

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 ȘT. CSÜRÖS;
GH. DIHORU; ȘT. PÉTERFI, membre de l'Académie;
P^r M. RĂVĂRUȚ; P. TR. ȘTEFUREAC; P^r I. T. TARNAV-
SCHI; 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'exportation-importation (Presse), Boîte postale 136—137, télex 11 226, Str. 13 Decembrie, 3, 79517 București, România, ou à ses représentants à l'étranger; le prix d'un abonnement est de \$ 24 par an.

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

REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE
SÉRIE DE BIOLOGIE VÉGÉTALE
Calea Victoriei 125, Sectorul 1
R-79717 București, România
téléphone 50 76 80

EDITURA ACADEMIEI
REPUBLICII SOCIALISTE ROMÂNIA
Calea Victoriei 125, Sectorul 1
R-79717 București, România
téléphone 50 76 80

REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE

SÉRIE DE BIOLOGIE VÉGÉTALE

TOME 25

1980

N° 2

juillet — décembre

SOMMAIRE

I.T. TARNAVSCI et V.SANDA, L'analyse des caractères anatomo-morphologiques et leur importance dans la clef dichotomique de détermination des espèces spontanées de <i>Dianthus</i> L. de la flore de la Roumanie	107
AURICA TĂCINĂ, Cytotaxonomic investigations regarding two endemic species in Romanian flora	117
C. VOICA, Influence de la nutrition azotée nitrique sur certains processus physiologiques chez les plantes de tabac	121
ALEXANDRU S. BOLOGA, PETRE T. FRANGOPOL, MARIA FRANGOPOL and IANCA STANEF, Marine phytoplankton photosynthesis in the offshore zone of Constanța (Black Sea) during June—December 1978	129
AURELIA BREZEANU, MARGARETA IORDAN and ANA ROȘU, The micropropagation of <i>Vitis vinifera</i> L. I. The induction and characterization of callus from tissues of somatic origin	135
H. TIȚU, G. POPOVICI, O. BOLDOR, IOANA SPIRESCU and DOINA STANCA, The ultrastructure of hormogonial cells in blue-green alga <i>Spirulina platensis</i> (Nordst.) Geitl.	143
FL. GH. FLORIA and G. I. GHIORGHITĂ, The influence of the treatment with alkylating agents on <i>Papaver somniferum</i> L., in M ₁	151
AL. MACOVEI, Some electronmicroscopical aspects of hop viruses detected in Romanian hop plantation	157
EMILIA NESTORESCU, Etude taxonomique et écologique de certains microorganismes spécifiques de la pollution de la rivière de Crișul Repede dans la zone d'Oradea	161
C. BÎNDIU et N. PĂTRĂȘCOIU, Conséquences écologiques des monocultures forestières dans la zone montagneuse de la Roumanie	167
VIE SCIENTIFIQUE.	173
INDEX ALPHABÉTIQUE	179

REVUE ROUMAINE DE
BIOLOGIE
SÉRIE DE BIOLOGIE VÉGÉTALE

TOME 25

1980

juillet - décembre

SOMMAIRE

107-116 L'ANALYSE DES CARACTÈRES ANATOMOMORPHOLOGIQUES ET LEUR IMPORTANCE DANS LA CLEF DICHOTOMIQUE DE DÉTERMINATION DES ESPÈCES SPONTANÉES DE *DIANTHUS* L. DE LA FLORE DE LA ROUMANIE

117-124 Les recherches de taxonomie végétale intensives dans l'étape actuelle ont mené, d'une part, à la découverte de nouveaux taxa critiques, surtout dans le cadre des genres polymorphes, et d'autre part, à une meilleure connaissance des unités décrites en appelant à plusieurs caractères, parmi lesquels un rôle dominant jouent ceux anatomomorphologiques. Dès le commencement, il faut souligner que l'absence d'une règle concernant le volume et l'importance des caractères dans la séparation et la détermination des espèces et des unités infra- et superspécifiques a provoqué plusieurs fois des controverses dans la délimitation et l'établissement de la position de certains taxa critiques. Pourtant, en faisant appel de plus en plus à d'autres caractères du domaine de la sphère végétative et reproductrice de la plante, et en considérant aussi d'autres critères, notamment l'écologie et l'aréalographie de la plante, on a pu mieux délimiter les unités étroitement liées entre elles. Certes, on peut remarquer actuellement la tendance de plusieurs taxonomistes, de fractionner et de pulvériser beaucoup les espèces, qui ne sert à rien et en outre, mène à de graves confusions surtout dans le cadre des genres et des espèces extrêmement polymorphes où, selon chaque feuille, on peut créer une nouvelle unité taxonomique.

