

COMITÉ DE RÉDACTION

Rédacteur en chef :

N. SĂLĂGEANU, membre de l'Académie de la République
Socialiste de Roumanie

Rédacteur en chef adjoint :

P^r I. MORARIU

Membres :

N. CEAPOIU, membre de l'Académie; P^r ST. CSÖRÖS;
GH. DIHORU; S. PÉTERFI, membre de l'Académie;
P^r M. RĂVĂRUȚ; P^r TR. ȘTEFUREAC; P^r I. T. TAR-
NAVSCHI; P^r G. ZARNEA

Secrétaires de rédaction :

GEORGETA FABIAN-GALAN; L. ATANASIU

La «Revue roumaine de Biologie — Série de Biologie végétale»
paraît deux fois par an. Toute commande de l'étranger (fascicules
ou abonnements) sera adressée à ILEXIM, Département d'exporta-
tion-importation (Presse), Boîte postale 136 — 137, télex 11 226,
Str. 13 Decembrie nr. 3, București, R. S. Românie, ou à ses repré-
sentants à l'étranger. Le prix d'un abonnement est de 12\$ par an.

Les manuscrits, les livres et les publica-
tions proposés en échange, ainsi que
toute correspondance seront envoyés à
la rédaction

REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE
SÉRIE DE BIOLOGIE VÉGÉTALE
Calea Victoriei 125, Sector 1
București, R.S. Românie, tel. 50.76.80

EDITURA ACADEMIEI
REPUBLICII SOCIALISTE ROMÂNIA
Calea Victoriei 125
R-71021—București, R.S. Românie
tel. 50.76.80

REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE

SÉRIE DE BIOLOGIE VÉGÉTALE

BIOL. INV. 93

TOME 22

1977

N° 2

Juillet—décembre

SOMMAIRE

- H. TIȚU, M. PARASCHIV and VIORICA SĂLĂGEANU, Contri-
butions to the ultrastructural study of the blue-green alga
Spirulina platensis (Nordst.) Geitl. 85
- MIHAELA PAUCĂ-COMĂNESCU, AURELIA BREZEANU and
FL. TĂCINĂ, Correlation of numerical abundance with spa-
tial distribution of some herbaceous species of mixed fir and
beech forests 91
- S. PÉTERFI, ADRIANA BARNÁ, FR. NAGY-TÓTH, M.
ȘTIRBAN und V. BERCEA, Optimierung des Nährwertes
einiger Abwässer für die Algenzüchtung 99
- N. SĂLĂGEANU et ALISA PISICĂ-DONOSE, L'influence de la
température sur la croissance des organes des plantules de blé
Bezostaia 1 et de seigle Danae 107
- I. FABIAN, MARIA GHEORGHIȘ und E. GOMOIU, Über K-,
Ca- und Mg-Aufnahme durch Maispflanzen im Zusammen-
hang mit der Frage des Kationenantagonismus und der äqui-
valenten Kationenkonstanz in den Pflanzen 111
- GEORGETA LAZĂR-KEUL, ROZALIA VINTILĂ, V. SORAN,
M. KEUL and C. CRĂCIUN, Die Oligomycin-Wirkung auf
das Wurzelwachstum, den DNS-Gehalt des Zellkerns und die
Ultrastruktur der Wurzelmeristemzellen der Gerste (*Hordeum
vulgare* L.) 119
- A. MARTON, S. PÉTERFI and C. CRĂCIUN, The culture of some
filamentous green algae under different conditions of light and
nutritive media. II. Ultrastructural peculiarities of the algae
Stichococcus bacillaris and *Gloeotila protozenita* 125

R. EV. ROUM. BIOL. — BIOL. VÉG., TOME 22, N° 2, p. 83—182, BUCAREST, 1977



13670



LUCIA POLESCU-IONĂȘESCU, Quelques processus physiologiques suivis pendant le cycle de développement d'une culture synchrone de <i>Chlorella coelastroides</i>	133
P. RAICU, MINODORA PĂTRAȘCU, G. PELLETIER et R. GORENFLOT, Variabilité du nombre chromosomique et méiose d'individus androgénétiques du <i>Nicotiana tabacum</i> L. var. «Wisconsin 38»	141
HEINRICH WAGNER, Auswirkungen menschlicher Eingriffe auf die Pflanzenwelt einschließlich Folgen der Umweltverschmutzung — unter besonderer Berücksichtigung Österreichs . .	147
AL. IONESCU, GH. ELIADE and S. CORBU, The effects of continuous pollution with fluorine on agricultural cultures and spontaneous flora	157
E. PLĂMADĂ, Neue Fundorte mit <i>Polytrichum</i> × <i>stefureacii</i> Plămadă in der Bryoflora Rumäniens	165
В. ПЕТРЯ, И. СПИРЕСКУ, Влияние пестицид Бромфос и Метаклор на некоторые физиологические процессы водоросли <i>Chlorella</i>	173
COMPTES RENDUS	179
INDEX ALPHABÉTIQUE	181

CONTRIBUTIONS TO THE ULTRASTRUCTURAL STUDY OF THE BLUE-GREEN ALGA *SPIRULINA PLATENSIS* (NORDST.) GEITL.

BY

H. TIȚU, M. PARASCHIV and VIORICA SĂLĂGEANU

The cell morphology in *Spirulina platensis* is analysed in this work, based on the electron microscopic examination of the ultrathin sections. The most abundant protoplasmic structures consist of filaments 1000 — 4000 Å long and 250 Å thick, occurring either isolated or — generally — in packets. Numerous globular particles were also noticed with a complex structure forming aggregates similar to a crystalline network. The above-mentioned structures are considered to represent a normal constituent of protoplasm in *S. platensis*, and they appear owing to an intense photosynthetic activity.

Some microscopic algae were the object of numerous studies, because of their rich content in proteic substances. In this respect a special attention was paid to blue-green alga *Spirulina platensis* whose dry biomass contains 45 — 70% proteins [10], [18]. The works concerning the mass cultivation of this alga revealed its physiological characteristics, establishing the best concentration of different macro- and microelements, the illumination conditions, temperature, a.s.o., for obtaining a large percentage of proteins [14], [16]. On the other hand there are relatively few works concerning the cytology of g. *Spirulina* species. Thus, the mesosomes [1] and raphidosomes [3] were described in *Spirulina* strain 6313; in other papers the phycobilisomes [20] and cross walls [9] ultrastructure were analysed in *Spirulina major*.

Most of the above-mentioned structures are common to all blue-green algae that were analysed from a cytological point of view. Up to now, no ultrastructural investigations were made in *Spirulina platensis*, and that is why some details in this field will be presented.

MATERIAL AND METHOD

Spirulina platensis was obtained from the Leningrad University collection of algae owing to Dr. V.V. Pinevitch kindness. The nutritive medium suggested by Zarrouk (quoted in [14]) was used for growing this blue-green alga: NaHCO_3 16.8, KHPO_4 0.5, NaHO_3 2.5, K_2SO_4 1.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, CaCl_2 0.04, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01, EDTA 0.08 g/l; microelements: 1) H_3BO_3 2.86, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.81, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22,

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.08, MO_3 0.015 g/l and 2) $\text{NH}_4\text{VO}_3 \cdot 230 \cdot 10^{-4}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ $960 \cdot 10^{-4}$, $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $478.5 \cdot 10^{-4}$, $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $179.4 \cdot 10^{-4}$, $\text{Ti}(\text{SO}_4)_3$ $400 \cdot 10^{-4}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $440 \cdot 10^{-4}$ g/l. For 1 liter nutritive medium about 1 ml of both solutions of microelements was added. The illumination was made with fluorescent lamps of 8000 lux at 30 — 35°C. Other details of the experimental procedure were mentioned in a previous paper [16].

For ultrastructural studies samples of the culture were taken in the growing active phase, when the trichomes were made up of 10 — 15 cells. After centrifugation, the samples were washed with phosphate buffer 0.1 M, after which the fixation with glutaraldehyde 4% followed, in phosphate buffer, for 2 hours at 4°C, pH 7.4. The postfixation was carried out in osmium tetroxide 1% in the same phosphate buffer, for 1 hr at room temperature. After washing with buffer and dehydration in graded acetone series, the material was embedded in Durcupan according to the standard procedure. Sections were made on a Tesla BS 490a ultramicrotome, stained in uranyl acetate and lead citrate and examined with an electron microscope JEM—7.

RESULTS

Figure 1 presents the image of a longitudinal section through a trichome of *Spirulina platensis*, whose cells are delimited by a multilayer envelope and have a protoplasm containing many organelles of different shapes and sizes; at higher magnifications of the micrographs important details of these cellular structures can be seen (Fig. 2).

The cell wall (CW) is made up of several layers: a thick, electron-dense inner layer (L_1) detached from the plasma membrane (PM); a layer having the thickness and the profile of a unit membrane (L_2); an outer layer (L_3), thinner and electron-dense, that appears in close contact with the undulating fibrillar sheet (S). Details concerning some protoplasmic structure such as ribosomes, polyhedral bodies, nucleoplasm, a.s.o., were presented on another occasion [17].

Thylakoids are quite frequent; in cross sections through cells they appear under the form of canaliculi isolated from each other and disposed radially (Figs 2,3, Th), that come into contact with the plasma membrane. Particles with a diameter of 250 Å are attached to the thylakoids' outer surfaces; they have a less clear outline, but seem to be made up of several subunits (Fig. 3, arrow). These particles represent phycobilisomes that formerly belonged to the red alga *Porphyridium creuntum* [7], and then to blue-green algae [5]. Using several fixation procedures Wildman and Bowen [20] obtained important data concerning the ultrastructure of numerous blue-green algae, *Spirulina major* included, where the phycobilisomes of two adjacent thylakoids are disposed end to end. In our paper, in *Spirulina platensis* the phycobilisomes of the external face of a thylakoid alternate with the phycobilisomes of the other face of the same thylakoid (Fig. 3, encircled zone). On the other hand, in some micrographs (Fig. 4, arrows) numerous particles appear in the interlamellar spaces, disposed in a single array between two surfaces belonging to two adjacent thylakoids, but in no contact with them.

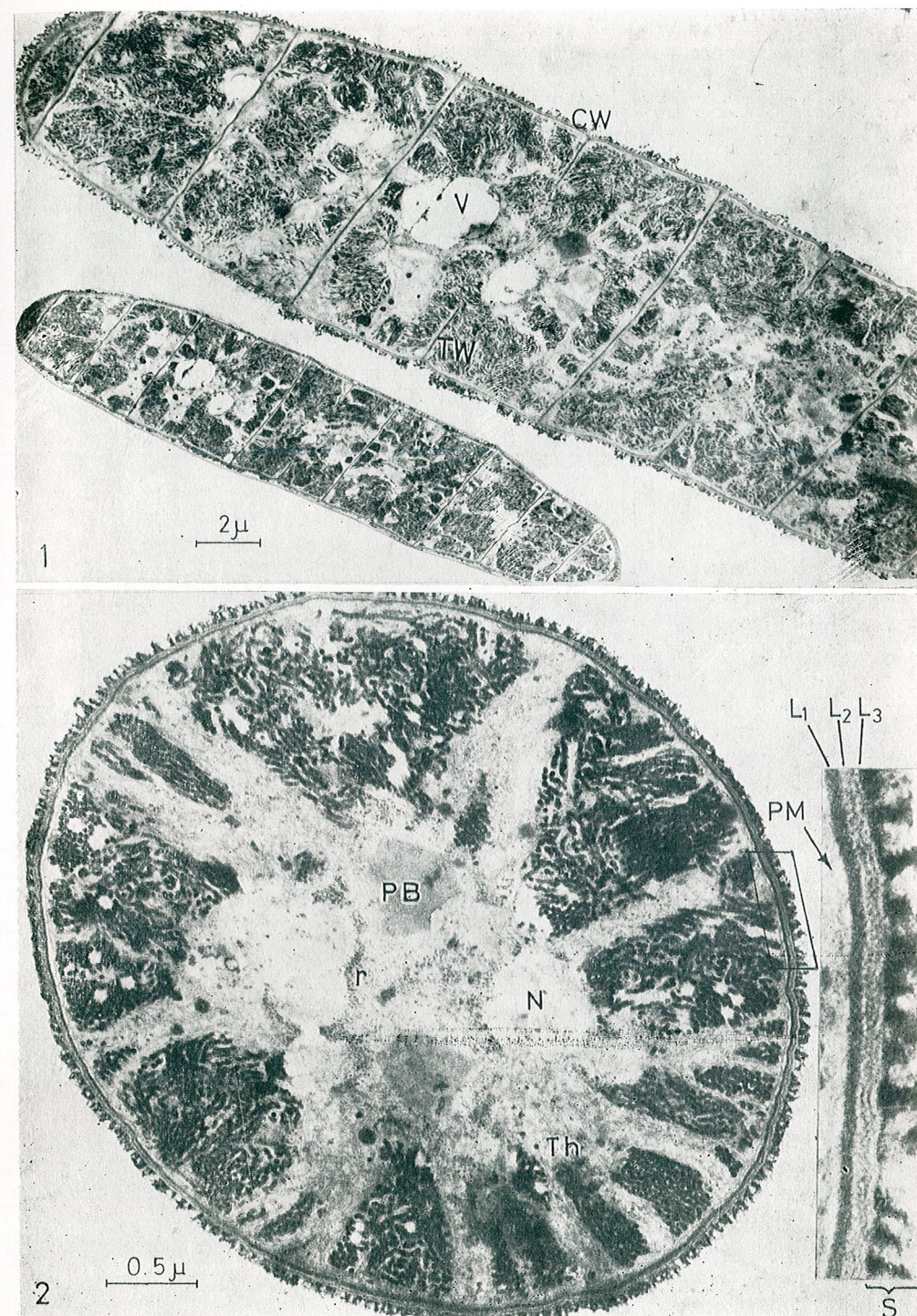


PLATE II

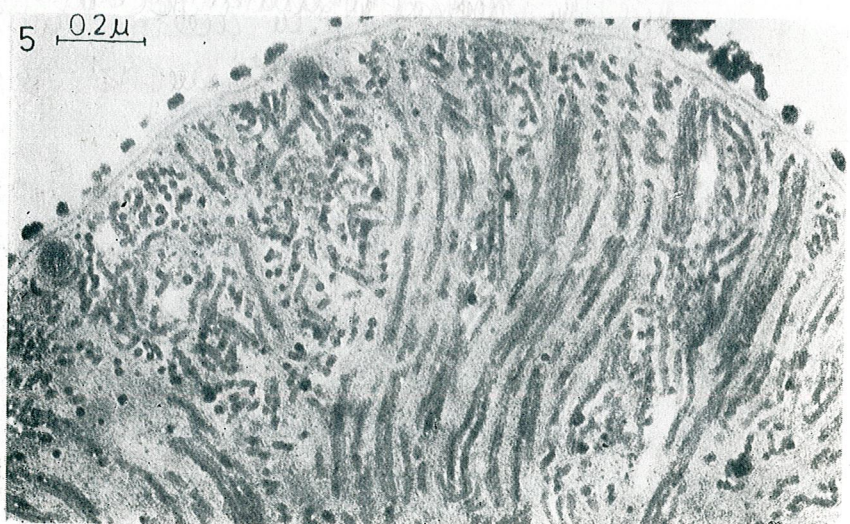
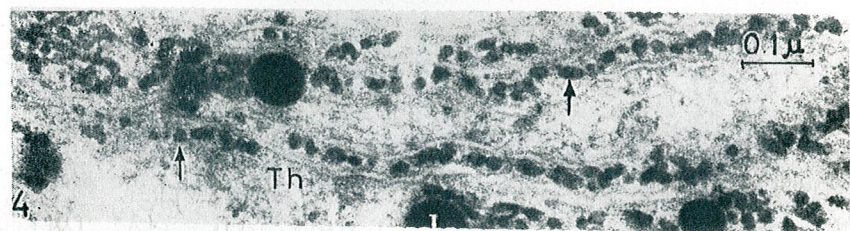
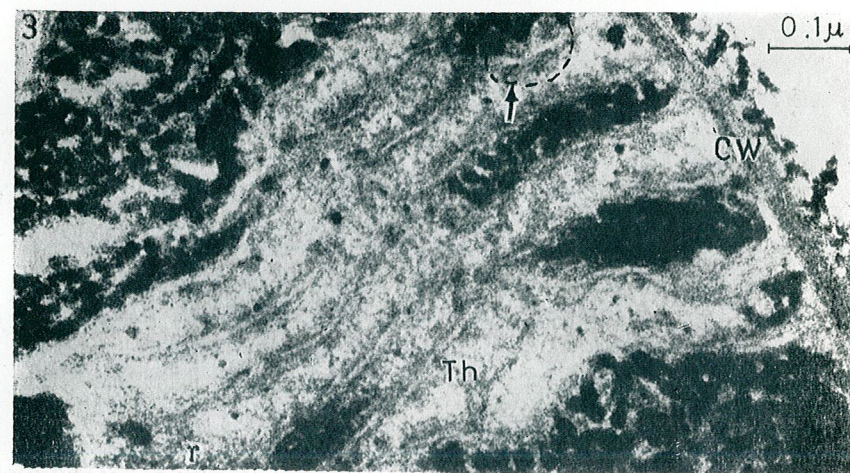
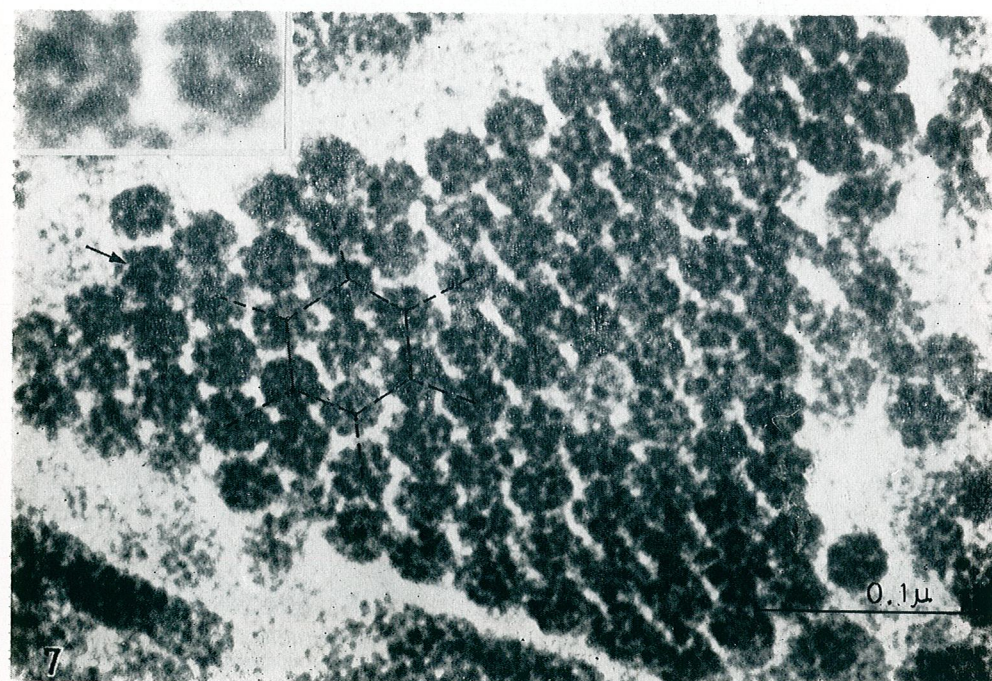
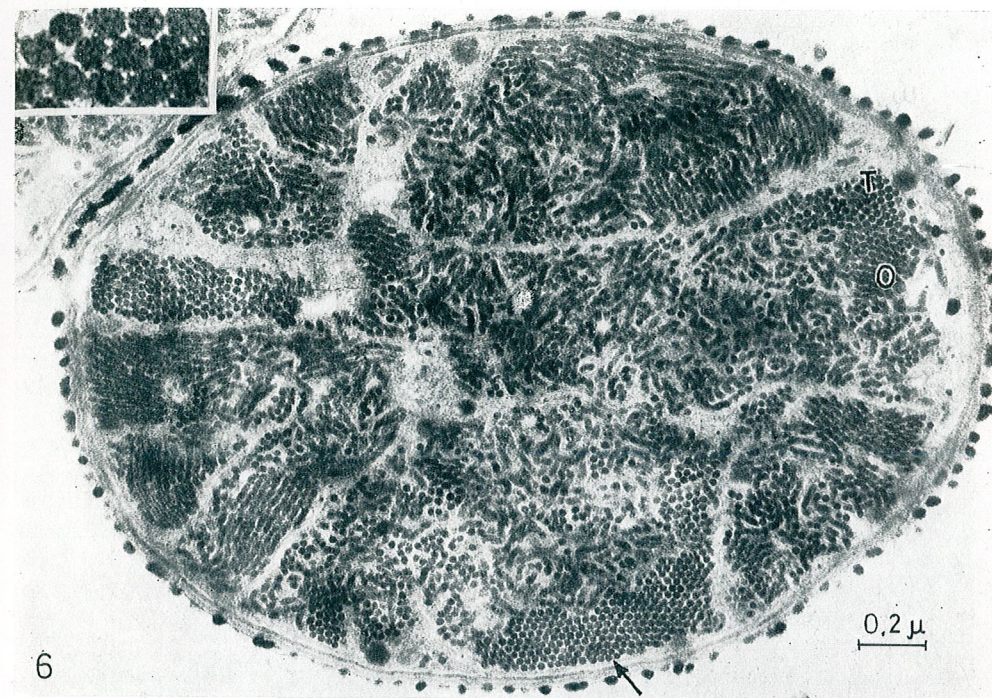
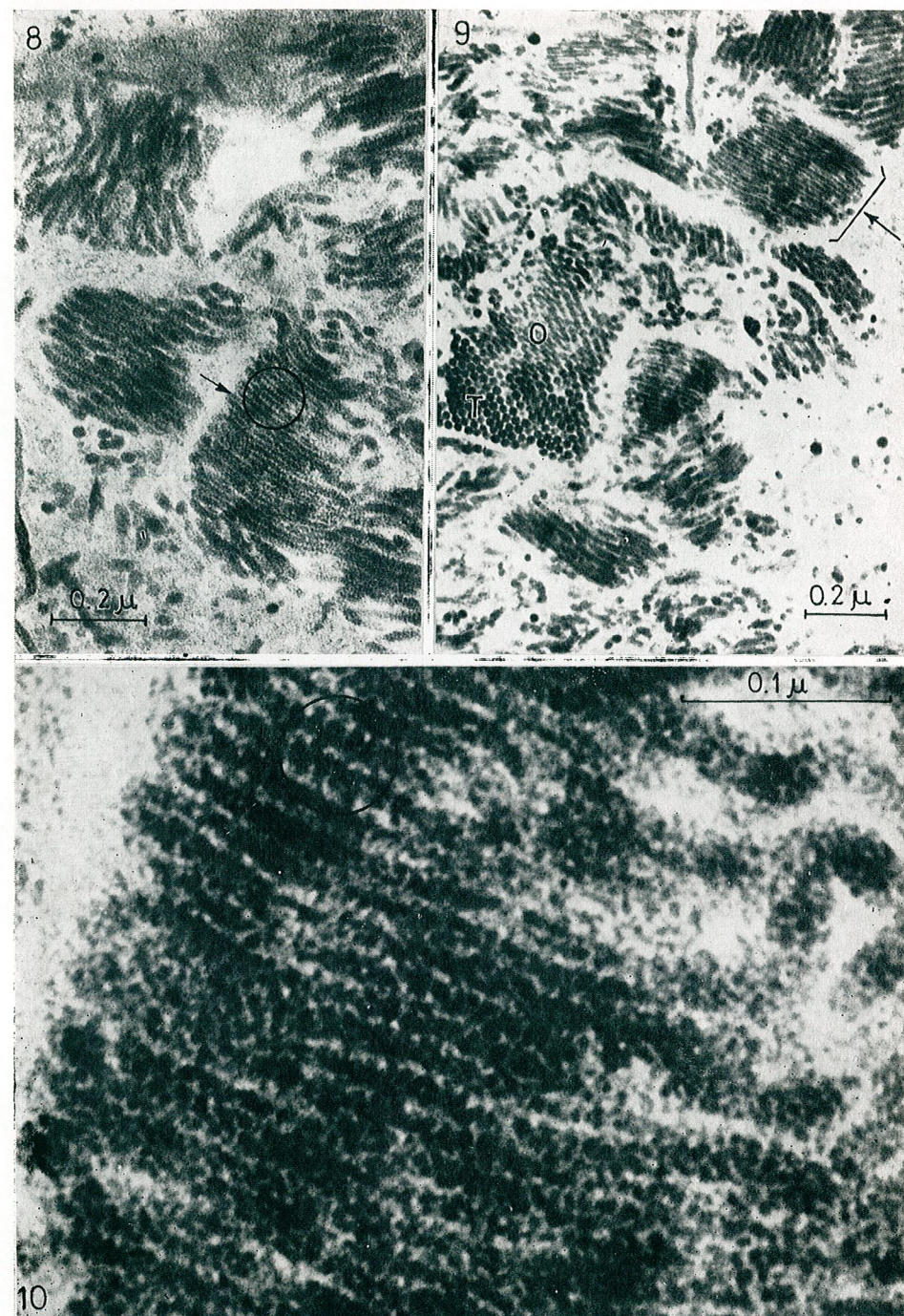


PLATE III





Plates I, II, III, IV. — Ultrastructure of blue-green alga *Spirulina platensis*: CW, cell wall; V, vacuole; TW, cross walls; PB, polyhedral bodies; N, nucleoplasm; r, ribosomes; l, lipids; Th, thylakoids; S, undulating fibrillar sheet. Insets in figs 6, 7: higher magnification of globular particles marked with arrows (see the text).

The most abundant constituents observed in the cell of *Spirulina platensis* consist of straight or flexuous filaments about 250 Å thick and 1000 — 4000 Å long, either isolated or grouped in packets. Figure 5 presents a cross section through the cell, where isolated filaments with the same orientation as the photosynthetic lamellae are pointed out. On the same figure one can see numerous globular particles that probably resulted from the filaments fragmentation or are the image of cross sections through these latter.

In our work we met many cases where the filamentous structures covered more than 75% of the cellular content and generally appeared grouped into aggregates with a high level of organization, similar to a crystalline granule (Fig. 6, zone indicated by the arrow). We consider that such images appear as a consequence of the cross sectioning of the above-mentioned filaments, a conclusion that can be derived especially from the fact that in one and the same aggregate (Figs 6, 9) some filaments were sectioned transversally (T) and others obliquely (O). At the same time, it does not seem unlikely that these images similar to a crystalline network should actually represent a section through a crystalline granule made up exclusively of globular elements. This conclusion results from figure 7 where the globular particles are grouped into regular hexagons made up of 7 such particles: one of them is central and 6 marginal. In its turn each globular particle (Fig. 7, arrow) is made up of numerous subunits but in some cases the hexameric structure is easy to notice (Figs 6, 7, insets). Our morphological data do not explain how are the subunits disposed in order to form filaments of different sizes. However, in some samples we met situations where all the filaments that formed one and the same aggregate appeared longitudinally splitted on wide zones (Figs 8, 9, arrows). At a higher magnification one can clearly distinguish the granular structure of the elements that probably resulted from the fission of each filament (Fig. 10). At the same time, some of these aggregates (Fig. 9, arrow) look like isolated grana made up of closely stacked membranes.

DISCUSSIONS

Of the present study it results that the protoplasm of *Spirulina platensis* contains numerous organelles of a filamentous shape, that are frequent in the whole analysed material. Round particles with a complex structure were also noticed. The literature data prove the presence of some particles, called α-granules, in the space between the photosynthetic lamellae in *Symploca muscorum* [13], *Phormidium uncinatum* [12] and in other blue-green algae [15]. But the similarity of the α-granules with the images in our material is only superficial, as the globular particles in *Spirulina platensis* have a clear shape and are made up of numerous subunits; besides, most of these structures appear as a consequence of the filamentous aggregate cross sectioning, as described above. At the same time the aggregates of particles occurring as a crystalline network do not present structural similitudes with the glycogen granules previously noticed either in ultrasections of some blue-green algae [8], [11], [20], or in the samples

obtained by differential centrifugation during the phycobiliproteins purification in *Synechococcus* sp. [6]. However, it will be necessary to analyse in a further work the results obtained after the treatment with diastase of *Spirulina platensis* ultrasections, as it was noticed that in some section planes the glycogen granules diameter is, in other algae, similar to that of phycobilisomes [21]. On the other hand, in spite of the similitude between some particle aggregates and a virus crystal (Fig. 7), we never noticed the phenomenon of cellular lysis. Ueda [19] described structures similar to viruses in the *Oscillatoria princeps* cells and stated that such crystalline granules did not represent an obligatory constituent of the cell, but up to now no experimental papers confirmed the existence of viral crystals in this alga.

The literature data concerning the rich content in proteins of the alga *Spirulina platensis* allow us to make some speculations regarding the role of different organelles in the metabolism of blue-green algae. In this respect, we do not exclude the possibility that the filamentous aggregates and globular particles should represent phycobiliproteins as well as other compounds rich in proteins (probably glycoproteins) that are synthesized during photosynthesis. Of the present work it also results that the globular particles of about 250 Å have a complex structure, being made in some cases of six subunits grouped like a rosette round the seventh subunit. These data, obtained after the analysis of ultrasections, are somehow similar to the results presented by Berns and Edwards [2] concerning the ultrastructure of C-phycocyanin particles having a round shape, with a central hole and six globular subunits; each C-phycocyanin particle has a diameter of 130 Å, about twice smaller as compared to the globular structures observed in *Spirulina platensis*.

Some considerations can also be made in connection with the structured aspect of the filaments in the *Spirulina platensis* cells as it results from the analyses of cross sections of these constituents. As regards this latter detail we consider necessary to refer to a recent study concerning the assembly forms of C-phycocyanin in some blue algae. Thus, from Eiserling and Glazer's work [6] it results that the predominant structures of fresh samples of phycobiliproteins in *Synechococcus* sp. obtained by differential centrifugation, at 4°C, consist of 120 Å discs, that are considered a major component of C-phycocyanin, as well as of short rods resulted from the joining, in a specific manner, of several paired discs; when such C-phycocyanin samples are left at room temperature (under strictly controlled conditions) for 24 — 72 hours, aggregates appear having the form of filamentous structures along which a strict periodicity of the paired discs is noticed.

Our researches do not allow us to bring data concerning the formation mode of filaments in the protoplasm of *Spirulina platensis*. Some micrographs (Figs 8, 9, arrows) seem to indicate that the 250 Å-thick filaments are obtained by juxtaposition of two thinner filaments, but at higher magnifications (Fig. 10, encircled zone) the granular structure of two such adjacent elements is similar to the phycobilisome arrays with an interdigitate aspect in the blue-green alga *Microcoleus vaginatus* [20]. Further cytochemical and biochemical investigations are necessary in

order to obtain new data concerning the filamentous and globular structures described in this work.

Acknowledgements. The authors wish to thank Professor I. T. Tarnavski for discussion and valuable advice.

REFERENCES

1. ALLEN M. M., Arch. Mikrobiol., 1972, **84**, 199—206.
2. BERNIS, D. S., EDWARDS M. R., Arch. Biochem. Biophys., 1965, **110**, 511—516.
3. CHANG H. Y. Y., ALLEN M. M., J. gen. Microbiol., 1974, **18**, 121—130.
4. CHAO L., BOWEN C. C., J. Bacteriol., 1971, **105**, 331—338.
5. EDWARDS M. R., GANTT E., J. Cell Biol., 1971, **50**, 896—900.
6. EISERLING F. A., GLAZER A. N., J. Ultrastruct. Res., 1974, **47**, 16—25.
7. GANTT E., CONTI S. F., J. Cell Biol., 1966, **29**, 423—434.
8. GIESY R. M., Amer. J. Bot., 1964, **51**, 388.
9. HOLMGREN P. R., HOLSTETTER H. P., SCHOLES V. E., J. Phycol., 1971, **7**, 309—311.
10. LÉONARD J., COMPÈRE P., Bull. Jard. Bot. Nat. Belg., 1967, **37**, Suppl.
11. MANGINI E., Caryologia, 1967, **20**, 41—49.
12. NIKLOWITZ W., DREWS G., Gom. Arch. Mikrobiol., 1956, **24**, 134—146.
13. PANKRATZ H. S., BOWEN C. C., Amer. J. Bot., 1963, **50**, 387—399.
14. PINEVITCH V. V., VERZILIN N. N., MIKHAILOV A. A., Plant Physiol. (Moscow), 1970, **17**, 1037—1045.
15. RIS H., SINGH R. N., J. Biophys. Biochem. Cytol., 1961, **9**, 63—80.
16. SĂLĂGEANU V., Contribuții la obținerea de substanțe proteice din frunze și cu ajutorul algelor. Thesis, Institute of Biological Sciences, 1975, Bucharest.
17. TIȚU H., PARASCHIV M., SĂLĂGEANU V., A II-a Conferință Națională de Biologie Celulară, 1976, București.
18. TOMASELLI L., PELOSI E., MATERASSI R., FLOUNZANO G., XV Congresso Nazionale di Microbiologia, 1969, Torino — Saint Vincent.
19. UEDA K., Exp. Cell Res., 1965, **40**, 671.
20. WILDMAN R. B., BOWEN C. C., J. Bacteriol., 1974, **117**, 886—881.
21. WOLK C. P., Bacteriol. Rev., 1973, **37**, 32.

Received December 1, 1976

The Institute of Biological Sciences
Department of Cell Biology
Bucharest, Spl. Independenței 296

CORRELATION OF NUMERICAL ABUNDANCE WITH SPATIAL DISTRIBUTION OF SOME HERBACEOUS SPECIES OF MIXED FIR AND BEECH FORESTS

BY

MIHAELA PAUCĂ-COMĂNESCU, AURELIA BREZEANU and FL. TĂCINĂ

The relationship between two structural elements of the species making up the herbaceous layer of the mixed fir and beech forest abundance, respectively density and frequency, is presented. In most species the relationship has a linear correlation. Frequency is considerably influenced by spatial distribution. Most species are distributed into aggregates belonging to the negative binomial theoretical distribution at a high confidence limit (95 — 99%) and only two are randomly distributed (Poisson distribution).

Mixed fir and beech forests cover wide areas in the Romanian mountain zone, their phytocenological study being undertaken fairly minutely by numerous authors [3], [4]; associations of various mountain massifs are identified, and their ecology and structural elements are qualitatively analysed. Some quantitative aspects of the structural elements remain less investigated; we refer in the first place to abundance and frequency, indispensable elements for the characterization of plant associations, though their current assessment is made by various scale systems with international value but liable to subjectivity. The importance of spatial relationships of herbaceous forest plants is rendered evident by the investigations of several authors [1], [2], [12]. If the study of trees is often quantitatively effected as a requirement of silviculture and forestry operation, the grass layer is, in this respect, less taken into consideration.

As we consider this problem an open field in our country, we undertook certain observations and measurements of the main herbaceous species of the mixed forests (*Pulmonario(rubro)Abieti-Fagetum* Knapp, 1942, Soó, 1962 assoc.) in the Bucegi mountains, at the foot of Piatra Arsă and on Platoul Izvor. Under the coenotic aspect the areas are homogeneous.

The edifying species in the tree belt are to be found in a close proportion in both stations.

The differentiation of stations is given by soil trophicity, degree of lighting through crowning, production of herbaceous layer.

RESEARCH METHOD

In the research surfaces, plots of 1 ha each, as homogeneous as possible, were chosen and were divided into 100 squares with 10-m sides. In each large square, at the opposite ends, two small ones with 0.5-m sides

were fixed. In all the 200 squares the fern and angiosperm species were inventoried.

Frequency was computed according to the number of occurrences in series of 20 squares each, while density by summing up the individuals on the surface of the 20 squares in view of the identification of their relationship.

For the identification of distribution patterns, the species frequency and density on the entire surface were taken into consideration.

Correlation was computed by Lamotte's formula, $r = \frac{\bar{xy} - \bar{x}\bar{y}}{s_x \cdot s_y}$,

in which x, y represent value rows, $\bar{x}, \bar{y}$ = average value, s_x, s_y = standard deviation.

Spatial distribution analysis was made in accordance with the empiric variance/empiric average relationship (David and Moore's aggregation index, quoted by [9]) for the 200 replicates and confirmed by the empiric frequency calculus as against the theoretical ones by the χ^2 test.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The facility of frequency measurement as against abundance or more exactly as against density caused many attempts to find their mutual relationship. Generally in a phytocenosis, in species with high density, a high frequency likewise occurs. As soon as this statement is checked by calculation, it is found that frequency is not entirely dependent on density. The species chosen by us as demonstrative material and presented in table 1 indicate this situation. It is found that the existence of a linear correlation is, as a rule, not ensured in all the species and in all the stations. The species occurring with great abundance (*Oxalis acetosella*, *Galium odoratum* or *Lamium galeobdolon*) have a high correlation coefficient, while other species, with a less wide distribution and a smaller coefficient, may appear either slightly correlated or uncorrelated, like *Myosotis sylvatica* and *Viola reichenbachiana*. A slight correlation also exists in species with great density, particularly in the vernal ones, as observed in *Anemone nemorosa* and *Cardamine glanduligera*, or in plants with one of the numeric maxima occurring in spring — *Carex sylvatica*.

The best correlation is evidenced in both stations in fern species.

Stational differences influence the correlation relationship of density with frequency to a various extent. In *Salvia glutinosa* and *Geranium robertianum*, the relationship changes in both stations from correlation into lack of correlation (Table 1), probably as a result of the spatial distribution; this fact is evident in the case of *Geranium robertianum*, in which, at the Piatra Arsă station, the reduced density in most squares appears as a supplementary cause. Smaller variations of the correlation coefficient between stations, in species of wide distribution, are also due to spatial distribution.

A worth noticing value constancy of this relationship is met in *Circaea lutetiana*, *Dryopteris filix-mas* and *Athyrium filix-femina*, as for these the stational conditions are constant.

