudomonas aeruginosa* strains is described. It has been found that the frequency of mannose-resistant, mannose-sensitive hemagglutination type and non-typable strains varies with the sources of isolation (urinary, respiratory, post-operative and digestive infections) and the origin of erythrocytes (human, bovine, chicken and guinea pig). Of the hemagglutination types I—IV determined according to the technique of Evans *et al.*, type IV was found most frequently among the strains to be strongly related to production of virulence factors (hemolysin, extracellular protease, enterotoxin) and pigments (pyocyanin, fluorescein).

The fimbrial adhesins (lectins) of *Pseudomonas aeruginosa* and of other bacteria play an important role in the attachment of bacterial cells to the cells and tissues of the host organism. The attached bacteria are not removed by the washing effect of the body fluids, and, thus, the bacterial colonisation of the cell and tissue surfaces can take place. The adhesins also act as hemagglutinins. Therefore, the adhesive properties of bacteria can easily be studied by determining their capacity to agglutinate the erythrocytes from different species. Two basic types of bacterial hemagglutination have been described. In the mannose-resistant hemagglutination (MRHA), the D-mannose added to the suspension of bacteria and erythrocytes does not inhibit the hemagglutination, which indicates that the cellular receptors for hemagglutinins do not contain D-mannose in their structure. Contrarily, the mannose-sensitive hemagglutination (MSHA) is inhibited by mannose addition as mannose is present in the structure of these cellular receptors for hemagglutinins [3—6, 8, 9, 12].

The hemagglutinins, like the hemolysins, extracellular proteases and enterotoxins of bacteria, are virulence factors [1, 2, 4, 7, 10, 11]. In *Pseudomonas aeruginosa*, the hemagglutinins appear together with pigments (pyocyanin and fluorescein), too [4].

In the present paper, our study dealing with the hemagglutination typing of 118 *Pseudomonas aeruginosa* strains is described.

Materials and methods. The 118 *Pseudomonas aeruginosa* strains were isolated from urinary, respiratory, post-operative and digestive infections of humans. Samples of urine, sputum, faeces and purulent secretions were examined. For isolation and identification of strains, the classic methods were used. For hemagglutination typing the strains were cultured on the CFA (colonisation fac-

* Institute of Public Health and Medical Research, 3400 Cluj-Napoca, Romania

** Deceased.

tor-antigen production) agar medium. Hemagglutination capacity of the strains was tested with human group A, bovine, chicken and guinea pig erythrocytes. The testings were carried out with and without addition of D-mannose. The basic hemagglutination types (MRHA and MSHA) and the HA types I—IV were established according to the technique of Evans *et al.* [3]. The numbers of typable and non-typable strains were recorded. The hemagglutination typing was accompanied by determination of hemolysin, extracellular protease and pigment (pyocyanin and fluorescein) production by applying the usual methodology. Enterotoxin production by the strains isolated from diarrheal disease was also determined by using the rabbit ligated ileal loop method.

Results. Results of the basic HA typing of the strains depending on the sources of isolation and the origin of erythrocytes are presented in Table 1. One can see from this table that the frequency of the MRHA and MSHA type and non-typable strains varies with the sources of isolation and the origin of erythrocytes.

In urinary infections, the MRHA type strains are dominating over the other strains tested with the same erythrocytes, but the dominance shows the following order: chicken>bovine>human>guinea pig erythrocytes.

Most of the strains isolated from respiratory infections are either non-typable (with human erythrocytes) or belong to the MRHA type (with the other erythrocytes).

It is characteristic for the strains isolated from post-operative infections that the non-typable strains are most numerous with human and bovine erythrocytes and least numerous with chicken and guinea pig erythrocytes.

In the digestive infections, as in the urinary ones, the majority of strains are of MRHA type, and the dominance of these strains depending on the origin of erythrocytes decreases in the same order, *i.e.* chicken>bovine>human>guinea pig erythrocytes.

When all strains are considered together, dominance of the MRHA type strains over the other strains is again evident as in the case of the strains isolated from urinary and digestive infections. In other words, the MRHA type strains are most numerous with all erythrocytes. But the frequency of the MSHA type and non-typable strains largely depends on the origin of erythrocytes. Thus, the MSHA type strains are less frequently encountered than the non-typable strains when the hemagglutination is tested with human and bovine erythrocytes, whereas the reverse is true with the chicken and guinea pig erythrocytes.

Grouping of the 118 strains into HA types I—IV according to the scheme of Evans *et al.* [3] led to the results illustrated in Fig. 1. It is evident from this figure that the strains isolated most frequently from different infections belong to different HA types, namely those from urinary infections exhibit type IV HA, those from respiratory in-

Table 1

Number and percentage of mannose-resistant hemagglutination (MRHA), mannose-sensitive hemagglutination (MSHA) type and non-typable *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from different sources and tested with different erythrocytes

Sources of isolation	Total number and percentage of strains	HA type of strains	Number and percentage of strains agglutinating			
			human erythrocytes	bovine erythrocytes	chicken erythrocytes	guinea pig erythrocytes
Urinary infections	26 (100%)	MRHA	18 (69.3%)	19 (73.1%)	21 (80.1%)	15 (52.7%)
		MSHA	4 (15.4%)	1 (3.8%)	3 (11.5%)	8 (30.1%)
		Non-typable	4 (15.4%)	6 (23.1%)	2 (7.7%)	3 (11.5%)
Respiratory infections	17 (100%)	MRHA	5 (29.4%)	12 (70.6%)	16 (94.1%)	7 (41.2%)
		MSHA	5 (29.4%)	1 (5.9%)	0 (0%)	4 (23.5%)
		Non-typable	7 (41.2%)	4 (23.5%)	1 (5.9%)	6 (35.3%)
Post-operative infections	17 (100%)	MRHA	6 (35.3%)	5 (29.4%)	9 (52.9%)	5 (29.4%)
		MSHA	0 (0%)	1 (5.9%)	7 (41.2%)	7 (41.2%)
		Non-typable	11 (64.7%)	11 (64.7%)	1 (5.9%)	5 (29.4%)
Digestive infections	58 (100%)	MRHA	44 (75.9%)	50 (86.2%)	54 (93.1%)	28 (48.3%)
		MSHA	7 (12.1%)	1 (1.7%)	1 (1.7%)	14 (24.1%)
		Non-typable	7 (12.1%)	7 (12.1%)	3 (5.2%)	16 (27.6%)
Total	118 (100%)	MRHA	73 (61.9%)	86 (72.9%)	100 (84.7%)	55 (46.6%)
		MSHA	16 (13.5%)	4 (3.4%)	11 (9.3%)	33 (28.0%)
		Non-typable	29 (24.6%)	28 (23.7%)	7 (5.9%)	30 (25.4%)

fections — type III HA and those from digestive infections — type IV or I HA. These findings suggest some organ specificity in the adherence of strains, namely adherence to the urinary tract by strains of HA type IV, to the digestive tract by strains of HA types IV and I and to the respiratory tract by strains exhibiting type III HA.

Fig. 1 also shows that the strains isolated from post-operative infections belong, in a similarly low number, to different HA types. Number of the non-typable strains isolated from different infections is similarly low. Consequently, it is not possible, in these two cases, to compare the frequencies of the HA types.

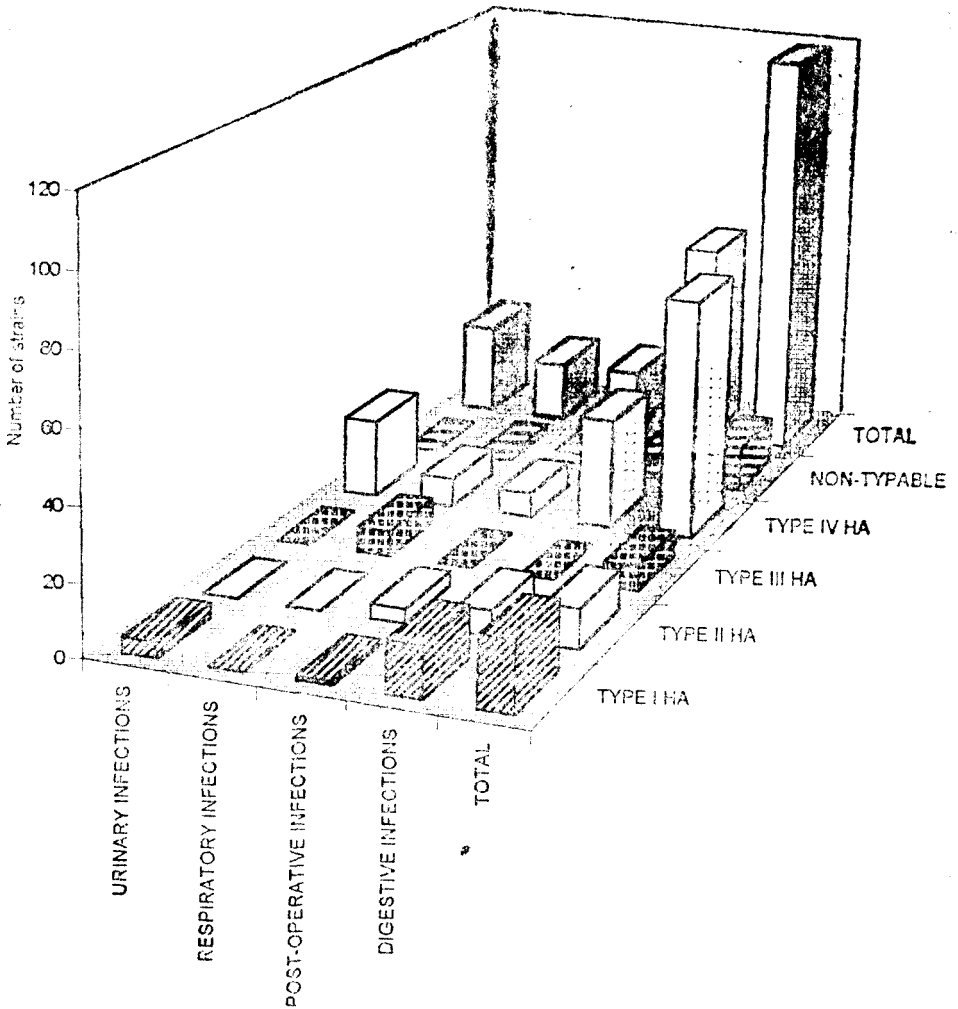


Fig. 1. Grouping of the *Pseudomonas aeruginosa* strains into HA types I—IV according to the scheme of Evans et al. (3).

The relationship between HA type and hemolysin, extracellular protease and pigment production is dealt with separately for the strains isolated from different infections (Figs. 2—5).