125-132 Il ne faut non plus accepter la manière de certains taxonomistes de placer la même plante, suivant les feuilles dans une unité taxonomique et suivant les fruits, dans une autre.

133-140 En discutant la valeur des traits anatomomorphologiques dans la détermination des espèces analysées par nous, il faut souligner dès le commencement, le caractère relatif de ces traits qui doit être compris dans le sens qu'il y a des cas où le même caractère peut avoir une grande valeur dans la détermination, en se révélant fixé, ou bien peut présenter de grandes variations et par conséquence sa valeur soit très réduite, même nulle.

REV. ROUM. BIOL. - BIOL. VÉGÉT., TOME 25, No 2, P. 107-116, BUCAREST, 1980

PAR

I. T. TARNAVSCHI et V. SANDA

In making up the key of determination for the spontaneous species of the *Dianthus* in the Romanian flora, the share of anatomical and morphological characters was taken into account which, investigated on populations originating in various biotops, points out their value and contributes to the delimitation of polymorphous taxa.

Les recherches de taxonomie végétale intensives dans l'étape actuelle ont mené, d'une part, à la découverte de nouveaux taxa critiques, surtout dans le cadre des genres polymorphes, et d'autre part, à une meilleure connaissance des unités décrites en appelant à plusieurs caractères, parmi lesquels un rôle dominant jouent ceux anatomomorphologiques. Dès le commencement, il faut souligner que l'absence d'une règle concernant le volume et l'importance des caractères dans la séparation et la détermination des espèces et des unités infra- et superspécifiques a provoqué plusieurs fois des controverses dans la délimitation et l'établissement de la position de certains taxa critiques. Pourtant, en faisant appel de plus en plus à d'autres caractères du domaine de la sphère végétative et reproductrice de la plante, et en considérant aussi d'autres critères, notamment l'écologie et l'aréalographie de la plante, on a pu mieux délimiter les unités étroitement liées entre elles. Certes, on peut remarquer actuellement la tendance de plusieurs taxonomistes, de fractionner et de pulvériser beaucoup les espèces, qui ne sert à rien et en outre, mène à de graves confusions surtout dans le cadre des genres et des espèces extrêmement polymorphes où, selon chaque feuille, on peut créer une nouvelle unité taxonomique.

Il ne faut non plus accepter la manière de certains taxonomistes de placer la même plante, suivant les feuilles dans une unité taxonomique et suivant les fruits, dans une autre.

En discutant la valeur des traits anatomomorphologiques dans la détermination des espèces analysées par nous, il faut souligner dès le commencement, le caractère relatif de ces traits qui doit être compris dans le sens qu'il y a des cas où le même caractère peut avoir une grande valeur dans la détermination, en se révélant fixé, ou bien peut présenter de grandes variations et par conséquence sa valeur soit très réduite, même nulle.

Le genre *Dianthus* L. présente une grande variabilité des caractères taxonomiques, ce qui a empêché les auteurs d'avoir un point de vue unanime en ce qui concerne la classification et la délimitation des espèces critiques [1], [2], [6], [9], [12].

La section *Armerium* Williams du genre *Dianthus* L. est nettement séparée des autres sections par ce qu'elle réunit des espèces annuelles ou bisannuelles.

La forme des cellules épidermales se révèle être un caractère à un grand poids taxonomique dans la section *Armerium* Williams où l'on peut délimiter facilement l'espèce *Dianthus pseudarmeria* M.B., présentant des cellules plus ou moins allongées hexagonales, aux parois droites (fig. 1), de *Dianthus armeriastrum* Wolfn. dont les parois de cellules épidermales sont fortement ondulées (fig. 2). La configuration des parois des cellules de *Dianthus armeria* L. (fig. 3) ressemble bien à celle de *D. armeriastrum* Wolfn., présentant beaucoup de caractères communs.

Un autre critère utilisé par nous dans la séparation des espèces de la section *Armerium* Williams c'est la manière d'anastomose des nervures de la lamine des pétales. Ainsi, les nervures de *Dianthus armeria* L. sont anastomosées au sommet (fig. 4), celle de *D. pseudarmeria* M. B. sont non anastomosées au sommet (fig. 5) et celles de *D. armeriastrum* Wolfn. sont anastomosées sous le sommet (fig. 6).