Table 1

Density and frequency rate in the researched species

No.	Species	Station	Density ha	Frequ- ency %	Correl. coeff. r	n	Correlation significance
1	<i>Anemone nemorosa</i>	P. Arsă	13,200	7	0.571	4	insignific.
		Pl. Izvor	60,800	38	0.690	10	significant
2	<i>Cardamine glanduligera</i>	P. Arsă	300,000	77	0.676	10	significant
		Pl. Izvor	185,000	62	0.524	10	insignific.
3	<i>Isopyrum thalictroides</i>	P. Arsă	110,200	35	0.893	9	dist. signif.
		Pl. Izvor	34,600	13	0.585	9	insignific.
4	<i>Cardamine bulbifera</i>	P. Arsă	3,400	2	—	2	—
		Pl. Izvor	88,800	48	0.924	10	dist. signif.
5	<i>Pulmonaria rubra</i>	P. Arsă	14,800	13	0.684	9	significant
		Pl. Izvor	45,400	28	0.852	10	dist. signif.
6	<i>Mercurialis perennis</i>	P. Arsă	54,200	36	0.877	10	dist. signif.
		Pl. Izvor	63,400	33	0.910	10	dist. signif.
7	<i>Galium odoratum</i>	P. Arsă	51,800	36	0.967	10	dist. signif.
		Pl. Izvor	259,800	72	0.774	10	dist. signif.
8	<i>Oxalis acetosella</i>	P. Arsă	1,452,800	81	0.845	10	dist. signif.
		Pl. Izvor	1,707,000	75	0.763	10	dist. signif.
9	<i>Lamium galeobdolon</i>	P. Arsă	214,600	74	0.912	10	dist. signif.
		Pl. Izvor	81,800	25	0.971	9	dist. signif.
10	<i>Geranium robertianum</i>	P. Arsă	15,800	21	0.345	7	insignific.
		Pl. Izvor	68,000	60	0.800	10	dist. signif.
11	<i>Impatiens nolitangere</i>	P. Arsă	90,000	36	0.512	10	insignific.
		Pl. Izvor	78,600	33	0.597	9	insignific.
12	<i>Circaea lutetiana</i>	P. Arsă	9,800	12	0.910	10	dist. signif.
		Pl. Izvor	22,400	19	0.908	9	dist. signif.
13	<i>Viola reichenbachiana</i>	P. Arsă	3,800	6	0.479	6	insignific.
		Pl. Izvor	47,400	48	0.494	10	insignific.
14	<i>Salvia glutinosa</i>	P. Arsă	5,600	4	0.569	7	insignific.
		Pl. Izvor	16,400	15	0.964	10	dist. signif.
15	<i>Myosotis sylvatica</i>	P. Arsă	6,600	4	0.483	5	insignific.
		Pl. Izvor	5,000	4	0.633	6	insignific.
16	<i>Mycelis muralis</i>	P. Arsă	2,400	6	0.992	5	dist. signif.
		Pl. Izvor	12,400	25	0.996	10	dist. signif.
17	<i>Carex sylvatica</i>	P. Arsă	—	—	—	—	—
		Pl. Izvor	83,400	23	0.562	7	insignific.
18	<i>Luzula luzuloides</i>	P. Arsă	—	—	—	—	—
		Pl. Izvor	9,600	5	0.838	5	significant
19	<i>Athyrium filix-femina</i>	P. Arsă	4,000	10	0.990	7	dist. signif.
		Pl. Izvor	2,200	6	0.990	8	dist. signif.
20	<i>Dryopteris filix-mas</i>	P. Arsă	2,000	5	0.990	7	dist. signif.
		Pl. Izvor	600	2	—	—	—

Some authors consider that the relationships between density and frequency are not linear, but logarithmic, of the type $m = -\log_e \left(1 - \frac{F}{100}\right)$

[9]. In table 1 at least 9 cases are presented in which correlation is linear and statistically ensured; it is however possible that the other species which appeared with uncorrelated density and frequency should comply with the above-mentioned relation.

The obtention by computation of the density according to frequency measurements, a method which would greatly spare time and effort, is possible, according to the same authors, only in the case of random dis-

tributions. We endorse these views, as in the case of aggregate distributions supplementary and toilsome calculations would be necessary. Likewise, in order to be able to identify the spatial characteristic feature of distribution, the number and size of samples should be considerably increased.

The knowledge of this relationship has a much greater importance in the study of the multiannual dynamics of the populations of the investigated associations. In this situation regression equations of right lines can be computed, which maintain their validity also in subsequent periods.

The main cause of the small practical use of the density-frequency relationship is the great variability of the distribution of each population. Distribution is modified, on the one hand, by environment microconditions, and that is why it may vary from one station to another, and on the other hand it is influenced by interval factors of the species [2], principally by the mode of multiplication, and in the second place by allelopathic phenomena [1].

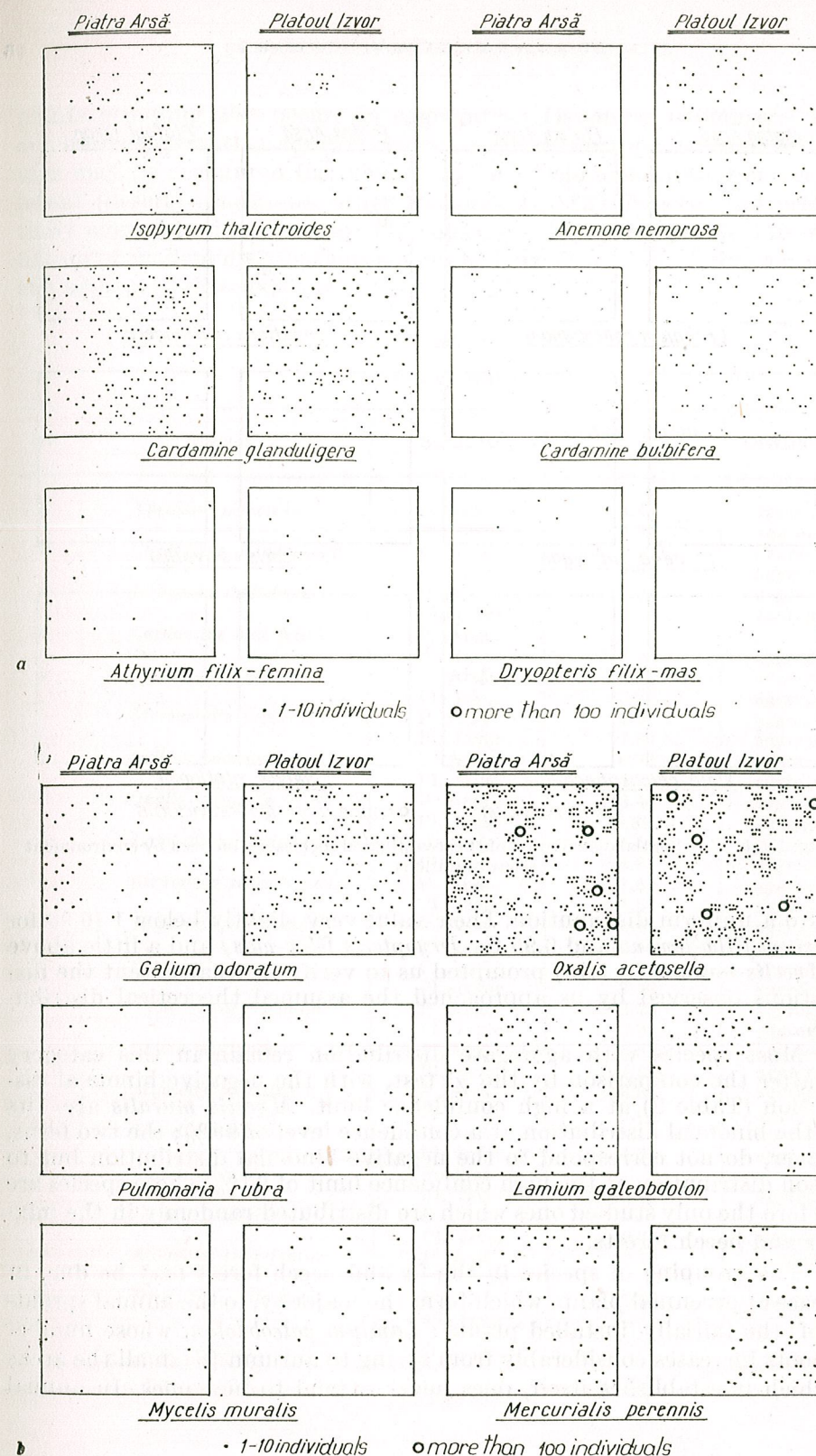
In the investigated stations, the spatial distribution determined by environment conditions is illustrated by figure 1 a, b, c. Generally, the species are represented in about the same proportion in both stations, with the exception of *Anemone nemorosa*, *Cardamine bulbifera* and *Viola reichenbachiana*, which are well represented only in one of the stations, and of a Juncaceae and a Cyperaceae species — *Luzula luzuloides* and *Carex sylvatica* — which are altogether absent at the Piatra Arsă station.

While certain species occurring with great abundance (*Oxalis acetosella*, *Galium odoratum*) or with a smaller one (*Geranium robertianum*) cover, with a few exceptions, uniformly the entire surface, other species (the majority) completely avoid certain zones. Highly illustrative for this case are the graphs of *Lamium galeobdolon*, at Platoul Izvor, *Mycelis muralis* at Piatra Arsă or *Myosotis sylvatica* (Fig. 1 b).

This distributional aspect raises difficulties for frequency measurement, because the fixing of test squares must take place on a much larger surface and with a fairly precise regularity (*Circaea lutetiana* or *Mycelis muralis*); it is true that in species which cover the entire surface, such as *Oxalis acetosella*, this drawback disappears.

Spatial distribution considered under the aspect of grouping plants of the same population, though it may be influenced by the uniformity of environment, is tributary, in the first place, to the population organization level. It is known that casual, random distribution is rarer and plants of the same species are currently grouped into aggregates or are distributed so uniformly that the mutual influence of individuals becomes possible. By using David and Moore's aggregation index, we consider that the species investigated by us fit into distributions of the aggregate and regular type (Table 2). Aggregate distribution is considered according to

the value of the $\frac{s^2}{\bar{x}}$ relationship greater than 1 and is most often met in 18 of 20 species investigated by us. If the value of the relationship is smaller than 1, distribution is regular, but when equal to 1, distribution is random. As the two fern species have the aggregation index below 1 they



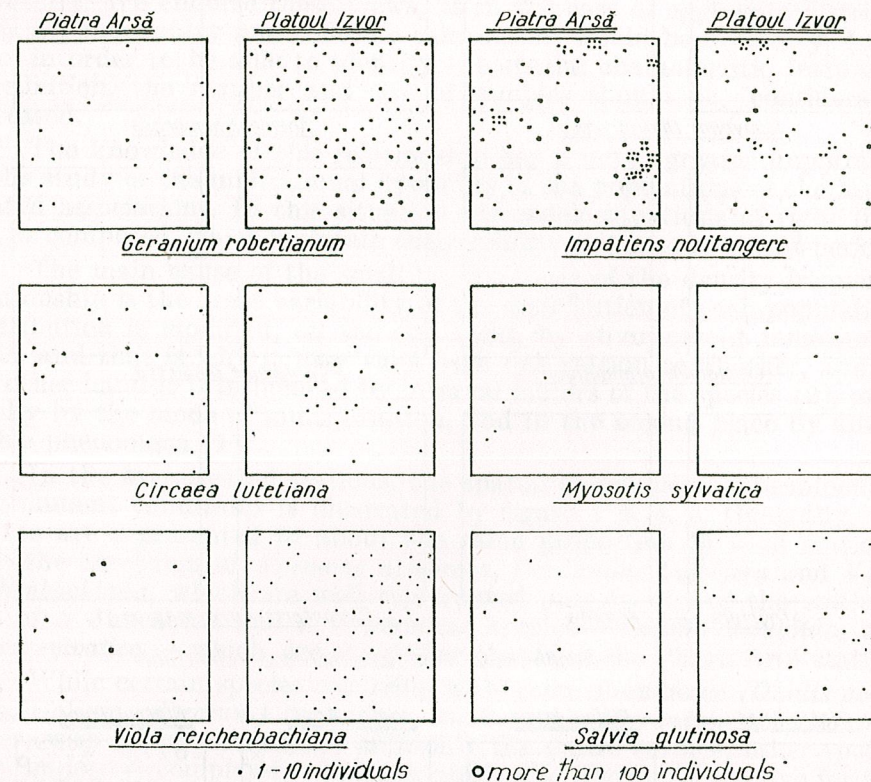


Fig. 1 a, b, c. — Spatial distribution of the investigated species, influenced by environment microconditions.

fit into a uniform distribution. Their value very slightly below 1 (0.90 for *Athyrium filix-femina* and 0.95 for *Dryopteris filix-mas*) and a little above 1 (*Mycelis muralis* — 1.15) prompted us to verify to what extent the distributions observed by us approached the assumed theoretical distributions.

Most species with aggregate distribution remain in this category also after the comparison by the χ^2 test, with the negative binomial distribution (Table 2) at a high confidence limit. *Mycelis muralis* also fits into the binomial distribution at a confidence level of 99%; the two ferns, however, do not correspond to the negative binomial distribution but to Poisson distribution at the high confidence limit of 95%. These species are therefore the only studied ones which are distributed randomly in the mixed fir and beech forests.

The grouping of species in the fir and beech forest may be due, in the case of perennial plants which form the majority, to the annual sprouting of the initially installed plants: *Lamium galeobdolon*, whose number of shoots increases considerably from spring to autumn [6] in all the areas in which it establishes itself, does never extend to new ones. In annual

plants grouping also occurs in aggregates: *Impatiens nolitangere* throws out its seeds to rather small distances, so that the appearance of real colonies may be accounted for. Under similar (deciduous forests) or very different (desert) conditions, other authors [2], [12] likewise find preferentially aggregate distributions. We consider that in this problem an explanation of random distributions should be looked for, considering as current the aggregate distributions.

Table 2
Species distribution

No.	Species	Stations	Aggregation index	Distributions
1	<i>Anemone nemorosa</i>	P. Arsă	2.43	aggregate *
		Pl. Izvor	4.97	aggregate *
2	<i>Cardamine glanduligera</i>	P. Arsă	7.37	aggregate *
		Pl. Izvor	8.94	aggregate *
3	<i>Isopyrum thalictroides</i>	P. Arsă	12.08	aggregate **
		Pl. Izvor	7.32	aggregate
4	<i>Cardamine bulbifera</i>	P. Arsă	—	—
		Pl. Izvor	7.53	aggregate *
5	<i>Pulmonaria rubra</i>	P. Arsă	5.57	aggregate *
		Pl. Izvor	5.77	aggregate *
6	<i>Mercurialis perennis</i>	P. Arsă	5.91	aggregate *
		Pl. Izvor	7.83	aggregate *
7	<i>Galium odoratum</i>	P. Arsă	6.22	aggregate *
		Pl. Izvor	8.42	aggregate *
8	<i>Oxalis acetosella</i>	P. Arsă	43.44	aggregate *
		Pl. Izvor	49.86	aggregate *
9	<i>Lamium galeobdolon</i>	P. Arsă	5.54	aggregate *
		Pl. Izvor	4.87	aggregate *
10	<i>Geranium robertianum</i>	P. Arsă	1.67	aggregate *
		Pl. Izvor	4.54	aggregate *
11	<i>Impatiens nolitangere</i>	P. Arsă	30.41	aggregate *
		Pl. Izvor	17.53	aggregate *
12	<i>Circaea lutetiana</i>	P. Arsă	3.25	aggregate *
		Pl. Izvor	7.38	aggregate *
13	<i>Viola reichenbachiana</i>	P. Arsă	3.28	aggregate *
		Pl. Izvor	3.21	aggregate *
14	<i>Salvia glutinosa</i>	P. Arsă	6.32	aggregate *
		Pl. Izvor	4.82	aggregate *
15	<i>Myosotis sylvatica</i>	P. Arsă	6.94	aggregate *
		Pl. Izvor	8.08	aggregate *
16	<i>Mycelis muralis</i>	P. Arsă	1.15	aggregate *
		Pl. Izvor	1.34	aggregate *
17	<i>Carex sylvatica</i>	P. Arsă	—	—
		Pl. Izvor	15.39	aggregate *
18	<i>Luzula luzuloides</i>	P. Arsă	—	—
		Pl. Izvor	8.75	aggregate *
19	<i>Athyrium filix-femina</i>	P. Arsă	0.90	random *
		Pl. Izvor	—	—
20	<i>Dryopteris filix-mas</i>	P. Arsă	0.95	random *
		Pl. Izvor	—	—

* Confidence 99%.

** Confidence 95%.

CONCLUSIONS

1. Certain herbaceous species of the mixed fir and beech forest present a high correlation coefficient between density and frequency, particularly in the estival ones occurring with great abundance (*Oxalis acetosella*, *Galium odoratum*), while in other species — especially the vernal, abundant ones — linear correlation is slight or lacks entirely (*Viola reichenbachiana*).

2. Spatial distribution determined by stational conditions groups the species into two categories: spread on the entire investigated surface, as for instance *Oxalis acetosella* and *Cardamine glanduligera*, and with preferential spreading within zones with certain microconditions, for instance *Mycelis muralis* and *Miosotis sylvatica*.

3. Spatial distribution of the investigated herbaceous population is of a negative binomial type, in aggregates, for most species and random, of the Poisson type, only for *Dryopteris filix-mas* and *Athyrium filix-femina*.

REFERENCES

1. BARBOUR M. G., Ecology, 1969, **50**, 4, 679—686.
2. BEALS W. E., Ecology, 1968, **49**, 4, 744—746.
3. BELDIE AL., *Flora și vegetația Munților Bucegi*. Ed. Academiei, Bucharest, 1967.
4. BORZA AL., *Flora și vegetația Văii Sebeșului*. Ed. Academiei, Bucharest, 1959.
5. BORZA AL., BOȘCAIU N., *Introducere în studiul covorului vegetal*. Ed. Academiei, Bucharest, 1965.
6. BREZEANU AURELIA, PAUCA-COMANESCU MIHAELA, BUICULESCU ILEANA, Rev. roum. Biol. — Bot., 1972, **17**, 5, 313—326.
7. CEAPOIU N., *Metode statistice aplicate în experimentele agricole și biologice*. Ed. agro-silvică Bucharest, 1968.
8. EBERHARDT L. L., Ecology, 1970, **51**, 2, 306—311.
9. GREIG SMITH P., *Quantitative Plant Ecology*. Butterworths, London, 1964.
10. MACARTHUR R., CONNELL J. H., *Biologia populațiilor*. Ed. științifică, Bucharest, 1970.
11. PIELOU C. E., J. Ecol., 1960, **48**, 3, 575—585.
12. SMITH E. B., COTTAM G., Ecology, 1967, **48**, 4, 546—558.

Received October 7, 1976

Institute of Biological Sciences
Spl. Independenței 296, Bucharest

OPTIMIERUNG DES NÄHRWERTES EINIGER ABWÄSSER FÜR DIE ALGENZÜCHTUNG

VON

S. PÉTERFI, ADRIANA BARNA, FR. NAGY-TÓTH, M. ȘTIRBAN und V. BERCEA

Untersucht wurden die Veränderungen im Wachstum und in der Zusammensetzung der Algenkulturen von *Scenedesmus acutiformis* in veränderter Tamiya-Lösung bzw. in Knop-Pringsheim-Feldödy-Lösung (Kontrollen) und in einigen durch die Kombination von Thermalwasser, Abwässern einer Thermozone, einer Bierbrauerei, einer Zuckerfabrik und von Mineralwasser hergestellten Kulturmedien. Die Stickstoffquelle im Medium wurde durch Zugabe von Harnstoff, KNO_3 und $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ gesichert.

In diesen Medien zeigt *Scenedesmus acutus* gegenüber *Sc. acutiformis* besseres Wachstum und mehr Biomasse und Proteingehalt, ein Beweis für die Selektivität der beiden Algen gegenüber den gebotenen Nährstoffen, sowie für die Tatsache, daß die Produktivität der Algen durch die Nützung (bzw. Wiederbenützung) der Stickstoffquellen der Umwelt gesteigert werden kann.

Die durch die Vermischung von Abwässern einer Zuckerfabrik und einer Thermozone, bzw. Thermalwasser mit Zugabe von $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ hergestellten Lösungen förderten in den ersten 4—5 Tagen das Algenwachstum im Vergleich zur Kontrolle, wonach sich der Wachstumsrhythmus umkehrte. Damit erweist sich diese Mischung als geeignete Nährlösung für kurze Kulturetappen, die besonders bei Dauerkulturen zu empfehlen sind.

Die Zusammenwirkung natürlicher und künstlicher Umweltfaktoren bedingt bei den Algen innerhalb des Bereiches der genetischen Möglichkeiten die Richtung und die Intensität der Stoffwechselvorgänge (das Gleichgewicht der Synthesen) die sich in ihrer Gegenwart abspielen. In rein künstlichen Medien ist es schwieriger eine vollständige Zusammenwirkung der Faktoren zu erzielen, als in Medien denen natürliche Substanzen zugefügt wurden.

Die Forschungen der letzten Jahren zeigen, daß für viele Algen, die durch Mischung von verschiedenen Abfällen, bzw. Abwässern erhaltenen Lösungen unter Zugabe von wichtigen Nutzelementen, eine entsprechende Versorgung sichern. Die bei verschiedenen Organisationsstufen durch die Einwirkung der Faktoren in unterschiedlichen Verhältnissen aufgetretenen Veränderungen bilden ein reiches Forschungsgebiet.

MATERIAL UND METHODE

Die Nährmedien wurden durch Mischung einiger Abwässer erhalten wobei die Stickstoff- und Phosphorquelle durch Zugabe von jenen Salzen gesichert wurde, die als chemische Düngemittel verwendet werden. Die Menge der zugefügten Salze entsprach der Stickstoffmenge aus der Knop-Pringsheim-Lösung (KNO_3), bzw. Tamiya-, „Urea EH“-Lösung

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. VÉG., TOME 22, No 2, p. 93—105, BUCAREST, 1977

2 — c. 7419

Tabelle 1

Die Wachstum und die Zusammensetzung der Algen *Scenedesmus acutus* und *Scenedesmus acutiformis*

Die Wachstums- und die Zusammensetzung von Algen *Cocconeis wuellerstorfi* und *Cocconeis wuellerstorfi*

I

Varianten	Algen	Zellen/gL	Extinktion	Vermehrungs- faktor	Trocken- gewicht	Proteine			Pigmente			Chlorophylle			Karoten- noide		Chlorophylle		Karoten- noide		Chlorophylle		Chlorophylle																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
						Exponen- tielle Phase	Statio- näre Phase	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide														Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide	Chlorophylle	Karoten- noide

a = Abwässer von der Thermozentrale + Zuckerfabrik 1:1 + $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 3,30 g/l;
b = Thermalwasser (Oradea) + Abwässer von der Zuckerfabrik 1:1 + $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$;
c = Modifizierte Tamiya-Lösung (Kontrolle).
A = *Scenedesmus acutiformis*
B = *Scenedesmus acutus*

($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$). Die Lösungen sind neutralisiert (NaOH , HCl) und nachher sterilisiert worden (120°C , 1 at, 30 min).

Die Reihenfolge und die Versuchsvarianten waren die in der Tabelle 1/I—III.

Die verwendete Alge war *Scenedesmus acutus* und hatte die Anfangsdichte 300 (Serie I), 1425 (Serie II) und 500 ± 25 (Serie III) Zellen/ μ l. Die Kulturen wurden in Gefäßen der Gaswascher-Type (300 ml) (Serien I, II) und in senkrechten Röhren (1600 ml) (Serie III) während 10 (Serie I), bzw. 14 (Serien II, III) Tagen erhalten. Die Lichtstärke („Daylight Electrofar 40 W“-Lampen) betrug 10000 (Serien I, II) und 7500–8000 lx (Serie III). Die Durchperlung (sterilisierte Luft + CO₂ 3 %) wurde gleichzeitig mit der Beleuchtung durchgeführt.

Nach der Sterilisierung ist ein kristalliner Niederschlag in den Varianten erschienen, die aus den Abwässern der Zuckerfabrik unter Zugabe von $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ erhalten worden sind. Die Menge dieses in HCl löslichen Niederschlags hat sich im Verlauf der Versuchszeit verringert, oder ist manchmal ganz verschwunden. Die Sterilisierung hat gleichfalls eine gelb-braune Färbung der in dieser Weise erhaltenen Lösungen bewirkt. Die Farbe verschwindet gänzlich bis zum Schluß der ersten Etappe und hat wahrscheinlich in der ersten Wachstumsphase, bei einer geringen Zell-

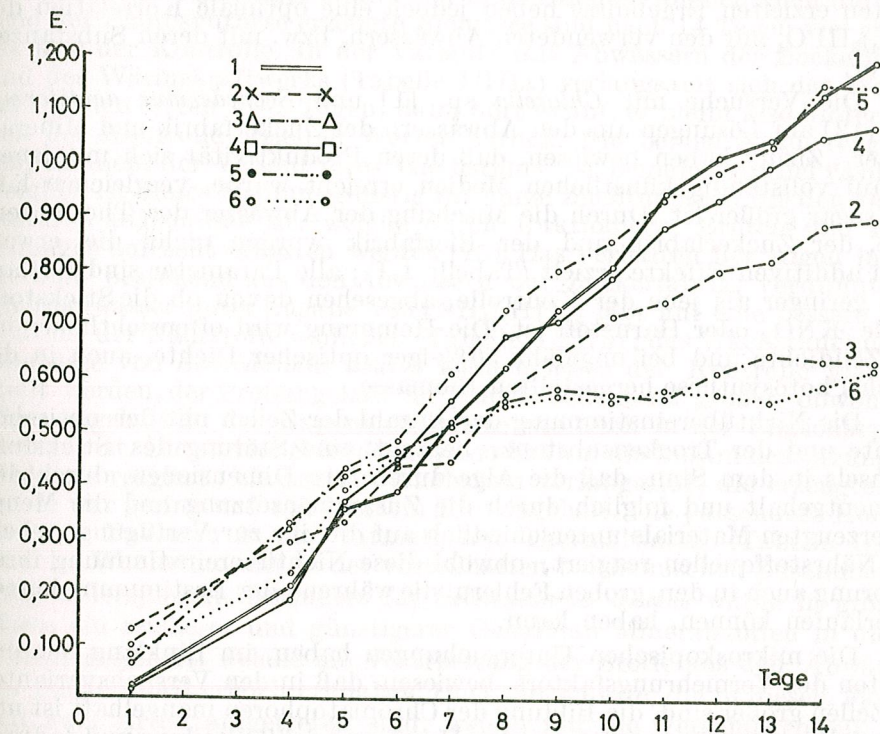


Abb. 1. — Der Wachstumsverlauf von *Scenedesmus acutiformis* (1–3) und *Scenedesmus acutus* (4–6) in den Lösungen: modifizierte — Tamiya (Kontrolle); Thermalwasser + Abwässer von der Zuckerfabrik + $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$; Abwässer von der Thermozentrale + Abwässer von der Zuckerfabrik + $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$.

dichte, einen günstigen Einfluß, da sie die Kulturen vor möglicher starker Beleuchtung schützt.

Es wurden bestimmt (Tabelle 1):

1. Zelldichte;
2. Optische Dichte;

Anhand dieser beiden Parameter wurde der Vermehrungsfaktor errechnet (Soeder 1967) und das allgemeine Wachstum der Kulturen bestimmt (Abb. 1).

3. Trockengewicht;
4. Proteingehalt der Zellen und des Supernatants (Überstehenden) der Kulturen (durch die Methode Lowry);

5. Pigmente (Chlorophylle und Karotinoide) chromatographisch (Hager & Bertenrath) und spektrophotometrisch (Spectral-Kolorimeter Specol) bestimmt

ERGEBNISSE UND DISKUSSIONEN

Die Nitrate und der Harnstoff [13], [14], [15] sind für die beiden Versuchsalgen die besten Stickstoffquellen, sowohl in reinkünstlichen Nährlösungen wie auch im allgemeinen. Die in den vorliegenden Experimenten erzielten Ergebnisse heben jedoch eine optimale Korrelation des $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ mit den verwendeten Abwässern, bzw. mit deren Substanzen hervor.

Die Versuche mit *Chlorella* sp. [1] und *Scenedesmus acutiformis* [2], [12] auf Lösungen aus den Abwässern der Zuckerfabrik und Mineralwasser „Zizin“ haben bewiesen, daß deren Produktivität sich mit jener, die auf vollständig künstlichen Medien erreicht wurde, vergleichen läßt und sogar größer ist. Durch die Mischung der Abwässer der Thermozentrale, der Zuckerfabrik und der Bierfabrik wurden nicht die erwarteten additiven Effekte erzielt (Tabelle 1/I); alle Parameter sind fortlaufend geringer als jene der Kontrolle, abgesehen davon ob die Stickstoffquelle KNO_3 oder Harnstoff ist. Die Hemmung wird offensichtlicher bei der Zelldichte und bei ungefähr 50 %-iger optischer Dichte, auch in der durch Photosynthese hergestellten Biomasse.

Die Nichtübereinstimmung der Anzahl der Zellen mit der optischen Dichte und der Trockensubstanz, bezeugt eine Störung des Stickstoffwechsels in dem Sinn, daß die Alge durch ihre Dimensionen, durch den Pigmentgehalt und folglich durch die Zusammensetzung und die Menge des erzeugten Materials unterschiedlich auf die ihr zur Verfügung stehenden Nährstoffquellen reagiert, obwohl diese Nichtübereinstimmung ihren Ursprung auch in den, groben Fehlern, die während der Bestimmung hätten unterlaufen können, haben kann.

Die mikroskopischen Untersuchungen haben, im Einklang mit den Werten des Vermehrungsfaktors, bewiesen, daß in den Versuchsvarianten die Zellen größer sind, die Bildung der Chromatophoren mangelhaft ist und daß oft Abnormitäten auftreten. Die Hemmung der Zellteilung und dadurch das Erscheinen von Autosporen bei *Chlorella pyrenoidosa* in Gegenwart von verschiedenen Zuckern [16], ist dem Übergewicht der Stickstoffassimilierung zu verdanken. Die unvollständige Organisierung der Chro-

matophoren wird auch durch den geringeren Gehalt an Pigmenten bei den Versuchsvarianten in bezug auf die Kontrolle sichtbar. Obwohl reich an Substanzen, ist die aus Mineralwasser „Zizin“ erzeugte Variante (Tabelle 1/Ib) dennoch die schwächste; die Ursache liegt in dem Effekt der Nährstoffe in supraoptimaler Konzentration.

Die beste Korrelation der Nährstoffe wurde bei den Varianten festgestellt, die durch Zugabe von $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ im Abwasser der Zuckerfabrik, verdünnt im Verhältnis 1:1 mit Abwasser der Thermozentrale oder Thermalwasser, erhalten wurden. Eine sichtbare Überlegenheit kennzeichnet die ersten Tage bei den Versuchsvarianten, während der Latenzphase kommen die Kulturen im allgemeinen zu recht und passen sich den neuen Bedingungen an. Am 4.—5. Tag erscheint ein umgekehrter Wachstumsrhythmus (Abb. 1), wahrscheinlich vom Mangel, von der Unzulänglichkeit oder gar vom Fehlen einiger Nährstoffe bewirkt, so daß ihr anfangs optimales Verhältnis gegenüber dem Stickstoff sich weniger günstig für die Kulturen verändert; der Bedarf an Stickstoff wird durch die quantitative Äquivalenz mit jenem aus dem Vergleichsmedium gedeckt und durch seine Bestimmung in der Kulturlösung bewiesen.

Die optische- und die Zelldichte können mit jenen der Kontrolle gleichgestellt werden; der Pigmentgehalt, das Verhältnis stickstoffhaltiger Substanzen im Supernatant und in den Zellen, folglich auch die während der Photosynthese erzeugte Biomasse sind nach 14 Tagen viel größer als jene der Kontrolle. In der Variante mit Abwässern der Zuckerfabrik und des Wärmekraftwerks (Tabelle 1/IIIa) verlangsamt sich das Wachstum in den ersten 4—5 Tagen, dann hört es auf, es bleibt also hinter den von der Kontrolle erzielten Werten zurück. Die beiden Arten reagieren sehr ähnlich, der Verlauf ihres Wachstums ist beinahe parallel (Abb. 1). Folglich ist dieses Medium günstig für kurze Züchtungszeit die den Dauerkulturen angemessen ist, welche durch fraktionierte Ernten und Erfriechungen aufrecht erhalten werden [15]. Das Verhalten der Algen in dem Medium bestehend aus den Abwässern der Zuckerfabrik, verdünnt mit Thermalwasser unter Zugabe von $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ läßt auf eine bessere Korrelation der Nährstoffe schließen (Tabelle 1/IIIb); das Wachstum und die Biomasse von *Scenedesmus acutus* können jenen der Kontrolle gleichgestellt werden, der Proteingehalt ist jedoch bedeutend größer, obwohl der Pigmentgehalt in der Exponentialphase wie auch in der Stationärphase geringer ist. Die andere *Scenedesmus*-Art hat auf die Zusammensetzung des Mediums reagiert: sie hat ihr Wachstum verlangsamt, die erzeugte Biomasse war gering und mit kleinem Proteingehalt. Die passendere Korrelation der Faktoren in der Variante mit Thermalwasser (Tabelle 1/IIIb) wird im Wachstum und in der vorteilhaften biochemischen Zusammensetzung widerspiegelt, besonders für *Scenedesmus acutus* wurde in größerer Masse ein reicherer und günstigerer Gehalt an Mineralstoffen in diesem Wasser gesichert, welche die Verarbeitung der Stoffe aus den Abwässern der Zuckerfabrik erleichtert haben. Die Unterschiede, die in diesem Fall bei den zwei Arten aufgetreten sind, weisen auf die Verschiedenheit ihrer Ernährung, auf ihre heterotrophische Möglichkeit hin.

Das Wasser der Zuckerfabrik enthält eine erhebliche Menge kolloidale Stoffe (200—580 mg/l), organische Stoffe (COD = 300—2400 mg/l,

BOD = 820–1545 mg/l) und anorganische Stoffe (fester Abfall = 867–4900 mg/l), so wie Zucker und bestimmte stickstoffhaltige Substanzen [9]. Der Nährwert der organischen Stoffe für die Algen wird schon in alten Arbeiten erwähnt, es geht besonders um mehrere Zuckerstoffe. Dies sind verheißende Voraussetzungen für künftige und gegenwärtige Versuche, die Algen für die Reinigung der Abwässer aus den Zuckerfabriken zu benutzen [3], [9], [16], [17].

Die Ergebnisse vieler Forschungen erwähnen, daß die von der Alge ins Medium abgesonderten Substanzen von den Umweltbedingungen (qualitativ und quantitativ) abhängig sind; die Sekretion gilt als gewöhnlicher Mechanismus für die Selbstregulation der Algenpopulation [10]; dies ist ein Hinweis auf die Verschlechterung der Lebensbedingungen [8], folglich auf einen zusätzlichen Energieverbrauch für die Erhaltung des Lebens.

Wenn wir die Menge der Proteine aus dem Supernatant der Varianten und der Kontrolle beurteilen, stellen wir fest, daß die III. Serie die Kontrolle überflügelt, oder ihr gleich ist; bloß die II. Serie ist ihr untergestellt.

Wenn wir den Proteingehalt der Zellen vergleichen (100 %) ergeben sich die Varianten:

IIIa	Supernat.	bei	<i>Sc. acutiformis</i>	: 39 %	bei	<i>Sc. acutus</i>	: 41 %
IIIb	"	"	"	45	"	"	16
IIIc	"	"	"	17	"	"	22
IIa	"	"	"	—	"	"	26
IIb	"	"	"	—	"	"	37

Dieser Vergleich hebt die Tatsache hervor, daß *Sc. acutus* in der Variante mit Wasser aus der Zuckerfabrik, gemischt mit Thermalwasser und mit Zusatz von $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, einen größeren Stickstoffwechsel aufweist, als in der vollständigen künstlichen veränderten Tamiya-Lösung. Durch diesen Vorgang unterscheidet er sich von *Sc. acutiformis*.

Das unterschiedliche Verhältnis zwischen dem synthetisierten Proteingehalt und den Pigmenten der beiden Arten ist ein Beweis für ihre Selektivität den Nährstoffen gegenüber. *Scenedesmus acutus* paßt sich den Nährstoffen aus der Lösung mit Thermalwasser, Abwässer der Thermozentrale und der Zuckerfabrik besser an.

Dieselben Ergebnisse unterstreichen, daß die Ausnützung der Lichtquelle vom Verhältnis der Nährstoffe in den verschiedenen Wachstums- und Vermehrungsphasen abhängig ist. Das Verhältnis zwischen dem Chlorophyll und den Karotinoiden bei den zwei Arten, in allen Medien, deutet an, daß der Faktor Nährstoff in geringem Zusammenhang mit der Photosynthese und mit der Veränderung des Gleichgewichts steht. Sein Einfluß wird durch die Beschleunigung der Stoffwechselvorgänge merkbar; diese führen zur Förderung des Pigmentgehalts und der Proteosynthese.

Die angeführten Vergleiche deuten eine bessere Verwertung (bzw. Neuverwertung) der stickstoffhaltigen Substanzen aus der Umwelt an, die Produktivität der untersuchten Algenkulturen kann auch in diesen anscheinend einfachen Medien erhöht werden.

LITERATUR

1. ASAUL Z. I., BRONZAIT B. D., Ukrainsk. Bot. Journ., 1969, **26**, 1, 42–48.
2. BARNA A., Studia Univ. Babeş-Bolyai, sér. Biol., 1973, f. 2, 51–59.
3. CANUTI A., BALDACCI P. V., Industrie Aliment., 1972, **11**, 3, 109–116.
4. COOK J. R., in: *The Biology of Euglena*, D. E. Buetow (ed.), vol. 1, Acad. Press, New York–London, 1968, p. 243–314.
5. DALEY E. C., Wat. Wastes Engng., 1971, **8**, 9, 51–52.
6. FOGG G. E., Oceanogr. Marine Biol. Ann. Review, 1966, **4**, 195–212.
7. HAGER R., BERTENRATH G., Planta, 1966, **69**, 198–216.
8. HUTNER S. H., Ann. Rev. Microbiol., 1972, **26**, 313–346.
9. ICHIKAWA K., GOLUEKE C. G., OSWALD W. J., Journ. Amer. Soc. Sugar Beet Technologists, 1968, **15**, 2, 125–150.
10. KAFAR-ZADE L. K., *Materiali Iubileinoi Respublicanscoi Conferentii Microbiologii, Algologii i Micologii*, Taşkent, 1974, p. 95–98.
11. MOYSE A., *Prediction and Measurement of Photosynthetic Productivity* (Wageningen), 1970, p. 551–554.
12. PÉTERFI ST., BARNA A., NAGY-TÓTH FR., Studia Univ. Babeş-Bolyai, sér. Biol., 1974, f. 1, 25–33.
13. PÉTERFI ST., NAGY-TÓTH FR., Rev. Roum. Biol.-Bot., 1967, **12**, 2–3, 199–206.
14. PÉTERFI ST., NAGY-TÓTH FR., BARNA A., Rev. Roum. Biol.-Bot., 1968, **13**, 1–2, 93–101.
15. PÉTERFI ST., NAGY-TÓTH FR., BARNA A., Rev. Roum. Biol.-Bot., 1969, **14**, 1–2, 73–82.
16. RODRIGUEZ-LOPEZ H., Wat. Poll. Abstr., 1972, 45, art. 2504.
17. YUZVENKO V. N., Sakh. Prom., 1971, **45**, 11, 20–22.

Eingegangen am
6. Dezember 1976

Biologisches Forschungszentrum
Cluj-Napoca

L'INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LA CROISSANCE DES ORGANES DES PLANTULES DE BLÉ BEZOSTAIA 1 ET DE SEIGLE DANAE

PAR

N. SĂLĂGEANU et ALISA PISICĂ-DONOSE

Le travail contient les résultats expérimentaux sur l'intensité de la croissance de certains organes des plantules de blé Bezostaia 1 et de seigle Danae. Sont donnés les points cardinaux de la croissance ainsi que les valeurs extrêmes de la température jusqu'à laquelle la croissance se produit.