One can deduce from Fig. 2 that, among the strains isolated from urinary infections, only type IV HA is strongly related to production of hemolysin, pyocyanin and fluorescein and weakly to the protease activity.

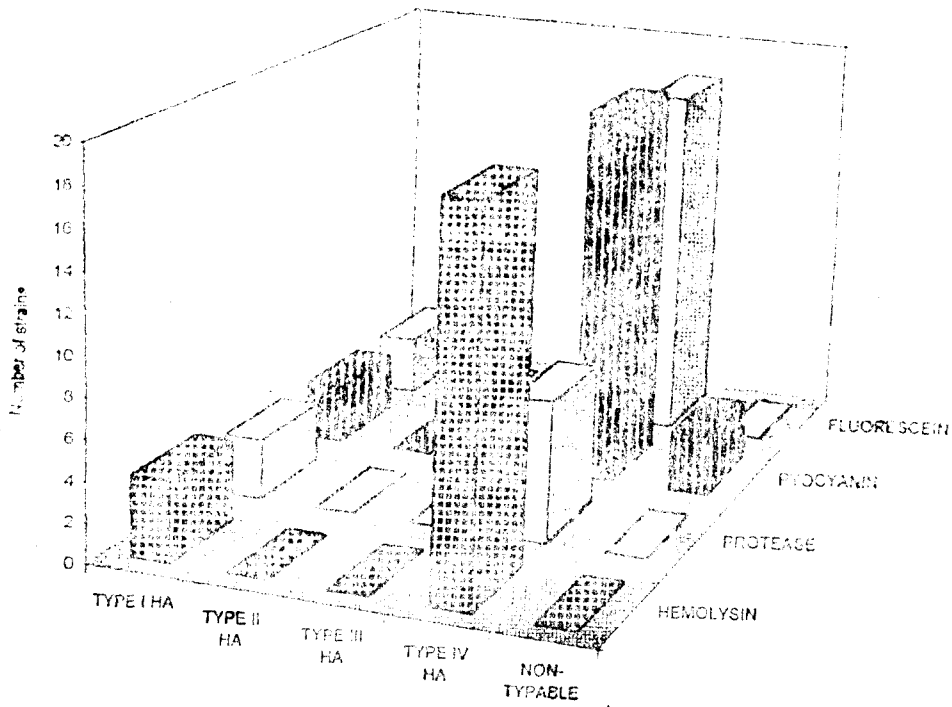


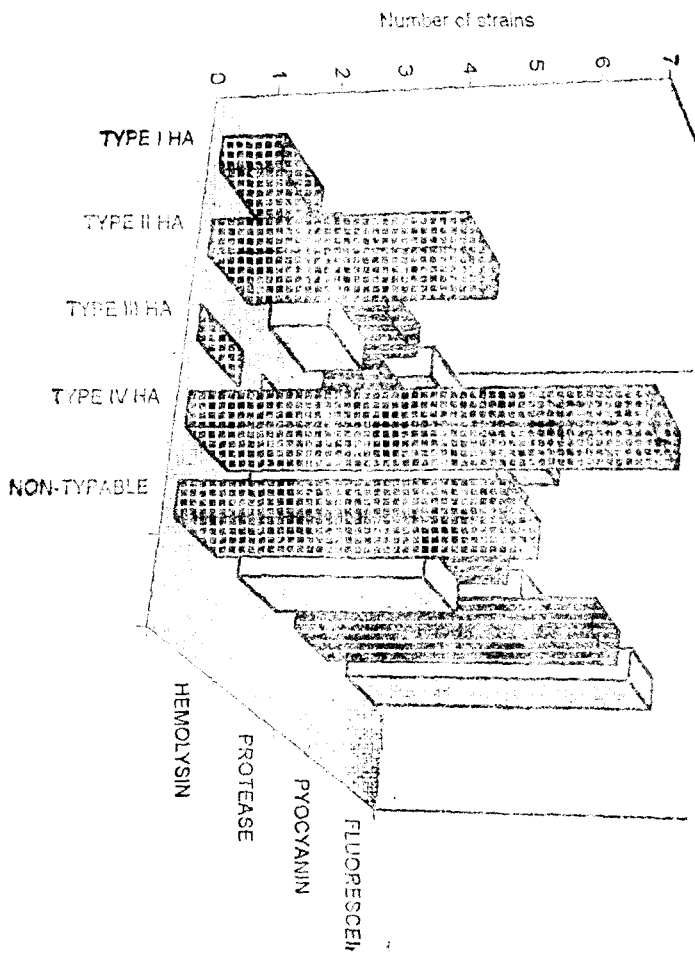
Fig. 2. Relationship between HA type and hemolysin, protease and pigment production of the strains isolated from urinary infections.

Fig. 3 indicates that, among the strains isolated from respiratory infections, both HA types III and IV are accompanied by significant hemolysin, protease and pyocyanin production.

For the strains isolated from post-operative infections it is characteristic — as Fig. 4 shows — that hemolysin, protease, pyocyanin and fluorescein are produced not only by the type IV HA strains, but also by the non-typable ones. In addition, there is a relationship between HA type II and production of hemolysin and fluorescein. All these strains, including the non-typable ones, being producers of virulence factors can be considered as hospital strains adapted to survival under the hygienically controlled conditions of hospitals.

Fig. 5 illustrates that, of the strains isolated from digestive infections, those belonging to HA types I, II and IV produce enterotoxin. Production of hemolysin, protease, pyocyanin and fluorescein is also frequently encountered among these strains and less frequently among the non-typable strains.

Fig. 4. Relationship between Ha. type and hemolysin, protease and pigment production of the strains isolated from post-operative infections.



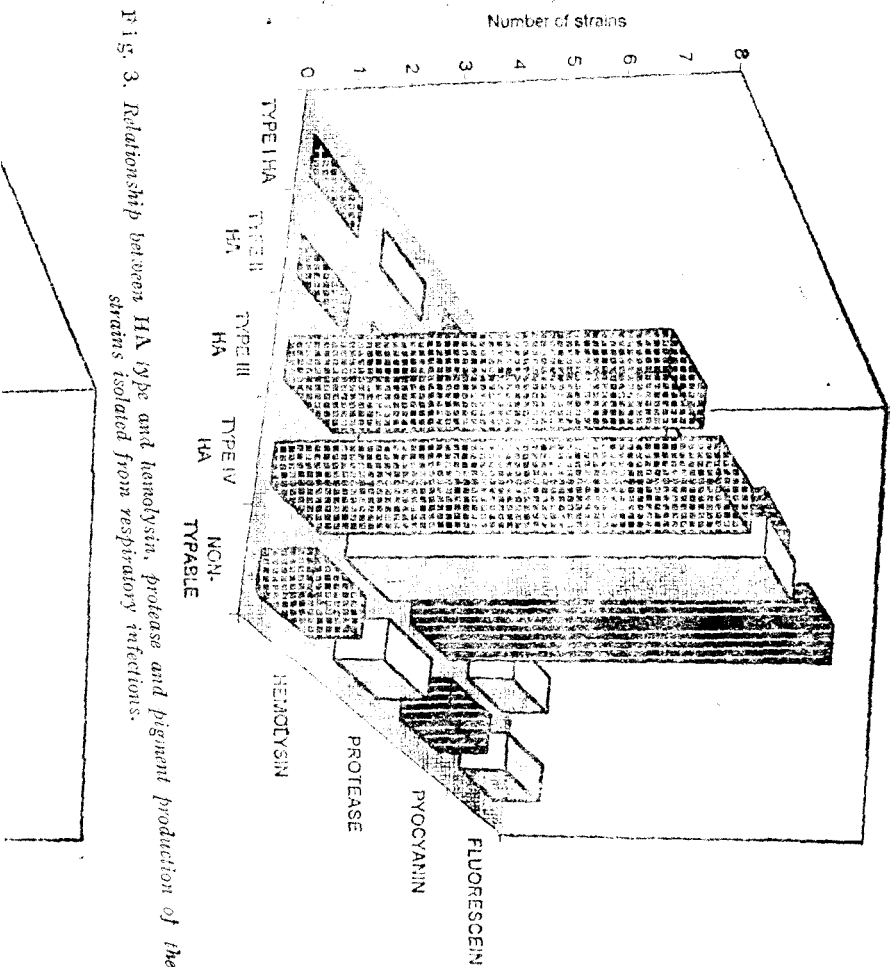


Fig. 3. Relationship between HA type and hemolysin, protease and pigment production of the strains isolated from respiratory infections.

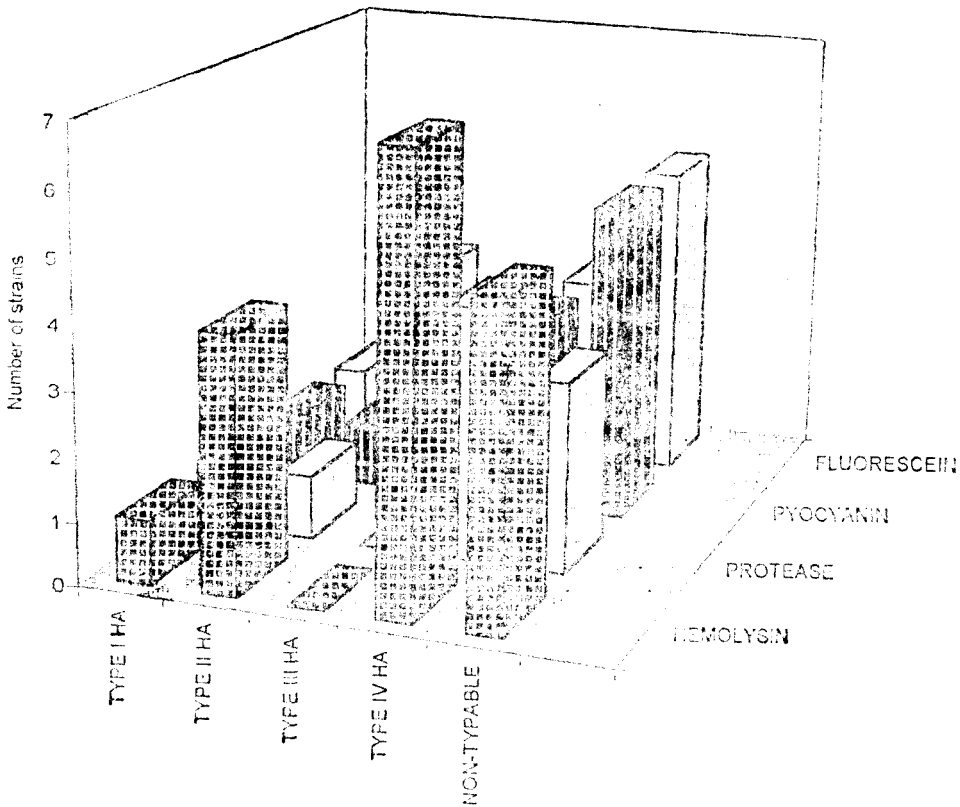


Fig. 5. Relationship between HA type and enterotoxin, hemolysin, protease and pigment production of the strains isolated from digestive infections.