Dans la taxonomie de la section *Carthusiani* Boiss. on a utilisé une série entière de caractères avec un grand poids taxonomique. Ainsi, la gaine des feuilles peut être gonflée chez la série *Capitati* Schischk. (*D. capitatus* Balbisi, *D. andrzejowskianus* (Zapal.) Kulcz. et *D. kladovanus* Deg.) qui sépare nettement cette unité taxonomique de la série *Carthusianoides* Williams dont la gaine n'est pas gonflée, comme d'ailleurs toutes les autres espèces du genre *Dianthus* L.

La nervation des feuilles constitue de même un caractère important utilisé dans la délimitation des taxa de la section *Carthusiani* Boiss. La série *Macrolepis* Williams présente la nervation reticulée, tandis que pour toutes les autres espèces de la section, la nervation est parallèle. La lamine des feuilles de toutes les espèces de *Dianthus* L. est plane, seulement celles de *D. pinifolius* Sibth. et Sm. et *D. pontederacae* ssp. *vandasii* (Vel.) Sanda sont convolutes, ce qui constitue un critère sûr de délimitation des autres espèces ayant les feuilles sétacées et avec lesquelles elles peuvent être confondues en état de végétation (*D. giganteus* D'Urv. f. *setaceus* Prod., *D. carthusianorum* L. ssp. *alpestris* Neilr., etc.).

Un critère précieux dans la séparation de certaines espèces du genre *Dianthus* L. et de la section *Carthusiani* Boiss. est aussi la forme des dents du calice. Le taxon *Dianthus polymorphus* M. B. aux dents du calice au sommet rondes-obtuses ou courtement cuspidées-atténuées se détache nettement des autres espèces de la section.

La forme des écailles involucrales que nous avons analysée pour toutes les espèces de la section *Carthusiani* Boiss. [10] nous a montré l'importance de ce caractère utilisé surtout dans la délimitation des taxa rapprochés.

Dans la section *Plumaria* (Opiz) A. et G., ayant la lamine des pétales divisée fimbriatement jusqu'à lacérée, plus rare faiblement crénelée ou presque entière, la forme des lamines des pétales, la présence ou l'absence

Fig. 1. — *Dianthus pseudarmeria* M. B. Cellules épidermales $\pm$ allongé-hexagonales avec les parois droites.

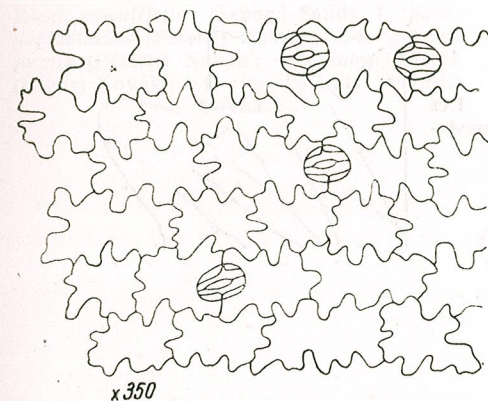
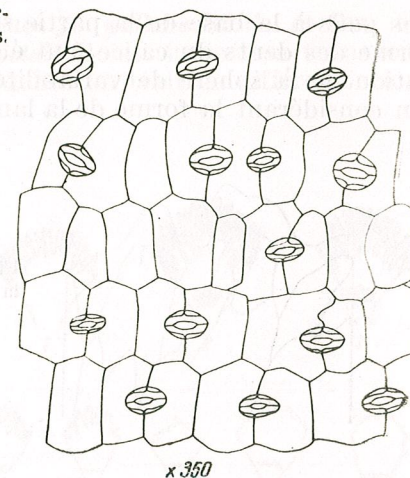


Fig. 2. — *Dianthus armeriastrum* Wolfn. Cellules épidermales avec les parois fortement ondulées.

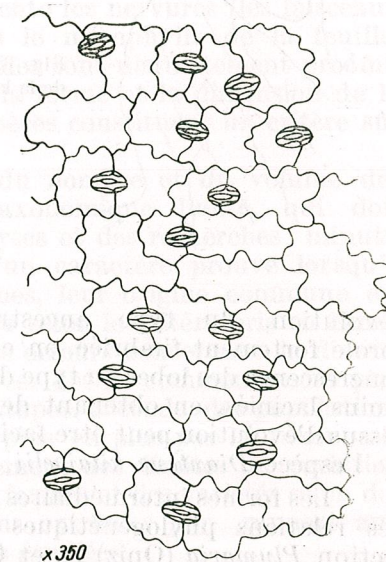


Fig. 3. — *Dianthus armeria* L. Cellules épidermales avec les parois faiblement ondulées.