Il existe pour chaque plante certaines valeurs de la croissance : les soi-disant « points cardinaux » représentés par un minimum, un optimum et un maximum de croissance. Ces valeurs varient en fonction de l'espèce de la plante et de la phase de végétation [3] [6].

Le but de ce travail est d'établir les points cardinaux de la croissance des organes du blé Bezostaia 1 et du seigle Danae, ainsi que de déterminer les valeurs extrêmes de la température (basse et élevée) jusqu'à laquelle la croissance peut encore avoir lieu. Pour étudier l'influence des températures basses et élevées sur les principales céréales — blé d'automne et seigle dans les conditions de laboratoire — on a maintenue constants l'intensité de la lumière et le degré d'hydratation, en variant seulement la température.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

On a mis germer les caryopses de blé et de seigle sur des papiers de filtre humectés d'eau de conduite, dans des vases Petri. Après la germination, on a mesuré la croissance de chaque organe à part, en considérant comme température minimum la température la plus basse à laquelle commençait le processus de croissance, comme température optimum celle à laquelle la croissance pouvait être maintenue au niveau le plus élevé, sans décroître en intensité, et comme température maximum, la valeur des températures élevées auxquelles la croissance avait à peine lieu.

Après la germination, on a mesuré la croissance de chaque organe à part, de -15°C jusqu'à 50°C , de 2 en 2 degrés, mais dans les zones de températures extrêmes, basses ou élevées, on a poursuivi la croissance degré par degré. On a réglé les températures à l'aide de l'ultrathermostat Universal U 10. Pour obtenir des températures basses on a utilisé les mélanges frigorifiques classiques introduits directement dans le récipient de l'ultrathermostat. On a obtenu la température de travail exigée à l'aide

du thermomètre de contact, du thermomètre de contrôle et du thermocouple, placé dans la zone de l'organe dont on observait la croissance. Le thermocouple était formé de deux fils de Cuivre-Konstantan soudés à l'arc voltaïque et raccordés à un Schleifen-galvanomètre Zeiss, ainsi qu'à un point de référence froid.

Les plantules dont on poursuivait la croissance ont été fixées au thermomètre intérieur et l'air s'est maintenu humide en versant 4 ml d'eau au fond de l'éprouvette, sans que l'eau soit en contact avec la plante ou le thermomètre. On a mesuré la croissance au moyen de la loupe horizontale «Meopta», l'objet ayant 10 × et l'oculaire 20 ×. La croissance de l'organe a été suivie à l'aide du micromètre oculaire fixé devant l'organe dont on observait la croissance. L'exposition à une certaine température a duré 60 minutes. On a exprimé l'intensité de la croissance de chaque organe et plante en mm/h, représentée dans les figures 1, 2, 3.

RÉSULTATS

L'influence de la température sur la croissance des organes du blé d'automne Bezostaia 1 est donnée dans la fig. 1. Aux températures basses de -0°C on n'a pas pu mettre en évidence le processus de croissance. Les valeurs minimum de croissance étaient rapprochées, variant entre $+1$ et $+2^{\circ}\text{C}$.

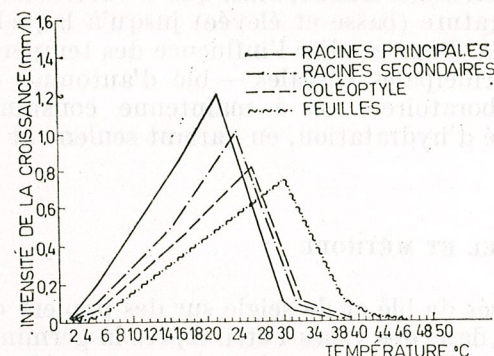


Fig. 1. — Courbe de croissance en fonction de la température chez le blé Bezostaia 1 (mm/h).

La température optimum a été différente en fonction de l'organe de la plante. Ainsi, les racines principales ont enregistré l'intensité maximum de croissance de 1,2 mm/h à 21°C , les secondaires à 24°C , le coléoptyle à 25°C et les feuilles à 30°C . La température maximum a été de $+35^{\circ}$, $+38^{\circ}\text{C}$ pour les racines principales et secondaires et de $+40$, $+45^{\circ}\text{C}$ pour le coléoptyle et les petites feuilles. L'intensité de la croissance a augmenté pour tous les organes en même temps que la hausse de la température jusqu'à la valeur optimum et a diminué après ce seuil. L'intensité la plus forte de la croissance a été enregistrée aux racines principales (1,2 mm/h) et la plus faible aux feuilles (0,78 mm/h). Les racines secondaires et le coléoptyle ont eu une intensité de croissance intermédiaire. L'intervalle entre la température minimum et la température optimum a été plus grand que celui entre la température optimum et la température maximum. Ainsi pour la racine principale, la partie ascendante de la courbe s'est déroulée durant la

parcours jusqu'à 21°C , tandis que la partie descendante s'est déroulée seulement sur une portion jusqu'à 14°C . Les autres organes ont eu les mêmes réactions. La température optimum pour la croissance des feuilles a été de $26-30^{\circ}\text{C}$ celle minimum de 2°C et celle maximum de 45°C . Grâce à la possibilité de régler leur température, les feuilles, à la différence des autres organes, subissent de façon active l'influence nuisible des températures élevées, car leur croissance s'arrête à 45°C .

L'orientation de l'interrelation de la température et de l'intensité de croissance se fait d'après les points cardinaux de la croissance. Ces points diffèrent selon le milieu où croît la plante. Dans les régions à températures basses, les points cardinaux de la croissance se déplacent vers la gauche et chez les plantes de provenance méridionale, vers la droite.

C'est le cas du seigle Danae (fig. 2, 3) dont les points cardinaux de la croissance sont déplacés vers la gauche, tandis que ceux du blé Bezostaia 1

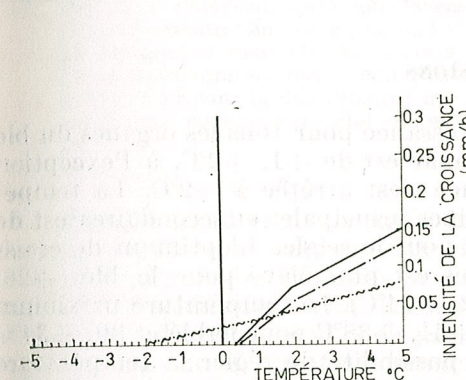


Fig. 2. — Courbe de croissance en fonction de la température chez le seigle Danae (mm/h).

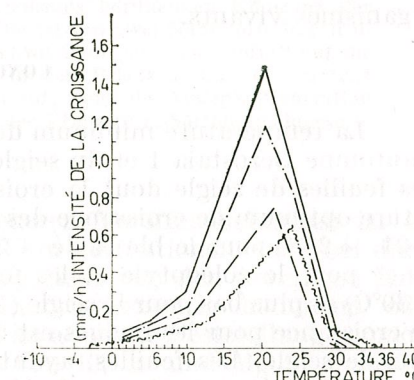


Fig. 3. — Courbe de croissance en fonction de la température chez la plantule du seigle Danae (mm/h).

sont déplacés vers la droite (fig. 1). Le seigle, adapté à des températures plus basses, atteint l'optimum de croissance à $+20$, $+24^{\circ}\text{C}$, tandis que le blé adapté aux régions plus chaudes a l'optimum de croissance à $+28$, 30°C .

L'intensité de la croissance a diminué en même temps que la température. Pour le seigle Danae, à la valeur d'approximativement 0°C la croissance cesse (fig. 2), aussi bien celle des racines principales que celle des racines secondaires. L'intensité de la croissance des feuilles aux températures positives mais proches de 0°C était assez faible; pourtant, même quand la température était plus basse que 0°C , l'intensité de la croissance des feuilles du seigle n'a pas stagné, mais a diminué en s'arrêtant complètement à -2°C . Si l'on tient compte du fait que pour le seigle la température dans les feuilles est plus élevée d'environ 3°C que celle du milieu ambiant, il résulte que le point cardinal minimum du processus de croissance dans les feuilles a lieu à des températures proches de 0°C , mais positives.

Les points cardinaux de la croissance peuvent se modifier en fonction de l'organe de la plante, de l'espèce, de la température du milieu ambiant et même de la saison.

Nos données concernant l'influence des températures extrêmes sur les céréales concordent, en grande partie, avec celles des autres chercheurs. N. Zamfirescu [8] montre que pour le blé les limites thermiques de croissance sont : minimum 0°, optimum 29°, maximum 42°C. I. S. Gorban [3] montre que pour les graminées perennantes, la température maximum de croissance est déterminée par la cessation du mouvement du protoplasme comme premier indice. N. Sălăgeanu et A. Florian [6] montrent que les valeurs des températures minimum, optimum et maximum varient en fonction de l'espèce et de la phase de croissance.

La complexité de la relation entre la croissance et la température réelle des différents organes des plantes a été relevée aussi par J. Levitt [4]. H. Precht et W. Larker [5] montrent que parmi les facteurs écologiques les plus importants c'est la température qui limite la croissance des plantes sur le globe et, en fonction de celle-ci, toute la chaîne trophique des organismes vivants.

CONCLUSIONS

La température minimum de croissance pour tous les organes du blé d'automne Bezostaia 1 et du seigle Danae est de +1, +2°C, à l'exception des feuilles de seigle dont la croissance s'est arrêtée à -2°C. La température optimum de croissance des racines principales et secondaires est de +21, +25°C pour le blé et de +20°C pour le seigle. L'optimum de croissance pour le coléoptyle et les feuilles est plus élevé pour le blé (+26, +30°C) et plus bas pour le seigle (+22, +24°C). La température maximum de croissance pour les racines est de +34, +38°C pour le blé et 30, +34°C pour le seigle. Les feuilles, ayant la possibilité de régler la température interne des tissus, ont manifesté le processus de croissance jusqu'à 36°C dans le cas du seigle, et jusqu'à +45°C pour le blé. L'intensité de la croissance la plus élevée a été déterminée aux racines principales (1,5—1,2 mm/h) et la plus basse aux feuilles (0,62—0,78 mm/h).

La distance entre la température minimum de croissance et la température optimum a été plus grande par rapport à celle de la température optimum et la température maximum, aussi bien pour le blé que pour le seigle.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALEXANDROV V. I., Bot. experim., ser. IV, **10**, 308—355, 1955.
2. GORDON W., *Handbuch Der Pflanzenphysiologie*, Berlin, **14**, 106—112, 1961.
3. GORBAN I. S., *Titologhia*, **3**, 2, 167, 1961.
4. LEVITT J., *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, **2**, 245, 1951.
5. PRECHT H. and coll., *Temperature and Life*, Springer Verlag, Berlin, 1973.
6. SĂLĂGEANU N., A. FLORIAN, *Ann. Univ. București*, **19**, 9—20, 1970.
7. ȘTEFUREAC TH., *Bul. Grăd. Bot. Cluj*, **27**, 1947.
8. ZAMFIRESCU N., *Influența temperaturii asupra absorbției substanțelor nutritive*, Chișineu, 1936.

Reçu le 15 décembre 1976

Faculté de Biologie de Bucarest
et
Université «Al. I. Cuza», Iași

ÜBER K-, Ca- UND Mg-AUFNAHME DURCH MAISPFLANZEN IM ZUSAMMENHANG MIT DER FRAGE DES KATIONENANTAGONISMUS UND DER ÄQUI- VALENTEN KATIONENKONSTANZ IN DEN PFLANZEN

VON

I. FABIAN, MARIA GHEORGHIȘ und E. GOMOIU

An Mais erzielte Versuchsergebnisse gaben Anlaß zur Schlußfolgerung, daß wenigstens bei dieser Pflanzenart von keiner äquivalenten Kationenkonstanz (Ausgleich von Konzentrationserhöhung eines Kations durch äquivalente Konzentrations-senkung anderer Kationen) praktisch gesprochen werden kann, sondern bloß von einer einfachen, nicht auf Ionenantagonismus beruhenden Konstanz der Gesamtkonzentration von K, Ca und Mg. Die letzten zwei Nährstoffe haben in physiologischen Konzentrationen einen verschwindend geringen Einfluß auf die Gesamtkonzentration dieser drei Elemente in den Pflanzen, und darum tritt Kationenkonstanz in den Pflanzen nur dann auf, wenn die Außenkonzentration von Kalium unverändert bleibt und wenn in den Pflanzen K-Sättigung eingesetzt hat.

Sowohl in älteren als auch in neueren Veröffentlichungen ist oft darauf hingewiesen worden, daß die Nährstoffkationen sich bei ihrer Aufnahme durch die Pflanzen in Abhängigkeit von den jeweiligen Konzentrationsverhältnissen im Außenmedium gegenseitig hemmend oder auch fördernd beeinflussen. Gelegentlich ist auch die Feststellung gemacht worden, daß die Konzentrationssumme von K, Ca und Mg in manchen Pflanzenarten unter gewissen Umständen konstant bleiben kann [6], [10], [11] und zwar in dem Sinne, daß die Konzentrationserhöhung eines Kations durch eine äquivalente Konzentrationserniedrigung anderer Kationen ausgeglichen wird. Unlängst hat Falade [3] einen Beitrag zur näheren Kenntnis der Umstände, in denen diese sogenannte äquivalente Kationenkonstanz (cation-equivalent constancy) festzustellen ist, veröffentlicht und hat damit auch die Anregung zur vorliegenden Arbeit gegeben.

MATERIAL UND METHODE

Sieben Tage alte und auf verdünnter Knop-scher Nährlösung (3,2 Millival./l) herangezogene Maispflanzen (Doppelhybrid 405) wurden einzeln auf 22 × 10 cm messende Glaszylinder verteilt, die mit 5 Millival./l starker Nährlösung angefüllt und gegen Licht und Erhitzung entsprechend abgeschirmt waren. Nachher standen die Pflanzen bis zum Versuchsende tagsüber im Freien, nachtsüber und bei Regenwetter in einem Glashaus. Die Nährlösung wurde alle drei Tage bis zum Anfang des Versuchs durch frische Nährlösung ersetzt.

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. VÉG., TOME 22, N° 2, p. 111—117, BUCAREST, 1977

Der eigentliche Versuch begann bei 19-tägigem Pflanzenalter und hielt 16 Tage lang an. Einzelheiten über die gewählten Versuchsbedingungen sind aus den Tabellen 1 und 2 zu entnehmen. Diese Bedingungen zeichnen sich vor allem dadurch aus, daß die Gesamtkonzentration der verschiedenen Nährlösungen in allen Varianten gleich war (10 Millival./l).

Tabelle 1

Ionen-Gehalt der verwendeten Nährlösungen, ausgedrückt in Milliäquivalent-Gramm/Liter.

Var.	K ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Gesamtkonz.	NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ⁻	Cl ⁻	Gesamtkonz.
0	0,0	8,0	2,0	10					
1	1,5	6,8	1,7	10					
2	3,0	5,6	1,4	10	7,50	0,80	1,25	0,45	10
3	4,5	4,4	1,1	10					
4	6,0	3,2	0,8	10					
5	7,5	2,0	0,5	10					

Tabelle 2

Salz-Gehalt der verwendeten Nährlösungen, ausgedrückt in Gramm/Liter.

Salz	Variante					
	0	1	2	3	4	5
Ca(NO ₃) ₂						
KNO ₃	0,5538	0,5579	0,4595	0,3610	0,2625	0,1641
Mg(NO ₃) ₂	—	0,0253	0,1769	0,3134	0,4348	0,5561
KCl	0,0556	0,0334	0,0111	—	—	—
CaCl ₂	—	0,0335	0,0335	0,0335	0,0335	0,0335
Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0,0250	—	—	—	—	—
KH ₂ PO ₄	0,0896	—	—	—	—	—
MgSO ₄	—	0,1089	0,1089	0,1089	0,1089	0,1089
K ₂ SO ₄	0,0725	0,0725	0,0725	0,0662	0,0481	0,0301
	—	—	—	0,0131	0,0392	0,0653

Dies ermöglichte es, die Mengenverhältnisse zwischen K, Ca und Mg innerhalb derselben Gesamtkonzentration zu verändern und nicht, wie das z. B. bei Falades Versuch der Fall war, im Rahmen verschiedener Gesamtkonzentrationen. Wenn man die Mengenverhältnisse zwischen den verschiedenen Kationen durch Veränderung der Gesamtkonzentration auf die gewünschten Werte einstellt, dann verändert man gezwungener Weise auch die Mengenverhältnisse zwischen den verschiedenen Anionen aus der Nährlösung, weil ja dieser gleichzeitig mit den Kationen zusätzlich auch Anionen zugefügt werden. Da nun dadurch mit sekundären Einflüssen erstens von seiten der ungleichen Anionenverhältnisse und zweitens von seiten der ungleichen Gesamtkonzentration der Außenlösung zu rechnen ist, wurde eben ein anderer und zu pflanzenphysiologischen Ernährungsuntersuchungen schon des öfteren beschrittener Weg (z. B. [1], [2], [7], [9]) zur Versuchsdurchführung eingeschlagen.

In allen Fällen wurden die Nährlösungen mit Glas-destilliertem Wasser zubereitet. Zur Eisenversorgung der Pflanzen diente Fe-citrat. Bei einer Gesamtkonzentration der Hauptnährstoffe von gleich 10 Mil-

lival./l enthielten die Nährlösungen je Liter außer 10 mg Fe noch 0,5 mg B; 0,5 mg Mn; 0,02 mg Cu; 0,4 mg Zn und 0,05 mg Mo. Bei niedrigeren Gesamtkonzentrationen der Hauptnährstoffe während der Anzuchtperiode der Pflanzen, wurde auch die Konzentration der verschiedenen Mikronährstoffe entsprechend herabgesetzt.

Während der Versuchsperiode wurden die Nährlösungen alle zwei Tage durch frische ersetzt. Bloß in den letzten zwei Tagen vor Versuchsende wurden die Nährlösungen täglich erneuert.

Am Ende des Versuchs (30. V. 1974) wurden die Pflanzen nach dreimaligem Spülen der Wurzeln mit destilliertem Wasser und nach deren Abtrocknung mit Fließpapier in ihre Hauptteile zerlegt (Blätter, „Stengel“ und Wurzeln) und bei 90°C getrocknet. Das von je vier Pflanzen abstammende Material wurde zusammengelegt und abgewägt. Die zu Pulver gemahlene Blätter und Wurzeln wurden nach Einäscherung bei 550°C auf ihren Gehalt an K, Ca und Mg untersucht. Die zwei ersten Elemente wurden flammenphotometrisch bestimmt, während zur photometrischen Bestimmung von Mg die von Garner [4] beschriebene Titan-Gelb-Methode herangezogen wurde.

ERGEBNISSE

Die auf Nährlösung ohne K gehaltenen Pflanzen waren verhältnismäßig kleinwüchsig und chlorotisch. Auf den übrigen, K-enthaltenden Nährlösungen zeigten die Pflanzen ein kräftiges Wachstum und ein allgemein normales Aussehen. Wie aus Abb. 1 zu entnehmen ist, waren zwischen diesen Pflanzen auch in Hinsicht auf die Substanzproduktion keine nennenswerte Unterschiede zu verzeichnen. Daraus ist beim Mais auf ein recht breites Konzentrationsoptimum von K, Ca und Mg zu schließen.

Bei Betrachtung der in Abb. 2 und 3 dargestellten Ergebnisse bemerkt man, daß die durch die verschiedenen Außenkonzentrationen verursachten Veränderungen der Innenkonzentration von K, Ca und Mg bei Blättern und Wurzeln ähnlich verlaufen. Sowohl in den einen als auch in den anderen wurde bei K-Mangel und hoher Ca- und Mg-Konzentration in der Nährlösung ein geringer Gehalt an Kalium und ein verhältnismäßig erhöhter Gehalt an Ca und Mg gefunden. Die steigenden K-Konzentrationen und die gleichzeitig damit absinkenden Ca- und Mg-Konzentrationen wirkten auf die Innenkonzentrationen im selben Sinne ein: der Gehalt an K beider Pflanzenteile erhöhte sich und derjenige an Ca und Mg fiel ab. Dabei waren die Veränderungen des K-Gehaltes bedeutend größer als die des Gehaltes an Ca und Mg. Beispielsweise erhöhte sich der Gehalt an Kalium in den gewählten Grenzen der Außenkonzentration um das 6–9 fache, während sich derjenige an Ca und Mg ungefähr um das bloß 2,5 fache verringerte.

In niedrigen Außenkonzentrationen hatte Kalium auf seine Innenkonzentration einen stärkeren Einfluß als in höheren, so daß die Wirksamkeit der Außenkonzentrationen bei fortschreitendem Anstieg immer schwächer wurde und schließlich gänzlich verloren ging.

Bei niedriger Außenkonzentration von Ca und Mg war auch deren Innenkonzentration ziemlich niedrig. Steigende Außenkonzentrationen bewirkten, wie auch im Falle des Kaliums, eine Erhöhung der Innenkonzentration. Im Unterschied zum Kalium waren jedoch nicht die niedrigen,

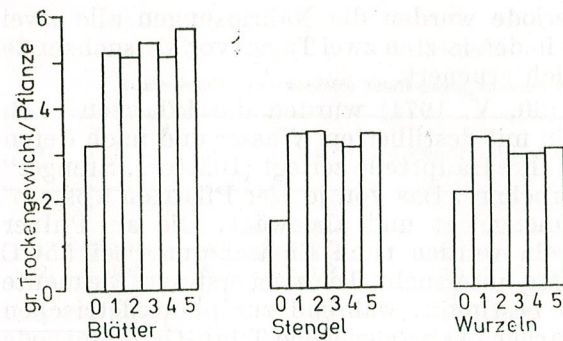
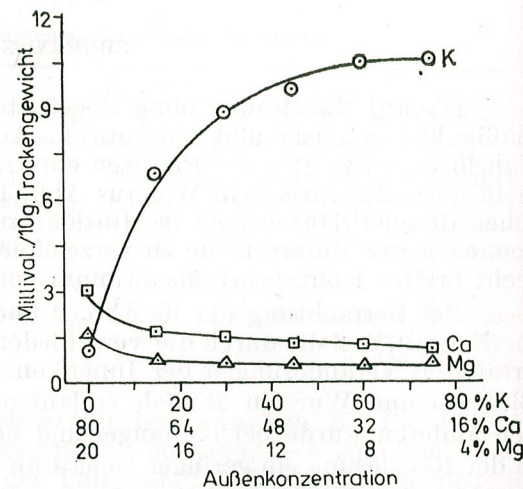


Abb. 1 — Trockengewicht 35 Tage alter Maispflanzen nach 16-tägigem Verweilen auf Nährlösungen mit verschiedenen K/Ca, Mg-Verhältnissen. Die am Fuß der Säulengruppen stehenden Zahlen beziehen sich auf die Versuchsvarianten (Näheres in Tabellen 1 und 2).

Abb. 2 — Der K-, Ca- und Mg-Gehalt der Blätter von Maispflanzen in Abhängigkeit von dem Verhältnis K/Ca, Mg in der Außenlösung. 100% = 10, Millival./Liter.



sondern die höheren Außenkonzentrationen wirksamer. Wenigstens bei den Blättern ist dies zutreffend. Bei diesen führten steigende Ca- und Mg-Konzentrationen anfangs zu einer recht geringen und mehr oder weniger kontinuierlichen Erhöhung der Innenkonzentration und erst bei sehr hohen Konzentrationen (über 80% Ca + Mg) krümmten sich die Kurven der Innenkonzentration schneller und bedeutender nach oben. Bei den Wurzeln verliefen die Veränderungen des Ca- und Mg-Gehaltes insofern etwas anders, als fast von Anfang her ein nur allmählicher und beinahe geradliniger Anstieg zu verzeichnen war.

Selbst ein flüchtiger Blick auf die gegenseitigen quantitativen Verhältnisse zwischen den Kurven aus Abb. 2 und 3 ist schon genügend, um davon überzeugt zu werden, daß in den gewählten Versuchsbedingungen

keine äquivalente Kationenkonstanz in den Pflanzen möglich ist. Das sieht man übrigens noch besser an dem Verlauf der Kurven aus Abb. 4. Diese zeigen, daß gleichzeitig mit dem Verhältnis K/Ca + Mg in der Nährlösung auch die Summe der Innenkonzentrationen von K, Ca und Mg ansteigt und

Abb. 3 — Der K-, Ca- und Mg-Gehalt der Wurzeln von Maispflanzen in Abhängigkeit von dem Verhältnis K/Ca, Mg in der Außenlösung.

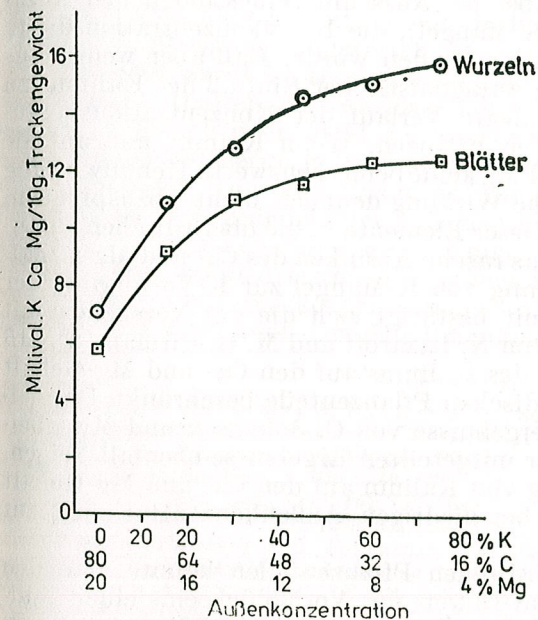
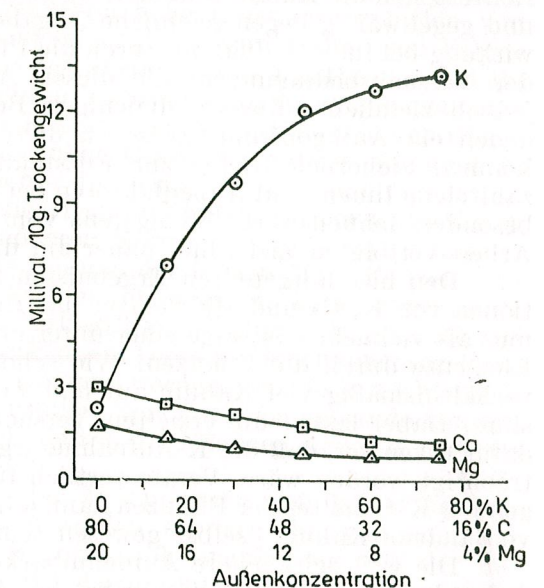


Abb. 4 — Summe der Konzentration von K, Ca und Mg in Blättern und Wurzeln von Maispflanzen in Abhängigkeit von dem Verhältnis K/Ca, Mg in der Außenlösung.

zwar parabolisch bis endlich ein Plateau erreicht wird, das anzeigt, daß die Summe der Innenkonzentrationen von den Kationenverhältnissen in der Außenlösung unabhängig geworden ist.

DISKUSSION

Im Laufe der Zeit ist ziemlich oft und viel von Ionenantagonismus bei der Nährstoffaufnahme durch die Pflanzen gesprochen worden. Dabei richtete sich die Aufmerksamkeit nicht in letzter Reihe auf K, Ca und Mg und gegenwärtig liegen reichliche Angaben über ihre gegenseitige Hemmwirkung bei ihrer Aufnahme durch die Pflanzen vor. Bei der Vielfältigkeit der Versuchsbedingungen, die diesen Angaben zugrunde liegen, ist es jedoch ziemlich schwierig diejenigen Bedingungen klar zu erfassen, in denen ein Antagonismus zwischen diesen drei Nährstoffen zur Geltung kommt. Sicherlich tragen zur Entstehung eines solchen Antagonismus zahlreiche Innen- und Außenfaktoren bei und es ist weder angebracht noch besonders lohnenswert, wenigstens vom Standpunkt des in vorliegender Arbeit verfolgten Ziels, hier näher auf diese einzugehen.

Den hier mitgeteilten Ergebnissen zufolge sind die Innenkonzentrationen von K, Ca und Mg weniger das Resultat eines Kationenantagonismus als vielmehr dasjenige einer unterschiedlichen Aufnehmbarkeit dieser Elemente durch die Pflanzen. Wie schon gezeigt, nehmen Maispflanzen verhältnismäßig viel Kalium auf und weit weniger Calcium und Magnesium. Dabei lassen die erzielten Versuchsergebnisse keinerlei Anzeichen dafür erkennen, daß die K-Aufnahme irgendwie durch Ca und Mg beeinträchtigt worden wäre. Verantwortlich für die festgestellten Veränderungen des K-Gehaltes der Pflanzen kann darum nur das in den Nährlösungen vorhandene Kalium selbst gewesen sein.

Die weit schwächere Aufnehmbarkeit von Ca und Mg kommt auch dadurch zum Ausdruck, daß selbst bei Ausschluß eines möglichen Antagonismus seitens des Kaliums (K-Mangel), die Innenkonzentration dieser Elemente verhältnismäßig niedrig gefunden wurde. Daß aber wenigstens bei den Wurzeln kein besonderer antagonistischer Einfluß des Kaliums zu befürchten ist, zeigt der fast lineare Verlauf der Konzentrationsveränderungen von Ca und Mg aus den Pflanzen. Wenn Kalium nun auf die eigentliche Aufnahme von Ca und Mg keine bemerkenswerte Hemmwirkung ausübt, so ist ihm eine solche Wirkung dennoch nicht abzusprechen, wenn es sich um den Transport dieser Elemente in die oberirdischen Pflanzenteile handelt. Dafür spricht das rasche Absinken des Ca- und Mg-Gehaltes der Blätter, das beim Übergang von K-Mangel zur K-Versorgung der Pflanzen festzustellen war. Damit bestätigt sich die auf Versuchen mit Gerste gegründete Behauptung von N. Lazaroff und M. G. Pitman [8], daß sich die herabsetzende Wirkung des Kaliums auf den Ca- und Mg-Gehalt der Pflanzen bloß auf die oberirdischen Pflanzenteile beschränkt. Desgleichen werden auch die Versuchsergebnisse von C. Johansen und Mitarbeitern [7] bestätigt, indem die hier mitgeteilten Ergebnisse ebenfalls zeigen, daß die antagonistische Wirkung von Kalium auf den Ca- und Mg-Gehalt der Blätter fast ausschließlich bei niedrigen Außenkonzentrationen zur Geltung kommt.

Doch selbst bei den oberirdischen Pflanzenteilen könnte man den Kationenantagonismus nicht zum Beweis des Vorhandenseins einer äquivalenten Kationenkonstanz heranziehen, denn dazu müßten in diesen Pflanzenteilen bei K-Mangel weit größere Mengen von Ca und Mg angereichert werden als diejenigen die tatsächlich angereichert werden. Bei allem Antagonismus, der bei den Blättern festgestellt wurde, reichen die

tatsächlich angereicherten Ca- und Mg-Mengen nicht aus, um die bei K-Zufuhr aufgenommenen K-Mengen durch eine äquivalente Abnahme ausgleichen zu können. Der eventuelle Einwand, die verwendeten absoluten Ca- und Mg-Konzentrationen ($8 + 2$ Millival./l) seien zu niedrig gewählt worden, um bei K-Mangel eine genügend hohe Innenkonzentration von Ca und Mg zu ermöglichen, ist nicht stichhaltig, denn in dem von Falade [3] ebenfalls mit Maispflanzen durchgeführten Versuch hatten Ca und Mg auch in bedeutend höheren absoluten Konzentrationen keinen nennenswerten Einfluß auf die Summe der Kationenkonzentrationen in den Pflanzen. Beeinflußt und zwar in einem hohen Grad wurde diese, wie auch in unserem Versuch, einzig und allein nur durch Kalium, aber auch dann nur, wenn dieses in der Nährlösung in niedrigen und mittleren Konzentrationen (unter 24 Millival./l) vorlag. In höheren Konzentrationen zeigte Kalium keine Wirksamkeit mehr. Daß die Summe der in den Maispflanzen vorhandenen Kationen auch vom Kalium unabhängig sein kann, wenn dieses in höheren Außenkonzentrationen vorliegt ($\geq 7,5$ Millival./l), ist auch aus unseren Versuchsergebnissen zu erkennen. Diese Kationenkonstanz kann aber auf keinen Fall „äquivalent“ genannt werden, weil sie ja nicht durch ein äquivalentes Anwachsen und Absinken von Kationen zustande kommt, sondern einfach und allein dadurch, daß in die Pflanzen weder K noch Ca und Mg aufgenommen wird.

Somit kann also wenigstens bei Maispflanzen von keiner äquivalenten Kationenkonstanz gesprochen werden, sondern bloß von einer einfachen Kationenkonstanz. Diese ist praktisch unabhängig von der Ca- und Mg-Außenkonzentration und tritt darum entweder nur bei konstant bleibender Außenkonzentration von Kalium auf, oder nur wenn in den Pflanzen K-Sättigung eingetreten ist.

Bemerkenswert ist abschließend auch die Tatsache, daß die Pflanzen auf allen K-enthaltenden Nährlösungen ein gleichstarkes Wachstum zeigten. Es ist jedoch noch nicht zu entscheiden, ob vor allem Kalium, das ja wie schon vermerkt in bedeutenden Mengen aufgenommen wird, in seinen niedrigen Konzentrationen auf die Dauer auch wirklich genügend war, um das Wohlgedeihen der Pflanzen nicht zu beeinträchtigen. Wenn zukünftige Untersuchungen diese Frage bejahen würden, dann wären mit Ausnahme der niedrigsten alle übrigen, zum Versuch gewählten K-Konzentrationen als Luxuskonzentrationen zu betrachten. Selbstverständlich wäre das dann auch von den Innenkonzentrationen zu sagen.

LITERATUR

1. BECKENBACH J. R., ROBBINS W. R., SHIVE J. W., Soil. Sci., 1938, **45**, 403—426.
2. BEESON K. C., LYON C. B., BARRENTIN M. W., Plant Physiol., 1944, **19**, 258—277.
3. FALADE J. A., Ann. Bot., 1973, **37**, 345—353.
4. GARNER R. J., Biochem. J., 1946, **40**, 828—831.
5. HAMNER C. L., Bot. Gaz., 1940, **101**, 637—649.
6. VAN ITALLIE T. B., Soil Sci., 1938, **48**, 175—186.
7. JOHANSEN C., EDWARDS D. G., LONERAGAN J. F., Plant Physiol., 1968, **43**, 1722—1726.
8. LAZAROFF N., PITMAN M. G., Australian J. Biol. Sci., 1966, **19**, 991—1005.
9. SALARDINI A. A., KHOSSUSSI M., Z. Pflanzenernährng. Bodenkde., 1972, **131**, 1—6.
10. WALLACE A., TOTH S. J., BEAR F. E., J. Am. Soc. Agron., 1948, **49**, 80—87.
11. WALLACE A., TOTH S. J., BEAR F. E., Agron. J., 1949, **41**, 66—71.

Eingegangen am 10. Dezember 1976

Forschungsinstitut für Getreide
und
technische Pflanzen — Fundulea

DIE OLIGOMYCIN-WIRKUNG AUF DAS
WURZELWACHSTUM, DEN DNS-GEHALT DES
ZELLKERNS UND DIE ULTRASTRUKTUR DER
WURZELMERISTEMZELLEN DER GERSTE
(*HORDEUM VULGARE* L.)

VON

GEORGETA LAZĂR-KEUL, ROZALIA VINTILĂ, VIOREL SORAN,
M. KEUL und CONSTANTIN GRĂCIUN

Oligomycin bewirkt mit steigender Konzentration (0,5; 1,0; 5,0 und 10,0 µg/ml) eine fortschreitende Hemmung des Wurzelwachstums von Gerste-Keimlingen nach 48, 72 und 96 Stunden Anzucht auf Oligomycin. Der DNS-Gehalt der Zellkerne und das Zellkernvolumen der Wurzelmeristemzellen nehmen nach Oligomycin-Behandlung bedeutend ab. Der Hemmstoff der oxydativen Phosphorylierung verursacht degenerative Veränderungen der Ultrastruktur der Mitochondrien und im Cytoplasma.

Als spezifischer Hemmstoff der oxydativen Phosphorylierung und der ATP-Synthese in den Mitochondrien [3], [4], [9], [20], [21], findet Oligomycin bei der Untersuchung aktiver Zelleistungen, die energetisch von der Atmung bzw. von dem in der Atmungskette gebildeten ATP abhängig sind, eine breite Anwendung [3], [12], [13], [15], [21].

In früheren Arbeiten [12], [13] wurde die Wirkung von Oligomycin auf die Protoplasmaströmung der Wurzelhaare der Tomate untersucht. Die starke Hemmwirkung von Oligomycin in Gegenwart von ATP beweist die Bedeutung von ATP als Betriebsstoff für die Plasmaströmung.

Es ist bekannt, daß Funktionsstörungen der Mitochondrien sich auf deren Struktur auswirken [5], [17]. Über die Oligomycin-Wirkung gibt es in dieser Hinsicht wenig Anhaltspunkte. Die vorliegende Arbeit ist der Untersuchung dieser Auswirkung auf die Ultrastruktur der Meristemzellen der Gerste-Keimwurzel gewidmet. Da die auf Oligomycin angezogenen Keimlinge eine starke Hemmung der Wurzelbildung zeigten und cytologische Veränderungen der Meristemzellen erkennen ließen, wurde gleichzeitig der Einfluß auf das Wurzelwachstum, den DNS-Gehalt und das Volumen der Zellkerne des Wurzelmeristems verfolgt.

MATERIAL UND ARBEITSMETHODE

Gerste-Karyopsen (*Hordeum vulgare* L.) wurden in Petri-Schalen auf Filterpapier mit den zu untersuchenden Oligomycinlösungen zur Keimung angesetzt. Die Keimung erfolgte im Brutschrank bei 22°C im Dunkeln.

Oligomycin (rein, Serva-Heidelberg) wurde in absolutem Äthylalkohol gelöst und mit bidestilliertem Wasser auf die Endkonzentration von 0,5; 1,0; 5,0 und 10,0 µg/ml der Arbeitslösungen verdünnt. Der Anteil an Alkohol betrug stets 0,4 %; die Kontrolle in bidestilliertem Wasser enthielt die gleiche Alkohol-Menge.

1. Die Untersuchung des Wurzelwachstums (Abb. 1) wurde 48, 72 und 96 Stunden nach dem Ansetzen vorgenommen. Für jede Versuchsvariante wurden 5 Petri-Schalen mit je 7 Karyopsen angesetzt. Die Versuche wurden dreimal wiederholt.

Die Hemmung (H) des Wurzelwachstums wurde nach Ivanov [8] berechnet:

$$H = \frac{L_K - L_0}{L_0} \times 100$$

(H = die prozentuale Wachstumshemmung; L_K = die mittlere Wurzellänge der Kontrollpflanzen; L_0 = die mittlere Wurzellänge der mit Oligomycin behandelten Pflanzen).