Conclusions. 1. Frequency of MRHA, MSHA type and non-typable *Pseudomonas aeruginosa* strains varies with the sources of isolation (urinary, respiratory, post-operative and digestive infections) and the origin of erythrocytes (human, bovine, chicken and guinea pig).

2. Of the HA types I—IV determined according to the technique of Evans *et al.*, the following were found among the strains isolated from different infections to be strongly related to production of virulence factors and pigments: type IV (urinary, respiratory, post-operative and digestive infections); type III (respiratory and digestive infections); type II (post-operative and digestive infections); type I (digestive infections). The non-typable strains from post-operative infections were also found to be producers of virulence factors and pigments.

REFERENCES

1. Al-Ssum, R. M., *Incidence and level of exotoxin A in proteolytic cell-free cultures of clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa collected from hospitals in Riyadh, Saudi Arabia*, „Microbiologica”, **15**, 1992, 355–360.
2. David, E., Andronescu, D., Cocean, S., Șerban, D., Șovrea, D., *Aspecte ale virulenței tulpinilor de Escherichia coli izolate din infecții urinare*, „Bacteriol., Virusol., Parazitol. Epidemiol.”, **41** (1–2), 1996, 57–62.
3. Evans, D. S. Jr., Evans, D. G., Young, I. S., Pitt, J., *Hemagglutination typing of Escherichia coli: definition of seven hemagglutination types*, „Chem. Microbiol.”, **12** 1980, 235–242.
4. Gilboa – Garber, N., *Pseudomonas aeruginosa lectins as a model for lectin production, properties, applications and functions*, „Zbl. Bakteriolog. A”, **270**, 1988, 3–15.
5. Gilboa – Garber, N., Garber, N., *Lectins*, „Meth. Enzymol.”, **83**, 1982, 378–385.
6. Gilboa – Garber, N., Mizrahi, L., Garber, N., *Mannose-binding hemagglutinins in extracts of Pseudomonas aeruginosa*, „Can. J. Biochem.”, **55**, 1977, 975–981.
7. Häse, C. C., Finkelstein, R. A., *Comparison of the Vibrio cholerae hemagglutinin, protease and the Pseudomonas aeruginosa elastase*, „Infect. Immun.”, **68**, 1990, 4011–4015.
8. Israil, A., Nănescu, N., Cedru, C., *Studies on the hemagglutinant activity of some Aeromonas strains*, „Arch. Roum. Pathol. Exp. Microbiol.”, **52** (1), 1993, 31–41.
9. Ko, H. L., Berth, J., Solter, J., Schroten, H., Uhlenbruck, G., Pulverer, G., *In vitro and in vivo inhibition of lectin-mediated adhesion of Pseudomonas aeruginosa by receptor blocking carbohydrates*, „Infection”, **15**, 1987, 237–241.
10. Kubota, S., Luip, V., *A enterotoxin of Pseudomonas aeruginosa*, „J. Infect. Dis.”, **123**, 1971, 97.
11. Low, D., David, V., Lark, D., Schoolnik, G., Falkow, S., *Gene clusters governing the production of hemolysin and mannose-resistant hemagglutination are closely linked in Escherichia coli serotype O4 and O6 isolates from urinary tract infections*, „Infect. Immun.”, **43**, 1984, 353–358.
12. Sabath, L. D., (Ed.), *Pseudomonas aeruginosa*. Huber Publ. Bern, 1980.

DATA CONCERNING THE POSSIBILITY OF USING
THE ABUNDANCE OF THE AZOTOBACTER CELLS AS
A BIOINDICATOR OF SOIL POLLUTION

IZABELLA KOLOSVÁRY*

SUMMARY. — Heavy metal-polluted riparian soils along the brook Turț and the river Tur (Satu Mare county) were studied. The pollution originated from the nonferrous heavy metal-mining area in Turț. The soil samples taken periodically during 1995 and 1996 were submitted to microbiological, enzymological and physico-chemical analyses. The number of the colony-forming units of *Azotobacter* was found to be a more synthetic indicator of soil pollution than any individual heavy metal of the eight ones (Cd, Co, Ni, Cu, Pb, Cr, Zn and Mn) analysed. The method applied for determination of the number of the viable *Azotobacter* cells meets the requirements of being simple, accurate, objective and standardisable.

Application of physico-chemical methods for studying the polluted soils and those subjected to remediation measures is necessary but insufficient: the physico-chemical investigation of these soils should be accompanied by biological studies. The biological methods should be simple, accurate, objective and standardisable (e.g. [7, 8]). We have supposed that the method for determination of the numbers (colony-forming units) of the aerobic, nonsymbiotic N₂-fixing bacteria of the genus *Azotobacter* may meet all the requirements specified above. The aim of the present study was to verify this supposition in soils located along a transect originating from a point source of heavy metal pollution.

Materials and methods. The area of a nonferrous heavy metal mine located in the vicinity of the village of Turț (Satu Mare county) was studied. Sulphide ores (sphalerite, galena, calcopyrite, pyrite) are mined and processed here with a humid technology. The resulting huge amounts of heavy metal-containing acid mine waters are evacuated into the brook Turț which flows into the river Tur. The polluted waters infiltrate into the soils along the brook and river banks. Sometimes, the riparian soils become polluted also due to floodings. In addition, the area is affected by atmospheric pollution deposits, too.

Soil was sampled at 2-m distances from the banks in 5 places along a transect, namely along the brook Turț downward of the mine but upward of the confluence with the river Tur (places A, B, C and D) and along the river Tur downward of its confluence with the brook Turț (place E). A place located along the river Tur upward of its confluence with the brook Turț (place F) was also studied. The samplings were carried out periodically during 1995 and 1996. The sampling depth was 0–10 cm. The soil samples were submitted to microbiological, enzymological and physico-chemical analyses.

The number of the colony-forming units (cfu) of *Azotobacter* and total number of the aerobic, heterotrophic bacteria were determined according to the

* Environmental Protection Agency, Laboratory of Microbiology, Str. Mircea cel Bătrân 8/B, 3900 Satu Mare, Romania

methods recommended in [9]. Ten g soil and 90 ml 3% sterile sodium pyrophosphate solution were mixed and shaken for 3–4 hours. The soil dilution obtained (10^{-1}) was further diluted with sterile tap water up to the dilution 10^{-10} .

For cultivation of *Azotobacter* we used the Ashby medium in the following composition: glucose 20 g, K_2HPO_4 0.2 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, NaCl 0.2 g, $CaCO_3$ 5 g, agar-agar 20 g, distilled water 1000 ml. The medium was liquefied by heating, then distributed in Erlenmeyer flasks and sterilised by autoclaving at 1.2 atm for 20 min. After cooling, the medium was inoculated with 1 ml from the 10^{-1} soil dilution and incubated at 28°C for 14 days, then the colonies (c.f.u.) were enumerated.

The total number of the aerobic, heterotrophic bacteria was determined on nutrient agar medium obtained from the Cantacuzino Institute in Bucharest. The medium was inoculated with 1 ml soil dilution (10^{-5} – 10^{-10}), then incubated at 28°C for 48 hours.

Soil respiration and enzyme (actual and potential dehydrogenase, catalase and phosphatase) activities were assayed using the methods described in [2].

Soil pH and heavy metal (Cd, Co, Ni, Cu, Pb, Cr, Zn, Mn and Fe) contents were determined with the methods recommended by the Pedological and Agrochemical Research Institute in Bucharest [1].

The coefficients of correlations between the numbers of cfu of *Azotobacter* and the numerical values of the other parameters were calculated by means of the programme EXCEL 7.0 for Windows 95 [4]. The mean of the values registered in soils of the 6 sampling places was calculated separately for 1995 and 1996, respectively.

Results. The results obtained are presented in Table 1. One can see from this table that cultivable *Azotobacter* cells were present in soils of all places in both years (excepting place F in 1996). But the number of cfu/100 g soil never exceeded 500. Similarly, the number of aerobic, heterotrophic bacteria ranged from $0.09 \cdot 10^6$ to $3.67 \cdot 10^6$ /g soil and, thus, it was, especially in 1996, much lower than the value of $1 \cdot 10^9$ bacteria/g soil considered as a general value for fertile soils [3].

The soil respiration and enzyme activities were weak, especially in 1996. As expected, the potential dehydrogenase activity exceeded the actual one.

The soil pH remained acid in most places.

For evaluation of the degree of heavy metal pollution of the studied soils (Table 1), reference should be made to the admissible threshold values in unpolluted soils (Table 2).

The admissible threshold values of Cd (1 ppm), Cu (20 ppm), Pb (20 ppm) and Zn (100 ppm) are exceeded, whereas the admissible threshold values of Co (15 ppm), Ni (20 ppm), Cr (30 ppm) and Mn (900 ppm) are not exceeded by the values recorded in majority of the studied soils.

The degree of heavy metal pollution shows only a slight trend of diminution along the transect originating from the Turț mine.