des poils à la base de la partie supérieure de celle-ci (fig. 7), ainsi que la forme des dents du calice, ont été des critères importants dans la délimitation de la sphère de variabilité de l'espèce *Dianthus kitaibelii* Janka. En considérant la forme de la lamine des pétales on suppose que pendant

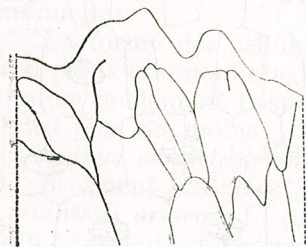


Fig. 4. — *Dianthus armeria* L. Les nervures de la lamine des pétales anastomosées au sommet.

Fig. 5. — *Dianthus pseudarmeria* M. B. Les nervures de la lamine des pétales non anastomosées au sommet.



Fig. 6. — *Dianthus armeriastrum* Wolfn. Les nervures de la lamine des pétales anastomosées sous le sommet.

l'évolution, du type ancestral — *Dianthus praefibratus* — ayant la corole fortement fimbriée, on est arrivé, grâce au progrès réalisés, par la concrescence des lobes au type dérivé, caractérisé par une lamine des pétales moins laciniés, en obtenant des formes avec des pétales entiers. Ce processus d'évolution peut être facilement suivi chez les sous-divisions actuelles de l'espèce *Dianthus kitaibelii* Janka.

Les formes intermédiaires ne permettent pas de composer un tableau des relations phylogénétiques des espèces européennes actuelles de la section *Plumaria* (Opiz) A. et G. (fig. 8).

Dans la délimitation des taxa critiques *D. pallens* Sibth. et Sm. et *D. leptopetalus* Willd. de la section *Leiopetali* Boiss. la section transversale à travers la feuille (fig. 9) met en évidence un trait de différenciation distinct.

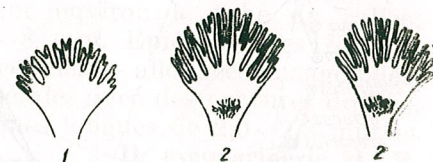
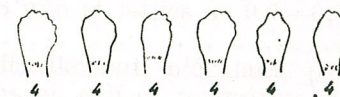
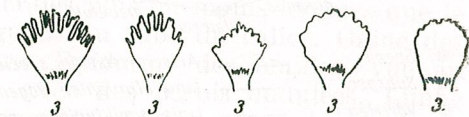


Fig. 7. — La manière de division de la lamine des pétales de *Dianthus kitaibelii* Janka et de ses infrataxa. 1-ssp. *kitaibelii*; 2-ssp. *spiculifolius* (Schur.) Sanda, f. *pseudoplumarius* (Péterfi) Novák; 3-f. *petraeiformis* (Péterfi) Novák; 4-f. *integripetalus* (Schur) Novák; 5-f. *simonkaianus* (Péterfi) Novák.



Dianthus leptopetalus Willd. (A.) présente les nervures (les faisceaux conducteurs libre-ligneux) englobées dans le mésophylle de la feuille, tandis que chez *D. pallens* Sibth. et Sm. elles sont distinctement proéminentes sur sa partie inférieure. De même, la forme et la dimension de la lamine des pétales (fig. 10) de ces deux espèces constituent un critère sûr pour les délimiter.

Par conséquent, sans tenir compte du nombre et du volume des caractères considérés, ils ont un poids taxonomique limité, qui doit être établi d'un cas à l'autre par des analyses et des recherches minutieuses. La valeur réduite, même nulle d'un caractère prouve lorsqu'il s'agit d'un cercle réduit de formes voisines, leur origine commune est incontestable et les tentatives de les séparer selon le critère pris en considération, ne sont pas justes. Pour éviter les erreurs concernant la dimension des caractères examinés, on doit analyser dès le commencement plusieurs exemplaires, résultats de différents biotopes. L'étude des populations est un des critères les plus sûrs, utilisés de plus en plus par la taxonomie moderne, dans la délimitation et l'établissement des limites de variation de chaque caractère, afin de ne pas créer de formes et des variétés selon des exemplaires isolés, développés en conditions extrêmes par rapport aux exigences normales de la station des espèces étudiées.