2. Der relative DNS-Gehalt der Zellkerne im Wurzelmeristem wurde nach Ausführung der Feulgen-Reaktion photometrisch bestimmt (Leit-Mikroskop-Photometer MPE). Die Messungen wurden am ersten, zweiten und dritten Tag nach der Keimung an Wurzelmeristemzellen in zwei Wellenlängen (546 und 495 nm) nach Mendelsohn [14] durchgeführt. Die Ergebnisse in Abb. 2 wurden in willkürlichen Einheiten (wE) nach Patat [18] und Mendelsohn [14] berechnet:

$$wE = K \cdot B \cdot C \cdot L_2$$

[K = Konstante; B = Fläche des Maßfeldes; C = relativer DNS-Gehalt; L_2 = Extinktionswert bei 492 nm (50 % des Absorptionsmaximums)].

C = wurde aufgrund der gemessenen Extinktionswerte nach der Formel

$$C = \frac{1}{2 - Q} \times \ln \frac{1}{Q - 1}$$

bestimmt, wobei

$$Q = \frac{1 - T_1}{1 - T_2}$$

[T_1 , T_2 = Transmissionswerte bei 546 nm (Absorptionsmaximum) bzw. bei 492 nm (50 % des Absorptionsmaximums)].

Gleichzeitig wurde das Volumen der Interphasenkerne bestimmt, indem die Durchmesser der Kerne gemessen wurden. Zur Vereinfachung wurden die Zellkerne als kugelförmig angesehen. Die Ergebnisse (Abb. 3) sind Mittelwerte von 100 Messungen je Variante.

3. Die Ultrastruktur der Wurzelzellen. Fragmente von 2 Tage alte Keimwurzeln wurden in 2% Glutaraldehyd bei pH 7,4 (Phosphatpuffer)

fixiert und 1% gepufferter Osmiumsäure nachfixiert. Die Entwässerung erfolgte in Aceton zunehmender Konzentration. Die Einbettung erfolgte in Vestopal W [22]. Die Schnitte wurden mit Uranylacetat und Bleicitrat gefärbt. Die Untersuchung erfolgte mit dem Elektronenmikroskop Tesla BS-613.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Oligomycin-Wirkung auf das Wurzelwachstum geht aus den in Abb. 1 dargestellten Ergebnissen hervor.

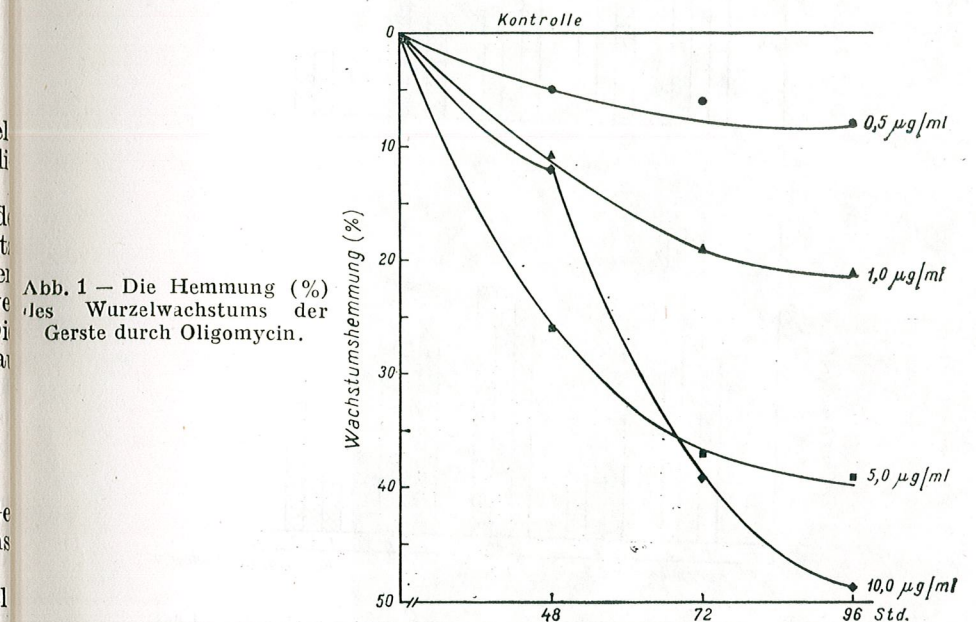


Abb. 1 — Die Hemmung (%) des Wurzelwachstums der Gerste durch Oligomycin.

Die wachstumshemmende Oligomycin-Wirkung ist konzentrationsabhängig. Bei 10 µg/ml Oligomycin ist nicht nur die Hemmung am größten, sondern auch die Keimung wird verzögert. Daher ist die nach 48 Stunden festgestellte Hemmung eigentlich bedeutend größer als angegeben, da nur gekeimte Karyopsen in Betracht kamen.

Diese Feststellungen beweisen, daß beim Wurzelwachstum Stoffwechselreaktionen beteiligt sind, die energetisch von der oxydativen Phosphorylierung abhängig sind und demnach durch Oligomycin gehemmt werden. Es ist bekannt, daß bei der Keimung [22] und dem Wurzelwachstum [6] oxydative Prozesse beteiligt sind und daß Wachstum und Zellvermehrung bei *Schizosaccharomyces* [10] mit der ATP-Synthese zusammenhängen. Die Oligomycin-Wirkung auf das Wurzelwachstum ist wahrscheinlich komplexer Natur. Die Hemmung der oxydativen Phosphorylierung bedingt eine Herabsetzung des ATP-Spiegels in den Wurzeln verschiedener Pflanzen [3] [9], wodurch wichtige Synthesereaktionen beeinträchtigt werden können [18]. Andererseits wird dadurch der aktive Stoff-

transport unmittelbar oder über die Blockierung außermitochondrialer ATPasen-Systeme unterbunden [3] [4] [7] [9] [11] [15].

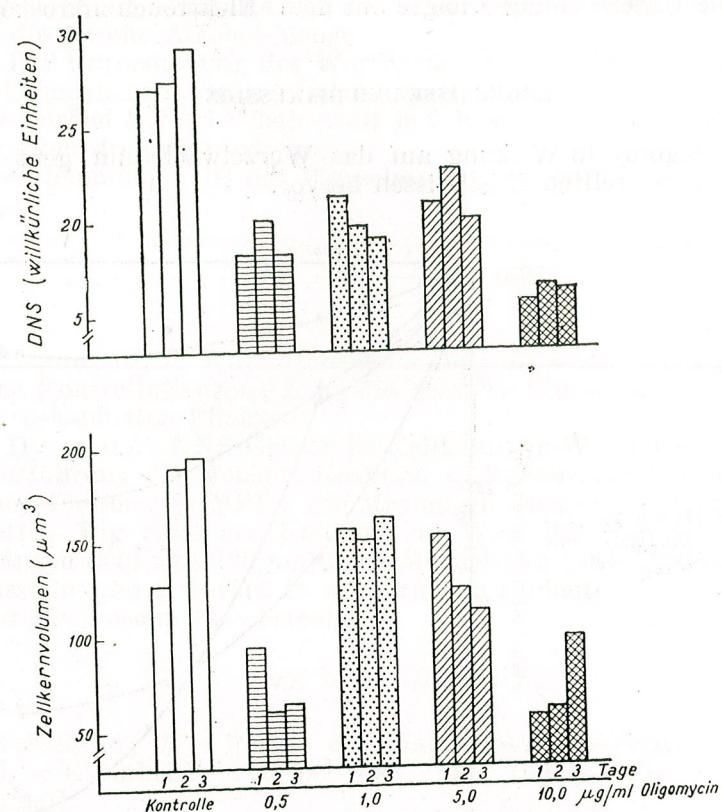
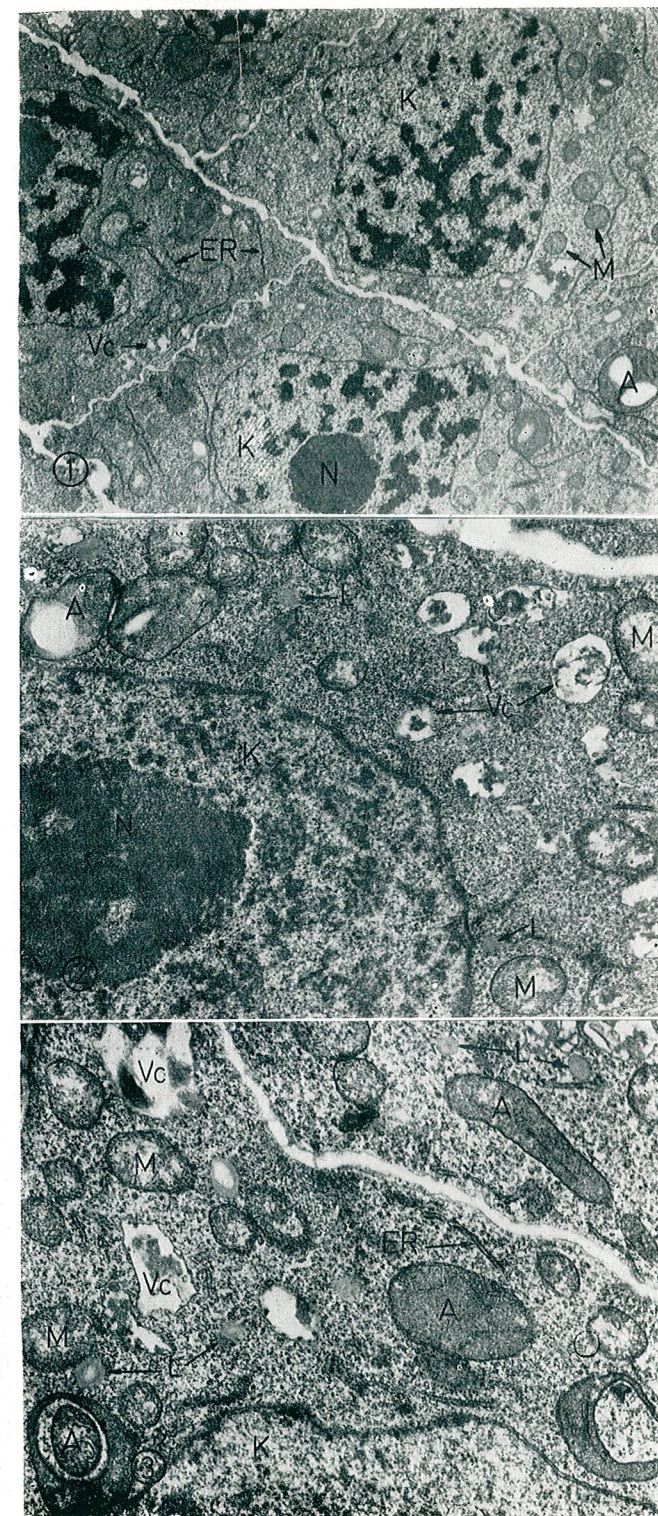
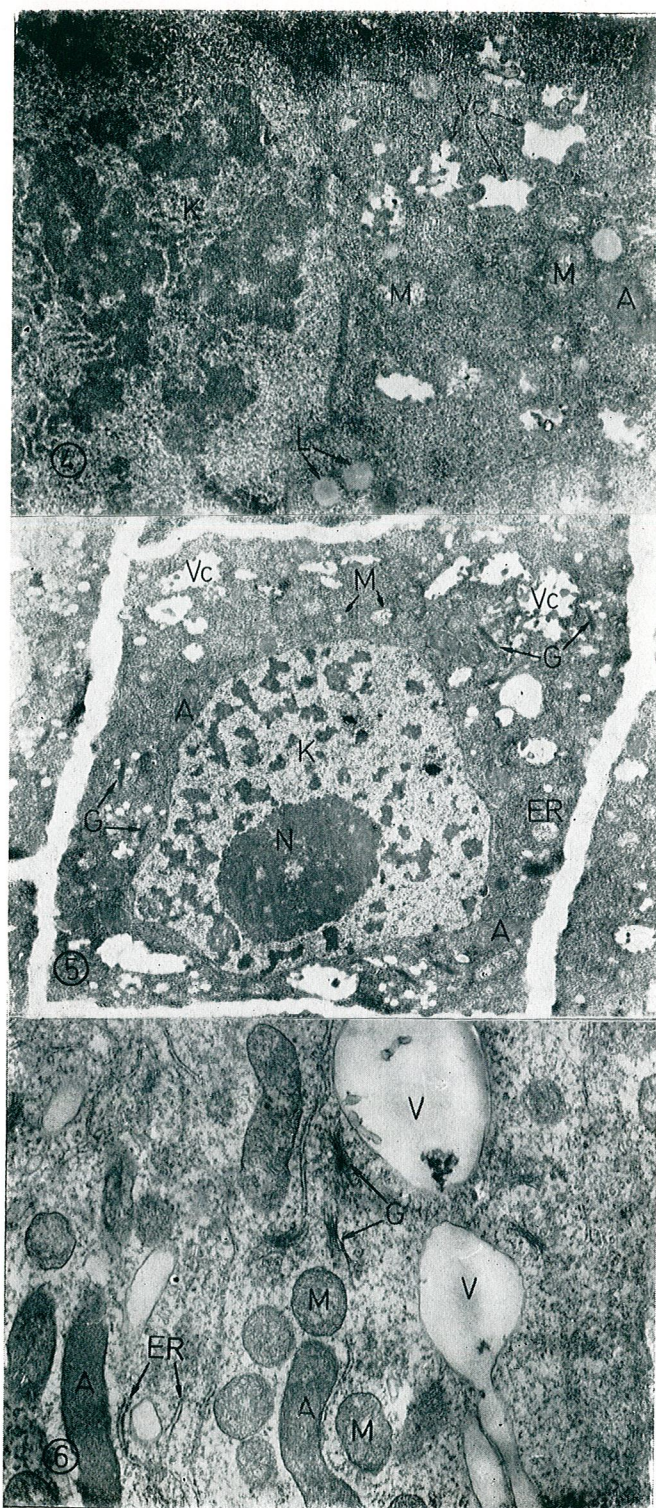


Abb. 2—Die Wirkung von Oligomycin auf den DNS-Gehalt und das Kernvolumen der Wurzelmeristemzellen der Gerste am 1., 2. und 3. Tag nach der Keimung.

Die Ergebnisse der Oligomycin-Wirkung auf den DNS-Gehalt und das Volumen der Zellkerne des Wurzelmeristems in Abb. 2 unterstützen die Behauptung, wonach ein herabgesetztes ATP-Angebot sich unmittelbar auf die Synthese lebenswichtiger Makromoleküle auswirkt [18]. Besonders der DNS-Gehalt der Zellkerne ist bei den auf Oligomycin angezogenen Keimwurzeln bedeutend vermindert. Die Hemmung ist nicht streng konzentrationsabhängig, doch ist auch in diesem Falle die maximale Konzentration (10 μg/ml) am wirksamsten.

Die Untersuchung der Oligomycin-Wirkung auf die Ultrastruktur der Wurzelmeristemzellen läßt gegenüber der Kontrolle (Tafel I/1) Veränderungen der wichtigsten Organellen erkennen. Wie erwartet sind besonders die Mitochondrien gegenüber Oligomycin anfällig. Nach 5 μg/ml Oligomycin (Tafel I/2 und Tafel I/3) weisen die Mitochondrien der Meristemzellen Membranschäden, vesikelartige Aufblähungen der Cristae





4. Die Ultrastruktur einer Wurzelmeristemzelle nach Anzucht auf 10 µg/ml Oligomycin ($\times 21\,000$).

A = Amyloplast; ER = endoplasmatisches Retikulum; K = Kern; L = Lipid-tropfen; M = Mitochondrien; Vc = Cytoplasma-Vakuolen.

5. Die Ultrastruktur einer Wurzelmeristemzelle nach Anzucht auf 10 µg/ml Oligomycin ($\times 8\,000$).

6. Die Ultrastruktur einer Zelle der Streckungszone nach Anzucht auf die 10 µg/ml Oligomycin ($\times 18\,000$).

A = Amyloplast; ER = endoplasmatisches Retikulum; G = Golgi-Apparat; K = Kern; N = Nucleolus; M = Mitochondrien; Vc = Cytoplasma-Vakuolen.

Vakuolisierungen und granuläre Verdichtungen der Matrix auf, wie sie bisher unter dem Einfluß von Atmungsgiften und Sauerstoffentzug [17] und Antibiotika [2] [23] beschrieben wurden. Im Cytoplasma erscheinen degenerative Veränderungen, wie osmiophile (Lipid-?) Tropfen und zahlreiche Vakuolisierungen mit osmiophilen Ablagerungen. Das Grundplasma erscheint elektronenoptisch dichter und ribosomenreicher. Im Nukleolus entstehen Vakuolen [1]. Die bei der Kontrolle häufig anzutreffenden Stärkeeinschlüsse der Amyloplasten verschwinden fast vollständig, wie nach Sauerstoffabschluß [16]. Der Abbau der Stärke scheint demnach z. T. den Energiebedarf der Zellen über die Glykolyse und die Substratphosphorylierung, die durch Oligomycin nicht blockiert werden [21], zu decken.

Ähnliche, wenn auch weniger stark ausgeprägte Veränderungen sind auch in den Zellen der Streckungszone festzustellen (Tafel II/6).

Nach Behandlung mit 10 µg/ml Oligomycin (Tafel II/4 und II/5) wird ein fortgeschrittenes Stadium der Veränderungen durch Oligomycin erreicht. Die Mitochondrienstruktur ist fast vollständig zerstört, die Lipid-tropfen und Vakuolisierungen im Cytoplasma erscheinen zahlreicher. Gleichzeitig wird eine Zunahme der Elemente des Golgi-Apparates festgestellt (Tafel II/5), wobei eine verstärkte Bildung von Mikro- und Makro-vesikeln beobachtet wird.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß die Hemmung der oxydativen Phosphorylierung durch Oligomycin primär mit degenerativen Veränderungen der Mitochondrienstruktur korreliert ist, wodurch andere wichtige Zellbereiche und Zellprozesse betroffen werden. Der Stillstand der Protoplasmaströmung [12] [13] kann als erstes Anzeichen einer funktionellen Störung der Mitochondrien gewertet werden.

LITERATUR

1. BARSY de T., DELTOUR R., BRONCHART R., J. Cell Sci., 1974, **16**, 95–112.
2. BEHN W., ARNOLD C. G., Protoplasma, 1974, **82**, 77–89.
3. BLEDSOE C., COLE C. V., ROSS C., Plant Physiol., 1969, **44**, 1040–1044.
4. CONTESSA A. R., BRUNI A., Biochim. Biophys. Acta, 1971, **241**, 334–340.
5. DAVID H., Struktur der Mitochondrien. In: H. BIELKA, Molekulare Biologie der Zelle, VEB Fischer Verlag, Jena, 1969, 466–502.
6. EDWARDS K. L., SCOTT T. K., Planta, 1974, **119**, 27–37.
7. FISHER J., HODGES T. K., Plant Physiol., 1969, **44**, 385–395.
8. IVANOV V. B., Jurn. Obsč. Biol., 1966, **27**, 299–312.
9. JACOBY B., PLESSNER O. E., Planta, 1970, **90**, 215–221.
10. LABAILLE M. F., GOFFEAU A., Arch. Internat. Physiol. Biochem., 1975, **83**, 379–380.
11. LÄUCHLI A., EPSTEIN E., Plant Physiol., 1971, **48**, 111–117.
12. LAZÄR-KEUL G., KEUL M., Rev. Roum. Biol.-Bot., 1977, **22**, 59–63.
13. LAZÄR-KEUL G., KEUL M., SORAN V., Biochem. Physiol. Pflanzen (BPP), 1974, **166**, 255–262.
14. MENDELSON M. L., In: WIED Introduction to Quantitative Cytochemistry, Acad. Press, New York – London, 1966, 201–214.

15. MILLER R., PEVERLY J. H., KOEPPE D. E., Agron. J., 1972, **64**, 262—266.
16. MORISSET C., C. R. Acad. Sci. Paris, 1974, **D 278**, 3199—3202.
17. — C.R. Acad. Sci. Paris, 1974, **D 279**, 1257—1260.
18. PATAU K., Chromosoma, 1952, **5**, 341—362.
19. PLATE C. A., SUIT J. L., JETTEN A. M., LURIA S. E., J. Biol. Chem., 1974, **249**, 6138—6143.
20. ROSSUM G. D. VAN, Biochim. Biophys. Acta, 1976, **423**, 111—121.
21. SLATER E. C., TER WELLE H. F., *Applications of Oligomycin and Related. Inhibitors in Biogenetics*. In: BÜCHER T. H. and SIES H., *Inhibitors Tools in Cell Research*, Springer Verlag, 1969, 258—278.
22. SPEER H. L., Plant Physiol., 1973, **52**, 142—146.
23. VINTILĂ R., CRĂCIUN C., SORAN V., Rev. Roum. Biol.-Bot. (im Druck).

Eingegangen am 21. Januar 1977

Biologisches Forschungszentrum
3400 Cluj-Napoca
Str. Republicii 48

THE CULTURE OF SOME FILAMENTOUS GREEN ALGAE UNDER DIFFERENT CONDITIONS OF LIGHT AND NUTRITIVE MEDIA.

II. ULTRASTRUCTURAL PECULIARITIES OF THE ALGAE *STICHOCOCCUS BACILLARIS* AND *GLOEOTILA PROTOGENITA*

BY

A. MARTON, S. PÉTERFI and C. CRĂCIUN

Die Grünalgen *Stichococcus bacillaris* Naeg. und *Gloeotila protozenita* Kütz. wurden in 4 experimentellen Varianten, mit unterschiedlichen Beleuchtungs- und Nährmedium-Bedingungen kultiviert.

Die Ultrastruktur der Algen ähnelt sich: geschichtete Zellmembran, wandständiger Chloroplast mit grana-ähnlichen Bildungen, 1—2 intraplastidiale Pyrenoiden, ohne Amidon-Hülle, aber segmentiert durch die Durchdringung des Pyrenoids durch parallele Reihen einzelner Thylakoiden, zentraler Zellkern, polare Vakuolen, usw.

Die Alge *Gloeotila* ist durch kontinuierliches Licht stark stressiert. Bei *Stichococcus* ruft dieser Faktor, Zellwand-Veränderungen hervor, eine Reduzierung des Chloroplasten, der Thylakoiden-Anzahl, wie auch der Pyrenoiden-Segmente.

In intensiver Kultur weisen die Algen eine Ultrastruktur auf, die einen normalen physiologischen Zustand anzeigt. Stickstoff-Mangel bedingt eine starke Vakuolisierung der Zellen, eine Verkleinerung des Chloroplasten, ohne die Amidon-Zunahme zu verringern.

In a complex research concerning the laboratory cultivation of some filamentous green algae we previously presented [32] the results obtained in the biomass variation, the pigments and proteins quantity as related to the light and nutritive medium. This work is referring to the ultrastructural characteristics of *Stichococcus bacillaris* and *Gloeotila protozenita*, two of the studied algae, in four experimental variants.

There are very few comparative data in literature, and they concern only the *Stichococcus* alga. Thus, Sorokin et al. [39] present some modifications of the chloroplast shape as related to the cultivation conditions, Pickett-Heaps [33], [34] characterizes the ultrastructure of the alga during cell division, and Silverberg [38] describes the pyrenoid in *Stichococcus* sp.

MATERIAL AND METHOD

The green alga *Stichococcus bacillaris* Naeg. has been collected on the 20th of November 1968, from the "Știucilor" Lake, at Săcălaia (the county of Cluj), and *Gloeotila protozenita* Kütz. from the water sources on the bank of river Someșul Mic in Cluj-Napoca. Both algae have been isolated in unialgal cultures, by their successive transition in liquid and solid media (with 15 % agar), having different compositions. In order to remove the

contaminants, a series of diversely concentrated antibiotics and antiseptics [19], [20] have been used. The experimental conditions were previously described [32]. The above-mentioned algae have been cultivated in four variants with the following characteristics: I. static culture in Knop-Pringsheim nutrient medium, liquid and with agar, NW natural light room temperature ($20^{\circ}\text{C} - 24^{\circ}\text{C}$), for 21 days; II. static culture, in the same medium, for 7 days in fluorescent continuous light of 6,000 lx intensity, followed by 14 days of natural light; III. intensive culture bubbled with air and 3 — 5 % CO_2 , at 9,000 lx intensity of fluorescent light, for 12 hours light/ 12 hours darkness, at 22°C temperature ($\pm 1^{\circ}\text{C}$), in Knop-Pringsheim medium, for 14 days, and IV. intensive culture identical with variant III, excepting the medium, which in this variant was the Bold medium with soil extract.

The dynamics of the algal biomass, of the pigments and proteins quantity under these experimental conditions was previously presented [32].

For the electron-microscopy study, the algal material was slightly centrifugated after its cooling at $0 - 4^{\circ}\text{C}$. The suspension was fixed with 6 % glutaraldehyde and 1% osmic acid in phosphate buffer solution. After dehydration in successive acetone baths, the material was included in vestopal W, and then sectioned with the LKB III ultramicrotome. The sections were contrasted with uranyl acetate and lead citrate. The grids were examined under Tesla BS-613 electron-microscope.

RESULTS AND DISCUSSIONS

THE ULTRASTRUCTURAL CHARACTERIZATION OF *STICHOCOCCUS BACILLARIS* NAEG.

Experimental variant I. The elongate cells, rounded at the ends, of $4 - 10 \mu$ in length and $2 - 4 \mu$ in width, were surrounded by a cell membrane which seemed to be three-layered (W, plate 1, I. a). The interface between the cytoplasmic membrane and the denser second layer was not a straight, continuous line, but presented more or less deep undulations and folds. This denser layer apparently had a uniform structure. With the cells in division, only this layer, probably of cellulose-like nature, contributed to form the separating wall. The third external layer, of pectic nature and with a much more reduced density, did not penetrate through the cells when they were merged into a short filament. Some similar structures have been described by Atkinson et al. [3] in *Chlorella*, by Bisalputra and Weier [5] in *Scenedesmus*, and by Hibberd [14] in *Chlorobotrys*.

The chloroplast, wrapped in a double membrane, had become parietal, extending on $2/3$ or all over the length and, respectively, on $1/2 - 2/3$ of the circumference of the algal cell. In the median part of the cell, it often exceeded $2/3$ of the cell circumference. In this part a pyrenoid was usually formed between the parietal lamellae of the chloroplast and the median ones, contributing to the bulky organelle aspect of the chloroplast and discrediting to a certain extent the generally used term of "parietal

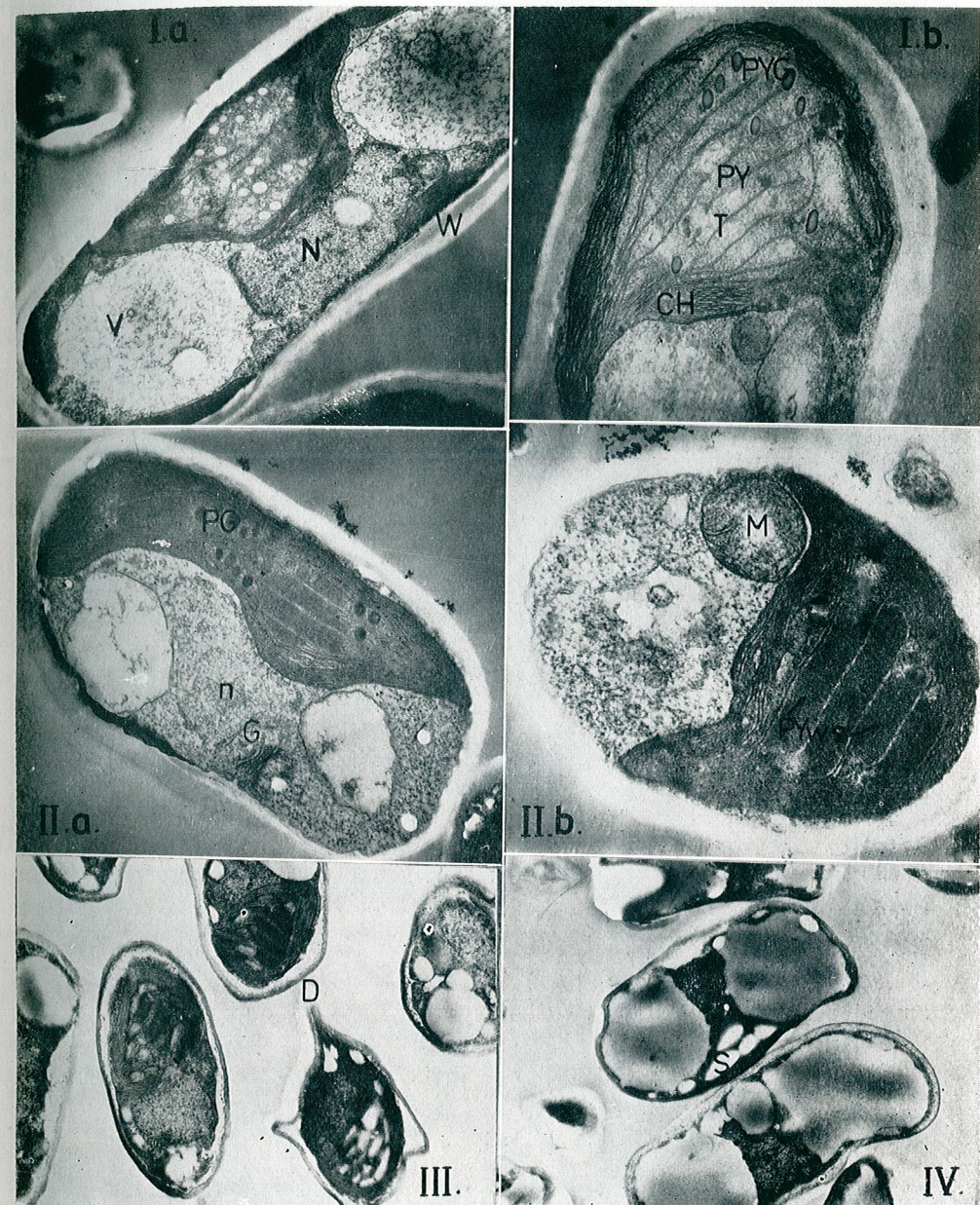


Plate 1. Ultrastructural aspects of *Stichococcus bacillaris* under various experimental conditions.

- I. a. Longitudinal section, $\times 14,300$. N=nucleus, V=vacuole, W= cell wall.
 I. b. Longitudinal section, $\times 20,500$. PY=pyrenoid, PYG=pyrenoglobuli, CH=chloroplast, T=thylakoid.
 II.a. Longitudinal section, $\times 20,500$. PG=plastoglobuli, n=nucleolus, G= Golgi apparatus.
 II.b. Oblique section, $\times 28,700$. M=mitochondria, PYws=pyrenoid white spaces.
 III. General view, $\times 8,900$. D=cell wall deformation.
 IV. General view, $\times 10,300$. S=interplastid starch.

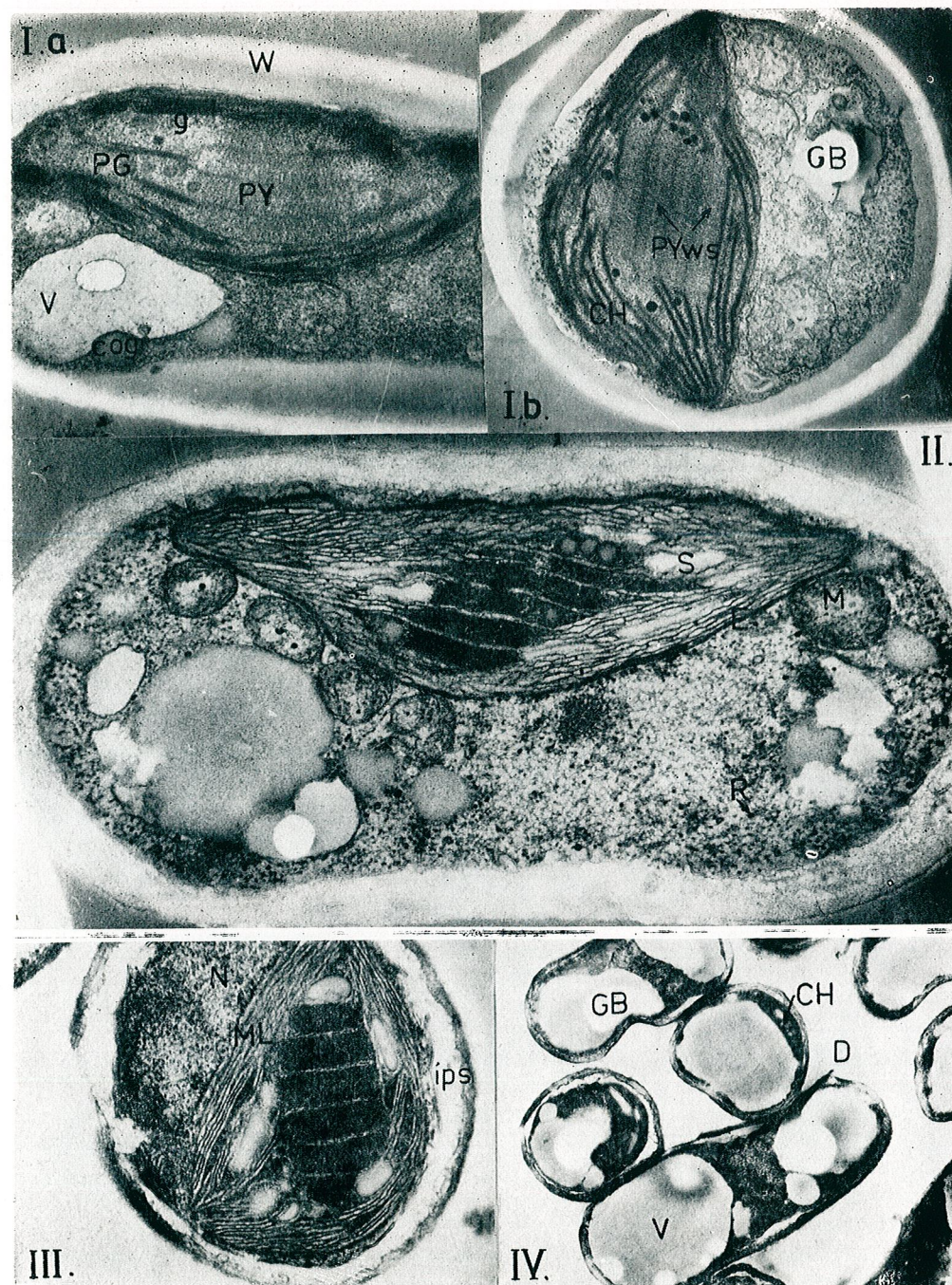


Plate 2. Ultrastructural aspects of *Gloeotila protozenita* under various experimental conditions. I.a. Longitudinal section, $\times 29,000$. W=cell wall, PG=plastoglobuli, g=grana, cog=cytoplasm osmiophilic grains, V=vacuole, PY=pyrenoid. I.b. Cross section, $\times 20,000$. CH=chloroplast, PYws=pyrenoid white spaces, GB=gas bubbles. II. Longitudinal section, $\times 31,500$. M=mitochondria, S=interplastid starch, E=chloroplast envelope, R=ribosomes. III. Cross section, $\times 28,700$. N=nucleus, ML=chloroplast median lamellae, ips=incipient plasmolysis. IV. General view, $\times 9,500$. V=vacuole, D=cell wall deformation, GB=gas bubbles, CH=chloroplast.

lamellae". The thylakoids (we mention here the use of the terminology suggested by Bisalputra [4] and Gibbs [11]) were developed along the cell in parallel rows, without forming strips, but in certain cases they were joined and gave the impression of grana. Within the chloroplast, more or less dense oval or spheric osmiophilic granules were seen in the plastids (PG); they were considered as metabolic products accumulated in this organelle. In the chloroplast stroma there were numerous ribosomes, but smaller than the cytoplasmic ones.

The oval or spherical pyrenoid, usually sited in the central part, but in other positions too (Plate 1, I. b), was neither delimited by a membrane of its own, nor covered by a starch sheath. In some cells it could be hardly distinguished from the chloroplast stroma, a fact also pointed out by Pickett-Heaps [33] and by Silverberg [38] in the same alga, especially in the early phases. The mass of the pyrenoid was more or less uniformly crossed by parallel rows of thylakoids, always arranged by ones [38]. The structure of the pyrenoid did not seem uniform: in its mass numerous osmiophilic granules, resembling those present in the chloroplast (PYG), were distinguished. In section, the pyrenoid appeared as being divided by the thylakoids into 7 — 9 segments of similar thickness. The presence of the osmiophilic granules both within the pyrenoid and outside it, among the thylakoids, proved the good function of the cell and a moderate accumulation of stock substances. The presence of the pyrenoid and its relatively big volume showed that the synthesis processes of the alga were directed toward the formation of lipidic and protidic substances. In some older cells one also found two pyrenoids having 7 — 9 segments, denser and more visible, disposed at the extremity of the cells. This very likely represented an advanced stage of substance accumulation preceding cell division.

In the cytoplasm we could see two polar vacuoles, a centrally sited bulky nucleus, compressed by the median lamellae of the chloroplast and facing the pyrenoid, and oval or spherical profiles of mitochondria (M) with a light-coloured lumen. The nucleus appeared well delimited by a double membrane and had an inner nucleolus (n). Its volume extended on $1/4 - 1/3$ of the cell length and $1/2$ of the circumference, being smaller and oval in the younger cells and bigger, long, and deformed in the mature ones.

Considering this experimental variant as closer to the natural conditions of the alga — mineral nutritive medium with mean concentration of salts, NW natural light, etc. — we took it as control and compared to it the alga grown under the other experimental conditions. As in the ontogenetic development of the algae the ultrastructural characters are modified too [6], [34], [38], [39], only the cells in the same developing phase have been compared.

Experimental variant II. The conservation in continuous light for 7 days in the initial phase of cultivation determined some modifications of the ultrastructure, but which did not seem very marked. Thus, we observed a growth in thickness of the mucilaginous layer, a decrease of the chloroplast, which extended only on $1/2$ of the cell circumference, smaller vacuoles (Plate 1, II. a) and a larger number of cytoplasmic ribosomes (Plate 1, II. b). In the chloroplast the thylakoids were reduced and thickened. The pyrenoid, obviously denser than the chloroplast stroma,

had a smaller volume and less numerous segments (3—4). It is interesting to mention that a white space was observed in the median part of the segments (PYws). This white pyrenoid space was mentioned also by Silverberg [38] in a *Stichococcus* sp. strain. In this case there were four segments too. We presume that these spaces were caused by the destruction of the thylakoids crossing the pyrenoid. This presumption is sustained by: the reduction of the pyrenoid segments to a half as compared to variant I; the diminished number of thylakoids, generally in the chloroplast; sometimes the number of thylakoids penetrating the pyrenoid was larger than the number of its segments. It is obvious that this phenomenon was induced by the continuous light, a stressing factor for the alga. In certain cases, two pyrenoids were observed.