The correlations between numbers of cfu of *Azotobacter* and the other parameters registered in 1995 differ, surprisingly, very much from those found in 1996. In 1995, the *Azotobacter* numbers correlated significantly and positively only with the contents of some heavy metals (Co, Ni, Cr and Zn). In 1996, the correlations were significant and positive with some microbial and enzymatic parameters (respiration,

Table 1

Microbial, enzymatic and physico-chemical parameters and coefficients of correlations between numbers of cfu of *Azotobacter* and values of the other parameters of heavy metal-polluted soils

Parameters	Year	Sampling places						Corr. coeff.
		A	B	C	D	E	F	
Number of cfu of <i>Azotobacter</i> /100 g soil	1995	140	120	20	370	430	140	
	1996	90	120	260	340	150	0	
Total number of aerobic, heterotrophic bacteria/100 g soil ($\times 10^6$)	1995	367	193	210	121	307	191	-0.008
	1996	9	11	24	25	52	18	0.256
Respiration (mg CO ₂ /100 g soil)	1995	42.40	24.28	44.80	33.12	40.46	44.50	-0.162
	1996	4.92	8.78	25.17	18.24	22.44	16.02	0.997***
Actual dehydrogenase activity [mg triphenylformazan/100 g soil ($\times 10^{-2}$)]	1995	2.79	12.48	2.60	1.15	18.60	13.38	0.322
	1996	0.10	3.65	15.10	8.34	3.65	1.25	0.773*
Potential dehydrogenase activity [(mg triphenylformazan/100g soil ($\times 10^{-2}$)]	1995	44.71	86.30	12.46	16.80	99.69	60.26	0.325
	1996	14.95	11.00	25.70	27.05	55.42	6.85	0.401
Catalase activity (mg H ₂ O ₂ /100 g soil)	1995	204.9	162.7	331.0	67.3	286.1	269.2	-0.368
	1996	311.4	345.0	387.1	336.6	370.3	300.1	0.997***
Phosphatase activity (mg phenol/100 g soil)	1995	68.66	66.30	64.40	71.26	62.48	50.50	0.200
	1996	70.65	97.48	24.04	65.16	35.02	84.56	-0.590
pH	1995	5.18	6.28	4.84	5.62	7.03	6.64	0.541
	1996	6.42	5.03	7.28	7.13	6.65	5.16	0.792*
Total Cd content (ppm)	1995	2.05	1.31	1.96	1.76	3.31	0.25	0.537
	1996	2.32	9.80	0.60	2.45	1.62	2.85	-0.261
Total Co content (ppm)	1995	14.91	11.84	10.95	14.25	19.18	14.71	0.803**
	1996	12.60	14.72	11.15	13.52	12.77	14.70	-0.458
Total Ni content (ppm)	1995	11.55	13.45	12.14	19.31	26.35	13.25	0.926***
	1996	8.47	19.80	13.17	15.00	8.37	15.27	0.039
Total Cu content (ppm)	1995	24.20	22.30	22.40	19.90	32.90	8.30	0.433
	1996	16.65	64.77	9.07	15.90	9.45	22.90	0.997***
Total Pb content (ppm)	1995	74.10	49.60	44.40	39.70	38.30	17.50	-0.190
	1996	72.22	90.85	34.72	41.12	29.85	54.40	-0.471
Total Cr content (ppm)	1995	14.21	22.74	22.92	36.75	40.19	26.45	0.850**
	1996	4.77	14.00	7.90	9.02	4.77	10.70	-0.110
Total Zn content (ppm)	1995	496.5	275.4	34.7	459.5	745.5	68.6	0.825**
	1996	212.1	509.5	65.0	212.1	208.3	224.5	-0.321
Total Mn content (ppm)	1995	1780.8	845.4	515.1	117.5	1625.2	530.3	0.144
	1996	810.5	254.5	738.3	745.7	564.0	600.8	0.320
Total Fe content (ppm)	1995	23670	25895	26245	25271	26371	23871	0.220
	1996	25800	44500	18150	22100	15850	29375	-0.420

Significance: * between 95 and 99%; ** between 99 and 99.9%; *** over 99.9%.

potential dehydrogenase and catalase activities) as well as with pH and Cu content.

Based on the analytical data presented in Table 1 and taking also into consideration our results obtained with organically polluted soils

Table 2

Threshold values of heavy metal contents and threshold numbers of cfu of *Azotobacter* indicating the degree of soil pollution

Heavy metals/ <i>Azotobacter</i>	Unpolluted soils	Polluted soils			
		Warning threshold		Intervention threshold	
		Sensitive	Less sensitive	Sensitive	Less sensitive
Cadmium (ppm)	1	3	5	5	10
Cobalt (ppm)	15	30	100	50	250
Nickel (ppm)	20	75	250	150	500
Copper (ppm)	20	100	250	200	500
Lead (ppm)	20	50	250	100	1000
Chromium (ppm)	30	100	300	300	600
Zinc (ppm)	100	300	1000	500	1500
Manganese (ppm)	900	1500	2000	2500	4000
<i>Azotobacter</i> (number of cfu/100 g soil)	>500	600-400	400-300	300-100	<100

and with the unpolluted representative soils of the Satu Mare county [5], we suggest threshold numbers of cfu of *Azotobacter* indicating the degree of heavy metal pollution of soils. These numbers are specified in Table 2 together with the threshold values of heavy metal contents as established in the normative system elaborated by the Romanian Ministry of Waters, Forests and Environment Protection in 1997 for regulating the evaluation of environmental pollution [6].

A comparative examination of the data in the two tables makes it evident that the number of *Azotobacter* cfu is a more synthetic indicator of soil pollution than the content of any individual heavy metal, because the *Azotobacter* number is lower than the threshold value, in the soil of each of the 6 places studied, whereas none of the 8 heavy metals analysed exceeds the threshold value, in each soil.

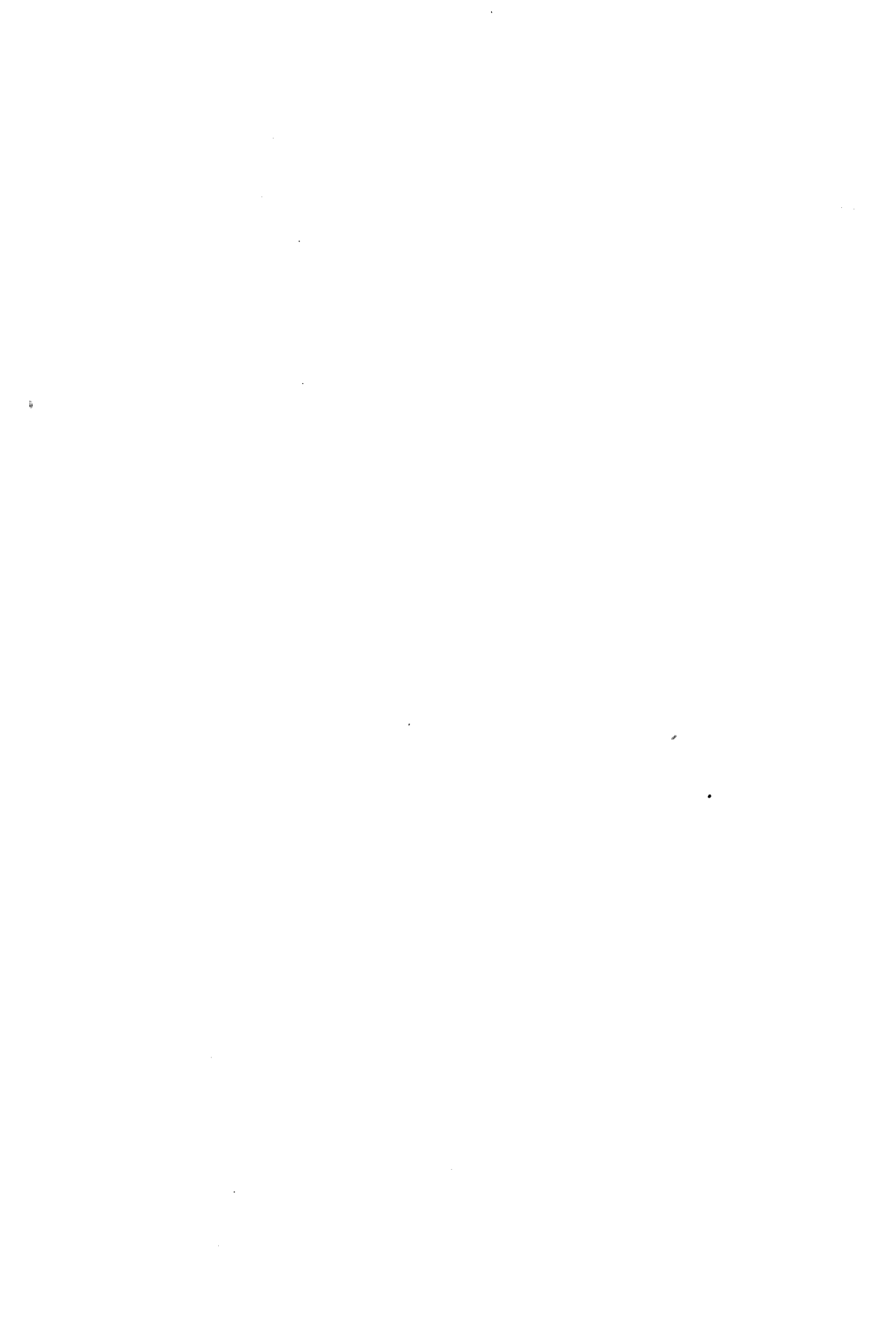
It should also be emphasised that the method applied for determination of the number of cfu of *Azotobacter* is simple, accurate, objective and standardisable.

Conclusions. 1. The number of the colony-forming units of *Azotobacter* in heavy metal-polluted soils is a more synthetic indicator of pollution than the content of any of the 8 heavy metals analysed.

2. The method applied for determination of *Azotobacter* number meets the requirements of being simple, accurate, objective and standardisable.

REFERENCES

1. Borlan, Z., Răuță, C., Pop, C., Nănescu, S., Vintilă, I., Constantinescu, N., *Metodologia de analiză agrochimică a solurilor în vederea stabilirii necesarului de amendamente și de îngrășăminte*, Inst. Cercet. Pedol. Agrochim., București, 1981.
2. Drăgan-Bularda, M., *Lucrări practice de microbiologie generală*, Univ. Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca, 1983.
3. Drăgan-Bularda, M., Kiss, S., *Microbiologia solului*, Univ. Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca, 1986.
4. Klucs, L., Koleszár, G., *Az EXCEL 7.0 programozása és függvényei*, Mikroelektronika Alkalmazásának Kultúrájéért Alapítvány, LSI Oktatóközpont, Budapest, 1997.
5. Kolosváry, I., *Evaluarea gradului de poluare a solurilor prin studierea bacteriilor pedobionte din genul Azotobacter*, Teză Dr., Univ. Babeș-Bolyai, Fac. Biol. Geol., Cluj, 1998.
6. Ministerul Apelor, Pădurilor și Protecției Mediului, *Ordin nr. 756/3.11.1997 pentru aprobarea Reglementării privind evaluarea poluării mediului*, „Monitorul Oficial al României”, Anul IX, 303 bis, 23—29.
7. Nannipieri, P., Badalucco, L., Landi, L., Pietramellara, G., *Measurement in assessing the risk of chemicals to the soil ecosystem*, in Zelickoff, J. T. (Ed.), *Ecotoxicology: Responses, Biomarkers and Risk Assessment, an OECD Workshop*, Chapter 34, SOS Publ., Fair Haven, New Jersey, 1997.
8. Pankhurst, C. E., Doube, B. M., Gupta, V. V. S. R. (Eds.), *Biological Indicators of Soil Health*, CAB International, Wallingford—New York, 1997.
9. Szegi, J., *Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek*, Mezőgazd. Kiadó, Budapest, 1979.