Experimental variant III. The alga was best developed and had the largest biomass accumulation and the most numerous pigments. Concerning the ultrastructure we mention the following aspects: certain deformations of the cell membrane, the diminishing of the volume and of the spatial extension of the chloroplast, the interplastid, but also cytoplasmic accumulation of starch grains (Plate 1, III). The modifications in the cell membrane seemed to be due especially to some thickenings and to the unequal expansion of the median cellulose layer, while the external mucilaginous layer was much thinner. These modifications had the aspect of longitudinal crests, and also of protuberances or spurs. The chloroplast extended under 1/2 of the cell circumference, the thylakoids were less numerous, the pyrenoid, with a reduced volume, had less numerous segments, but thicker than in the above described variants. The starch accumulated around the pyrenoid, without forming a continuous sheath, among the thylakoids that penetrated into its inner part. This demonstrates their good photosynthetic function under the given conditions, a proportionate accumulation of proteic and carbohydrate storage substances. The vacuole formation in cells was more marked and a starting plasmolysis was observed, a phenomenon we cannot explain for the time being.

Experimental variant IV. As shown in the previous work [32], in this variant the cultures lost their colour after 7—10 days, a fact underlined by the much smaller quantities of pigments. This phenomenon was caused by the insufficient amount of nitrogen in the nutritive medium. Ultrastructurally, the following were observed: deformations of cell membrane, strong vacuole formation in the cell, substantial decrease of the chloroplast, of the pyrenoid, but a more intense accumulation of starch, decrease of the nucleus volume. The modifications of the cell membrane were similar to those previously presented. Cells having 2—3 longitudinal crests and also longitudinal ditches were found here. It is worth mentioning that the cytoplasm did not penetrate through the folds of the cellulose layer of the cell membrane, so that these appeared as empty, white spaces. The chloroplast was markedly decreased (Plate 1, IV), and the pyrenoid had 3—4 segments. In this variant, like in the third one, the pyrenoid white spaces did not appear. This strengthened our conviction that these spaces were only due to light stressing conditions, as the 1,000-ix intensity under optimum working conditions of light/darkness had been favourable to this alga cultivation [17], [18], [21], [23]. In the cytoplasm,

numerous osmiophilic grains have been also found, demonstrating a more intense synthesis of the lipids.

Few data are found in literature concerning the ultrastructural characteristics of the algae under different physiological conditions. Budd et al. [8] in an experiment on *Chlorella* observed that in light the chloroplast and other cell organelles were normal. In dark, when glucose and galactose were present, ultrastructural modifications also took place through heterotrophism: the chloroplast decreased, the storage material accumulated to a lower extent and the cell wall became thinner. In our experiment, the reduced chloroplast and small number of thylakoids were due to a protracted lightening.

THE ULTRASTRUCTURAL CHARACTERIZATION OF *GLOEOTILA* PROTOGENITA KÜTZ

Experimental variant I. In optical microscopy the alga resembled *Stichococcus*, but our observations on liquid and solid selective media rendered evident a greater tendency of filaments formation, a mucilaginous layer around the contorted filaments, the raising of the alga towards the surface of the liquid medium — unlike *Stichococcus*, which was deposited at the bottom of the vessels —, the presence at the ends of some spherical formations, formerly considered as oil drops or gas bubbles. The electron micrographs showed that the ultrastructure of the alga resembled that of *Stichococcus*, but with some differences, emphasized also by a different physiological behaviour to the tested factors: light and nutritive medium.

The cell membrane was obviously stratified (Plate 2, I. a, b). The chloroplast was less extended, having a variable number of thylakoids, here and there merged into grains (g). The central pyrenoid, crossed by thylakoids, had 4—6 segments and white pyrenoid spaces (PYws). The osmiophilic granules and the plastoglobuli were frequent here too. The nucleus was more or less central and the polar vacuoles usually had white spherical or oval formations, considered by us as gas bubbles. This would also explain the mechanism of cell raising to the nutritive media surface. In the cytoplasm, big, spherical, and oval profiles of mitochondria, osmiophilic granules (cog) as well as numerous ribosomes could be observed. We have seldom detected two elongate pyrenoids in the chromatophore.

Experimental variant II. In continuous light the alga has not survived. Only after a long period and very seldom have some resistant colonies been formed on the agar media. On some of them we carried out our observations. They had (Plate 2, II) a considerably thickened membrane, due especially to the cellulose stratum with an uneven structure. The chloroplast was reduced, the pyrenoid having 3—4 unequally thick segments. Near the pyrenoid, among the thylakoids, starch grains were found, as well as pyrenoglobuli. The thylakoids had a changed arrangement, looking like a net with irregular lateral anastomoses. Both the cytoplasmic ribosomes and those on the external membrane of the chloroplast seemed bigger.

Experimental variant III. The alga was well developed and with high content of pigments. From the ultrastructural point of view (Plate 2, III) it was found that the cell membrane external layer almost completely disappeared, the chloroplast and the pyrenoid developed well, the nucleus was voluminous and the other organelles normal. The pyrenoid had 6 — 8 thicker segments and starch grains around it. An incipient plasmolysis was noted. Parallely, certain cell deformations, resembling those seen in *Stichococcus*, were present. Many gas bubbles were observed in the cytoplasm.

Experimental variant IV. The alga presented cell membrane deformations (D, Plate 2, IV) and a strong vacuolization parallel to the chloroplast (CH) and pyrenoid decrease; the nucleus was diminished. The starch grains accumulated and the number of gas bubbles in the vacuole increased.

Our research rendered evident some contrary phenomena. Modifications caused by the experimental factors were seen in both algae: the decrease of the chloroplast, of the number of thylakoids, of the pyrenoid segments, accumulation of starch parallely to the growth of light intensity and duration. In the intensive cultures, a stronger biosynthesis was observed; it brought about a massive and unequal development of the cellulose stratum of the cell membrane, the almost complete disappearance of the external stratum, a higher accumulation of starch. On the other hand, the specific behaviour of the studied algae concerning the continuous light was obvious; the latter seemed destructive for *Gloeotila*, demonstrating its preference for reduced light intensities.

Many contradictions are found in literature also when referring to the systematics of these algae. The systematics of the genus *Stichococcus* is due to Chodat [10], who described 8 species without pyrenoid. In 1938, 7 species of the algal flora of our country were also described [12]. But Artari [1] was doubtful of the number of different species, Brandt [6] accepted a single species, *S. bacillaris*, as differing from *Hormidium* and *Ulothrix*—a fact found also by us (in more than six years of cultivation no other form of multiplication was observed except that through cell division), while Matruchot and Molliard [25] and Oltmans [27] put *Stichococcus* together with *Hormidium*. Chodat [10] thought that the alga differed from *Hormidium* by the lack of the pyrenoid, a fact underlined by many other authors too, both in *Stichococcus* and *Gloeotila* [13], [15], [26], [35], [36]. As early as in 1896, Klercker [16] affirmed that *Stichococcus subtilis* had a pyrenoid, while recent data in electron microscopy [33], [34], [38] and the ones presented by us showing such obvious proof put an end to the long dispute.

As concerns the polymorphism of the alga *Stichococcus*, Chodat [10] and Rădulescu [37] considered it as reduced, but Artari [1] showed the large variability of the shape and dimensions of the alga under different cultivation conditions. The morphologic modifications in *Stichococcus* and *Gloeotila* under the pH action were pointed out by Péterfi too [28]. Vischi [40] considered the filaments formation as due to the action of different ions on the imbibition degree of the cell membrane, and Arzimowitsch [2] attributed it to the salts concentration. Our data showed that the external mucilaginous layer could be modified under the action of light

even disappear, as a consequence of the mechanical action of bubbling within the intensive cultures. The numerous modifications of shape, the longitudinal crests, the spurs, the various dimensions, etc. found by us in this work and in many other experiments [19] — [24], [29] — [32], as well as by other authors, referring to the internal modifications of the chloroplast parallely to those of the cell size [39] prove that the alga polymorphism is a reality.

CONCLUSIONS

The ultrastructural characteristics of the algae *Stichococcus bacillaris* Naeg. and *Gloeotila protogenita* Kütz. are very similar: tristratified cell envelope, parietal chloroplast with formations resembling the grana, 1 — 2 pyrenoids crossed by a thylakoid and divided into 4 — 8 segments, a central nucleus, and polar vacuoles.

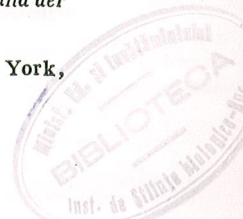
Their physiological behaviour and certain ultrastructural peculiarities are however differing under experimental conditions. The great sensitivity of *Gloeotila* to continuous light is especially observed.

As compared to conditions considered as resembling the natural ones, the continuous light is a stressing factor for the algae, determining modifications of the membrane thickness, the diminishing of the chloroplast, of the thylakoids number, and of the pyrenoids segments. In intensive cultures a more accelerated biosynthesis is observed. The deficiency of nitrogen in Bold medium brings about a strong vacuolization process and the decrease of the chloroplast, without lowering starch formation and accumulation.

The data obtained by electron microscopy sustain a scientific taxonomical range of these algae. The presence of the pyrenoid is doubtless. It is not the shape, the size, or the lack of a starch cap which contribute to their taxonomic delimitation, but especially the permanence of one-thylakoid parallel rows which cross the pyrenoid.

REFERENCES

1. ARTARI A., Jahrb. wiss. Bot., 1904, **40**, 593.
2. ARZIMOWITSCH M., Arb. Bot. Kab. Centr. Moorversuch. Minsk, 1930, **1**, 95—148.
3. ATKINSON A. W., GUNNING B.E.S., JOHN P.C.L., Planta (Berlin), 1972, **107**, 1—32.
4. BISALPUTRA T., in: STEWART W.D.P. (ed.), *Algal Physiology and Biochemistry*. Blackwell Scientific Publications, Oxford — London — Edinburgh — Melbourne, 1974, p. 124—160.
5. BISALPUTRA T., WEIER T. E., Amer. J. Bot., 1963, **10**, 1011—1019.
6. — Amer. J. Bot., 1964, **8**, 881—892.
7. BRANDT W., Ber. deut. bot. Gesel., 1913, **30**, 64.
8. BUDD T. W., TJOSTEM J. L., DUYSSEN M. E., Amer. J. Bot., 1969, **5**, 540—545.
9. CHODAT R., *Étude critique et expérimentale sur le polymorphisme des algues*, Genève, 1909, p. 118.
10. — Matér. Flore Cryptog. Suisse, 1913, **2**, 114.
11. GIBBS S. P., Ann. New York Acad. Sci., 1970, **175**, 454—473.
12. GRINTESCU I., PÉTERFI S., Rev. Algol., 1932, **6**, 159—175.
13. HEERING W., in: PASCHER A. (ed.), *Die süßwasser Flora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz*, **6**, Chlorophyceae 3.
14. HIBBERD D. J., Brit. phycol. J., 1974, **9**, 37—46.
15. IYE NGAR M.O.P., in: SMITH G.M. (ed.), *Manual of Phycology*. Roland Press, New York, 1951, p. 21—67.



16. KLERCKER I., Flora, 1896, 57, 90.
17. KOSSIKOV K. V., Mikrobiologhia, 1969, 5, 811—815.
18. KOSSIKOV K. V., KARNAUKOVA E. A., Mikrobiologhia, 1970, 6, 1079—1081.
19. MARTON A., St. Cerc. Biol. Ser. Bot., 1973, 1, 79—85.
20. — St. Cerc. Biol. Ser. Bot., 1973, 4, 341—346.
21. — Rev. roum. Biol., 1975, 1, 49—53.
22. MARTON A., CACHIȚĂ-COSMA D., St. Cerc. Biol. Ser. Bot., 1974, 1, 47—51.
23. — St. Cerc. Biol., 1974, 3, 179—182.
24. MARTON A., CHINDRIS E., Clujul med., 1974, 2, 387—394.
25. MATRUCHOT L., MOLLIARD M., Rev. gén. Bot., 1902, 14, 193.
26. MATTOX K. R., BOLD H. C., *Phycological studies*. III. Univ. Texas Publ. No. 6222, 1—67.
27. OLTMANS F., *Morphologie und Biologie der Algen*. Gustav Fischer, Jena, Bd. I, 1905.
28. PÉTERFI S., Bul. Grăd. Bot. Cluj, 1939, 19.
29. PÉTERFI S., MARTON A., Studia Univ. Babeș-Bolyai — Biologica, 1977, 1, 20—27.
30. — Studia Univ. Babeș-Bolyai — Biologica, 1977 (in press).
31. PÉTERFI S., MARTON A., CACHIȚĂ-COSMA D., Rev. roum. Biol., Biol. vég., 1976, 1, 25—30.
32. PÉTERFI S., MARTON A., ȘIRBAN M., BERCEA V., Rev. roum. Biol., Biol. vég., 1977, 1, 47—50.
33. PICKETT-HEAPS J. D., Brit. phycol. J., 1974, 9, 63—73.
34. — *Green Algae. Structure, Reproduction, and Evolution in Selected Genera*. Sinauer Association Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, 1975.
35. PRESCOTT G. W., *Algae of the Western Great Lakes Area*, 1962.
36. PRINTZ H., Hydrobiologia, 1964, 24, 1—376.
37. RĂDULESCU E., *Cercetări experimentale asupra fiziologiei algei verzi Stichococcus bacillans Naegeli*. București, 1939, Thesis No. 168, p. 89.
38. SILVERBERG B.A., Trans. amer. micros. Soc., 1975, 3, 417—421.
39. SOROKIN C., CORBETT M. K., NISHINO SHIRLEY, J. Phycol., 1972, 8, 152—156.
40. VISCHER W., Bull. Soc. Bot. Genève, 1926, 18, 22.

Received November 29, 1976

The Biological Research Centre
Cluj-Napoca
Str. Republicii 48

QUELQUES PROCESSUS PHYSIOLOGIQUES SUIVIS PENDANT LE CYCLE DE DÉVELOPPEMENT D'UNE CULTURE SYNCHRONES DE *CHLORELLA COELASTROIDES*

PAR

LUCIA POLESCU-IONĂȘESCU

Les algues *Chlorella coelastroides* ont été synchronisées en appliquant une succession de 14 heures lumière et 8 heures d'obscurité.

Les densités optiques déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre ont indiqué une forte synthèse de la chlorophylle *a* et des pigments carothénoïdes pendant les 8 premières heures de la phase lumière ; une diminution se produisait pendant les 6 heures suivantes. Une nouvelle synthèse commençait au début de la période d'obscurité et celle-ci était suivie d'une baisse continue de la courbe.

On a obtenu un graphique similaire pour la chlorophylle *b*, mais le maximum de la quantité est atteint dans la 10^{ème} heure de lumière. Pendant le cycle entier, le rapport chlorophylle *a/b* se maintenait à la valeur 3.

L'incorporation de la glycine marquée par la suspension d'algues indiquait une synthèse protéique pendant les 4 heures de la phase lumière ; les 6 heures suivantes correspondaient à une saturation, ensuite se produisait une élimination de la glycine dans le milieu ; une nouvelle synthèse se déclenchait pendant les 4 premières heures d'obscurité, ce qui correspond aussi à la synthèse des pigments.

Les algues vertes ont été utilisées intensivement dans l'investigation de certains processus physiologiques d'importance générale. Elles ont servi en spécial comme organismes expérimentaux à l'investigation de la photosynthèse, ainsi qu'à la culture en masse des algues. Nous avons poursuivi quelques processus physiologiques pendant le cycle de développement des algues *Chlorella coelastroides*, algues dont les caractéristiques cellulaires ne sont pas suffisamment étudiées.

Les algues proviennent de l'algothèque Chodat de l'Université de Genève.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Nous avons utilisé dans toutes nos expériences une culture synchrone de *Chlorella* étant donné que seules les cultures synchrones peuvent représenter une importante source d'informations pour la physiologie végétale et qu'elles peuvent permettre de caractériser les paramètres biologiques du cycle de développement. La technique consiste dans la synchronisation du cycle de développement des algues unicellulaires, en employant les modifications cycliques d'une ou de plusieurs conditions de culture. Une fois les cellules synchronisées, elles vont se développer avec la même intensité.

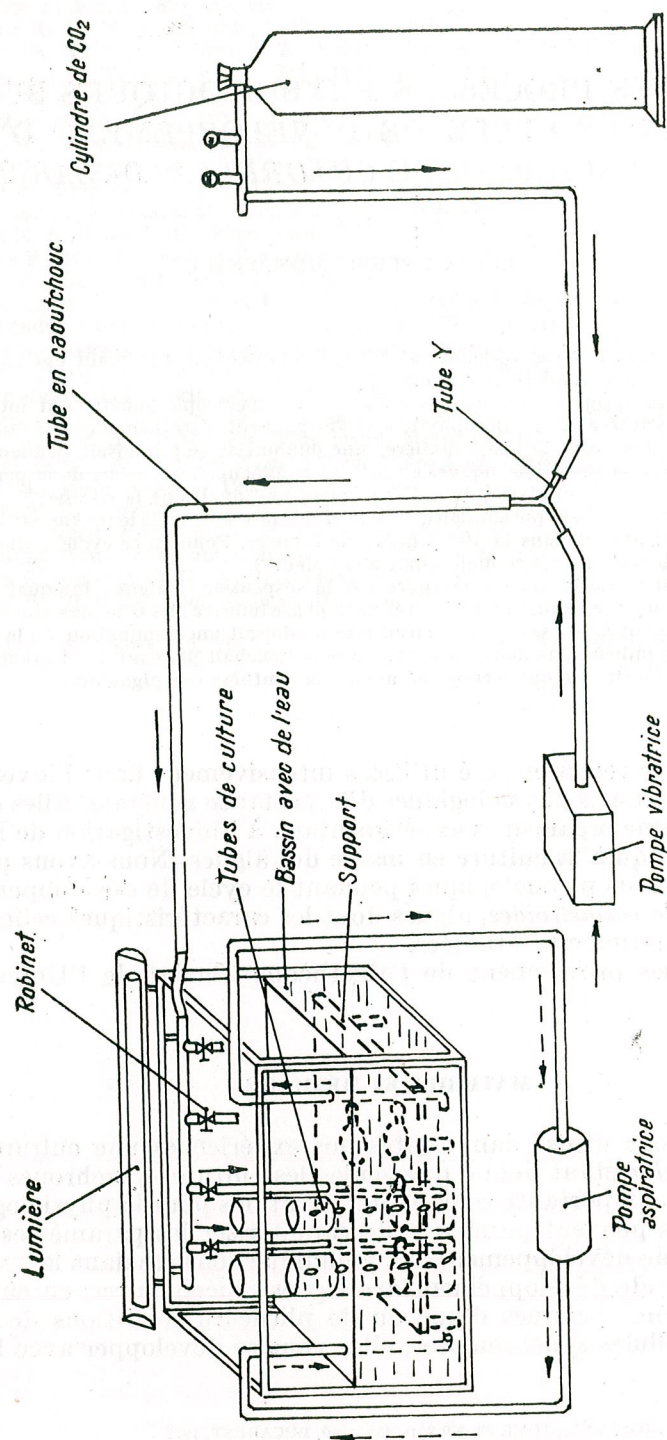


Fig. 1. — L'installation destinée à la culture de *Chlorella coelastroides*.

En vue d'obtenir une culture synchronisée, nous nous sommes servi d'une population non homogène d'algues en appliquant la méthode de H. Lorenzen [6] qui consiste dans l'alternance d'une période de lumière avec une autre d'obscurité; le régime lumière-obscurité était accompagné d'un renouvellement du milieu nutritif à la fin de chaque cycle de développement. Après une succession de trois cycles de 14 heures lumière-8 heures d'obscurité, la culture de *Chlorella coelastroides* était suffisamment synchronisée.

Les algues ont été cultivées dans des tubes en verre (fig. 1), à la température de 25°C; l'aération et le maintien des cellules dans la suspension ont été faites en barbotant l'air enrichi de CO₂ 3%. Nous avons utilisé le milieu nutritif Detmer $\frac{1}{3}$ en ajoutant une solution Arnou contenant des microéléments avec de l'EDTA. L'intensité de la lumière près des tubes de culture était de 5000 lx.

Une fois la synchronisation réalisée, nous avons poursuivi les variations du nombre cellulaire (en utilisant la chambre Thoma), la fréquence de la distribution du diamètre cellulaire (en utilisant le microscope à écran); en vue de déterminer la synthèse des pigments chlorophylliens et caroténoïdes, ils ont été extraits à l'acétone; le dosage des pigments a été fait à l'aide d'un spectrophotomètre, en mesurant les densités optiques. Le métabolisme des protéines a été établi en suivant l'incorporation de la glycine marquée avec du C¹⁴.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Jusqu'à présent, il existe un nombre réduit de travaux sur la synthèse des composants pendant le cycle cellulaire de *Chlorella coelastroides*.

L'étude de la variation du nombre cellulaire pendant le cycle nous a permis d'affirmer qu'après le renouvellement du milieu et après l'exposition des cellules à la lumière, le nombre de cellules/mm³ se maintenait approximativement constant. L'exposition des algues à l'obscurité était suivie d'une forte augmentation du nombre cellulaire. Après 8 heures d'obscurité les cellules mûries se sont déjà divisées (fig. 2).

De même, nous avons observé au microscope à écran la fréquence de la distribution du diamètre cellulaire. Les graphiques obtenus nous ont indiqué le décroissement du nombre de cellules de petites dimensions (4μ) et leur remplacement par les cellules ayant un diamètre de 6–8μ. Au moment où les grandes cellules ont atteint la majorité, on éteint la lumière et les cellules commencent à se diviser. À la fin de la période d'obscurité, les cellules de 4μ sont redevenues majoritaires (fig. 3).

Les densités optiques déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre nous ont permis de poursuivre la synthèse des pigments chlorophylliens et caroténoïdes qui accompagne le développement des algues. Il est à remarquer que pendant tout le cycle le rapport chlorophylle *a/b* se maintenait constamment à la valeur 3.

En ce qui concerne la chlorophylle *a*, après une augmentation de la quantité par cellule, qui se produisait les 8 premières heures de la phase lumière (avec le maximum pendant la 8^{ème} heure), une baisse de la courbe

se produisait les 6 dernières heures. Une nouvelle synthèse, qui commençait au début de la période d'obscurité, était suivie d'une baisse continue accompagnant la division des cellules (fig. 4).

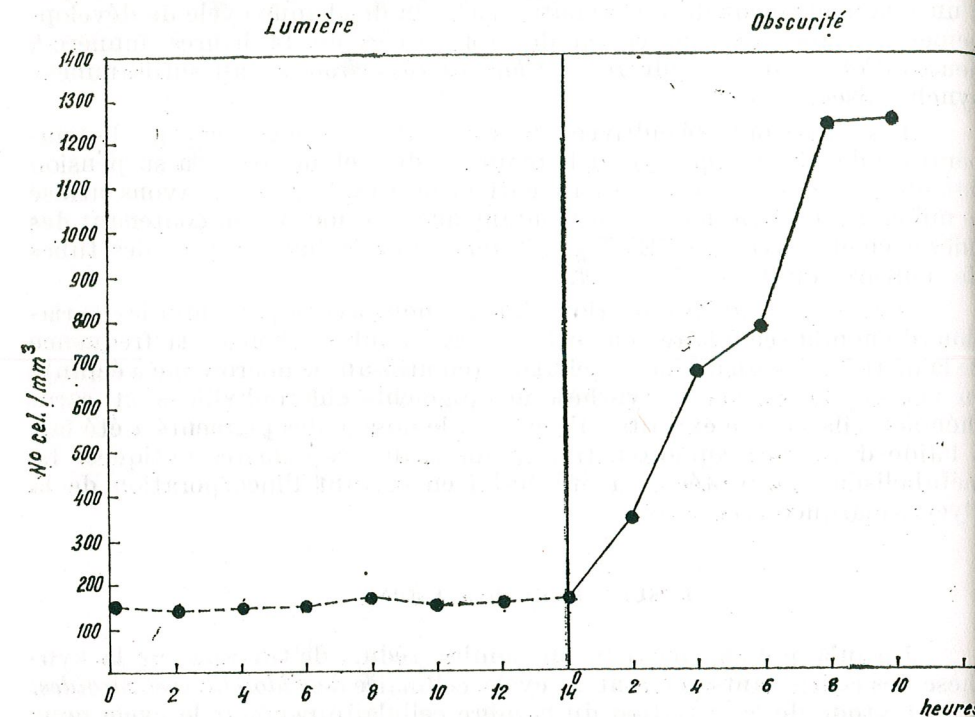


Fig. 2. — La variation du nombre cellulaire pendant le cycle de développement.

Nous avons obtenu un graphique similaire pour la chlorophylle *b* mais le maximum est atteint à la 10^{ème} heure de lumière (fig. 5).

En ce qui concerne les carothénoïdes, la synthèse la plus forte se produit pendant la 8^{ème} heure de la période de lumière. Il faut souligner l'existence d'une phase stationnaire vers la fin du cycle (12^{ème} — 14^{ème} heure de la période de lumière — fig. 6).

Sorokin, Krauss (1962) [10] ont constaté eux aussi une modification de la synthèse chlorophyllienne pendant le cycle de développement des algues *Chlorella*, mais à l'obscurité seulement une petite quantité de chlorophylle était synthétisée. Paasche [8] a établi chez *Coccolithus* une forte synthèse à la lumière, ainsi qu'à l'obscurité, tandis que chez *Euglena*, Cook [2] remarquait un manque de la synthèse chlorophyllienne à l'obscurité. Selon Bogorad [1], la quantité de chlorophylle chez certaines algues peut changer rapidement aux dépens de l'âge des cellules. R. Sirevag [9] a démontré que la synthèse des carothénoïdes se produit parallèlement à la synthèse chlorophyllienne, la principale croissance ayant lieu dans la 8^{ème} heure de la période de lumière.

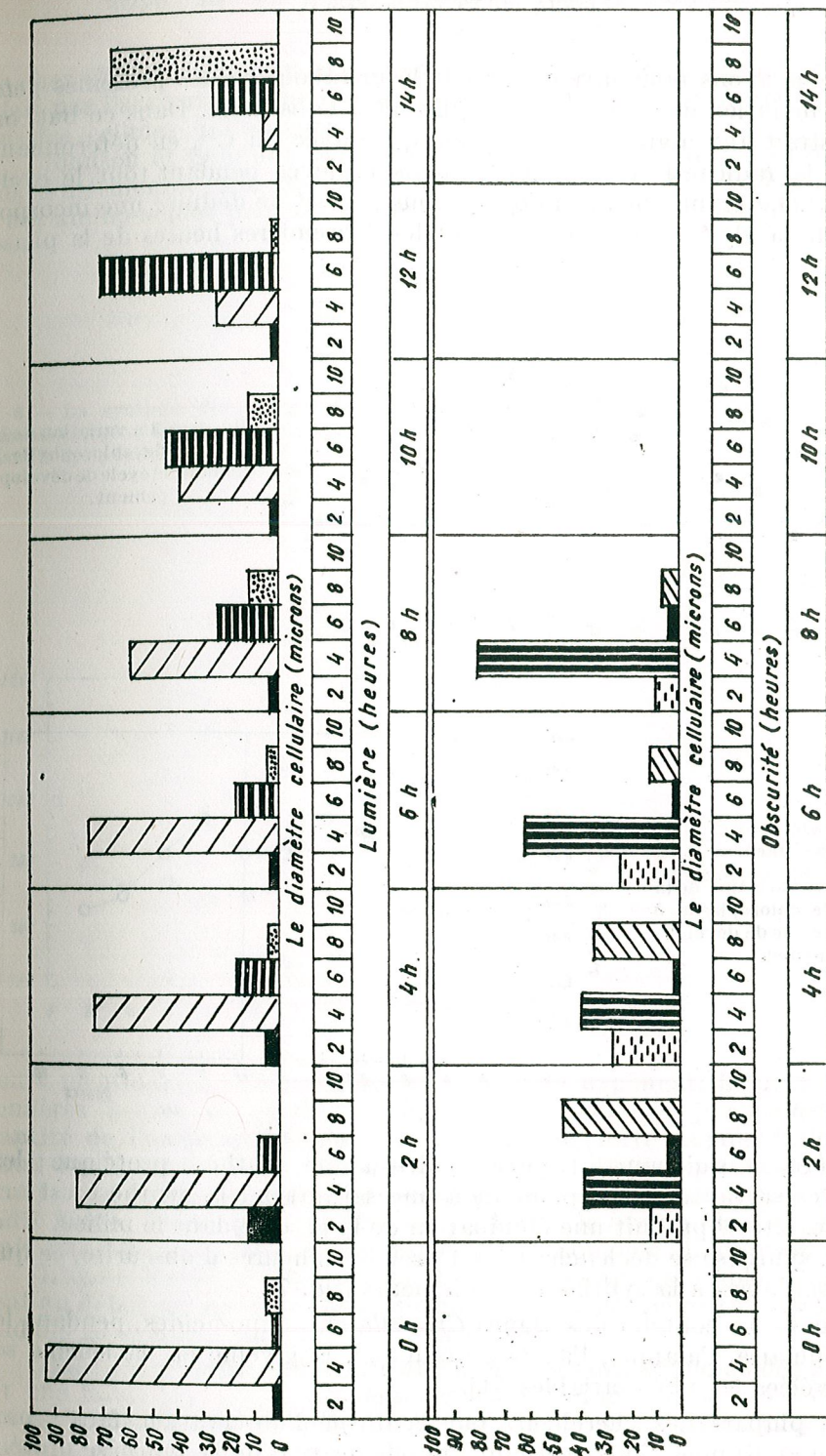


Fig. 3. — La distribution du diamètre des cellules pendant le cycle cellulaire de *Chlorella coelastroides*.

Nous avons poursuivi également le métabolisme des protéines pendant le maintien des algues à la lumière et à l'obscurité. Dans ce but, on administrait aux algues la glycine marquée avec du C^{14} , en déterminant ensuite la radioactivité des échantillons prélevés pendant tout le cycle cellulaire. Le graphique ainsi obtenu nous permet de déduire une incorporation de la glycine marquée pendant les 4 premières heures de la phase

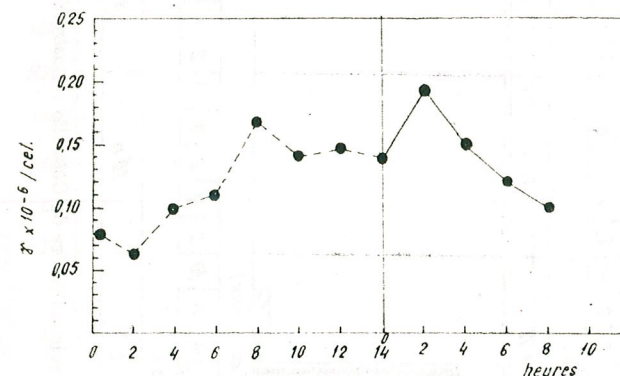
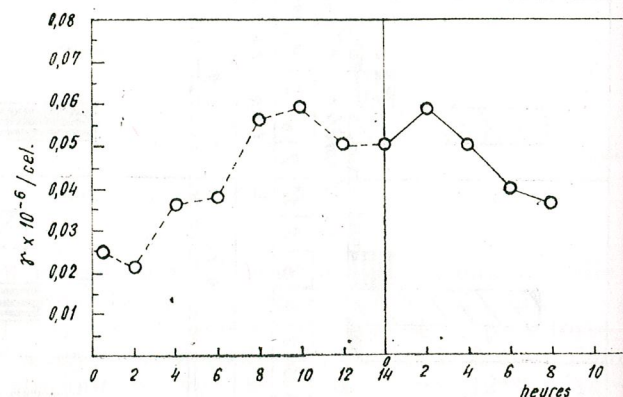


Fig. 4. — La variation de la quantité de chlorophylle a pendant le cycle de développement.

Fig. 5. — La variation de la quantité de chlorophylle b pendant le cycle de développement.



de lumière, ce qui pourrait correspondre à une synthèse protéique; les six heures suivantes correspondant à une saturation, la synthèse est arrêtée; ensuite se produit une élimination de la glycine dans le milieu. Une nouvelle synthèse se déclençait les 4 premières heures d'obscurité, ce qui correspond aussi à la synthèse des pigments (fig. 7).

Quant au contenu des algues *Chlorella* en amino-acides, pendant le cycle cellulaire, l'alanine, l'acide glutamique, la glycine et la leucine se sont révélées les plus variables [4].

La plupart des chercheurs ont confirmé l'observation faite par Lorenzen et Ruppel [7] concernant l'intensification de la synthèse protéique

chez *Chlorella* pendant la période d'obscurité du cycle et ont expliqué ce fait par l'activation générale de la capacité métabolique, après le maintien des cellules à l'obscurité.

Johnson et Schmidt [4] ont établi la périodicité du niveau du S^{25} dans la méthionine et la cystéine, ainsi que la variation de la concentration de ces amino-acides pendant le développement cellulaire. Selon les cher-

Fig. 6. — La synthèse des pigments caroténoïdes pendant le cycle cellulaire.

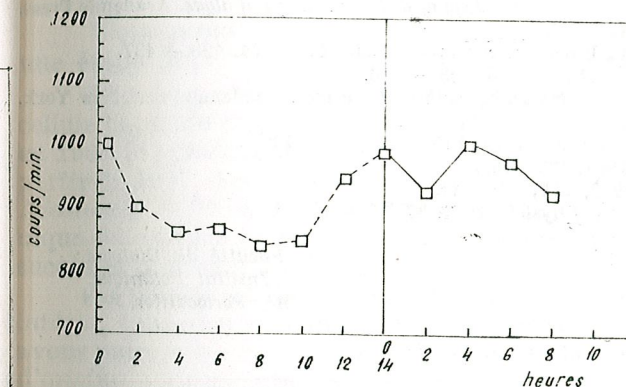
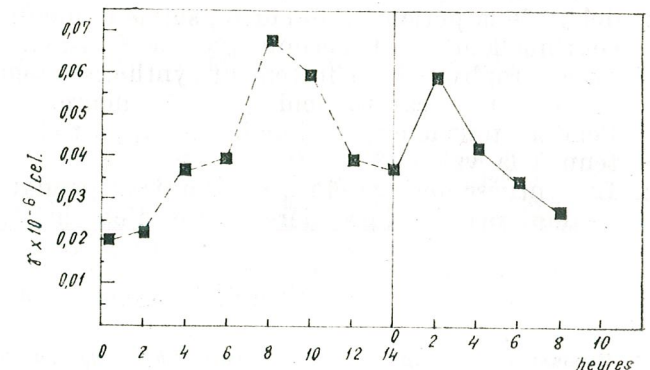


Fig. 7. — L'incorporation de la glycine C^{14} pendant le cycle de développement.

cheurs mentionnés, l'azote cellulaire augmente exponentiellement les 14 premières heures du cycle cellulaire chez *Chlorella pyrenoidosa*. La quantité de l'azote acido-soluble indiquait une forte augmentation au début du développement cellulaire (avec le maximum pendant la 4^{ème} heure); une diminution se produisait après, le minimum étant atteint à la 7^{ème} heure. Juste avant la division nucléaire, le niveau de l'azote indiquait une forte augmentation, suivie d'une nouvelle diminution.

L'azote lipidique et chlorophyllien présentait un faible décroissement au début du cycle de développement, mais la quantité augmentait pendant la division nucléaire et cellulaire.

Hase [3] a démontré le fait que la plupart des amino-acides présentait une faible périodicité. Généralement, la diminution de la concentration est arrêtée au début de la division nucléaire ou cellulaire, la quantité revenant ensuite au niveau du départ.

CONCLUSIONS

1. La synchronisation d'une culture de *Chlorella coelastroides* d'après la méthode Lorenzen [6] est réalisée en alternant une période de 14 heures de lumière avec 8 heures d'obscurité.
2. La synthèse de la chlorophylle *a* se produit pendant les 8 premières heures de la période de lumière, une nouvelle synthèse ayant lieu au début de la période d'obscurité, suivie d'une diminution qui se produit continuellement et accompagne la division.
La chlorophylle *b* est fortement synthétisée pendant la 10^{ème} heure de lumière et les carothénoïdes la 8^{ème} heure.
Pendant tout le cycle cellulaire, le rapport chlorophylle *a/b* a été maintenu à la valeur 3.
3. La synthèse des protéines se produisait pendant les 4 premières heures de lumière et les 4 premières heures d'obscurité.

BIBLIOGRAPHIE

1. BOGORAD L., *Chlorophylls*, in: R. LEWIN, *Physiology and Biochemistry of algae*, Academic Press, London — New-York, 1962.
2. COOK J. R., *Biochem. Biophys. Acta*, 1966, **80**, 148 — 151.
3. HASE E., *Cell division*, in: R. LEWIN, *Physiology and Biochemistry of algae*, Academic Press, London — New-York, 1962.
4. JOHNSON R. A., SCHMIDT R. R., *Biochem. Biophys. Acta*, 1963, **74**, 428 — 437.
5. KANAZAWA T., *Plant. Cell. Physiol.*, 1964, **5**, 333 — 336.
6. LORENZEN H., *Synchrony in cell division and growth*, Interscience, Academic Press, New York, 1964.
7. LORENZEN H., RUPPEL H. G., *Planta (Berl.)*, 1960, **54**, 394 — 403.
8. PAASCHE E., *Physiol. Plant.*, 1967, **20**, 946.
9. SIREVAG R., *Planta (Berl.)*, 1973, **111**, 73 — 84.
10. SOROKIN C., KRAUSS R. W., *Plant. Physiol.*, 1972, **37**, 37 — 42.

Reçu le 1^{er} décembre 1976

Faculté de Biologie
Institut Botanique
Al. Portocalilor 3-5
Bucarest

VARIABILITÉ DU NOMBRE CHROMOSOMIQUE ET MÉIOSE D'INDIVIDUS ANDROGÉNÉTIQUES DU *NICOTIANA TABACUM* L. Var. «WISCONSIN 38»

PAR

P. RAICU, MINODORA PĂTRAȘCU, G. PELLETIER et R. GORENFLOT

Des plantes haploïdes du *Nicotiana tabacum* L. var. «Wisconsin 38» ont été obtenues par culture *in vitro* d'anthères. Parmi les 77 plantes stériles d'origine androgénétique, une importante variation du nombre chromosomique a été mise en évidence ($n = 18, 20, 22, 23, 24, 25$ et 26), ainsi que la présence de blocs hétérochromatiques situés principalement dans les régions centromériques. La méiose de ces haploïdes révèle quelques bivalents et multivalents en rapport avec l'homologie ancestrale des génomes S et T du Tabac.

INTRODUCTION

L'obtention expérimentale d'individus d'origine androgénétique est une étape importante de la génétique végétale.

L'androgenèse, au cours de laquelle une plante haploïde dérive d'une cellule haploïde du gamétophyte mâle, a été réalisée pour la première fois en 1964 [6] grâce à la culture *in vitro* d'anthères du *Datura innoxia* Mill. A partir de 1967, des individus haploïdes ont été obtenus dans divers genres, *Nicotiana*, *Petunia*, *Datura*, *Asparagus* [1] [7]. A l'heure actuelle, la technique de culture *in vitro* d'anthères a été perfectionnée et étendue avec succès à plusieurs espèces.

La possibilité de disposer de plantes haploïdes présentant un grand intérêt, tant sur le plan théorique que sur celui des applications, nous avons entrepris l'étude de la mitose et de la méiose d'haploïdes de Tabac d'origine androgénétique.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les plantes haploïdes ont été obtenues sur le var. «Wisconsin 38» en utilisant le milieu de Pelletier et Durran [7]. De la culture de 100 anthères dérivent 77 individus totalement stériles [5] (Pl. I).

Il est important, pour réussir une telle production, de tenir compte de l'âge des anthères, du milieu de culture et de la variété de Tabac.

Le nombre et la morphologie des chromosomes mitotiques ont été étudiés grâce à une technique particulière basée sur un prétraitement à l'extencilline, suivi d'une coloration par la méthode de Feulgen [8].

La méiose a été suivie dans la lignée mâle (méthode de Feulgen).

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

LA GARNITURE CHROMOSOMIQUE DU *NICOTIANA TABACUM* L. (Pl. II)

Jusqu'à présent, la morphologie chromosomique du *Nicotiana tabacum* avait été établie à partir de cellules diploïdes. Il est évident que la possibilité d'obtenir des caryotypes de cellules haploïdes devait permettre une étude plus précise. Ainsi les caryotypes A, B, C de la planche II montrent que la garniture chromosomique du *N. tabacum* est constituée de 6 chromosomes métacentriques, de 6 chromosomes submétacentriques et de 12 chromosomes subtélocentriques. Pour d'autres auteurs [4], les 24 paires de cette garniture se répartiraient ainsi : 10 paires « médianes », 5 paires « submédianes » et 9 « terminales ».

Le traitement à l'extencilline a permis de mettre en évidence des blocs hétérochromatiques assez importants sur la majorité des chromosomes. Bien que située plus particulièrement dans la région centromérique on identifie des blocs sur les bras longs de certains chromosomes (4, 9, 11, 13 et 17), ainsi que sur les bras courts de plusieurs autres (1, 2, 6, 8 à 10, 16, 18, 20, 22 et 24).

LA VARIABILITÉ DU NOMBRE CHROMOSOMIQUE DES HAPLOÏDES (tableau 1)

Parmi 25 individus, 7 seulement ne révèlent que des cellules haploïdes ($n = 24$), alors que 15 d'entre eux montrent un mélange de cellules haploïdes et de cellules aneuhaploïdes ($n = 18, 20, 22, 23, 25$ et 26). Quant aux 3 derniers individus, ils sont mixoploïdes ($2n = 24$ et $2n = 48$) et possèdent aussi des cellules aneuhaploïdes.

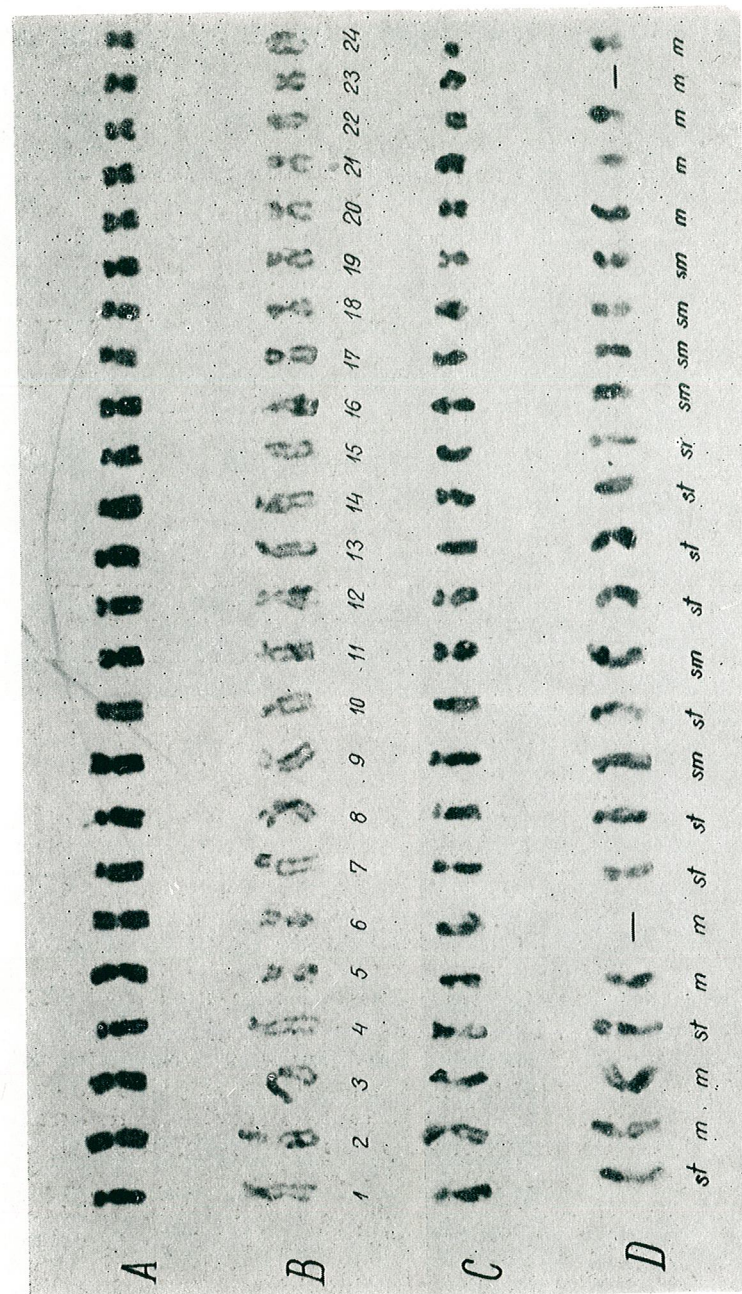
Ces résultats doivent être comparés à ceux déjà obtenus sur les variétés « Burley 21 et 37 » et « Wisconsin 38 » [3]. Bien que le milieu de culture utilisé par les auteurs ne soit pas le même que le nôtre, la nature des variétés étudiées joue un rôle capital dans les différences rapportées. En effet, il a été constaté que la variabilité du nombre chromosomique est plus grande pour le « Wisconsin 38 » que pour le « Burley 37 » et le « Burley 21 » (respectivement 68 %, 12,7 % et 4 % de plantes haploïdes possédant des cellules aneuhaploïdes).

Les individus d'origine androgénétique sont donc loin de posséder régulièrement la garniture typique à $n = 24$ qui devrait être la leur. Le fait que des cellules aneuhaploïdes atteignant parfois un nombre important, il n'est pas interdit de penser que l'on pourrait obtenir par androgenèse des plantes aneuploïdes de types différents, ce qui augmenterait considérablement l'intérêt théorique et pratique des haploïdes androgénétiques.

PLANCHE I



Plantes haploïdes de Tabac (« Wisconsin 38 ») à différentes étapes de la végétation.



Caryotypes haploïdes obtenus sans (A) ou avec (B, C, D) traitement par l'extencilline

Tableau 1

Variabilité du nombre chromosomique chez les plantes haploïdes de *N. tabacum*

N° de la plante	N° des métaphases	Les valeurs <i>n</i>							
		18	20	22	23	24	25	26	48
2	15				3	10	2		
3	9	2		4		3			
5	15			3	2	10			
6	12			3		7	2		
7	4					4			
8	6			2		4			
9	18			3		10	2	3	
11	6			2		4			
12	2					2			
13	14		2	1	1	6	2		2
15	5					5			
16	4				1	3			
17	8					3			
18	16			4		12			
19	4			2		2			
20	2					2			
22	9			2		2		5	
24	9					9			
25	11			3		8			
26	12					12			
27	10					10			
28	8			5		3			
29	5			1		4			
30	5			3		2			
31	9					5			4
TOTAL	218	2	2	38	7	142	8	10	9

LA MÉIOSE DES HAPLOÏDES (tableaux 2 et 3).

L'analyse détaillée de la métaphase I (M I) a permis de mettre en évidence des anomalies : grande variabilité du nombre chromosomique (de 13 à 24), formation d'univalents, de bivalents et de multivalents qui ont été décomptés avec précision (tableaux 2 et 3).

La méiose a été analysée par plusieurs chercheurs sur des haploïdes spontanés ou expérimentaux du *N. tabacum*. C'est ainsi que l'on a signalé la présence de 1 — 4 II par cellule [4] ou de 0 — 5 II [2]. Nos observations révèlent aussi l'existence de bivalents dans la très grande majorité des cellules considérées, le nombre maximum de bivalents étant de 6.

La présence de bivalents et de multivalents chez ces haploïdes est une réminiscence de l'homologie des génomes S et T du *N. tabacum*. Le nombre de base $x = 6$ de cette espèce donne à penser que le complément chromosomique actuel est le résultat d'un long processus de polyploïdisation accompagné de différentes restructurations chromosomiques. Le *N. tabacum* est, en effet, un polyhaploïde constitué des garnitures chromosomiques S et T, entre lesquelles il existe une homologie très ancienne.

Parfois, il est possible d'observer chez les haploïdes expérimentaux la formation de pseudobivalents en rapport avec des restructurations chromosomiques.

La présence d'anomalies chromosomiques entraîne évidemment la stérilité partielle ou totale des haploïdes.

Tableau 2

Moyenne des univalents et multivalents par cellule chez le *N. tabacum* haploïde

N° de la plante	N° des cellules analysées	N° des chromosomes dans une cellule (minimum-maximum)	I	II	III	IV	V	VI
1	35	15-24	6,28	4,30	0,60	0,54	0,14	—
2	26	14-24	7,60	4,15	0,50	0,27	0,30	—
3	15	13-24	7,26	3,50	0,53	0,20	0,13	—
4	23	15-24	8,40	4,20	0,52	0,26	0,13	0,04
5	25	18-24	8,40	4,08	0,64	0,36	0,12	0,04

Tableau 3

Fréquence des associations multivalentes chez *N. tabacum* haploïde

N° de la plante	Pourcent des cellules avec les associations multivalentes			
	III	IV	V	VI
1	45,5	45,5	1,3	—
2	37,4	23,6	11,3	—
3	40,0	13,3	13,0	—
4	34,7	17,8	8,7	4,3
5	44,0	28,0	12,0	4,0

CONCLUSIONS

1. L'obtention d'haploïdes d'origine androgénétique est influencée par l'âge des anthères, le milieu de culture et la variété de Tabac.

2. L'étude du complément chromosomique des cellules haploïdes montre que la garniture chromosomique du *N. tabacum* ($n = 24$) se compose de : 9 chromosomes métacentriques, 6 chromosomes submétacentriques et de 9 chromosomes subtelocentriques. Le traitement à l'extencilline a mis en évidence l'existence de blocs hétérochromatiques situés dans la région centromérique, ainsi que dans les régions distales des bras.

3. L'étude cytogénétique des haploïdes expérimentaux a révélé une grande variabilité du nombre chromosomique. Il devrait être possible d'obtenir des plantes aneuploïdes de différents types.

4. La formation de bivalents et de multivalents est un indice de l'homologie ancestrale des chromosomes des génomes S et T du *N. tabacum* qui ont subi la polyploïdisation.

BIBLIOGRAPHIE

1. BOURGIN J. P. et J. P. NITSCH, Ann. Physiol., 1967, **9**, 377—382.
2. COLLINS G. B. et R. S. SADASIVAIAH, Chromosoma, 1972, **38**, 387—404.
3. COLLINS G. B., P. D. LEGG et M. J. KASPERBAUER, Journal of Heredity, 1972, **63**, 113—119.
4. GOODSPEED T. H., The Genus Nicotiana, Chronica Botabica, Waltham, Mass. U.S.A., 1954.
5. GORENFLOT R., P. RAICU, G. PELLETIER et M. PĂTRAȘCU, C.R. Acad. Sci. Paris, 1975, **281**, 1097—1100.
6. GUHA S. et S. C. MAHESHWARI, Nature, 1964, **204**, 497—498.
7. PELLETIER G. et V. DURRAN, C.R. Acad. Sci. Paris, 1972, **275**, 35—37.
8. RAICU P., M. PĂTRAȘCU, R. CHIRILĂ et R. GORENFLOT, Rev. Gén. Bot., 1975, **82**, 419—424.

Reçu le 13 avril 1976

Laboratoire de Génétique de la Faculté de Biologie de Bucarest, Aleea Portocalilor 1 — 3, Bucarest, Laboratoire de Génétique et de l'Amélioration du Tabac, Institut du Tabac, Băneasa, Roumanie, Laboratoire d'Amélioration des Plantes, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, France et Laboratoire de Taxonomie Végétale, Expérimentale et Numérique de la Faculté des Sciences d'Orsay, associé au C.N.R.S., Bâtiment 362, 91405 ORSAY Cedex, France

AUSWIRKUNGEN MENSCHLICHER EINGRIFFE AUF DIE PFLANZENWELT EINSCHLIESSLICH FOLGEN DER UMWELTVERSCHMUTZUNG — UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG ÖSTERREICHS¹

VON

HEINRICH WAGNER

Die Pflanzenwelt — wie wir in einem neutralen Begriff die Gesamtheit der Erscheinungen der Pflanzen im Raum bezeichnen wollen — kann von zwei verschiedenen Gesichtspunkten aus betrachtet werden, die zu wissenschaftlich einwandfrei unterschiedenen Begriffen führen:

- 1.) *Flora* als Gesamtheit der in diesem Raum auftretenden Pflanzensippen (Arten, Gattungen, Familien usw.).
- 2.) *Vegetation* als Gesamtbild der im Wechselspiel mit Klima, Boden und den sonstigen Umweltfaktoren stehenden, in ihrer spezifischen Artenzusammensetzung im einzelnen verschiedenen Pflanzenbestände dieses Raumes.

Daraus ergibt sich, daß „Flora“ nur einen Teilaspekt der Gesamtbetrachtung Pflanze und Raum beinhaltet, der überdies in jüngerer Zeit außer in rein wissenschaftlichen Fragestellungen an Bedeutung verliert; handelt es sich doch im wesentlichen um die Frage, welche Pflanzensippen als Folge menschlicher Eingriffe aus einem Raum verschwunden sind, bzw. welche durch Einschleppung oder künstliche Einbringung neu auftreten und somit das Artenspektrum wie auch die „Konkurrenzverhältnisse“ verändern können. Gerade dieser letztgenannte Aspekt, den wir weitestgehend unter dem Begriff „Ruderalisierung“² zusammenfassen, drückt sich in der Vegetation aus, so daß er auch unter jenem Gesichtspunkt mitbetrachtet werden kann. Gerade auf Grund der vielfältigen Umweltbeziehungen, welche sich in der Vegetation widerspiegeln, erscheint deren vordringliche Berücksichtigung innerhalb des vorliegenden Themas unumgänglich.

Eine zweite Frage, die vorerst zu klären ist, betrifft den Umfang der vorgesehenen Betrachtungen. Im Rahmen eines Symposiums über die Zukunft der Alpen versteht es sich von selbst, daß nur der eigentliche Alpenbereich zu berücksichtigen sein wird. Demnach werden die Schäden (sowohl Luft- wie Wasserverunreinigung) der Industrie bei den vorliegenden Überlegungen ausgeklammert, da in Österreich die Hauptstandorte der Industrie außerhalb des engeren Alpenraumes liegen — im

¹ Unterlage für das Symposium „Die Zukunft der Alpen“ in Trento, Mai 1974.

² Als „ruderal“ werden jene Standorte bezeichnet, die im Gefolge menschlicher Tätigkeit durch Ablagerung von Schutt oder Unrat, bzw. durch Vernachlässigung nach Zerstörung der natürlichen Vegetation so verändert werden, daß sie der ursprünglichen Flora fremde — vorwiegend annuelle und nitrophile — Pflanzen tragen.

Donautal und Alpenvorland (Ranshofen — Lenzing — Linz — St. Pölten), im Wiener Becken (Wien — Gloggnitz) — und in der Vorarlberger Rheinniederung. Von da aus greift die Industrie nur entlang der größeren Flüsse bis in die Alpen hinein. Die einzige Ausnahme stellen hierbei das Mur-Mürz-Gebiet (von Judenburg bis Graz einschließlich Donawitz, bzw. Mürzzuschlag — Bruck a.d. Mur) und das Liezener Becken im Ennstal dar, welches ebenso wie Donawitz seine Industrieanlagen dem nahen Erzberg verdankt. Selbstverständlich führen auch kleinere oder einzelne Anlagen wie etwa die Magnesitwerke (Radenthein Trieben) sowie die Papierfabriken zu Luft- und insbesondere Wasserverunreinigungen, die als solche durchaus zu beachten sind, in unserem Zusammenhang jedoch, wo es primär um die Erholungslandschaft der Alpen geht, zurückgestellt werden können. Jedenfalls ist es eine unbedingt zu beachtende Aufgabe der Raumplanung, die in Österreich weitgehend erfüllt wird, Industrieanlagen nicht in Erholungslandschaften zu stellen.

Es bleibt somit für die folgenden Überlegungen nur die land- und forstwirtschaftlich genutzte sowie die Erholungslandschaft im österreichischen Alpenbereich übrig, wobei auch die Siedlungen vorwiegend nach diesen beiden Gesichtspunkten orientiert sind und keine zusätzlichen, für ausgesprochen städtische Großsiedlungen bezeichnenden Beeinträchtigungen hervorrufen. Die zu behandelnden menschlichen Eingriffe, deren Auswirkungen auf die Pflanzenwelt zu untersuchen sind, umfassen demnach:

1. Land- und Forstwirtschaft (Nutzung der Pflanzendecke)
2. Einrichtungen des Tourismus (Eingriffe zur Erfüllung der Erholungsfunktion einschließlich Hotelsiedlungen)
3. Bau von Verkehrswegen (abgestufte Eingriffe für die drei anderen Interessensgruppen)
4. Kraftwerksanlagen (wesentliche Eingriffe in die Landschaft zum Zweck der Energiegewinnung).

1. LAND- UND FORSTWIRTSCHAFT

Die im Prinzip am engsten mit der Natur verbundene wirtschaftliche Tätigkeit des Menschen ist die Urproduktion, die Gewinnung von Nahrungsmitteln und Rohstoffen. Dadurch erfolgt schon von altersher eine starke Veränderung der natürlichen Pflanzendecke — wir müssen bloß bedenken, daß die Wiesen, die aus unserem gegenwärtigen Landschaftsbild gar nicht wegzudenken sind und mit ihrer Blütenpracht durchaus natürlich wirken, rein anthropogen durch Düngung und Mahd, gelegentlich auch durch „Regulierung“ des Wasserhaushaltes entstanden sind. Es würde zweifellos zu weit führen, hier in allen Einzelheiten diese Wandlungen zu verfolgen, es sollen nur stärkere Eingriffe im Zusammenhang mit der Intensivierung in jüngerer Zeit, die sich auch in der weiteren Umwelt auswirken, behandelt werden. In diesem Zusammenhang ist auf die chemische Schädlingsbekämpfung hinzuweisen, die sowohl im Ackerbau als auch im Intensiv-Obstbau teilweise schon gefährliche Ausmaße angenommen hat. Es ist allerdings festzustellen, daß die Landwirtschaft im österreichischen Alpengebiet überwiegend der Grünland-

nutzung dient, wobei Ackerbau größtenteils zur Selbstversorgung in Egarten (Wechselwirtschaft) betrieben wird. Auch der Obstbau, der wohl in der unteren Montanstufe weit verbreitet ist, wird nicht in einer derartigen Intensivstufe betrieben, daß in beiden Fällen durch die Schädlingsbekämpfungsmittel nennenswerte Umweltverseuchung entstehen könnte.

Eine andere Veränderung der Pflanzendecke, die gerade in größeren Höhenlagen in jüngerer Zeit immer mehr Beachtung verdient, ist auf die fortschreitende Aufgabe der landwirtschaftlichen Nutzung (Aufgabe von Almen, aber auch Bergbauernhöfen) zurückzuführen. Allerdings handelt es sich hierbei nicht wie in vielen anderen Fällen intensiver menschlicher Eingriffe um mehr oder minder starke Degradation, sondern im Gegenteil um die allmähliche Wiedereinstellung des Waldes, wobei wohl die ersten Zwischenstadien ungeordnet und ästhetisch unschön wirken, da ja durch den vorherigen menschlichen Einfluß die natürliche Sukzession abgelenkt wurde und daher das Einpendeln nicht glatt erfolgt. Keinesfalls ist das Argument zutreffend, das gelegentlich von allzu eifrigen Vertretern einer totalen Ausschachtung der Landschaft für den Fremdenverkehr vorgegeben wird: daß durch Aufhören der Nutzung und Bearbeitung früherer landwirtschaftlich genutzter Flächen die Entstehung von Lawinen, Vermurungen usw. begünstigt würde und daher in jenen Räumen Straßen und Hotelsiedlungen die Ordnung wiederherstellen müßten.

In der Forstwirtschaft Österreichs ist zwar durch die überwiegende Großkahlschlagwirtschaft und die nachfolgenden Fichten-Monokulturen des vorigen Jahrhunderts und der ersten Dezenien dieses Jahrhunderts in weiten Teilen (besonders in den ursprünglichen Buchen-Tannengebieten der Randalpen) eine starke Veränderung des Waldbildes und oft eine weitgehende Degradierung der Waldstandorte eingetreten, in jüngerer Zeit jedoch nimmt — auch im Interesse der Nachhaltigkeit des Ertrages — eine naturgemäßere Mischwaldwirtschaft zu, ebenso wie auch die Nutzung auf kleinere Flächen erfolgt. Allerdings muß für diese pfleglichere Nutzung vielfach eine stärkere Aufschließung durch Forstbringungswege in Kauf genommen werden, deren Bau oft ohne Rücksicht auf die Umgebung möglichst billig durch Schubraupen und Sprengungen in der Art durchgeführt wird, daß durch das achtlos abgekippte Material und durch schwere Anrisse die umgebenden Bestände schwer geschädigt werden. Auf diese Schäden werden wir nochmals im Kapitel Bau von Verkehrswegen zurückkommen.

2. EINRICHTUNGEN DES TOURISMUS

Der Tourismus dient primär dem Zweck, Menschen in ihrer Freizeit in Gebiete zu bringen, die von ihren normalen Wohn- und Arbeitsstätten verschieden sind, damit sie dort in ihrer Freizeit Erholung, Zerstreuung, Muße oder die Möglichkeit sportlicher Betätigung finden können. Die alpine Landschaft im weitesten Sinne als derartiges Reiseziel wird naturgemäß vorwiegend von Städtern aufgesucht, welche in der Natur gerade das finden wollen, was sie in der Stadt vermissen: reine Luft, Sonne und Ruhe an Stelle der durch die dichte Zusammenballung, die Industrie und den Verkehr bedingten Luftverunreinigung, der Hek-

tik und des Lärmes. Es ist durchaus zu begrüßen, daß immer mehr Menschen die Möglichkeit haben, einen Urlaub im Gebirge zu verbringen, allerdings bringt der moderne Massentourismus seinerseits Begleiterscheinungen mit sich, die wohl beobachtet werden müssen, da ihre Überspitzung nicht im Sinne der Erhaltung einer Erholungslandschaft gelegen ist.

Zunächst handelt es sich um den Ausbau der Verkehrswege, welchem ein eigenes Kapitel gewidmet ist, auf welches wir zunächst verweisen können. Das Bestreben, möglichst vielen Menschen die Gelegenheit zu bieten, in bevorzugte Erholungsgebiete zu kommen, führt notwendigerweise zu einem wesentlichen Ausbau der Unterkunftsmöglichkeiten. Es ist durchaus sinnvoll, dazu die bodenständigen Siedlungen einschließlich von Almhütten heranzuziehen und zwar besonders in einer Art von Kleinpensionen, da damit gleichzeitig eine wesentliche finanzielle Hilfe für die Bergbauern und somit für diese im Zeitalter der Marktwirtschaft entschieden benachteiligte Bevölkerungsschicht möglich ist.

Einerseits kann durch die neuen und auch materiell interessanten Aufgaben der Abwanderung und damit Entvölkerung der Berglagen unserer Gebirge entgegengewirkt werden, was also zur Besitzfestigung führt. Andererseits erfolgt aber auch eine natürliche Abstimmung zur Aufnahmekapazität des betreffenden Raumes für Fremde, da nur soweit ausgebaut werden kann, daß die Betreuung der Gäste durch die einheimische Bevölkerung noch gewährleistet ist. Gerade der Frage der zahlenmäßigen Belastbarkeit eines Erholungsraumes mit Erholungssuchenden kommt eine besondere Bedeutung zu, obwohl sie meist aus materiellen Erwägungen außer Acht gelassen wird. Eine Erholungslandschaft im Gebirge dient nur solange ihrem Zweck, als die wesentlichen Kriterien dafür — reine Luft naturgemäßer Pflanzenwuchs und Ruhe — gesichert sind. Eine übermäßige Ausweitung der Ferienquartiere muß zwangsläufig zu ähnlichen Zusammenballungen der Siedlungen wie in den Städten führen, womit auch deren Nachteile, denen man entfliehen wollte, in Erholungsgebiete gebracht werden.

Hier liegt ein ausgesprochenes Dilemma des modernen Massentourismus, da naturgemäß das Bestreben besteht, gerade besonders schöne Erholungslandschaften möglichst vielen Menschen zugänglich zu machen, wobei durch Übertreibung der Erholungswert leidet. Dazu kommt noch eine weitere Gefährdung durch die zunehmende Unterwerfung des Tourismus unter rein finanzielle Spekulationen: Als man erkannt hatte, daß mit der Erholung gute Geschäfte gemacht werden können, fanden sich genügend — zum Teil anonyme — Gruppen von Geschäftsleuten und Baugesellschaften, denen es nur um das Geld ging. Dabei geschieht genau das Gegenteil von dem, was ich oben als positiv angeführt habe: Statt Besitzfestigung der einheimischen Bevölkerung werden von ortsfremden Kapitalgesellschaften auf unter vielfach hintergründigen Versprechungen oder Absprachen zusammengekauften Grundstücken Großhotelsiedlungen errichtet, die grundsätzlich keine Rücksicht auf die Belastbarkeit des Raumes nehmen, sondern nur auf möglichst großen Gewinn bedacht sind. Überdies werden in vielen Fällen zur Verbesserung der finanziellen Basis für den Ausbau der Großhotels ansehnliche Teile der Grundstücke parzelliert und — natürlich mit großem Gewinn — an Einzelinteressen-

ten für Zweitwohnungen weiterverkauft oder überhaupt Appartement-siedlungen geschaffen, wobei in Österreich in erster Linie Ausländer als Käufer auftreten. Der Bau und die Ausstattung dieser Hotelsiedlungen nimmt dabei fast nie Rücksicht auf die wesentliche Erholungsfunktion, nämlich die Ruhe, sondern bezieht allen städtischen Rummelbetrieb mit ein, wobei der Konsum von Alkohol und Anderem in verräuchten Bars und ähnlichen Lokalitäten, sowie der Lärm von Musikboxen und Tanzkapellen reichlich vorangetrieben wird, somit gerade das gegensätzliche von dem gefördert wird, was die umgebende freie Natur für die Gesundheit und Entspannung bietet. Daß durch die oft großen Hotelsiedlungen das Abwasserproblem im Vergleich zu den meist früher vorhandenen kleinen ländlichen Weilern wesentlich angeheizt wird, darf nicht übersehen werden. Dies wird in Apartmentsiedlungen noch weiter verschärft dadurch, daß die Last der Vorsorge für alle Infrastrukturmaßnahmen allein die zuständige Gemeinde trifft und vielfach „Geisterstädte“ entstehen, die jeweils nur kurzfristig ohne wirtschaftlichen Nutzen für die Gemeinde bewohnt sind.

Ein weiterer noch verhängnisvollerer Schritt auf dem Wege des fehlgeleiteten Massentourismus liegt in der fast als kategorischer Imperativ geprägten Formel: „Der Sommer ist am Meer oder zumindest an einem See zu verbringen, der Winterurlaub hingegen beim Skisport im Gebirge.“ Daher liegt für Berggebiete das Hauptaugenmerk auf einem Ausbau von Wintersportzentren, wozu noch die einem gesunden Wintersport weitgehend zuwiderlaufende Entartung des Skilaufes kommt. Der wesentlichste Unterschied zwischen Gesundheitssport und Leistungssport liegt doch darin, daß im ersten Fall die harmonische Bewegung ohne Überanstrengung Hauptziel ist, während im anderen Fall eine Höchstleistung bei größter Anspannung gefordert wird. Gewiß spornen die Leistungen der alpinen Skiläufer zum Nachahmen der Technik und Fahrweise an, dennoch liegen gerade darin große Gefahren für weniger Geübte, die immer wieder zu schweren, mit einem Gesundheitssport nicht vereinbaren Unfällen führen.

Durch die einseitige Produktion von Geräten für den Pistenski-lauf seitens der Sportartikelindustrie ist der natürliche, dem Gelände angepaßte Skilauf (Tourenfahren) weitestgehend erschwert. Dieser Pistenski-lauf erfordert außerordentliche und starke Eingriffe in die Gebirgs-landschaft, indem breite, fast autobahnartige Schneisen ausgeschlägert werden, wobei zusätzlich die natürlichen Unebenheiten des Geländes durch oft ungeheure Erdbewegungen ausgeglichen werden. Wohl wird in jüngerer Zeit gelegentlich eine Begrünung dieser völlig veränderten Hangpartien vorgenommen, die auch zu ansprechenden Erfolgen führen, dennoch wirken sie als Fremdkörper, was insbesondere im Sommeraspekt störend in Erscheinung tritt und überdies zu Windwürfen, Hangrutschungen und Vermurungen führen kann. Die Ansaat von — naturgemäß nicht voll standortgemäßen — Rasenmischungen allein genügt nicht, es muß auch weiterhin eine entsprechende Pflege erfolgen, um eine möglichst rasche Überleitung in die natürliche Pflanzendecke zu ermöglichen. Neben diesen gravierenden Eingriffen tritt die unschöne Verdrähtung des gesamten Skizirkusgeländes mit Sessel- und Skiliftanlagen wohl etwas zurück, wirkt aber dennoch reichlich störend.

Angesichts der vielen Großskigebiete, die nun schon eingerichtet sind — in Österreich unter anderem als markante Zentren das gesamte Arlberggebiet, der Raum um Innsbruck, Kitzbühel, Saalbach — Zell am See, das Gasteiner Tal, die Radstädter Tauern und die Tauplitzalm im Toten Gebirge — ist eine wohldurchdachte Planung für weiterhin dringend geboten. Denn so verlockend es für die verschiedenen Berggemeinden sein muß, den Großskizentren nachzueifern, ist doch zu bedenken, daß durch diese Konstruktionen die eigentliche Erholungsfunktion der Landschaft entartet wird. Demnach müssen weiterhin die wertvollsten Urlaubs- und Naturlandschaften von derartigen Einrichtungen verschont bleiben. In diesem Zusammenhang ist in erster Linie der gesamte Raum des geplanten Nationalparks Hohe Tauern vom Krimmler Tal bis zum Sonnblick und Ankogel sowie wesentliche Teile der Niederen Tauern (insbesondere die Talschlüsse von Kleinarl — Großarl-, Zederhaus — und Murtal und die Schladminger Tauern) zu beachten. Darüber hinaus wäre es überhaupt sehr wertvoll, die unbesiedelten Talschlüsse von derartigen Umwandlungen freizuhalten. Dies gilt vor allem für den Talschluß hinter Saalbach, das Seidlwinkltal und das Hüttwinkltal. Der Ausbau von Fremdenverkehrseinrichtungen, der den jeweiligen Siedlungen zugute kommt, kann durchaus an den beidseitigen Hängen der stets im äußeren Teil der Täler gelegenen Orte erfolgen; Einrichtungen in den unbesiedelten Talschlüssen würden einerseits viel größere Aufschließungen durch eigens zu errichtende Straßen erfordern und wären andererseits nur mit Hilfe neu erbauter ortsfremder Großhotels zu betreiben.

Die Erhaltung naturgemäßer Landschaften erweist sich gerade in jüngster Zeit durch die starke Zunahme des Bergwanderns als absolut notwendig, da der Sommertourist die unschönen, kahlen Skipisten sicher nicht bevorzugen wird. Diese neue Vorliebe für das Wandern im Sommer wird vielfach dadurch bewirkt, daß manche Fremdenverkehrsgemeinden Wandernadeln ausgeben, die man nach durch „Hütten- und Gipfelstempeln“ belegten Touren erhält.

Im Hinblick auf die Beeinflussung der Pflanzenwelt durch Touristen ist unbedingt auch auf die Dezimierung, ja sogar Ausrottung von schönen und seltenen Pflanzenarten einzugehen. Neben dem Schutz von Einzelobjekten (Naturdenkmäler) stellt der gefährdeter Pflanzen und Tierarten ein altes Anliegen des Naturschutzes dar. Dem gestellten Thema entsprechend soll hier nur kurz auf die Veränderung der Flora hingewiesen werden. Es kann mit Befriedigung festgestellt werden, daß im Gegensatz zur Verständnislosigkeit früherer Jahrzehnte nunmehr im allgemeinen die Schutzbestimmungen für bestimmte Pflanzen beachtet werden. Eine Ausnahme bildet da nach wie vor das Edelweiß, das noch immer als erstrebenswerte Trophäe angesehen wird. Nur in vereinzelten Fällen müssen Bergwacht und Naturschutzwachorgane gegen unbelehrbare Plünderer und sogar Händler vorgehen. Jedenfalls ist in diesen Belangen die gesetzliche Handhabe in Österreich wesentlich besser fundiert als in manchen Nachbarstaaten. Die durchaus erfreuliche Erhaltung der Blütenpracht unserer Alpenwiesen gibt aber gelegentlich Anlaß zu wehmütiger Beobachtung, nämlich dann, wenn man erfährt, daß so mancher Bergwanderer als Ziel nur den Hüttenstempel für sein „Fitnessbuch“ erstrebt, daneben aber die Schönheit der Natur kaum beachtet.

3. DIE VERKEHRSWEGE

Für die verschiedenen Belange der menschlichen Wirtschaft im alpinen Raum spielt der Verkehr eine große Rolle. Die Beeinflussung der Pflanzendecke durch diese Anlagen ist daher entsprechend zu berücksichtigen. Die Vollmotorisierung und das Bestreben, möglichst weit mit dem Auto zu fahren, haben hier völlig neue Maßstäbe gesetzt. Grundsätzlich müssen drei Straßentypen unterschieden werden, die in ihrer Anlage wesentliche Unterschiede aufweisen:

1. Durchgangstraßen für Schnell- und Güterverkehr
2. Zufahrtsstraßen zu den Siedlungen (einschließlich Hotelsiedlungen)
3. Güterwege, die nur ausnahmsweise dem allgemeinen Verkehr zugänglich zu machen sind.

Die Trassierung der Hauptverkehrswege ist nach übergeordneten Gesichtspunkten bei möglichst geringen Steigungen und glatter Durchgängigkeit zu planen. Da es sich hier um Anlagen handelt, die den betreffenden Raum zwar durchqueren, ihm selbst aber nicht unmittelbar dienen, ist besondere Behutsamkeit erforderlich, dies umso mehr, als die meist größere Breite der Anlagen (Autobahn oder Schnellstraße) sehr wesentliche Eingriffe erfordert. Solche Straßen sind unbedingt aus wertvollen Erholungslandschaften auszuklammern.

Die Straßen für den Nah- und Zubringerverkehr müssen — schon aus Gründen der Versorgung mit Wirtschaftsgütern — auch für Schwerverfahrzeuge befahrbar sein; in diesem Fall sind jedoch nicht die gleichen Maßstäbe an Straßenbreite und Höchstgeschwindigkeit anzusetzen wie im ersten Fall. Es ist durchaus nicht notwendig, daß jeder Gebirgsort mit Höchstgeschwindigkeit erreicht wird, wenn die Steilheit des Geländes nur unter außerordentlichen Schwierigkeiten und schwerwiegenden Eingriffen eine entsprechende Trassierung zuließe.

Güterwege schließlich sind primär für die Versorgung der land- und forstwirtschaftlichen Betriebe bestimmt. Dementsprechend sind in der Regel die geringsten Anforderungen in bezug auf Breite (Gegenverkehr kann durch Ausweichen gewährleistet werden) und Steilheit zu stellen. Dies soll natürlich nicht bedeuten, daß sie besonders steil sein müssen. In jüngerer Zeit werden in den Bergbauerngebieten Österreichs immer mehr Güterwege als Mautstraßen dem Touristenverkehr zugänglich gemacht, was einerseits wesentliche Erleichterungen für Anstiegswege auf Berge, andererseits aber auch die Gefahr mit sich bringt, daß diese Güterwege Anlaß für einen übermäßigen Menschenzustrom werden, der wiederum den Ausbau einer Hotelsiedlung nach sich zieht. Die Einheilen Grenzen halten, ermöglicht den zuständigen Körperschaften eine fortlaufende Pflege der Straßen und kann andererseits durch Registrierung der Frequenz den übermäßigen Touristenstrom vermeiden helfen. Absolut zu vermeiden wäre es, derartige Straßen und Wege mit zu hohen Kosten zu errichten, sodaß nachträglich unter dem Vorwand der notwendigen Amortisation bisherige Alm- und Wandergebiete mit Appartementshäusern und Hotels verbaut werden, wie dies auf der Postalm in der Osterhorngruppe in Salzburg versucht wird. Alle, in die Alpen führenden, dem Tourismus dienende Straßen müssen mit entsprechend

großen Parkplätzen einschließlich Zusatzeinrichtungen (besonders WC) ausgestattet sein. Ist hierfür kein geeignetes Gelände vorhanden, darf eine solche Straße nicht für den öffentlichen Verkehr freigegeben werden.

Jeder Straßenbau im Gebirge führt zu sehr einschneidenden Veränderungen der Landschaft und einer starken Beeinflussung der Pflanzendecke, besonders wenn die Trasse an Hängen aufsteigend geführt wird. Die großen technischen Fortschritte im Straßenbau in jüngerer Zeit lassen praktisch keine Probleme unlösbar erscheinen, dennoch wird vielfach im Bereich der Sprengungen und sonstigen Erdbewegungen aus Gründen einer möglichst billigen Kalkulation viel zu wenig Rücksicht auf die Umgebung genommen. Bei Wegbauten aller Kategorien von der Schnellstraße bis zum Forstweg kann immer wieder beobachtet werden, daß die unterhalb der Baustellen stockenden Wälder in ihrer Bedeutung für die Hangfestigung nicht entsprechend eingeschätzt und durch herab gekipptes Grobmateriale schwer beschädigt werden. Viele „Naturkatastrophen“ sind auf derartige Mißachtungen zurückzuführen. Die fortlaufenden Straßenverbesserungen und Begradigungen, die im Zuge des zunehmenden Verkehrs durchaus notwendig sind, müßten grundsätzlich von der Rückführung der nicht mehr funktionstüchtigen alten Straßentrassen in Grünland begleitet sein. Durch die bahnbrechenden Arbeiten von Prof. Dr. Alwin Seifert vor 40 Jahren ist die Mutterbodenwirtschaft im Straßenbau Allgemeingut geworden, dennoch finden wir immer wieder in dieser Hinsicht schwere Vorstöße zum Schaden der Landschaft.