THE EFFECT OF TEMPERATURE AND pH ON KINETIC PROPERTIES OF SOIL UREASE

MARINELA SIMIHAIAN* and IOAN-ALEXANDRU SILBERG**

SUMMARY. — Two soils, an alluvial soil and a leached chernozem, were studied. In both soils, urea hydrolysis was found to obey a Michaelis–Menten kinetics. At different urea concentrations, temperature and pH values, the Michaelis constant (K_m) and maximal velocity (V_{max}) of urease were estimated by using the Hanes–Woolf equation.

The results have shown that, in both soils, an increase of the incubation temperature from 4 to 37°C led to diminution of K_m and to a rise of V_{max} . In reaction mixture buffered with the same solution (phosphate, citrate or Tris-HCl) at different pHs (between 7 and 8), K_m was higher at 7 or 7.2 than at 7.8 or 8, but at the same or nearly the same pH, the three buffer solutions increased both K_m and V_{max} in the order: phosphate < citrate < Tris-HCl.

Urea is the most important nitrogen fertiliser in world agriculture. Its nitrogen becomes available to plants only after its hydrolysis catalysed by the soil urease enzyme. Therefore, studies of soil urease present both practical and theoretical importance. Thus, studies of the kinetic properties of soil urease and of the effect of physical and chemical factors on the kinetic properties give information about the intensity of the hydrolytic reaction of urea, the number of isoenzymes and the forms of soil urease [10].

The main kinetic parameters of an enzymatic reaction are the Michaelis constant (K_m) and the maximal velocity (V_{max}). They have specific values under certain conditions [8]. K_m characterises the affinity of enzyme molecules for the substrate molecules, whereas V_{max} shows the saturation degree of the enzyme with the substrate. The ratio V_{max}/K_m is another kinetic parameter which indicates the catalytic efficiency of enzyme.

The hydrolytic reaction of urea in soil has a first order kinetics; it follows the Michaelis-Menten equation [5, 11, 12, 19]. Depending on soil type and chemical soil constituents, this mechanism can be changed into a competitive [7, 15] or a non-competitive [9] inhibition.

The most important factors modifying the kinetic properties of enzymes are the temperature and pH and, related to pH, the nature and ionic strength of buffer solutions. K_m decreases with increasing temperature [8] and increasing pH [16]. The variation of V_{max} with temperature is described by a binomial curve of different forms, depending on soil type and chemical and biochemical transformations taking place in soil [1]. V_{max} increases with increasing pH up to a maximum value, called optimum pH, and decreases at pHs higher than the optimum one [15].

* Biological Research Institute, 3400 Cluj-Napoca, Romania

** Babeş-Bolyai University, Faculty of Chemistry, 3400 Cluj-Napoca, Romania

In the present paper, a study of the effect of temperature, pH and buffer solutions on the kinetic parameters of urea hydrolysis catalysed by soil urease is described.

Materials and methods. We have studied two soils: an alluvial soil from a site near the Someşul Mic river (pH 8.3, humus 3.18%, total nitrogen 0.085%, cation-exchange capacity 39.95 me/100 g soil, available phosphorus 7.6 mg P_2O_5 /100 g soil, exchangeable potassium 14.4 mg K_2O /100 g soil, K_m 0.242 mM, V_{max} 0.647 mM urea/g soil, h. V_{max}/K_m 2.886) and a leached chernozem from the vicinity of Cluj-Napoca (pH 7.12, humus 5.84%, total nitrogen 0.15%, cation-exchange capacity 32.1 me/100 g soil, available phosphorus 17 mg P_2O_5 /100 g soil, exchangeable potassium 38 mg K_2O /100 g soil, K_m 0.419 mM, V_{max} 1.937 mM urea/g soil, h. V_{max}/K_m 4.367) [17].

Urease activity was determined by using the colorimetric method with diacetyl monoxime and thiosemicarbazide [4]. In this method, a red complex is formed between two molecules of urea and two molecules of diacetyl monoxime. This is an accurate and precise method, existing only a few interferences (e.g. citrulline and hydroquinone give positive and negative interferences, respectively) [18].

Reaction mixtures were prepared from 5-g soil samples treated with 4 ml toluene, 10 ml urea solution (0.3–4 mM) without or with phosphate, citrate or Tris-HCl buffer solution (having pHs between 7 and 8) and incubated at different temperatures (namely at 4, 18 and 37°C) for one hour.

In all cases, K_m and V_{max} were estimated with the Hanes–Wolf equation ($S/V = f(S)$)

Results and discussion. *The effect of temperature.* It is known [3, 6, 8] that the rate of urea hydrolysis in soil increases with increasing temperature; the same is valid for V_{max} and the reverse is true for K_m . These variations also depend on soil type and conditions of pedogenesis. For example, the cold steppe soils and those from the alpine zone, formed at low temperatures, have an enzymatic potential originating from microorganisms adapted to these adverse climatic conditions. This situation is reflected in the level of their enzymatic activities and in the response of their enzymes to different temperatures [8]. Urease activity in the soils studied by Pal and Chhonkar [11] exhibited a great thermal stability up to 70°C. Another study of soil urease activity has shown [1] that the effect of temperature on K_m and V_{max} is best described by a linear and binomial equation, respectively. Determining soil urease activity at 20, 28 and 37°C and using the Hanes-Wolf equation, Perucci *et al.* [13] have found K_m to decrease and V_{max} to increase with increasing temperature.

Our results (Fig. 1) also show that K_m decreases with increasing temperature, *i.e.* the affinity of urease for urea is higher at higher temperatures, which means that at low temperatures the rate of urea hydrolysis is low and, consequently, the loss of urea-derived NH_3 through volatilisation is also low. We have recorded K_m values of 0.58 mM at 4°C and only 0.09 mM at 37°C in the alluvial soil, and 0.86 mM at 4°C and 0.25 mM at 37°C in the chernozem.

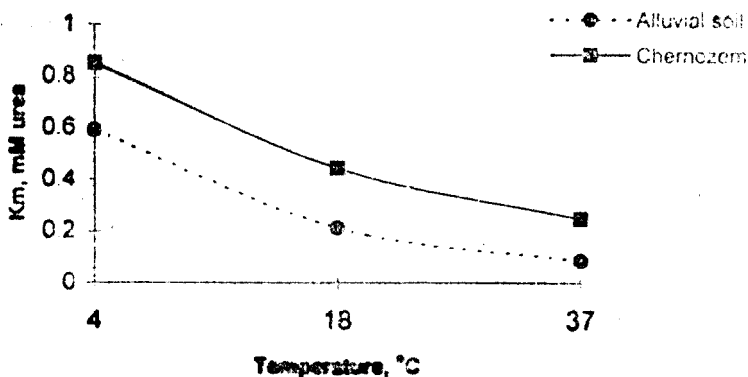


Fig. 1. Effect of temperature on K_m of soil urease.

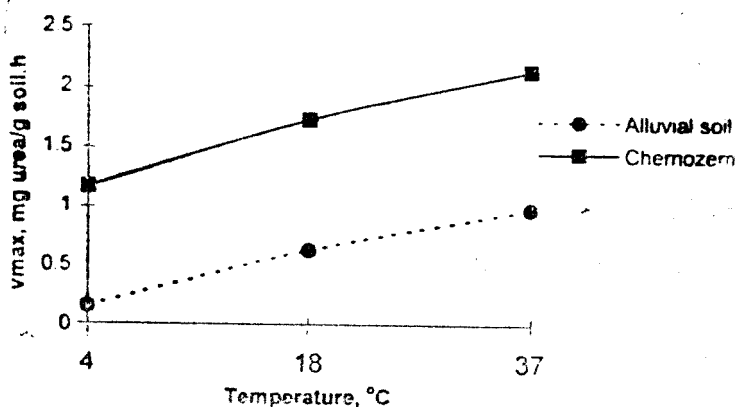


Fig. 2. Effect of temperature on V_{max} of soil urease.

The rise of temperature from 4°C to 37°C resulted in the increase of V_{max} from 0.2 to 0.95 mg urea/g soil.h in the alluvial soil, and from 1.15 to 2.2 mg urea/g soil.h in the chernozem (Fig. 2).

The effect of pH and buffer solutions. Many buffer solutions were used in different methods for determination of soil urease activity. Some of these solutions can be a source of major errors in certain soils. For example, the phosphate ions competitively inhibit urease activity at pHs of 5 to 7, but at higher pHs the inhibition is not competitive due possibly to changes in the ionic strength [20]. These deviations can be anticipated by studying the influence of buffer solutions on the kinetic properties of soil urease.

Urease activity in dependence of pH peaked at two pHs, namely at 6.6 and 9.2. It was deduced from this finding that the studied soil contains two active urease fractions [11].

Table 1

Changes in soil pH during incubation of reaction mixtures

Soil type	pH before incubation	pH after incubation	
		1 h	2 h
Alluvial	8.30	8.41	8.50
Leached chernozem	7.12	7.25	7.38

Pettit *et al.* [14] determined soil urease activity in non-buffered and buffered reaction mixtures. Phosphate solution (pH 4–7.5) and Tris-HCl solution (pH 6–10) were used for buffering. Both K_m and V_{max} were higher in the buffered than in the non-buffered reaction mixtures. The increases were most pronounced in the phosphate-buffered mixtures.

Variation of the kinetic parameters was studied at pHs ranging from 6 to 8.5 [15] and from 5.5 to 9.5 [2]. Within these pH ranges, K_m decreased with increasing pH, whereas V_{max} increased up to the optimum pH and suddenly decreased at higher pHs.

In our study, urease activity was first determined in non-buffered reaction mixtures of both soils. As Table 1 shows, only little changes occurred in pH during incubation. Urease activity (expressed in μg urea hydrolysed by one g of soil in 2 h) was 5.12 in the alluvial soil and 4.93 in the leached chernozem. Urease activity was determined in buffered reactions mixtures, too. Each of the three buffer solutions used stabilised the reaction mixture at three pH values, namely phosphate at pHs 7, 7.5 and 8, citrate at pHs 7, 7.5 and 7.8, and Tris-HCl at pHs 7.2, 7.5 and 8.

Fig. 3 presents the K_m values of soil urease in non-buffered reaction mixtures (the initial pH being about 8 in the alluvial soil and about 7 in the chernozem) and in the buffered reaction mixtures.