In jüngerer Zeit wird der Luftverschmutzung durch Autoabgase große Beachtung geschenkt. Diese Gefahr macht sich besonders bei stark stockendem Verkehr und geringer Luftbewegung bemerkbar. Daraus ist wohl ersichtlich, daß im allgemeinen im Gebirge nur geringer Anlaß zu Besorgnis diesbezüglich gegeben ist, allerdings sind vor allem steilere stark frequentierte Bergstraßen doch auch dahingehend im Auge zu behalten. Im Rahmen des UNESCO-Programmes „Man and Biosphere“ werden daher an der Großglockner-Hochalpenstraße Messungen durchgeführt, deren Ergebnis jedoch noch nicht vorliegt. Das gleiche gilt für die Grundwasserverschmutzung durch Ölrreste und ähnliche Rückstände. Und schließlich sei noch auf die teilweise ganz erhebliche Schädigung des Pflanzenbestandes entlang der Straßen, welche im Winter durch Salzstreuung schneefrei gehalten werden, hingewiesen.

4. KRAFTWERKSANLAGEN

Die einzigen Industrieanlagen, deren legitime Standorte im Gebirge liegen, sind Wasserkraftwerke. Überdies ist die aus der Wasserkraft gewonnene elektrische Energie die sauberste Energieform, was gerade in dieser Zeit des Kampfes gegen Umweltverschmutzung von außerordentlicher Bedeutung ist. Freilich stellt andererseits die Errichtung von Großspeicherkraftwerken — oft sinnvoll zwecks besserer Energieausnutzung zu Kraftwerksgruppen vereinigt — außerordentliche und starke Eingriffe in die Landschaft dar. Es handelt sich dabei nicht nur um die Anlage der Speicher als solche, durch welche ganze Täler eingestaut und in Seen verwandelt werden und denen im Bereich der Druckrohrleitungen wasser-

lose Bachbetten gegenüber stehen; in jüngerer Zeit wird darüber hinaus im zunehmenden Maße auch das Wasser anderer zum Teil gar nicht dem gleichen Flußregime angehörender Bäche in die Stauseen geleitet. Dadurch kommt es vielfach zu weitgehenden Veränderungen des Wasserhaushaltes ganzer Landstriche.

Angesichts der großen Bedeutung, die zweifellos einer Steigerung der Gewinnung elektrischer Energie zukommt, werden vielfach die Einwände des Naturschutzes, der um die Bewahrung der wertvollsten Erholungslandschaften bemüht ist, in den Wind geschlagen. Hier kann nur eine von der Gesamtschau herkommende Wertung verschiedener Landschaftsteile und Kraftwerksprojekte zum Ziel führen. Auf jeden Fall ist zu bedenken, daß jeder Eingriff — und sei er noch so wohl überlegt — die natürliche Landschaft unwiderruflich zerstört. Daher müssen Kraftwerksplanungen solange aus den wertvollen Landschaften ausgeschlossen bleiben, als noch andere ähnliche Möglichkeiten der Energiegewinnung ohne derart einschneidende Zerstörungen bestehen. Österreich hat bereits mehrere Großlandschaften in den Alpen der Elektrizitätsgewinnung geopfert, wobei allerdings zugegebenermaßen großartige Anlagen entstanden sind, wie etwa die Illwerke in Vorarlberg, das Zemm-kraftwerk in Tirol, die Kapruner und Fragner Speichergruppe in den Hohen Tauern, sowie die Gruppe der Reißbeck-Kraftwerke, welcher leider das herrliche Maltatal zum Opfer fiel. Die jüngste Planung eines Großspeichers im Dorfertal am Südwestabfall des Großglockners, durch welche überdies fast sämtliche Osttiroler Täler durch Wasserableitung in Mitleidenschaft gezogen würden, erscheint gerade im Zusammenhang mit der Projektierung des österreichischen Nationalparks „Hohe Tauern“, dessen Kernstück dadurch vernichtet würde, als absolut unzumutbar. In diesem Falle handelt es sich um einen eindeutigen Vorrang der Natur und Erholungslandschaft.

Zusammenfassend muß festgestellt werden, daß jegliche menschliche Tätigkeit die Landschaft — und da vor allem die natürliche Pflanzendecke — beeinflußt. Da diese Veränderungen oder Zerstörungen im wesentlichen meist irreversibel sind, müßte grundsätzlich bereits vor jeder Planung und jedem Eingriff geprüft werden, welchen Argumenten der Vorrang gebührt, wobei materielle Erwägungen immer erst nach der Beurteilung des Gesamthaushaltes kommen sollten.

Eingegangen am 30. Mai 1976

Universität Salzburg
Botanisches Institut
Lehrstuhl für systematische
Botanik und Geobotanik
Salzburg, Freisaaßweg 18, Österreich

THE EFFECTS OF CONTINUOUS POLLUTION WITH FLUORINE ON AGRICULTURAL CULTURES AND SPONTANEOUS FLORA

BY

AL. IONESCU, GH. ELIADE and S. CORBU

The researches regarding the effects of fluorine pollution on vegetation have been carried out after a noxis spreading computerized map had been drawn up. The paper includes the mathematical model of drawing up the area affected by the pollution of the physiology analysis (green and dry weights, free and bound water, quantity of chlorophyll) performed within the polluted area as compared to a reference area. It also contains studies on microflora (bacteria, mushrooms, actino-mycetes) and physico-chemical qualities (the mineralizing capacity, humus, hydrogenesis, etc.) of the soil under the fluorine influence.

Previous studies and investigations showed that the *noxae* eliminated by the aluminium works were of very different nature but it was fluorine and the powderes, accompanied by smaller lost quantities of Na salts, tar and sulphur dioxide, that were mainly eliminated in atmosphere.

In the course of our researches carried out in the neighbourhood of such a source of pollution, the dust emitted in the atmosphere was monthly measured by weighing the filters placed in boxes of protection against strong air streams and precipitations. The data obtained by this procedure showed many deposits, their scattering being noticed as far as 5 — 6 km distance (12 — 72 g/m²/month). At the same time the fluorine concentration was determined by means of the HF method of sedimentation, separation and titration (there were found values between 0.15 and 7.5 mg/m²/month) and by means of the Bermuchon & Derome method modified by Grou using alizarin of Na sulphate instead of eriochrom ciamine (the data showed 1 — 18 ppm F).

In order to find out the distribution of the most harmful noxa, namely fluorine, and to be able to predict and estimate the loss of agricultural cultures and the spontaneous flora limitrophe to the area next to the source of pollution, a map was drawn up, using a computer according to a mathematical model.

The determination of the contour lines showing the fluorine scattering round a single source of pollution (as in our case) made it necessary to deduce the equation of a surface in a tridimensional space (O, X, Y, Z), where X, Y are two orthogonal directions conveniently chosen (such as the cardinal directions or the longitude and latitude) and Z is the value of fluorine concentration in every X, Y point.

We seek the equation of the following form :

$$(1) \quad Z = \exp[P_n(x, y)], \text{ where } P_n(x, y) \text{ is a polynomial in } x, y$$

$$(2) \quad P_n(x, y) = \sum_{\substack{i, j \\ i+j \leq n}} a_{ij} x^i y^j$$

The determination of equation (1) comes to calculating the a_{ij} , $i + j \leq n$ coefficients.

THE LEAST SQUARES METHOD

Let us suppose that we have already made N experimental determinations and found N points (x_i, y_i, Z_i) $i = 1, 2, \dots, N$. We logarithmate equation (1) and form the function :

$$(3) \quad \Phi_2 = \sum_{i=1}^N [\ln Z_i - P_n(x_i, y_i)]^2$$

We have to determine a_{ij} coefficients so that Φ_2 be minimal, and obtain :

$$(4) \quad \frac{\partial \Phi_2}{\partial a_{ij}} = 0, i + j \leq n$$

In this case we have chosen a polynomial of the fifth degree.

$$(2') \quad P'_5(x, y) = \sum A_{ij} x^i y^j$$

When we have got the a_{ij} coefficients leading to the determination of the unique surface equation $Z = \exp P_2(x, y)$ where, if we replace Z by Z_0 , we obtain the equation of a closed curve in $Z_0 = P_2(x, y)$ by means of which we get the set of the points in the plane giving the same fluorine concentration.

The maximum point of the surface coincides with the centre of pollution. For curve plotting we have to put the equation from Cartesian into cylindric co-ordinates by transformation :

$$(5) \quad (x, y, z) \rightarrow (\rho \cos \theta, \rho \sin \theta, Z)$$

In figure 1 a closed curve is given as an example, for polynome (2') where Z has values between 0.2 and 1.2 : $Z_{\max}$ is the origin.

The flow chart to solve the problem is presented in figure 2.

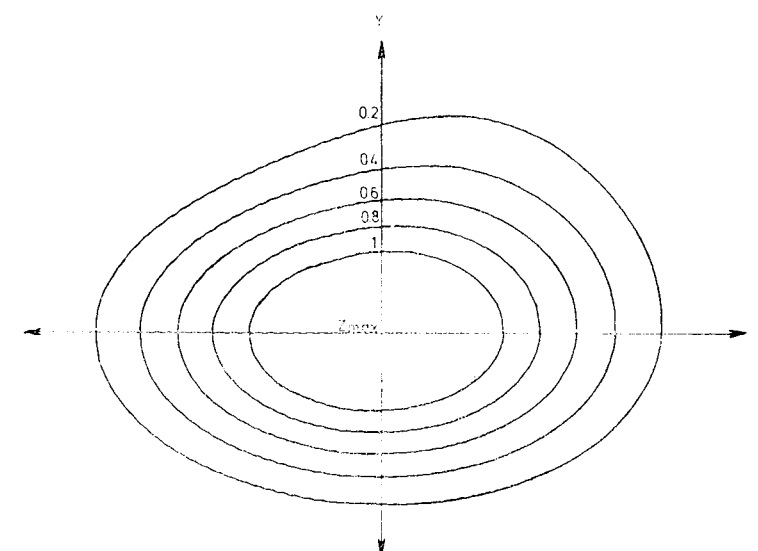


Fig. 1. — The model map of isonoxae.

STUDIES ON PLANT PHYSIOLOGY AND SOIL MICROORGANISMS ACTIVITY IN FLUORINE IMPURIFIED AREAS

The purpose of our investigation is to state the influence of noxae, and especially of fluorine, on the crops and plants round about the aluminium works. *

At the same time, in order to establish the doses harmful to soil microorganisms, an experiment was carried out with 10 variants containing increasing concentrations of fluorine, incubated for two months under controlled conditions of temperature and moisture.

METHODS

Various methods were used in these studies, such as :

a) the extraction in acetone and reading at the colourimeter chlorophyll determination ; b) gravimetric methods for the estimation of fresh and dry weight of plants and their yield capacity ; c) the Kjeldhal method to estimate total nitrogen in plants ; d) nitric nitrogen was colourimetrically determined using phenolsulphonic reagent ; e) mobile phosphorus was also colourimetrically determined in the extract of aluminium (the Egner Rhiem-Domingo method) ; f) mobile potassium was determined

* 1. The area placed at a 0.7 — 1.2 km distance ;
2. In the close vicinity of the polluttional source — 0.500 km ;
3. Polluttional sources.

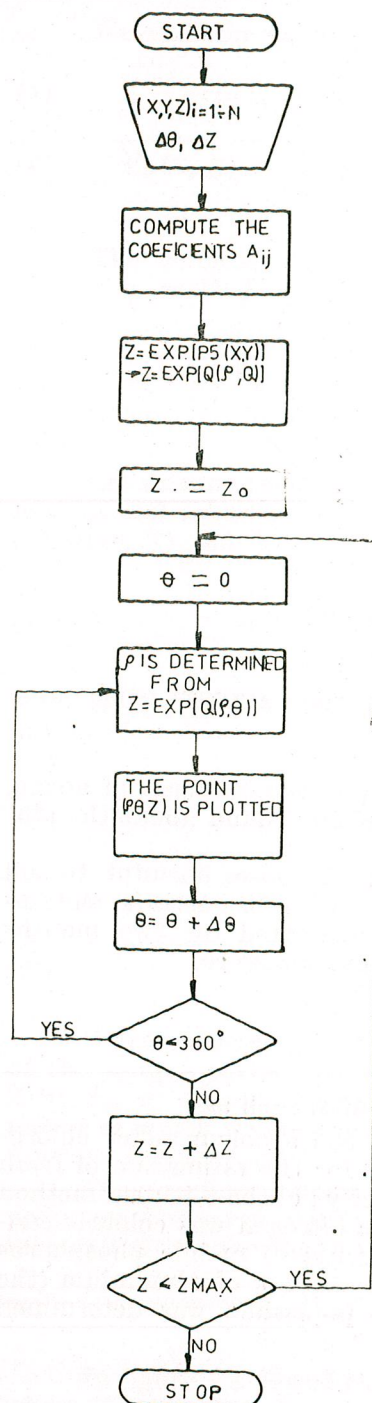


Fig. 2. — The flow chart of the mathematical model.

at the flame photometer in the extract of aluminium; g) the Tiurin method was used to measure the total humus and the Kononova-Belcikova method to quantitatively estimate the soluble forms of humus; h) the Pochon method was used to determine the capacity of mineralization and nitrification, by incubating the unmanured and manured samples with ammonium sulphate in a thermostat for 14 days at 28°C; i) the frequency of microorganisms in soil was determined by the Koch method of plates, the following media being used: — a medium containing soil extract for estimating the whole number of microorganisms: — Martin medium with Bengal rose and streptomycin for fungi estimation; — Berezova medium for determination of *Actinomycetales*; j) dehydrogenase activity was assessed by the Casida *et al.* method, modified by Kiss and Boeriu and then by Ştefanic.

RESULTS

Round about the pollutional source the cultures consisted almost exclusively only of wheat and maize.

On the parcels next to the aluminium works, numerous withered brownish areas were noticed on the leaves as well as cases of sterility and nanism. At the same time, the quantity of weeds had increased, the prevalent species being *Setaria*, *Agropyrum*, *Echinochloa*, *Cyrsium*, *Euphorbia*. Some weeds got injured such as: *Portulaca*, *Hybiscus* and *Sonchus*.

The fresh and the dry weight respectively of five species of plants, which can be found at 500 m distance from the pollutional source shows clear-cut differences according to the degree of pollution (Fig. 3). From the data obtained and the total yields we could establish the efficiency of crops (i.e. maize and corn, respectively) in the polluted area in comparison with that in the control areas.

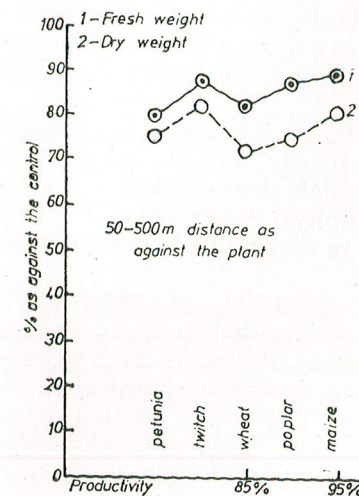


Fig. 3. — Fresh and dry weight and yield capacity of several plants in the polluted area as compared to the control zone.

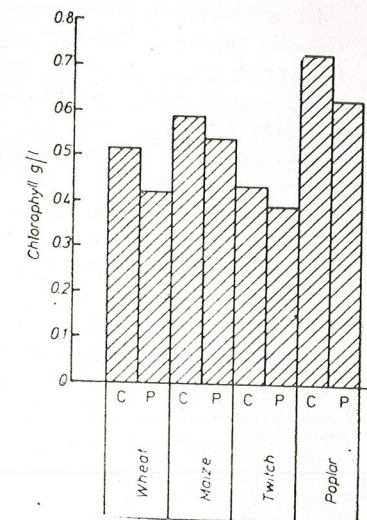


Fig. 5. — The chlorophyll quantity in plants in the control (C) and polluted (P) area.

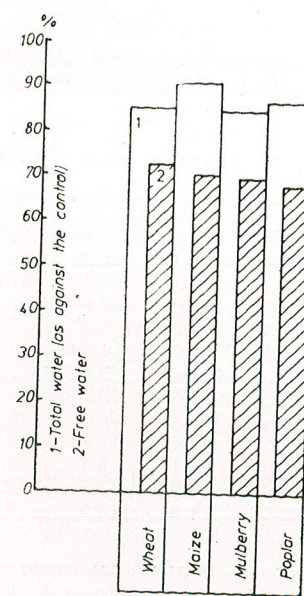


Fig. 4. — Total moisture and free water.

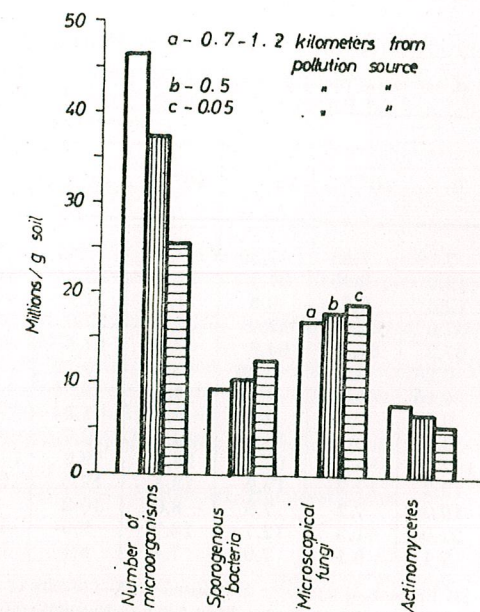


Fig. 6. — The frequency and activity of microorganisms function of pollution with fluorine.

High amounts of free water, the mobile fraction of plant total moisture generally prove a satisfactory growth of plants. Free water was determined by keeping the initially weighted plants in a drier above concentrated sulphuric acid. The weight lost under these conditions represents just the free water fraction (fig. 4).

The quantity of chlorophyll. Starting from R. Hellingötter's earlier findings, which showed that HF is harmful for plants even in a proportion of 1 : 300,000 and using recent experiments which showed that a F content of 0.5 — 3 ppm in air may induce a chlorophyll decay [3] — [5] [7], we determined the quantity of chlorophyll in various plants in polluted areas as compared to the control ones (Fig. 5).

The results showed a decrease of the quantity of chlorophyll with the plants in the polluted area, although we avoided to harvest those plants which by their necrosis, decoloration and an obviously bad physiological condition, they showed *a priori* minute amounts of chlorophyll.

Soil microorganisms and enzymic activity. The three studied areas which were differently exposed to the fluorine flow, have some characteristic features as far as the frequency of microorganisms and their activity (Fig. 6) are concerned.

The tests undertaken stated the doses at which fluorine may inhibit the frequency and activity of microorganisms in the soil. With this aim in view, various concentrations of fluorine were achieved in a soil in the control area.

The samples were incubated at 20°C under constant conditions of moisture (i.e. 80% from the field capacity) and analyzed from the chemical and biological points of view after 30 and 60 days respectively (table 1).

Table 1

Evolution of the main chemical and biological indices in the presence of different concentrations of fluorine

*	Concentration									
	0	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁷	10 ⁻⁹	10 ⁻¹¹	10 ⁻¹³	10 ⁻¹⁵	10 ⁻¹⁷	10 ⁻¹⁹
1	7.10	7.85	7.30	7.35	7.41	7.40	7.41	7.36	7.45	7.55
2	19.9	2.15	24.5	22.7	22.3	19.0	20.8	11.2	11.2	11.6
3	12.6	9.6	9.6	11.1	11.1	11.6	12.6	37.0	37.0	37.0
4	37.0	37.0	37.0	37.0	37.0	37.0	37.0	64.8	64.8	64.8
5	67.2	67.2	64.8	67.2	64.8	67.2	60.0	0.29	0.27	0.28
6	0.28	0.21	0.24	0.23	0.22	0.23	0.28	4.00	4.18	4.11
7	4.16	4.10	4.26	4.24	4.24	4.43	4.27	1.44	0.93	1.01
8	0.82	1.01	0.93	0.93	1.34	1.06	1.13	14.5	13.1	14.1
9	13.9	—	12.2	12.2	12.7	1.23	13.4	104.5	96.0	116.0
10	107.0	86.7	97.3	98.3	99.0	105.7	92.3	12.4	12.3	12.0
11	12.2	14.2	12.2	13.4	12.3	10.0	10.9	8.1	9.1	11.2
12	10.0	7.2	7.6	8.0	10.2	9.7	8.6	14.0	13.0	19.7
13	22.0	11.3	12.7	16.7	9.0	25.3	22.7	8.5	7.9	9.6
14	7.1	6.1	7.9	7.4	8.1	10.6	8.5			

* 1 — pH (in aqueous solution); 2—Moisture%; 3—Capacity of mineralization (ppm NO₃); 4 — P₂O₅ (mg for 100 g soil); 5— K₂O (mg for 100 g soil); 6 — Total N%; 7—Humus%; 8 — Soluble carbon %; 9— Dehydrogenase; 10—Microorganism sum total (millions for 1 g soil); 11 — Sporulated bacteria (millions for 1 g soil); 13 — Microscopic fungi (thousands for 1 g soil); 14 — The ratio: bacteria/sporulated bacteria.

During incubation we did not notice significant differences function of the fluorine concentration applied.

However, the biologic indices (whose modification will entail changes of biotope) show significant variations function of the dose of substance applied. We can state that sometimes there is a marked decrease both of microorganisms frequency and activity at the same time with an increase in fluorine concentration.

CONCLUSIONS

1. Determinations of noxae in the areas round about the aluminium works have shown that the admitted limits are overpassed and so the noxae have harmful influence of plant growth and soil fertility.

2. Drawing up a map by means of a computer, after the above presented model based on isonoxae stated by calculations helps us to foresee and estimate the noxae-induced losses and allows us to establish the correlations between noxae and plants in every point limitrophe to the pollutional sources.

3. Chlorophyll-forming capacity, the quantity of free water and yield capacity have values 5 — 25% lower, in the case of plants in the polluted area as compared to those in the control area.

4. The decrease of microorganisms sum total (i.e. bacteria, Actinomycetales and fungi) and the increase of the forms of resistance (e.g. sporulated bacteria) is remarked in the fluorine polluted area: soil enzymic activity (estimated function of dehydrogenase values) is also disturbed.

5. Laboratory tests established the boundary concentrations under which the frequency and activity of microorganisms is negatively influenced. So, concentrations of 10⁻³, 10⁻⁵, and even 10⁻⁷ proved to be inhibitory.

REFERENCES

1. BOVAY E., In *Air pollution*, Wageningen, Ed. Pudoc, 1969.
2. ELIADE GH., GHINEA L., ȘTEFANIC GH., *Microbiologia solului. Bazele biologice ale agrotehnicii*, Ed. Ceres, București, 1975.
3. IONESCU AL., ȘERBĂNESCU GH., PAL GH., *Elements of the symptomatology of fluor polluted plants*. Rev. roum. biol. 2, 1972.
4. IONESCU AL., *Efectele biologice ale poluării mediului*, Ed. Academiei, București, 1973.
5. IONESCU AL., *Fenomenul de poluare și efectele sale în agricultură*, Ed. Ceres, București, 1974.
6. MAZEL A., *Fluoruroses industrielles* (imp. ouv.), Toulouse, 1968.
7. MC. NULTY J. B., NEWMAN D. N., *Mecanism (s) of fluoride induced chlorosis*, Plant Physiol., 36, 1961.
8. OBREJANU GR., *Metode de cercetare a solului*, Ed. Academiei, București, 1964.

Received July 1, 1977

Research Institute
of
Cereals and Technical Plants
8264 — Fundulea

NEUE FUNDORTE MIT *POLYTRICHUM* × *ȘTEFUREACII* PLĂMADĂ IN DER BRYOFLORE RUMÄNIENS

VON

E. PLĂMADĂ

Cet ouvrage s'occupe de la répartition de l'espèce hybride *Polytrichum* × *ștefureacii* Plămadă dans 12 stations des Carpates roumaines.

On constate ainsi que cette espèce a une large aire de répartition, en partant du nord, des Mts. Maramureș et Rodna, jusqu'aux Carpates Meridionales et aux Mts. Apuseni (alt. 700—2200 m). Mais, tenant compte aussi de l'ouvrage de C. Magnée, il paraît que l'aire de cette espèce hybride est similaire à celle du *P. commune*, *P. strictum* et respectivement du *P. juniperinum* de la croissance desquelles elle a pris naissance.

Dans quelques stations (Poiana Stampei, Mts. Cibinului, Mts. Gilăului) ont été trouvés aussi des exemplaires à sporogons prouvant que cette espèce hybride a des caractères biologiques déjà consolidés, ayant la capacité de la reproduction sexuée.

In unserer vorangehenden Arbeit [2], welche der hybridogenen Art *Polytrichum* × *ștefureacii* gewidmet war, erwähnten wir, daß das Material im Retezat-Gebirge, relativ an wenigen Orten vorhanden ist. Später, als wir unsere phytozonologischen Erforschungen fortsetzten, entdeckten wir im Jahre 1972 einen neuen Fundort, wo diese Pflanze besser verbreitet ist und von wo wir ein reichhaltiges Material einsammelten. Der neue Fundort befindet sich nord-östlich des Zănoaga-Sees, im oberen Gletscherkessel Judele, auf mesophilem Rasen torfigen Bodens.

Aber, viel bedeutender ist die Tatsache, daß von da an, diese Art auch in anderen Gebirgen der Karpaten entdeckt wurde, sei es in Privatsammlungen, oder in verschiedenen Materialien die zur Benennung von anderen Botanikern geschickt wurden, oder auch in Herbarien. Im Folgenden werden wir uns gerade mit diesen Orten aus den O-, S- und W-Karpaten beschäftigen (Abb. 1).

1. *Maramureș-Gebirge*: Die Spitze Cornedei-Prislop, Höhe cca 1600 m (leg. 20.VI.1975). Die Pflanze wurde durch eine phytozonologische Erforschung, in einem Material entdeckt. Sie wächst auf torfhaltigem Boden in mesophilen Weiden, zusammen mit *Polytrichum commune* und *P. juniperinum*. In der Zusammensetzung der Weide notieren wir noch: *Nardus stricta* (3.5), *Deschampsia flexuosa* (2.5), *D. caespitosa* (+), *Anthoxanthum odoratum* (1.5), *Vaccinium myrtillus* (1.3), *Potentilla aurea* (1.5), *Leucojum vernum* (+.5), *Homogyne alpina* (+.4), *Hypericum montanum* (+.3), *Soldanella montana*, *Anemone nemorosa*, *Cerastium caespitosa*, *Poa annua*, *Rumex ariifolius*, *Veronica serpyllifolia*, *Juniperus nana* u.a.

2. *Rodna-Gebirge*: Bila-Lala Plateau, Höhenlage cca 1500 m (leg. 26.VII.1973). Hier wächst die Pflanze luxuriant, kann Höhen 15–20 cm erreichen und ist in zahlreichen meso-hygrophilen Polstern vorhanden.



Abb. 1. — Die Verbreitung der Art *Polytrichum* × *stefureacii* in den rumänischen Karpaten (die Numerierung in der Ordnung aus dem Text).

3. *Dorna Senke*: wissenschaftliche Reservation Poiana Stampei, Höhe 910 m (leg. 16.VII.1976). Auch hier findet man die Pflanze in vigurösen Polstern, von einer Höhe von 15–20 cm, in hygrophilen Weiden, zusammen mit *Polytrichum commune*. Sie wurde durch eine phytözologische Aufnahme in einer hygrophilen Weide am süd-westlichen Rand eines Sumpfes entdeckt. In dieser Phytözönose notierten wir auch folgende Arten: *Deschampsia caespitosa* (3.5), *Juncus effusus* (2.5), *Festuca rubra* (1.5), *Agrostis tenuis* (1.5), *Anthoxanthum odoratum* (1.5), *Ranunculus acer* (1.5), *Cirsium pannonicum* (1.5), *Galium uliginosum* (1.5), *Luzula nemorosa* (+.5), *Carex fusca*, *C. canescens* und *C. leporina* (1.5), *Hypericum perforatum* (+.5), *Hieracium aureum* (+.5), *Vaccinium vitis-idaea* (+.3), *Rumex acetosa* (+.3), *Lychnis flos-cuculi* (4.5), *Angelica silvestris*, *Veronica chamaedrys*, *V. officinalis*, *Potentilla erecta*, *Campanula abietina* u.a., *Polytrichum commune* und *P. x stefureacii* (3.5), *Sphagnum girgensohnii* (1.5), *S. fallax* (1.3), *S. centrale*, *Aulacomnium palustre* und *Pleurozium schreberi*.

Zu beachten ist die Tatsache, daß hier, wie auch an anderen Orten, einige Exemplare Sporogone tragen.

4. *Gurghiu-Tîrnava Plateau*: der Ort liegt in der Praid-Dealul-Zone, in einer Höhe von cca 1000 m (leg. Gh. Coldea, 25.VI.1975). Die Pflanze wurde in einem bryologischen Material, welches für eine phytözologische

Studie der sumpfigen Ökosysteme aus dieser Zone bestimmt war, entdeckt. Die Aufnahme wurde in einer hygrophilen Weide, am Rande eines Sumpfes gemacht, wo auch folgende Arten erscheinen: *Calliargon stramineum* (3.5), *Aulacomnium palustre* (1.5), *Polytrichum* × *stefureacii* (+.1), *Drepanocladus exannulatus*, *Bryum* cf. *pallidum*, *Carex canescens* (3.5), *C. rostrata* (1.5), *Agrostis canina* (1.5), *Scirpus silvaticus* (1.5), *Peucedanum palustre* (+.3), *Scutellaria galericulata* (+.3), *Potentilla erecta*, *Galium palustre*, *Lychnis flos-cuculi*, *Filipendula ulmaria*, *Nardus stricta* u.a.

5. *Harghita-Gebirge*: Luci-Torfmoor, Höhe 1079 m (leg. 15.IX.1973). Die Art wurde in hygrophilen Weiden am Rande des eigentlichen Hochmoors gemeldet, wo sie sich in Polstern, zusammen mit *Polytrichum commune* entwickelt. In diesen ökologischen Nischen fehlt *P. strictum*, welche aber nicht zu weit entfernt, vorhanden ist.

6. *Bucegi-Gebirge*: Babele-Plateau, Höhe 2100 m (leg. Gh. Coldea, 3. VIII. 1974). Die Pflanze wurde bei der gelegentlichen Verarbeitung eines bryofloristischen Materials entlang eines Baches, zusammen mit *Carex dacica*, gemeldet. In der pflanzlichen Zusammensetzung befanden sich noch: *Carex fusca* ssp. *dacica* (2.5–4.5), *Juncus filiformis* (1.5–4.5), *J. triglumis* (1.3), *Deschampsia caespitosa* (+.4), *Polytrichum* × *stefureacii* (+.3–1.3), *Salix herbacea*, *Primula minima*, *Nardus stricta*, *Saxifraga stellaris*, *Agrostis canina* und *Eriophorum scheuchzerii*. Es wird darauf hingewiesen, daß die Pflanzen klein (3–5 cm) sind.

7. *Zibin-Gebirge*: Strimbu-Berg, stromaufwärts von Răşinari (leg. H. Feldoru, 1973). Die Pflanze wurde in einem bryophytischen Material, aus einer Wiese mit Birken-Sträuchern stammend, entdeckt. Auch hier fand man einige Exemplare mit gut entwickelten Sporogonen.

8. *Sebeş-Gebirge*: Auşelu-Spitze, Höhe cca 1800 m (leg. 13.VII.1973). Bei einer phytözologischen Forschung, wurde die Art in zwei Aufnahmen, aus der mesophilen Weide, von der Comarlău-Spitze (Orăştioara de Sus) und Dobroia (Petrila) gemeldet. Zu erwähnen wären, folgende Arten: *Nardus stricta* (4.5–5.5), *Festuca rubra* (+.5–1.5), *Agrostis rupestris* (+.5–1.5), *Anthoxanthum odoratum* (+.5–1.5), *Deschampsia flexuosa* (+.5–1.5), *Potentilla ternata* (+.5–1.5), *Geum montanum* (+.5–1.5), *Homogyne alpina* (+.5), *Campanula abietina*, *Soldanella montana*, *Luzula sudetica*, *Vaccinium myrtillus*, *V. vitis-idaea*, *Bruckenthalia spiculifolia*, *Juniperus nana*, *Polytrichum* × *stefureacii* (1.3–3–5), *P. commune*, *Pleurozium schreberi* (1.5), *Cladonia rangiferina*, *Cetraria islandica*.

9. *Retezat-Gebirge*: a) Judele-Gletschertal, Höhe 2030–2065 m (8–9.VII.1971); b) zwischen der Muchia Ascutită und Slăvei-Höhe, 1990 m (9.VII.1971); c) Stănişoara-Tal, Höhe 1860 m (7.VIII.1970); d) Faţa Retezatului, Höhe 2100 m (12.IX.1970); e) oberer Zănoaga-Kessel, Höhe cca 2100 m (20.VI.1972).

10. *Gilău-Gebirge*: a) Mărişel, Höhe cca 850 m, in Buchenwäldern (leg. I. Pop, 9.VII.1976); b) Beliş, Höhe cca 1000 m, in Fichtenwäldern (leg. I. Pop, 8.X.1976). Auch hier sind die Pflanzen gut entwickelt (15–20 cm), einige Exemplare weisen gut entwickelte Sporogone auf. Im bryophytischen Material welches uns zur Bestimmung zugeschiedt wurde, ist nur *Polytrichum formosum* vorhanden, *P. commune* und *P. juniperinum* fehlen gänzlich. Sollte in dieser Zone *P. x stefureacii* am verbreitetsten sein?

HERBARIUMMATERIAL

Das Vorhandensein dieser Pflanzen in verschiedenen Zonen des Landes, brachte uns auf die Idee, daß sie auch in Sammlungen verschiedener Herbarien zusammen mit *Polytrichum commune* oder als die Varietät dieser Art, vorhanden sein kann. Wir untersuchten in den Sammlungen der Universität Cluj-Napoca, die Pflanzen deren morphologischer Aspekt, ähnlich mit dieser hybriden Art ist, besonders die *perigoniale* Varietät und die sogenannte Art *Polytrichum leonii* Papp¹. Nach diesen Erforschungen, wurde die Art in zwei anderen Fundorten, unter anderen Namen, entdeckt:

11. *Gheorgheni-Senke*, „Harghita-Distrikt: Voşlobeni-nach Luncă, in mesotrophen Sümpfen“ (leg. Fl. Raţiu, Juni 1967) von L. Lungu als *Polytrichum commune* Hedw. bestimmt. Interessant ist die Tatsache, daß diese Pflanzen einen sehr ähnlichen Habitus mit *P. strictum* aufweisen; sie haben sehr kleine Blättchen, 3–5 mm, mit umgleichem gezähntem Rand (2–3 Zähnen) bei einigen fehlt diese Zähnung gänzlich. Die Stengelchen hingegen sind 18–22 cm hoch und dünn. Beim Querschnitt durch die Blattfläche, beweisen die meisten Endzellen der aufsaugenden Lamellen (cca 90 %) den piriformen Typ $\pm$ (Abb. 2 a, b, e, g) oder gewissermaßen den asymmetrischen-piriformen Typ (Abb. 2 c, f, h, j) und

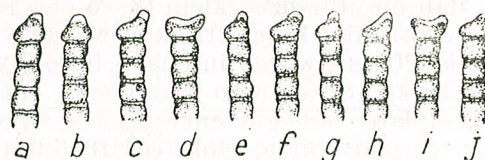


Abb. 2. — Endzellengruppe der aufsaugenden Lamellen im Querschnitt durch die Blättchen der *P. x stefureacii*, aus dem Fundort Voşlobeni-Harghita (orig.).

sehr wenige den bimamellaren Typ (Abb. 2 d, i) welcher sich sehr stark dem *P. commune* nähert (cca 10 %). In diesem Fall, ist es besonders klar, daß sich die Pflanze in der Richtung der vorherrschenden, geerbten Eigenschaften von *P. strictum* entwickelt.

12. *Meseş-Gebirge*: „in nardetis summae mt. Perjei Măgura, supra pag. Perje“ (leg. Bálaş-Felföldy, 16.V.1941) unter *Polytrichum attenuatum* Menz. und rev. C. Papp unter *P. leonii*. Sie ist eine Pflanze von niedrigem Wuchs, typisch denen aus der Weide mit allen Merkmalen der Art *P. x stefureacii*.

¹ Die „Art“ wurde anhand eines veralteten Materials, welches sich im Zersetzungsprozeß (wahrscheinlich von Pilzen angegriffen) befand, beschrieben. Aus diesem Grund erscheint die Haarspitze ungezähnt, die Spitze zersetzt (abgerissen) oder auch etwas hyalin. Bei gesunden (jungen) Exemplaren sind die Endzellen der aufsaugenden Lamellen typisch für *P. commune* Hedw. Aus diesem Grund, weist diese „Art“ keine anderen Eigenschaften auf, durch die sie sich von *P. commune* unterscheidet („Moldova, distr. Neamţ. In locis turfosis jugo montis Ceahlău ad cacum. Ocolaşul, alt. ca 1880 m s.m., 13 iul. 1931, leg. et det. C. Papp“).

DISKUSSION

Aus dem, bis jetzt Beschriebenen, konstatieren wir, daß gegenwärtig diese Art ein ausgedehntes Areal besitzt, da sie praktisch in allen Teilen unserer Karpaten vorkommt, angefangen mit dem Norden, in dem Maramureş und Rodna-Gebirge bis zu den Süd- und Westkarpaten. Ebenfalls, stellt man fest, daß die Pflanze auch eine weite Ausdehnung auf der Höhenstufung besitzt, da sie bei einer Höhe von 700–900 m (Apuseni, Poiana Stampei) und auch bei Höhen von 2100 m (Bucegi, Retezat) angetroffen wird.

Aber, es scheint, daß diese hybridogene Art ein noch weiteres Areal hat, wenigstens auf europäischem Plan, wenn nicht sogar similär mit dem der Arten *Polytrichum commune*, *P. strictum* und *P. juniperinum*, durch deren Kreuzung diese Art hervorgegangen ist. Als Basis dieser Behauptung berücksichtigen wir die Arbeiten von Claude Magnée [1] in welchen der Autor die Meinung einer ökologischen Variabilität im Rahmen der Art *P. commune* aufwirft. Wir aber sind überzeugt, daß gerade über diese hybridogene Art die Rede ist. Diese Überzeugung entspringt aus den durchgeführten Beschreibungen und Zeichnungen, um diese „Variabilität“ besser zu illustrieren. Der Autor behauptet — mit gutem Recht — daß bei diesen Pflanzen die aufsaugenden Lamellen der Blättchen, Endzellen des Typus *P. commune* und vom Typus *P. formosum*, sowie intermediäre Formen aufweisen (Abb. 3). Von dem ökologischen

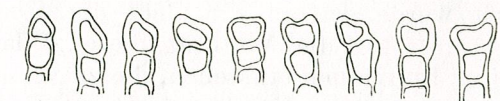
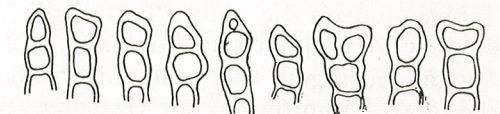
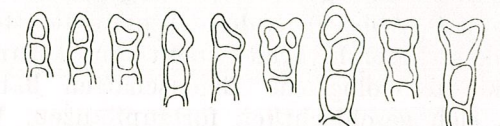


Abb. 3. — Endzellengruppe der aufsaugenden Lamellen im Querschnitt durch das Blättchen (nach C. Magnée, 1967).