In the alluvial soil (Fig. 3A), K_m of urease in the non-buffered and buffered reaction mixtures shows the order: non-buffered < phosphate < citrate < Tris-HCl. With each buffer solution, the increase of K_m was higher at pH 7 or 7.2 than at 7.8 or 8. This means that in this soil (having an initial pH of about 8) buffering the reaction mixtures, diminishes the affinity of urease for urea; diminution of affinity depends on both pH and nature of buffer solution, being most pronounced at pH 7 or 7.2 and in Tris-HCl.

In the chernozem (Fig. 3B), the increase of K_m in the order non-buffered < phosphate < citrate < Tris-HCl was valid only at pH 7 or 7.2. Other orders were established at pH 7.5 (non-buffered ~ phosphate < citrate < Tris-HCl) and at pH 7.8 or 8 (phosphate < non-buffered ~ citrate < Tris-HCl). In other words, each buffer solution decreased the affinity of urease for urea at pH 7 or 7.2, whereas buffering at pH 7.5 with phosphate and at pH 8 with citrate left affinity practically unchanged, and buffering at pH 8 with phosphate caused a considerable increase of

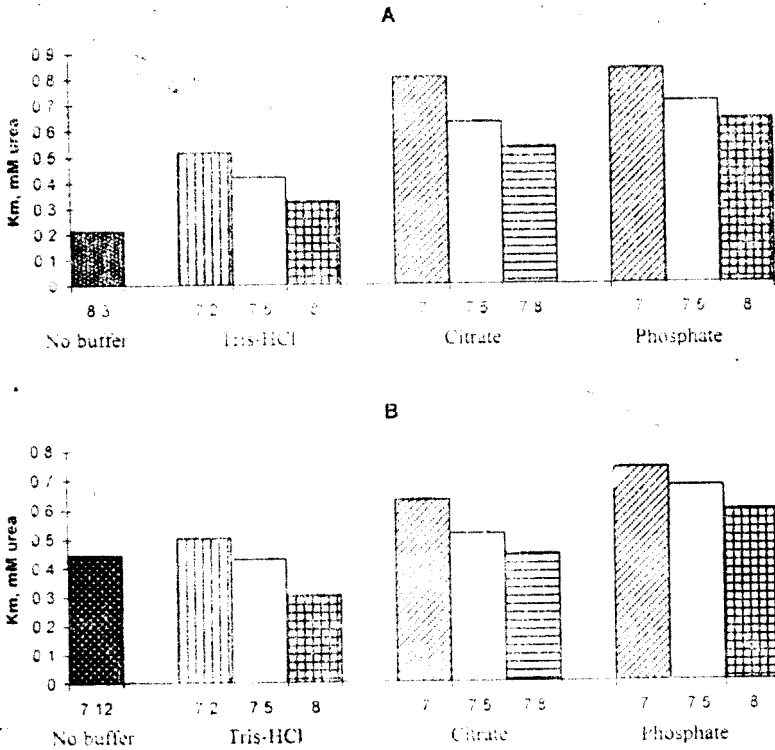


Fig. 3. K_m of urease of alluvial soil (A) and chernozem (B) in reaction mixtures not buffered and buffered with different solutions at different pHs.

affinity. Only the Tris-HCl solution behaved in chernozem as in the alluvial soil, i.e. K_m increased (affinity decreased) at each pH and the degree of K_m increase (degree of affinity decrease) had the order: pH 7 > pH 7.5 > pH 8.

V_{max} , as shown in Fig. 4, exhibited some increases in the buffered reaction mixtures in comparison with the non-buffered ones of both soils. Degree of increase depended on both pH and nature of buffer solution, in the orders: pH 7 or 7.2 < pH 7.5 < pH 7.8 or 8, and phosphate < citrate < Tris-HCl. In each case, the increase of V_{max} was a little higher in the alluvial soil than in the chernozem.

Conclusions. 1. Increasing of incubation temperature from 4 to 37°C led to diminution of K_m and to increase of V_{max} of urease in both soils studied.

2. In reaction mixtures of both soils buffered with the same solution (phosphate, citrate or Tris-HCl) at different pHs (between 7 and 8), K_m was higher at pH 7 or 7.2 than at pH 7.8 or 8, but at the same or

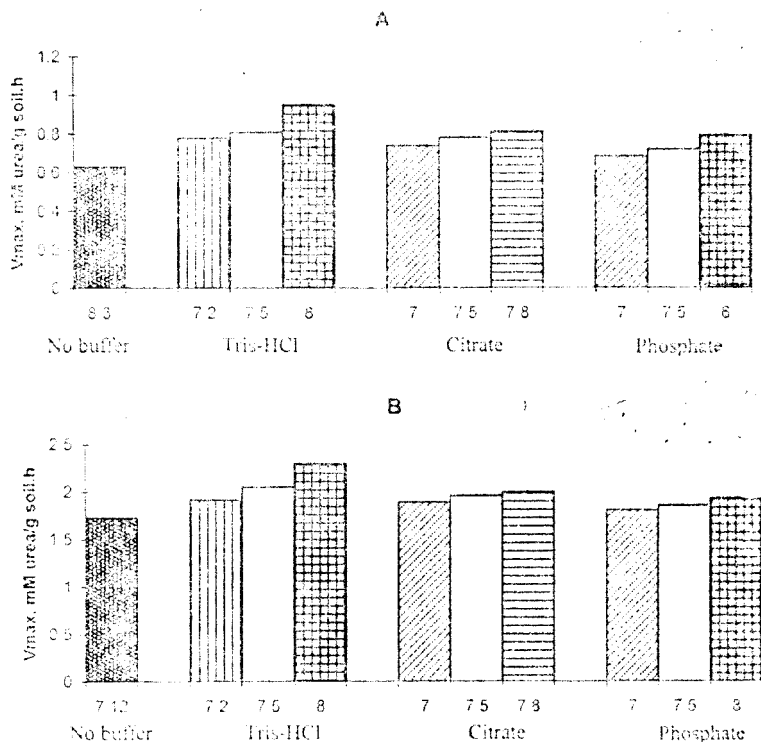


Fig. 4. V_{\max} of urease of alluvial soil (A) and chernozem (B) in reaction mixtures not buffered and buffered with different solutions at different pHs.

nearly the same pH, the three buffer solutions increased both K_m and V_{\max} in the order: phosphate < citrate < Tris-HCl.

3. Both K_m and V_{\max} were higher or least not lower in the buffered than in the non-buffered reactions mixtures. The only exception was the reaction mixture of chernozem buffered with phosphate at pH 8. In this case, K_m was lower in the buffered than in the non-buffered reaction mixture.

REFERENCES

1. Aliev, S. A., Gadzhiev, D. A., Mikailov, F. D., *Kineticheskie i termodinamicheskie kharakteristiki fermentov invertazy i ureazy v pochvakh Azerbaidzhanskoj SSR*, „Pochvovedenie”, No. 11, 1984, 55–66.
2. Cabrera, M. L., Kissel, D. E., Bock, B. R., *Urea hydrolysis in soil: effects of urea and soil pH*, „Soil Biol. Biochem.”, **23**, 1991, 1121–1124.
3. Dalal, R. C., *Distribution, stability, kinetic and thermodynamic characteristics of urease activity in a vertisol profile*, „Aust. J. Soil Res.”, **23**, 1985, 49–60.

4. Douglas, L. A., Bremner, J. M., *Colorimetric determination of microgram quantities of urea*, „Anal. Lett.", **3**, 1970, 79–87.
5. Gianfreda, L., Rao, M. A., Violante, A., *Adsorption, activity and kinetic properties of urease on montmorillonite, aluminium hydroxide and Al(OH)₃-montmorillonite complexes*, „Soil Biol. Biochem.", **24**, 1992, 51–58.
6. Gillman, E., Morgan, M. A., Sherwood, M., *Urease activity in Irish soils at 6°C*, „Proc. Royal Irish Acad., Biol. Environ.", **95B**, 1995, 19–26.
7. González Carcedo, S., Pérez Mateos, M., *Estudios cinéticos de la actividad ureásica en suelos calizos*, „An. Edafol. Agrobiol.", **41**, 1982, 2335–2343.
8. Khabirov, I. K., Kuvatov, Yu. G., *Kinetika i termodinamika fermentatsionoi reaktsii gidroliza mekhanoi ¹⁴C mocheviny v pochvakh Prednial'ya*, „Pochvovedenie", No. **8**, 1990, 83–94.
9. Lal, R. B., Kissel, D. E., Cabrera, M. L., Schwab, A. P., *Kinetics of urea hydrolysis in wheat residues*, „Soil Biol. Biochem.", **25**, 1993, 1033–1036.
10. Nannipieri, P., Ceccanti, B., Cervelli, S., Sequi, P., *Stability and kinetic properties of humus-urease complexes*, „Soil Biol. Biochem.", **10**, 1978, 143–147.
11. Pal, S., Chhonkar, P. K., *Thermal sensitivity and kinetic properties of soil urease*, „J. Indian Soc. Soil Sci.", **27**, 1979, 43–47.
12. Paulson, K. N., Kurtz, L. T., *Michaelis constant of soil urease*, „Soil Sci. Soc. Am. Proc.", **34**, 1970, 70–72.
13. Perucci, P., Giusquiani, P. L., Scarponi, L., *Nitrogen losses from added urea and urease activity of a clay-loam soil amended with crop residues*, „Plant Soil", **69**, 1982, 457–463.
14. Pettit, N. M., Smith, A. R. J., Freedman, R. B., Burns, R. G., *Soil urease: activity, stability and kinetic properties*, „Soil Biol. Biochem.", **8**, 1976, 479–484.
15. Rachhpal – Singh, Nye, P. H., *The effect of soil pH and high urea concentrations on urease activity in soil*, „J. Soil Sci.", **35**, 1984, 519–527.
16. Ruggiero, P., Dec, J., Bollag, J. - M., *Soil as a catalytic system*, in Stotzky, G., Bollag, J. - M. (Eds.), *Soil Biochemistry*, Vol. **9**, pp. 79–122, Dekker, New York, 1996.
17. Simihăian, M., *Studiul cinetic al reacției de hidroliză a ureei în sol*, „Lucr. Conf. Naț. Știința Solului (București, 1997), Publ. Soc. Naț. Rom. Știința Solului", **29B**, 1997, 47–54.
18. Sullivan, D. M., *Thiosulfate as a urease inhibitor*, Ph. D. Thesis, Department of Agronomy, Kansas State University, Manhattan, Kansas, 1990.
19. Tabatabai, M. A., *Michaelis constants of urease in soils and soil fractions*, „Soil Sci. Soc. Am. Proc.", **37**, 1973, 707–710.
20. Zantua, M. I., Bremner, J. M., *Comparison of methods of assaying urease activity in soil*, „Soil Biol. Biochem.", **7**, 1975, 291–295.

Vasile Cristea, Felician Micle, Florin Crișan, **Le Jardin Botanique „Alexandru Borza” (Cluj-Napoca, Roumanie)** (*Grădina Botanică „Alexandru Borza” (Cluj-Napoca, România)*), Universităţii de Studi, Camerino, 1997, 150 pagini, 44 ilustrații.

Lucrarea de referință este redactată în perspectivă istorică, fiind temeinic argumentată, relatând despre dezvoltarea și îmbogățirea patrimoniului Grădinii botanice din Cluj-Napoca, de-a lungul celor 78 ani parcurși de la înființare și 73 ani de la deschiderea oficială a acestei renumite instituții de știință și cultură.

Problematica prezentată în lucrare este grupată în două părți judicios elaborate.

Prima parte a lucrării (p. 7—71) relatează despre interdependența dintre învățământul universitar din Cluj și Grădinile botanice ca centre instructiv-educative și culturale (Cap. I).

De asemenea, sunt consemnate primele strădanii ale botaniștilor clujeni din perioada austro-ungară de a înființa o Grădină botanică, ideal care s-a și realizat în anul 1872 pe strada Clinicilor, prin efortul profesorului A. Kainitz și al altor universitari (Cap. II).

O deosebită atenție s-a acordat în mod justificat evoluției și dezvoltării Grădinii botanice subordonată universității române din Cluj, înființată în anul 1920, după făurirea statului național unitar român, pe un teren umanizat, care îndeplinea atât atribuțiile frumosului, cât și ale funcționalului. Prin capacitatea sa de un excelent organizator, cuplată cu o străduință plină de entuziasm, profesorul Alexandru Borza a reușit să realizeze o instituție care azi îi poartă numele, încorporând în cadrul ei Institutul Botanic, Muzeul Botanic și Herbarul (inaugurat în 1935), cunoscute și apreciate de specialiști, prin bogăția și varietatea exponatelor (Cap. III).

În continuare, sunt menționate succint, atât personalitățile care au ocupat funcția de director al acestei instituții — Al. Borza (1919—1947), Soó R. (1940—1944), E. Pop (1929—1931; 1948—1949), E. Ghișă (1950; 1960—1962), E. Topa (1952—1959), O. Rațiu (1963—1986), I.

Hodișan (1986—1996), G. Groza (1996—1997), F. Micle (1997—azi) — precum și personalul științific, care a contribuit la progresul Grădinii botanice din Cluj-Napoca.

Partea a doua a lucrării (p. 72—114) tratează despre modul de organizare teritorială a Grădinii botanice, în cadrul căreia sunt prezentate succint 5 sectoare, Serele, Muzeul botanic și Herbarul Universității.

Sectorul ornamental (Cap. I) este ilustrat prin citarea principalelor plante decorative, care sugerează prin înflorirea lor eşalonată succesiunea anotimpurilor.

În cadrul Sectorului fitogeografic (Cap. II), lucrarea scoate în relief ingeniozitatea grupării plantelor din diverse regiuni geografice, cultivate pe variate forme de relief, reprezentând flora Deserturilor africane și mexicane, flora Americii de Nord, flora Chino-Japoneză și a Asiei Centrale, flora Caucazului, flora Balcanilor, flora Mediteraneană și flora României.

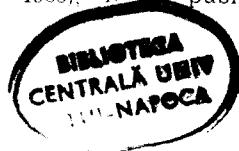
Lucrarea acordă o atenție deosebită și Sectorului sistematic (Cap. III), în cadrul căruia plantele sunt cultivate grupat pe familii, în ordine filogenetică, conform concepției profesorului Al. Borza.

Sectorul economic (Cap. IV) din Grădina botanică este reliefat de principalele plante cultivate, cu importanță alimentară, furajeră, meliferă și tehnologică.

În cadrul Sectorului plantelor medicinale (Cap. V) sunt citate principalele specii vegetale cunoscute și utilizate de popor în tratarea unor maladii.

În lucrare se acordă un deosebit interes și Serelor Grădinii botanice (Cap. VI) în număr de șase (Aquarium, Sera plantelor mediteraneene și australiene, Sera plantelor succulente, Sera Araceelor și Bromeliaceelor, Sera Orchideelor și Serele vechi) care adăpostesc numeroase plante tropicale și subtropicale, exemplificate prin cele mai interesante specii, importante economic sau fitogeografic.

De asemenea, un loc important îl ocupă în lucrare atât prezentarea colecțiilor de plante din Muzeul botanic și Herbarul Universității (Cap. VII), cât și publicațiile și schimburile naționale



și internaționale (Cap. VIII) realizat de Grădina Botanică „Alexandru Borza” din Cluj-Napoca, de la început de drum și până azi.

Această valoroasă operă caracterizată prin bogăția argumentelor, cuplată cu o ilustrație adecvată prezintă un interes național și internațional, contribuind la cunoașterea exhaustivă atât a dezvoltării Grădinii botanice „Alexandru Borza” din Cluj-Napoca, cât și a aportului adus de această instituție la păstrarea genofondului vegetal, îndeplinind astfel cu succes funcția sa științifică, cultural-educativă, sanitară, decorativă și recreativă.

IOAN POI

The Netherlands Integrated Soil Research Programme Reports, Wageningen, Volume 1, 1994, 43 pages, including 1 figure; Volume 2, 1995, 73 pages, including 13 figures and 7 tables; Volume 4, 1995, 50 pages, including 8 figures and 7 tables.

Volume 1 entitled “The fate of organic pollutants in soils and sediments and the development of biological soil remediation techniques. An evaluation of quality, scientific significance and policy relevance” was elaborated by P. J. M. Middeldorp and G. Sebraa. It comprises 6 chapters, the titles of which together with the subchapter titles are specified below: 1. Introduction; 2. Biodegradation of organic compounds in soil: basic research (Introduction; Biodegradability; Biodegradation kinetics; Biotransformation; Adhesion of bacteria; Physico-chemical parameters; Bioavailability; Soil properties); 3. Applied research on biological soil remediation methods (Introduction; Land farming techniques; Bioreactors. *In situ* bioremediation techniques); 4. Integration of basic and applied research (Introduction; Evaluation); 5. Relevance to environmental policy in The Netherlands (Introduction; Soil protection and bioremediation; Pesticide admission); 6. Conclusions and recommendations.

Volume 2, “Adaptation and selection mechanisms of natural and genetically modified soil microorganisms”, edited by H. Rogaar, J. D. van Elsas, A. D. L. Akkermans and A. H. van den Heuvel-Pieper, contains 7 studies entitled: “1. Stability, expression and dissemination

of transgenic bacteria and transgenic DNA in soil and rhizosphere”; “2. Stability, expression and spread of recombinant DNA from bacteria introduced into soil and rhizosphere. Oligonucleotides and *Bacillus thuringiensis* toxin genes”; “3. Development of reliable methods of detection of genetically engineered microorganisms (GEMs) in soil”; “4. Adaptation and selection mechanisms of natural and genetically modified organisms; introduction of genetically modified microorganisms into the environment”; “5. Field experiment with genetically modified bacteria, with reference to crop protection”; “6. Molecular mechanisms of adaptation in soil bacteria”; “7. The effect of heavy metals on selection and adaptation of soil microorganisms”.

The authors of Volume 4, A. Stein and I. G. Staritsky, deal with “Spatial variability of soil contamination and the consequences for environmental risk assessment”, outlining the chapters and subchapters entitled: 1. Introduction; 2. Spatial variability of soil contamination (Different forms of pollution; Aquatic soils; Risk evaluation; Spatial modeling, problems of scale, and uncertainty); 3. Applications to three practical case studies (Spatial variability of cyanide pollution at former galvanic factory premises in Vlijmen, case 1; Cadmium pollution in Budel and Weert, case 2; Spatial variability of nitrate leaching in central North Brabant applied to fertilizer scenario calculations, case 3; Comparison of methods for the different cases); 4. Workshop discussion (Statistics required for step-by-step environmental research and the relation to scale — mega versus micro scale; Monitoring and (geo)statistics; The use of expert systems as related to economics; Risk evaluation); 5. Conclusions.

Each volume contains a list of references and 2–6 appendices.

The investigations described in the volumes convincingly prove that development of efficient and cost-effective techniques for bioremediation of polluted soils can only be achieved by permanent co-operation between basic and applied research. The integrated soil research should be fully supported by the environmental policy makers.

STEFAN KISS

N. A. Kireeva, **Mikrobiologicheskie protsessy v neftezagryaznennykh pochvakh** (*Microbiological Processes in Oil-Polluted Soils*), Bashkirskii Gosudarstvennyi Universitet (Bashkirian State University), Ufa, 1995, 172 pages, including 58 tables, 12 figures and a list with 258 literature citations.

The book is a monographic description of the microbiological and enzymological investigations performed by Professor N. N. Kireeva (Department of Biochemistry and Biotechnology, Bashkirian State University, Ufa, Russian Federation) and her collaborators during 13 years on soils polluted with crude oil and oil products and on oil-polluted soils submitted to recultivation.

Oil pollution in Bashkiria (Bashkortostan) is a major environmental problem as the Bashkirian economy largely depends on oil extraction and processing.

The book comprises 7 chapters. Their titles (and titles of subchapters in Chapter II) are the following: I. Objects and methods of investigations; II. Effect of pollution with crude oil and oil products on the status of soil microbiota (Hydrocarbon-oxidising microorganisms; Global number and activity of soil microorganisms; Actinomycetes; Cellulose-decomposing microorganisms; Microorganisms participating in the N cycle in nature; Intensity of respiration, mineralisation of hydrocarbons); III. Communities of micromycetes in soils polluted with crude oil and oil products; IV. Soil enzyme activity as affected by oil hydrocarbons; V. Intensification of the biodestruction of oil hydrocarbons during recultivation of soils; VI. Use of hydrocarbon-oxidising microbial cultures for acceleration of biodegradation of crude oil and oil products in soil; VII. Mathematical modelling of the microbiological processes taking place in oil-polluted soil.

All soil microbiological and enzymological investigations were carried out under both field and laboratory conditions.

The great variety of technologies applied for recultivation of oil-polluted soils should especially be emphasised. Besides hydrocarbon-oxidising microbial cultures, biodegradation of crude oil and oil products was also enhanced by treating the polluted soils with mineral

(NPK) fertilisers, farmyard manure, green manure, wastewater from animal-breeding farms, activated sludge, birch sawdust, biohumus (a compost prepared from farmyard manure, sawdust and straw, inoculated with the earthworm *Eisenia foetida* and subjected to maturation for 6 months), paprin (processed biomass of *n*-alkane-oxidising *Candida* and *Rhodotorula* yeasts — a biopreparation rich in proteins and vitamins), neonol AF-14 (a nonionic surfactant). The enhanced biodegradation of hydrocarbons was accompanied by increased microbial and enzymatic potential and by improved crop-growing properties of the recultivated soils.