Standpunkt aus betrachtet, konstatiert der Autor noch: „Nous avons d'abord constaté que *P. formosum* se rencontre parfois dans des touffes de sphaignes et que *P. commune* peut coloniser (avec *P. formosum*) des pelouses sableuses et des places à feu dans de grandes clairières, sur des sols franchement secs“. Diese Feststellung stimmt in der Richtung der Pflanze die wir behandeln, ist aber falsch für *P. formosum*, da diese Pflanze nicht in Pölsterchen zusammen mit *Sphagnum* wachsen kann, sowie auch

P. commune nicht auf ariden sandigen Böden, oder verlassenen Feuerstellen wachsen kann. Der Autor beobachtete die Tatsache, daß die Blättchen dieser Pflanze eine sehr große ökologische Plastizität besitzen, und am Rande die gezähnten Teile, die ungezähnten Teile abwechseln. Hätte er auch diese Besonderheiten beobachtet so hätte er sich vielleicht Rechen-schaft darüber geben können, daß es sich um eine hybride Art zwischen *P. commune*, einerseits, und um *P. strictum* oder *P. juniperinum* andererseits, handelt.

Da diese gemeldete hybridogene Art sich auch an Stellen mit großer Feuchtigkeit (Sümpfen) und auch auf mesophilen-xerophilen Weiden gut entwickelt, zeigt die unbestreitbare Tatsache, daß sich *P. commune* auch mit *P. strictum*² aber auch mit *P. juniperinum* kreuzt. Wir unterstreichen auch die Tatsache, daß die daraus entstandenen Pflanzen im allgemeinen einen kleineren Wuchs als *P. commune* und einen größeren als *P. strictum* und *P. juniperinum* haben. Diejenigen, die aber in Sümpfen wachsen, haben einen ähnlichen Aspekt mit *P. strictum*, sind aber robuster, im allgemeinen mit größeren Blättchen (5–7 mm), die mit kleineren abwechseln (3–5 mm); diejenigen aus feuchten Weiden, haben hingegen einen ähnlichen Aspekt mit *P. commune*, aber einen kleineren Wuchs, ähnlich mit dem des *P. formosum*; die Blättchen sind weniger heterogen, wie auch jene aus stärkeren xerophilen Weiden.

In unserer vorangehenden Arbeit [2], in der die Beschreibung dieser hybriden Pflanzen nur anhand von unfruchtbaren Pflanzen durchgeführt wurde, hatten wir nicht die Überzeugung — wie viele vielleicht glauben — für die Vitalität dieser Pflanzen, die durch die Kreuzung einiger Individuen entstehen, die zu verschiedenen Arten, aber zur selben Gattung gehören. Jetzt, nachdem man an mehreren Orten (Poiana Stampei, Zibin-Gebirge, Gilău-Gebirge) auch Exemplare mit Sporogonen gefunden hat (Abb. 4), widerlegt man die Meinung in Bezug der Unfruchtbarkeit dieser Hybriden, man kann sogar behaupten, daß diese Art konsolidierte biologische Eigenschaften hat — theoretisch — und imstande ist, sich geschlechtlich fortzupflanzen. Wir sagen theoretisch, weil wir noch nicht wissen ob die erhaltenen Sporen imstande sind neue Pflanzen zu bilden und ob die neue Pflanze alle anfänglichen Eigenschaften noch besitzen wird. Sicher ist die Tatsache, daß die Sporen zu einer vollständigen Maturität gelangen und alle Eigenschaften (Größe 9–13 μ , gelbliche Farbe, glatte Membrane) der Gattung aufweisen. Interessant ist noch die Tatsache, daß bei einigen Pflanzen, die Kapsel unterentwickelt (Abb. 4 e) bleibt, oder sich nur der Seta, beziehungsweise die Seten entwickeln (Abb. 4 f). Man muß noch betonen, — daß wenigstens bis jetzt —, der Prozent-

² Wir schätzen, daß in diesem Fall die Hybridisierung ein weiteres Argument für den Standpunkt ist, daß die sogenannte Art *Polytrichum strictum* Banks, nichts anderes als eine Varietät oder eine ökologische Form, angepaßt an die feuchte Bedingungen der Art *P. juniperinum* (*P. juniperinum* var. *strictum* Hartm.) ist.

satz der Pflanzen, die mit Sporogonen angetroffen sind (besser und wenig besser entwickelte) viel kleiner ist, als jener der sterilen Pflanzen. Bei einer morphologischen Analyse der Blättchen mit normal entwickelten Kapseln, stellt man fest, daß bei den aufsaugenden Lamellen die Endzellen des Typus *P. commune* vorherrschen, oder genauer die der var. *perigoniale*³; die des Typus *P. juniperinum*, betreffend *P. strictum*, befinden sich insbesondere am Rande der Blättchen, obwohl diese gezähnte und ungezähnte Abschnitte aufweisen. Bei denen mit unterentwickelten Kapseln, oder nur mit Seta, ist die Proportion zwischen den zwei Typen fast gleich, die aber des piriformen Typus, sind immer am Rande lokalisiert. Alle diese Tatsachen sind wohl ein Anzeichen, daß die Pflanze in

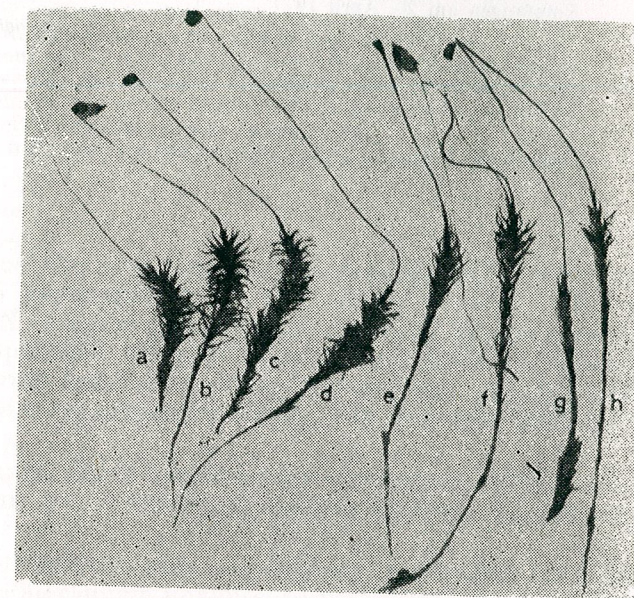


Abb. 4. — *Polytrichum* $\times$ *stefureacii*: Exemplare mit Sporogonen (orig.).

ihrer Entwicklung die anfänglichen geerbten Eigenschaften der Eltern allmählich verliert, so daß sie bis zum Schluß zu anderen Eigenschaften mit neuem Typus gelangt und sich in nur diesem letzten Stadium geschlechtlich fortpflanzen kann (?). Wenn die Lage so ist, bedeutet es, daß wir es mit einer neuen Art im Entstehen zu tun haben, daß wir bei ihrer Genese assistieren. Es ist nicht ausgeschlossen, daß sie in diesem letzten

³ Es kann sein, daß *Polytrichum commune* var. *perigoniale* eine letzte Entwicklungsstufe des Hybrides, mit welchem wir uns beschäftigen, darstellt. Bei allen analysierten Proben aus der Sammlung des Herbariums der Universität Cluj-Napoca, weisen die Blättchen gezähnte und ungezähnte Abschnitte auf. Die Endzellen der aufsaugenden Lamellen hingegen — zeigen sich beim Querschnitt — sehr einförmig, des bekannten Typus dieser Varietät, und nur selten kann man am Rande der Blättchen auch einige (2–6), einfache Formen beobachten (piriforme).

Stadium, schon lange unter einem anderen Namen bekannt ist, oder sogar unter verschiedenen anderen Namen (*Polytrichum commune* var. *perigoniale*, var. *humile* usw.?).

LITERATUR

1. MAGNÉE C., Deux mousses trop souvent confondues : *Polytrichum commune* L. ex Hedw. et *Polytrichum formosum* Hedw., Bull. Les Naturalistes Belges, 1967, 48—7, 325 — 337.
2. PLĂMADĂ E., *Polytrichum* × *ştefureacii* sp. hybr. nova. Rev. Roum. Biol., Série Bot., 1973, 18, 3, 131—136.

Empfangen am 20. April 1977

Biologisches Forschungszentrum
Cluj-Napoca

ВЛИЯНИЕ ПЕСТИЦИД БРОМОФОС И МЕТАХЛОР НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ВОДОРΟΣЛИ *Chlorella*

ПЕТРЯ В. и СПИРЕСКУ И.

En vue d'établir le degré de toxicité de l'insecticide Bromofos et de l'herbicide Metachlore, on a étudié l'action de ces substances sur la croissance, la photosynthèse, la respiration et le contenu en chlorophylle chez les algues *Chlorella*, en employant des concentrations comprises entre 0,0005 mg/l et 200 mg/l. Les grandes concentrations de ces substances inhibent la croissance, la photosynthèse, ainsi que la synthèse des pigments chlorophylliens. L'inhibition est plus forte pour le Metachlore. Les petites concentrations comprises entre 0,0001 et 0,001 mg/l ont une action stimulatrice sur ces processus. La respiration est moins influencée par rapport aux autres processus physiologiques.

Пестициды Бромфос (Нексион, Омексан, тионофосфат 0,0—диметила — 0—2,5—дихлор — 2,6 диэтилфенил) и Метахлор (Аллахлор, Лассо, 2 хлоро — 2,6-диэтил N — метоксиметил) ацетиламин] употребляются в сельском хозяйстве: Бромфос в борьбе против некоторых насекомых, а Метахлор в борьбе против некоторых злаков и некоторых двусемядольных, которые появляются в культурах кукурузы, соя, томатов, баклажан, перца.

Так как эти пестициды могут загрязнять в некоторых случаях проточные или стоячие воды мы решили определить (узнать) степень их ядовитости.

Для определения ядовитости этих пестицидов изучались их влияние на рост, фотосинтез, дыхание и количество хлорофилла у водоросли хлорелла.

Интенсивность роста определяли у водорослях, выращенных в течение 14 дней в питательных растворах Кноп-Принсхаим, к которым добавляли изучённые пестициды в различных концентрациях, от 0,0005 мг/л до 200 мг/л.

Водоросли выращивали в стеклянных сосудах ёмкостью 300 мл., которые содержали 200 мл питательного раствора и которые были экспонированы непрерывному освещению 6000 лк (люксов).

Полученные результаты представлены на рис. 1. Было замечено, что при очень низких концентрациях (с которыми велись опыты) эти вещества не влияют на рост или проявляют очень небольшое стимулирующее действие, как например в случае Метахлора при концентрации 0,001 мг/л. По мере роста концентрации пестицидов рост водоросли нарушен

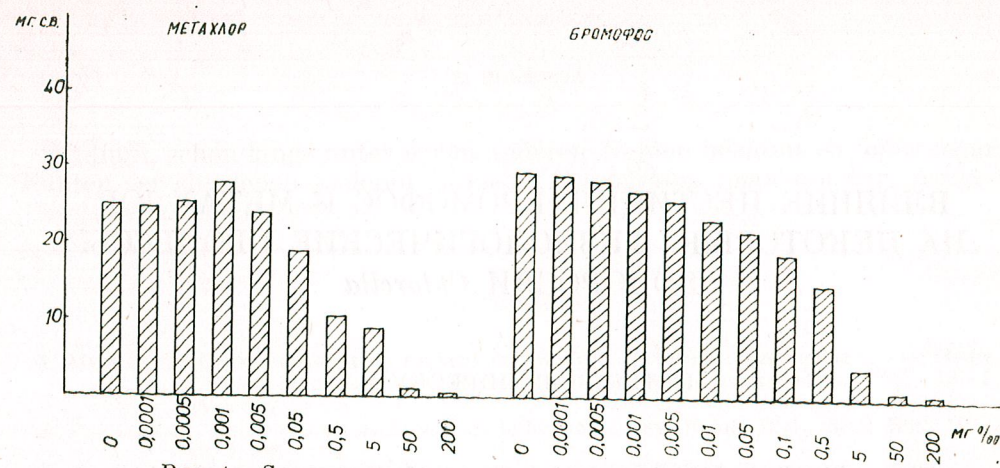


Рис. 1 — Сухое вещество водорослей на протяжении 14 дней.

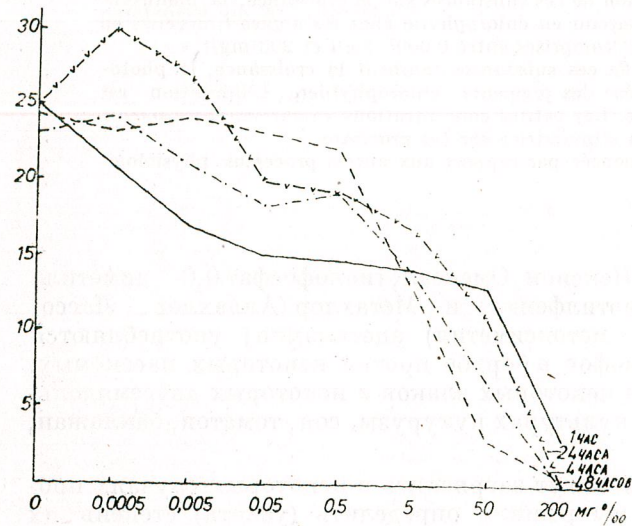


Рис. 2. — Воздействие Бромфоса на фотосинтез.

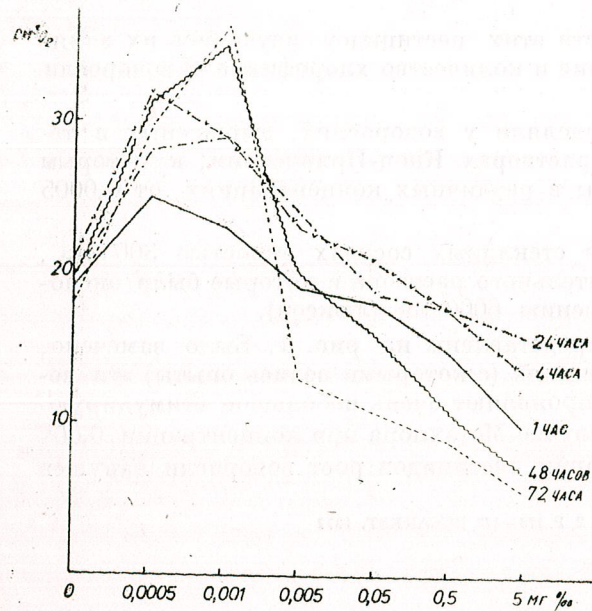


Рис. 3. — Воздействие Метаклора на фотосинтез.

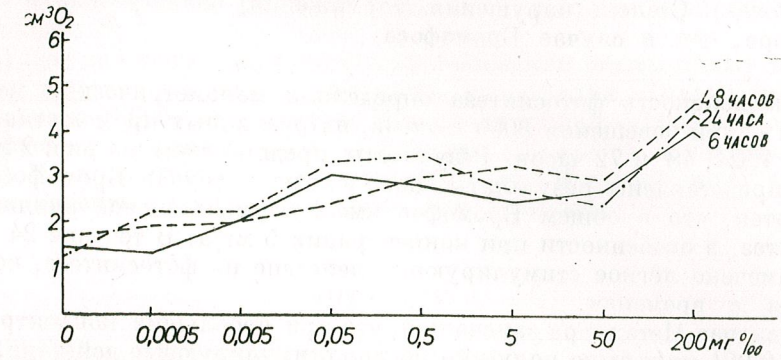


Рис. 4. — Воздействие Бромфоса на дыхание.

Рис. 5. — Воздействие Метаклора на дыхание.

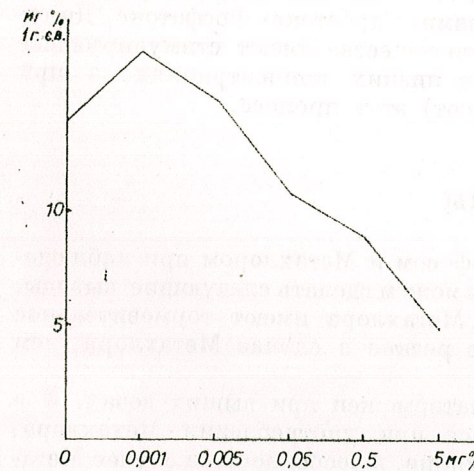
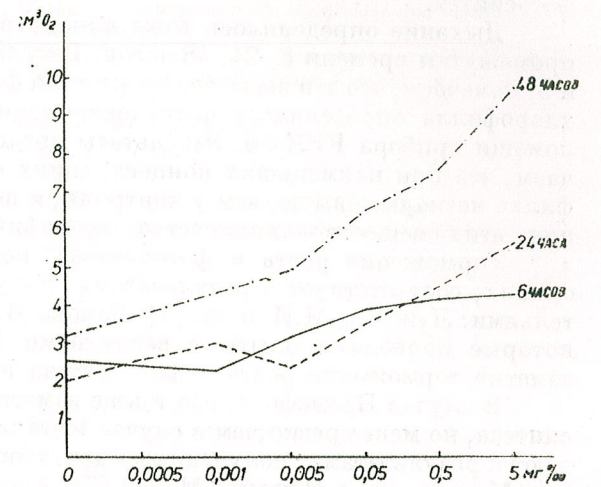


Рис. 6. — Воздействие Бромфоса на количество пигментов хлорофилла.

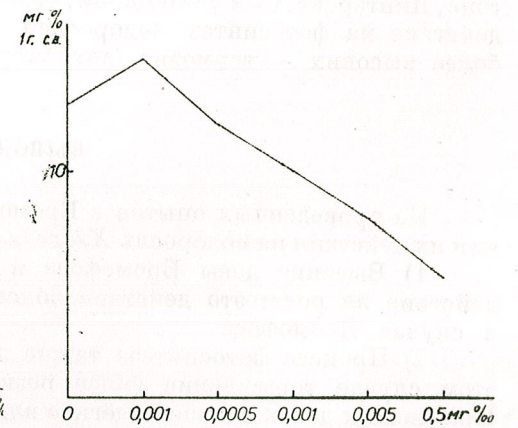


Рис. 7. — Воздействие Метаклора на количество пигментов хлорофилла.

(заторможен). Степень нарушения (торможения) более резкая в случае Метаклора, чем в случае Бромфоса.

Интенсивность фотосинтеза определяли манометрическим методом Варбурга, при освещении 8000 люксов, на различных промежутках времени 1, 4, 24, 48 и 72 часов. Результаты представлены на рис. 2 и 3. На рис. 2 представлены результаты, полученные в случае Бромфоса, где замечается, что в общем Бромфос имеет тормозительное влияние на фотосинтез, в особенности при концентрации 5 мг/л. В течение 24 часов было замечено лёгкое стимулирующее действие на фотосинтез, которое теряется с временем.

В случае Метаклора замечается, что при небольших концентрациях 0,005 и 0,001 мг/л было получено лёгкое стимулирующее действие, которое со временем усиливалось. Концентрации выше 0,001 мг/л тормозили фотосинтез.

Дыхание определялось тоже манометрическим методом Варбурга в промежутки времени 6, 24, 48 часов. Результаты представлены на рис. 4 и 5. Замечаем, что эти вещества очень мало влияют на дыхание; количество хлорофилла определялось фотоэлектро-колориметрическим методом при помощи прибора ГЕК 56. Результаты представлены на рис. 6 и 7. Замечаем, что при наименьших концентрациях содержание пигментов хлорофилла несколько выше, чем у контроля, и по мере повышения концентрации этих веществ — количество хлорофилла уменьшается.

Торможение роста и фотосинтеза, которое наблюдается в наших опытах, соответствует с результатами, полученными другими исследователями: Лужнова М.И. и др. [5], Лалова М. [4], Ладомин и Спесинцев [3], которые проводили опыты с веществами Метурином, Триазин, Атразин, заметив торможение роста и фотосинтеза в случае изучённых растений.

В случае Бромфоса, где также заметили торможение роста и фотосинтеза, но менее резко, чем в случае Метаклора, наши результаты совпадают с результатами, полученными другими исследователями, как например Мылача И. и Ионеску М. [6] [7], Апостол Симона [1], [2] которые проводили опыты следующими веществами: Карботокс, Фосфатокс, Дилутокс, Диптерекс. Они установили, что эти вещества имеют стимулирующее действие на фотосинтез водорослей в низких концентрациях, а при более высоких — тормозят (ангибируют) этот процесс.

ВЫВОДЫ

Из проведенных опытов с Бромфосом и Метаклором при наблюдении их действия на водоросль *Хлорелла* можем сделать следующие выводы:

1) Высокие дозы Бромфоса и Метаклора имеют тормозительное действие на рост; это действие более резкое в случае Метаклора, чем в случае Бромфоса.

2) Процесс фотосинтеза также заторможен при выших дозах. И в этом случае торможение более резкое при употреблении Метаклора. При низких дозах замечено лёгкое влияние, в особенности в случае Метаклора.

3) Интенсивность дыхания в меньшей степени было подвержено влиянию.

4) Эти два вещества, с которыми проводили опыты имеют тормозительное действие на синтез пигментов хлорофилла. Только при очень низких дозах (0,0001 мг/л в случае Метаклора и 0,001—0,005 мг/л в случае Бромфоса) наблюдался рост количества пигментов хлорофилла.

5) Из проведенных опытов вытекает, что Метаклор имеет высокую степень ядовитости для водорослей, чем Бромфос.

ЛИТЕРАТУРА

1. Apostol SIMONA, Hidrobiologia, 1973 **14**, 303—308.
2. Apostol SIMONA, Hidrobiologia, 1973, **14**, 309—314.
3. ЛАДОНИН В. Ф., СПЕСИВЦЕВ Л. Г., Агрохимия, 1972, **1**.
4. ЛАЛОВА М., Symposium zur VII „Wirkungsmechanismen von Herbiziden und synthetischen Wachstumsregulatoren“. Halle-Wittenberg, 1973.
5. ЛУЖНОВА М. И., СКХЕТМАН Л. М., ЖАРКОВ В. И., Symposium zur VIII „Wirkungsmechanismen von Herbiziden und synthetischen Wachstumsregulatoren“. Halle—Wittenberg, 1973.
6. MALACEA I., IONESCU M., Hidrobiologia, 1969, **10**, 31—41.
7. MALACEA I., IONESCU M., Hidrobiologia, 1968, **9**, 261—267.

Получена в редакции
4 февраля 1977 г.

Ботанический Институт
Бухарест, Ал. Портокалитор, № 1—3

JÁVORKA-CSAPODY, *Iconographia Florae-orientalis Europae Centralis*, Akademiai Kiadó, Budapest, 1975, 73 pages, 40 (I—XL) planches en couleurs, 576 planches avec 4090 figures de plantes.

L'œuvre fondamentale publiée par S. Jávorka, *Flora Hungarica* (1925), a été suivie de *Iconographia Florae Hungarici* (1929—1934), éditée en collaboration avec V. Csapody. Les illustrations (plus de 4000) ont été réalisées tant d'après des plantes vivantes, que d'après les exemplaires sélectionnés de l'Herbier du Musée national d'histoire naturelle de Hongrie de Budapest. Elles représentent la flore d'une grande partie du territoire de l'est de l'Europe centrale.

Depuis la publication de l'iconographie jusqu'à présent, cet ouvrage a eu et a pour les botanistes qui explorent la flore de cette région un rôle scientifique très important, car il assure le progrès de la botanique.

Cette iconographie a été rééditée par l'Académie hongroise en 1975 (1976). Elle a paru consacrée toujours à la mémoire de P. Kitaibel, le grand précurseur de S. Jávorka, sous la signature des mêmes auteurs, S. Jávorka et V. Csapody, et sous le nouveau titre susmentionné. L'ouvrage comporte en plus de l'introduction nouvellement élaborée, 40 planches en couleurs, de même que 576 planches blanc-noir, représentant 4090 plantes Cormophytes.

La partie générale est beaucoup amplifiée et actualisée par l'introduction d'autres chapitres (p. 7—73). Cette partie comprend, outre la préface (R. Soó), des rectifications de la nomenclature (R. Soó), des considérations bibliographiques sur l'iconographie (Sz. Priszter), l'utilisation de l'ouvrage (Sz. Priszter), l'index des dénominations géographiques, le conspectus et l'index des familles, des planches colorées et blanc-noir (S. Jávorka, V. Csapody), l'index des genres (Sz. Priszter).

On mentionne dans la préface que dans cette iconographie est englobée la flore carpatique, pannonienne et, en partie, celles illyrienne et méditerranéenne. Cet atlas n'a pas été égalé, étant très apprécié sur le plan international. Grâce aux recherches extensives des cinq dernières décennies une série de précisions de nomenclature étaient nécessaires.

La présente iconographie — la première et surtout la nouvelle édition — constitue un important ouvrage de référence non seulement pour les botanistes, sylviculteurs, agronomes, écologistes, etc., mais aussi pour les géographes et les amateurs, accomplissant pleinement son but. Les illustrations, admirablement exécutées, permettent une orientation immédiate et méthodique.

Les nombreuses rectifications de nomenclature, introduites par R. Soó, sur la base de son œuvre récente *Sinopsis systematico-geobotanica florum vegetationalis*, I—V (1964—1973) ont une remarquable valeur. Les rectifications (p. 11—36) se rapportent, sous des aspects variés, aux numéros de série, des plantes insérées dans les planches. Elles se réfèrent à environ 1430 renvois, comme par exemple : *Cystopteris regia* = *C. crispa* (Gouan) H. P. Fuchs, *Pinus montana* = *P. mugo* Turra, *Agrostis tenuis* = *A. capillaris* L., *Carex riparia* = *C. bigelowii* Torr., *Gagea arvensis* = *G. villosa* (M. B.) Duby, *Heliosperma pusilla* = *Silene pusilla* W. et K., *Sempervivum schlehani* = *S. marmoreum* Gris., *Centaurium umbellatum* = *C. erythraea* Rafu (*C. minus*), *Mentha viridis* = *M. spicata* L., *Galium cruciata* = *Cruciata laevipes* Opiz. em. Ehrend., *Cirsium lanceolatum* = *C. vulgare* (Savi) Ten., etc.

R. Soó rédige également Addenda et corrigenda ad Soó : Rectificationes in Jávorka-Csapody *Iconographia* ed. 1975 (1976); celles-ci constituent de nouvelles précisions (in litt., 1. IX, 1976), où l'on fait encore 38 renvois (voir l'annexe p. 180—181). Les 1468 interventions de nomenclature, rapportées au nombre total de plantes (4090), représentent 55,89 %.

En ce qui concerne les données chorologiques, devenues extrêmement nombreuses pour cet espace géographique, cela exigerait un très grand effort vu que, surtout pour certains territoires il n'y a pas de flores générales. Les chapitres relatifs aux bibliographies de l'iconographie et les renseignements sur l'utilisation de l'atlas (Sz. Priszter) ont une réelle valeur scientifique et pratique.

Pour ce qui est de la I^{ère} édition, on fait la précision qu'elle a paru non pas en 2 ans, mais en 4¹/₂ ans (octobre 1929 — mars 1934), en 19 parties. Les clarifications concernant l'année de parution de chaque partie intéressent l'établissement de la priorité en nomenclature, dans cet atlas étant notées de nombreuses combinaisons nouvelles de S. Jávorka.

La partie proprement dite de l'ouvrage contient le conspectus taxonomique et l'index des familles groupées systématiquement et suivies de planches en couleurs (I—XL) et blanc-noir (1—576), de même que l'index des genres, avec des renvois aux planches, y compris l'appendice

avec le numéro de série des espèces mentionnées dans les corrections de nomenclature. Dans l'annexe est noté l'index alphabétique des dénominations hongroises.

On a utilisé les dessins originaux des planches, effectuées avec une remarquable maîtrise et précision par V. Csapody, selon les directives de J. Jávorka.

L'introduction de la terminologie botanique en 3 langues (hongrois, latin, anglais) assure la circulation et l'utilisation plus large de l'ouvrage, étant employé aussi le glossaire technique trilingue publié par S. Jávorka (1963).

La réédition à un niveau scientifique et éditorial élevé de cette importante iconographie réalisera pleinement le but d'offrir un ouvrage particulièrement utile aux études botaniques dans l'espace géographique auquel il se réfère, présentant en même temps un large intérêt aréalo-graphique.

Les compléments et les actualisations effectués dans la nouvelle édition de l'iconographie réaliseront pleinement le but d'offrir un ouvrage particulièrement utile aux études botaniques dans l'espace géographique auquel il se réfère, présentant en même temps un large intérêt aréalo-graphique.

Cet ouvrage représente ainsi une œuvre prestigieuse qui honore aussi bien les auteurs qui l'ont entreprise et élaborée, que ceux qui se sont appliqués à la continuer, avec les améliorations substantielles inhérentes à notre époque.

Traian I. Ștefureac
Universităţii de București

ANNEXE:

R. SOÓ—Addenda et corrigenda ad Soó: Rectificationes in Jávorka-Csapody: Iconographia, ed. 1975/1976:

251. Adn. Sec. Tzelev (plur. locis, 1971: *H. praeustum*) Rchb. 1833 sub *Avena* (Tzelev 1971) *Avenochloa* pr. Soják 1972); 504. Adn. *Carex echinata* Murr est nomen confusum, sed manere posset (Rauschert, Fl. Eur. SSSR, Fl. Eur. IV); 613. *L. nemorosa*. Recentius denuo nomen *L. luzuloides* (Lam.) Dandy et Willmott pluribus auctoribus acceptum, sed basionymum *Juncus luzuloides* est nom. illeg. (cf. O. Schwarz, Janchen, etc.); 622. *Bulbocodium versicolor*: *B. vernum* L. subsp. *versicolor* (Ker-Gawl.) Richter ex Fl. Eur. V. ined.; 782. *Ophrys fuciflora* (F. W. Schm.) Moench, cf. Wirth Acta Bot. Hung. 1976 ined.; 816. recte *Leucorchis frivaldii* (Hampe ex Gris.) Schlechter; 817. *L. albida* (L.) E.A. Mey.; 825. *Epipactis atrorubens* (Hoffm. ex Bernh.) Bess.; 1235. *Nuphar* n. neutr. ge., igitur *N. luteum*; 1378. recte *Adonis transylvanica* Simonovich; 1438. *Th. alpestre* L. 1763 non Jacq. 1762, nom. legit. *Th. coerulescens*; 1640. *Sedum fabaria*: *S. vulgare* (Haw.) Link; 1661. *Sempervivum hirtum*. Sec. Priszter (Bot. Közl. 1975. 233) planta hungarica maxime distributa est *S. soboliferum*; 2436. *Hippophae rhamnoides* subsp. *carpatia* Rousi 1971; 2943. *Satureja acinos*: *Acinos thymoides* Mönch; 3375. *Rhinanthus angustifolius* et de facto nomen confusum (Rauschert, Gutermann), ergo nomen validum *Rh. serotinus* (Schönh.) Oborny; 3449. *Asperula taurina* subsp. *leucanthera* (Beck) Hay.; 3576a. *Campanula glomerata* subsp. *farinosa* (Kit.) Kirschleger; 3598. *C. linifolia* Scop. non L.: *C. carnica* Schiede; 3559. *Scabiosa agrestis*: *gramuntia* L. 1762: *S. triandra* L. 1753 (etsi nom. falsum) subsp. resp. var. *agrestis* (W. et K.) ... 3633. *Solidago alpestris*: *S. virgaurea* subsp. *minuta* (L.) Arc., sed non perfecte identica; 3655. *Erigeron acris* L. subsp. *macrophyllus* (Her.) Guterma Phyton 16:76(1974) sed prius, quam Soó; 3658. *E. neglectus* Kern. 1871 subsp. *hungaricus* (Vierh.) Domin est speciei *E. nanus* Schur 1866 similis, in contractione taxorum trium in speciem unam nomina legitima: *E. nanus* Schur subsp. *nanus*, subsp. *hungaricus* (Vierh. Beih. Bot. Cbl. 19: 443, 1906 sub *Trimorpha* p. sp.) Soó comb. n., subsp. *neglectus* (Kern. Öst. Bot. Z. 21: 253, 1871 p. sp.) Soó comb. n.; 3745. *Matricaria tenuifolia* ex Fl. Eur. 4: *M. trichophylla* (Boiss.) Boiss.; 3748. *Chrysanthemum alpinum* ex Fl. Eur. 4: 172: *Leucanthemopsis* a. Heywood; 3755. *Ch. rotundifolium* (L. rotundif. DC. non Opiz): *L. walesteinii* (Schultz bip.) Pouzar; 3907. *Centurea carniolica* Host nom. validum; 3927. *C. axillaris*: *C. triumfettii* subsp. *aligera* (Gugl.) Dostál (*C. axillaris* Willd. nom. illeg.); 3928. *C. reichenbachii* DC. ex affinitate *C. reichenbachii* DC.; 3974. *Leontodon taraxacoides* (Vill.) Mérat; 3977. *L. asper*: *L. crispus* Vill. ssp. *asper* (W. et K.) Rohlena; 3978. *L. crispus* Vill. nomen validum; 3979. *L. rossianus*: *L. crispus* Vill. subsp. *r. Hayek*; 3983. *L. rilensis* Hayek magis *L. croceus* Hänke subsp. *r. Finch* et Sell; 3984. *L. pseudotaraxaci* Schur magis *L. montanus* Lam. subsp. *pseudot.* Finch et Sell; 4014. *Taraxacum alpinum* auct.: *T. panalpinum* Van Soest 1959; 4147. *Hieracium kossuthanum* Soó taxon agg. *H. onosmoides* Fr. (in Fl. Eur. 4. index 483, in textu deest, microspecies endemica hungarica).

REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE

SÉRIE DE BIOLOGIE VÉGÉTALE

TOME 22

1977

INDEX ALPHABÉTIQUE

	N°	Page
ALEXAN M. v. PUȘCARU D.	1	75
BARNA ADRIANA v. PÉTERFI S.	2	99
BAVARU A. v. CELAN MARIA	1	33
BERCEA V. v. PÉTERFI S.	1	49
BERCEA V. v. PÉTERFI S.	2	99
BREZEANU AURELIA v. PAUCĂ-COMĂNESCU MIHAELA	2	91
CELAN MARIA et A. BAVARU, Sur une population de l' <i>Enteromorpha linza</i> (Linné) J. Agardh du port de Tomis (Constanța)	1	33
CIUCĂ MARIA v. PUȘCARU D.	1	75
CORBU S. v. IONESCU AL.	2	157
CRĂCIUN C. v. LAZĂR-KEUL GEORGETA	2	119
CRĂCIUN C. v. MARTON A.	2	125
CRÎȘAN AURELIA, Comparative investigations on <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary and <i>S. minor</i> Jagg.	1	13
DIHORU G. and N. ROMAN, <i>Stipa crassiculmis</i> subsp. <i>Heterotricha</i>	1	21
ELIADE GH. v. IONESCU AL.	2	157
FABIAN I., MARIA GHEORGHIȘ and E. GOMOIU, Über K-, Ca- und Mg-Aufnahme durch Maispflanzen im Zusammenhang mit der Frage des Kationenantagonismus und der äquivalenten Kationenkonstanz in den Pflanzen	2	111
FIȘTEAG GABRIELA v. PUȘCARU D.	1	75
GHEORGHIȘ MARIA v. FABIAN I.	2	111
GOMOIU E. v. FABIAN I.	2	111
GORENFLOT R. v. RAICUP.	2	141
GRUIA L., Sur l'étude et les problèmes de la flore et de la végétation cavernicole IONESCU AL., ELIADE GH. and CORBU S., The effects of continuous pollution with fluorine on agricultural cultures and spontaneous flora	2	157
IONICĂ M. v. PLOAIE P. G.	1	3
IORDAN MARGARETA and V. SORAN, The effect of some cations upon intracellular movements within barley root hairs	1	65
KEUL GEORGETA and M. KEUL, Die Hemmung der ATP- und ADP-Wirkung auf die Protoplasmaströmung durch Oligomycin	1	59
KEUL M. v. KEUL GEORGETA	1	59
KEUL M. v. LAZĂR-KEUL GEORGETA	2	119
LAZĂR-KEUL GEORGETA, ROZALIA VINTILĂ, V. SORAN, M. KEUL und C. CRĂCIUN, Die Oligomycin-Wirkung auf das Wurzelwachstum, den DNS-Gehalt des Zellkerns und die Ultrastruktur der Wurzelmeristemzellen der Gerste (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	2	119
MANOLIU AL. et M. RUSAN, Recherches mycoécologiques dans le bassin supérieur de la rivière de Suceava	1	37
MARGARIS N. S. et P. PAPADOGIANNI, Données concernant la population de <i>Phlomis fruticosa</i> en Grèce, selon le dessin « pattern » des flavonoïdes	1	45

N°	Page
1	49
2	125
1	3
2	99
1	37
2	85
2	141
2	91
2	141
1	3
2	173
1	49
2	99
2	125
2	107
2	165
1	3
2	133
1	75
2	141
1	21
1	37
2	107
2	85
1	65
2	119
2	173
1	75
1	49
2	99
1	11
2	91
2	85
2	119
2	147

AVIS AUX AUTEURS

La «Revue roumaine de Biologie — Série de Biologie végétale» publie des articles originaux d'un haut niveau scientifique, de tous les domaines de la biologie végétale : morphologie, systématique, géobotanique, physiologie, écologie, génétique, microbiologie, phytopathologie. Les sommaires des revues sont complétés par d'autres rubriques, comme : 1. La vie scientifique, qui traite des manifestations scientifiques du domaine de la biologie : symposiums, conférences, etc. ; 2. Comptes rendus des livres de spécialité parus en Roumanie. Les auteurs sont priés d'envoyer leurs articles, notes et comptes rendus dactylographiés en deux exemplaires.

Les tableaux et l'explication des figures seront dactylographiés sur pages séparées et les diagrammes exécutés à l'encre de Chine noire, sur papier calque.

Les tableaux et les illustrations seront numérotés avec des chiffres arabes. La répétition des mêmes données dans le texte, dans les tableaux ou dans les graphiques sera évitée.

Les références bibliographiques, citées par ordre alphabétique des auteurs, comporteront le nom de l'auteur, l'initiale du prénom, le titre de la revue, abrégé conformément aux usances internationales, l'année, le tome, le numéro, la page. Les travaux seront accompagnés d'un court résumé, de maximum 10 lignes. Les textes des travaux ne doivent pas dépasser 7 pages dactylographiées (y compris les tableaux, la bibliographie et l'explication des figures).

La responsabilité concernant le contenu des articles revient exclusivement aux auteurs.