Professor N. A. Kireeva's valuable book presents much interest for soil microbiologists and enzymologists and also for other experts in environmental sciences and technologies.

STEFAN KISS

The Interactions between Sediments and Water, Guest-edited by R. Douglas Evans, Joe Wisniewski and Jan R. Wisniewski, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London, 1997, 739 pages, including 305 figures, 114 tables, Subject and Author Indexes.

The book comprises the Proceedings of the 7th Symposium on "The Interactions between Sediments and Water", held in Baveno, Italy from 22 to 26 September 1996, and published in Nos. 1—4 of Volume 99 of "Water, Air, and Soil Pollution".

As pointed out in Preface, "Sediments are a driving force for many elemental cycles in aquatic systems and are recognized as one of the largest sources of in-place pollutants". This explains that the investigations dealing with the interactions between sediments and water have intensified in the last period, leading to a better understanding of physical, chemical and biological (including enzymological) processes in river, lake, estuarine and coastal systems. Our knowledge of these processes is further deepened by the investigations described in this book by 210 authors from 27 countries and summarised in the introductory paper by R. D. Evans *et al.*

The other papers are grouped under the following headings: Sediment/water dynamics (18 papers); Sediment/contaminant interactions (8 papers); Role of sediments in element cycles (30 papers); Use of sediments as historical indicators (4 papers); Sediment/organism interactions (9 papers); and Studies of remote areas (3 papers).

It is hoped that the results of the investigations described in this book will guide those interested in reducing sediment toxicity levels on local, regional or global scales and assist those concerned with the development of environmental management strategies, policy and legislation.

Consequently, this excellent book is addressed to a broad circle of experts all over the world.

STEFAN KISS

I. A. Sokolov and V. D. Tonkonogov (Editors). **Problems of Anthropogenic Soil Formation**, V. V. Dokuchaev Soil Institute, Moscow, 1997, 296 pages, including 32 tables, 8 figures and 3 photos.

The volume comprises the extended abstracts of 103 papers presented at the International Conference on "Problems of Anthropogenic Soil Formation" held in Moscow on 16–21 June 1997. Of the 103 papers presented, 80 were from the Russian Federation, 20 from other countries (Austria, Bulgaria, Germany, Ireland, Kazakhstan, Norway, Slovakia, South Africa, Spain, Sudan, Ukraine, USA) and three papers were the result of Russian—German, Russian—Israeli and Russian—Ukrainian—American collaborations, respectively.

In his introductory paper, Professor W. E. H. Blum, Secretary-General of the International Soil Science Society, has distinguished three main forms of anthropogenic soil degradation, caused by traffic and transport, urban activities and industrial activities, respectively. Some agricultural activities such as irrigation, fertilisation, pesticide treatment when applied defectuously may also result in soil degradation. Overgrazing also leads to soil degradation. The tourism-related "camping effect" means, essentially, soil degradation.

Most of these forms and causes of soil degradation are thoroughly dealt

with in the papers of the Moscow Conference. Much attention is also paid to the measures for remediation of the degraded soils.

The volume as a whole reflects the fact that soil degradation, encountered in so many areas over the world, has become the subject of extensive concern, and emphasises that prevention of soil degradation and remediation of degraded soils should be priority tasks for both environmental researchers and decision makers in environmental problems.

STEFAN KISS

Radovi Devetog kongresa Jugoslovenskog društva za proučavanje zemljišta (*Papers of the Ninth Congress of the Yugoslav Society of Soil Science*), 1997, Novi Sad, XVI + 804 pages, including 263 tables and 113 figures.

This volume consists of Preface and 102 papers prepared for the Congress held in Novi Sad on 23–27 June 1997. The papers are written in Serbian language with English summaries. Headings of tables and figures as well as the legends are given in English, too.

The papers are grouped into 7 chapters. Chapter 1 comprises three general reports. In Chapter 2, 11 papers cover topics on "Hydro-physical properties and technology of soils". Chapter 3 is the largest: 34 papers deal with "Chemical properties and fertility of soils". In Chapter 4, 17 papers describe studies on "Biological properties of soils". Chapter 5 under the heading "Genesis, classification and cartography of soils" is formed of 10 papers. Chapter 6 with 18 papers is dedicated to "Drainage, irrigation and conservation of soils". The 9 papers constituting Chapter 7 are studies on "Forest soils".

The volume as a whole is a valuable contribution to better understanding the role of soil science in creating sustainable agriculture; the volume proves that sustainable agriculture is not conceivable without multidisciplinary, thorough soil investigations. Therefore, the volume is a useful source of information for experts working in different fields of soil science.

STEFAN KISS

R. Kastori (Urednik-Editor) **Teški metali u životnoj sredini** (*Heavy Metals in the Environment*), Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 1997, XVIII + 301 pages, including 57 tables and 30 figures.

The volume, edited by Professor Rudolf Kastori and published by the Research Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, is a collection of 6 review papers, each structured into Introduction, several chapters, Concluding remarks and References.

The Contents of the volume, the titles and legends to tables and figures and the Concluding remarks are given in English, too.

The first review, written by Z. B. Vukmirović, is entitled "Heavy metals in the air". Its chapters having a general character deal with the following topics: Specification of heavy metals for monitoring in the air; Origin of heavy metals in the atmosphere; Organisation of the monitoring of heavy metals in the air; Transport and deposition of heavy metals in the lower troposphere; Evaluation of the model for transport and deposition of heavy metals in the lower troposphere over Europe; Technical-technological measures for reducing emission of heavy metals into the atmosphere; Contemporary control of heavy metals in the air; Effect of the transport of sand from Sahara on the atmospheric deposition; Sampling of atmospheric deposition.

The title of the second review is "Heavy metals in waters" and its authors are P. Polić and S. Blagojević. It is divided into the chapters specified below: Origin of heavy metals in natural waters; Forms and interactions of heavy metals in aquatic environment; Atmospheric water; Interstitial water; Ground water; Lakes; Rivers; Estuaries; Seas and oceans.

The third review, by D. Bogdanović, M. Ubavić and V. Hadžić, is dedicated to "Heavy metals in soil". The chapter headings are: Geochemical origin of heavy metals in soil; Pedogenesis and translocation of heavy metals in soil; Sources of heavy metal pollutants in soil; Concentration of heavy metals in agricultural soils; Arsenic; Mercury; Nickel; Chromium; Cadmium; Lead; Copper; Zinc; Manganese; Molybdenum; Cobalt; Measures for pro-

vention of the contamination of soil by heavy metals and the legal regulation.

In the chapters of the fourth review, "Heavy metals and soil microorganisms", M. Govedarica, N. Milošević and M. Jarak deal with the following themes: Effect of heavy metals on the microbial cell; Mechanism and importance of the resistance of microorganisms to heavy metals; Effect of heavy metals on the number of microorganisms in soil; Effect of heavy metals on the biochemical activity of microorganisms in soil; Factors affecting the action of heavy metals; Use of microorganisms resistant to heavy metals.

In the fifth review, R. Kastori, M. Petrović and I. Arsenijević-Maksimović examine the relations between "Heavy metals and plants", under the following chapter headings: Uptake, distribution and accumulation of heavy metals in plants; Heavy metals and mineral nutrition of plants; Effect of heavy metals on the water regime of plants; Effect of heavy metals on photosynthesis; Heavy metals and respiration; Effect of heavy metals on the growth and development of plants; Mechanism of the tolerance of plants to heavy metals.

In the sixth review, M. Vapa and L. Vapa summarise knowledge on the relations between "Heavy metals and animals". The chapter titles are listed below: Absorption of heavy metals; Accumulation and elimination of heavy metals; Metabolic effect of heavy metals; Treatment of the animals following their poisoning with heavy metals; Effect of heavy metals on animals and humans.

The volume is a comprehensive synthesis of the original investigations performed by the authors and of those described in the world literature on the occurrence of heavy metals in the environment and on the effect of heavy metals on living organisms. The logical structure of the volume should also be emphasised. The representative character of the tables and figures selected by the authors to be reproduced in the volume should also be underlined.

The volume is a valuable source of information for experts working in different fields of environmental sciences and technologies.

STEFAN KISS

În cel de al XLIII-lea an (1998) *STUDIA UNIVERSITATIS BABES-BOLYAI* apare în următoarele serii:

matematică (trimestrial)	studii europene (semestrial)
informatică (semestrial)	business (semestrial)
fizică (semestrial)	psihologie-pedagogie (semestrial)
chimie (semestrial)	științe economice (semestrial)
geologie (semestrial)	științe juridice (semestrial)
geografie (semestrial)	istorie (trei apariții pe an)
biologie (semestrial)	filologie (trimestrial)
filosofie (semestrial)	teologie ortodoxă (semestrial)
sociologie (semestrial)	teologie catolică (anual)
politică (anual)	educație fizică (anual)
efemeride (anual)	

In the XLIII-rd year of its publication (1998) *STUDIA UNIVERSITATIS BABES-BOLYAI* is issued in the following series:

mathematics (quarterly)	European studies (semesterily)
computer science (semesterily)	business (semesterily)
physics (semesterily)	psychology - pedagogy (semesterily)
chemistry (semesterily)	economic sciences (semesterily)
geology (semesterily)	juridical sciences (semesterily)
geography (semesterily)	history (three issues per year)
biology (semesterily)	philology (quarterly)
philosophy (semesterily)	orthodox theology (semesterily)
sociology (semesterily)	catholic theology (yearly)
politics (yearly)	physical training (yearly)
ephemerides (yearly)	

Dans sa XLIII-ème année (1998) *STUDIA UNIVERSITATIS BABES-BOLYAI* paraît dans les séries suivantes:

mathématiques (trimestriellement)	études européennes (semestriellement)
informatiques (semestriellement)	affaires (semestriellement)
physique (semestriellement)	psychologie - pédagogie (semestriellement)
chimie (semestriellement)	études économiques (semestriellement)
géologie (semestriellement)	études juridiques (semestriellement)
géographie (semestriellement)	histoire (trois apparitions per année)
biologie (semestriellement)	philologie (trimestriellement)
philosophie (semestriellement)	théologie orthodoxe (semestriellement)
sociologie (semestriellement)	théologie catholique (annuellement)
politique (annuellement)	éducation physique (annuellement)
éphémérides (annuellement)	

ISSN 1221-8103