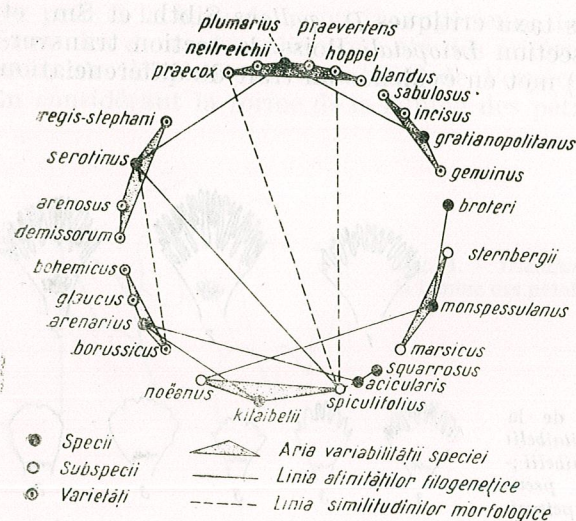


Fig. 8. — Schéma des relations phylogénétiques et des similitudes morphologiques dans la section *Plumaria* (Opiz) A. et G. (Selon Novák, modifiée par Sanda, 1967).

Fig. 9. — La forme des nervures en section à travers la feuille de *Dianthus leptopetalus* Willd. (A) et *D. pallens* Sibth. et Sm. (B).

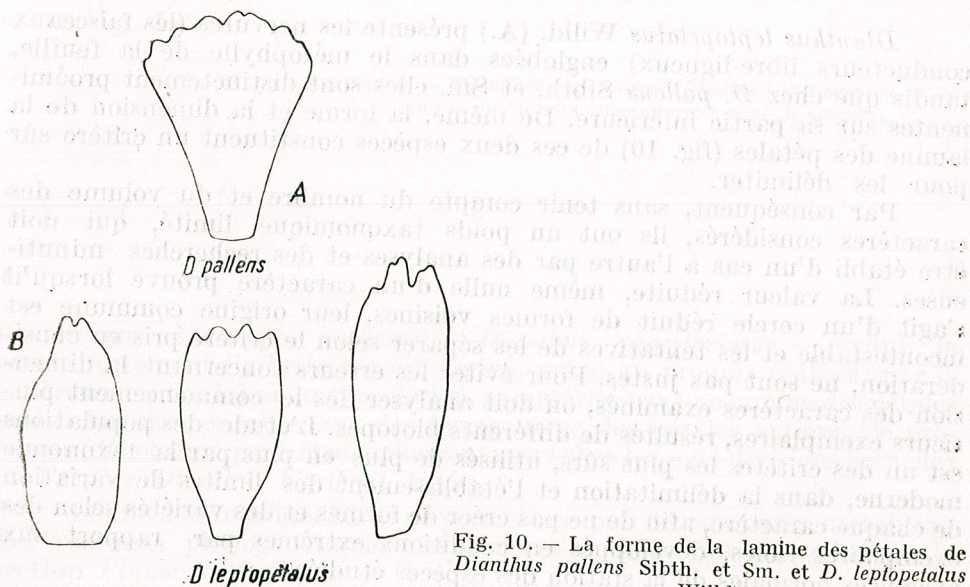
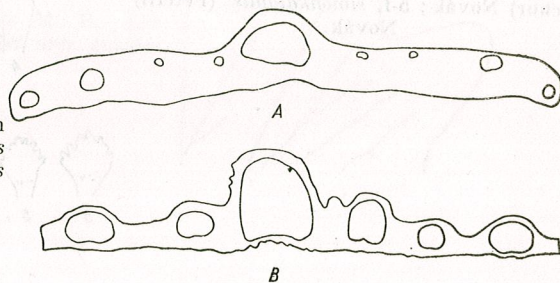


Fig. 10. — La forme de la lamine des pétales de *Dianthus pallens* Sibth. et Sm. et *D. leptopetalus* Willd.

LA CLEF DICHOTOMIQUE DE DÉTERMINATION

- 1 a. Plantes annuelles ou bisannuelles 2
- 1 b. Plantes pérennantes 4
- 2 a. Fleurs groupées en cymes denses, agrégat-fasciculées. Calice presque glabre. Ecaïlles involucrales égalant environ le tube du calice. Gaine des feuilles rougeâtre de 2—8 mm. Epiderme des feuilles, vue au sommet, présentant des cellules $\pm$ allongées-hexagonales, avec les parois droites. Limbe des pétales avec des nervures droites, non anastomosées au sommet. Graines longues de 2,0—2,2 mm et larges de 0,85—1,1 mm **D. pseudarmeria** M. B.
- 2 b. Fleurs groupées en cymes fasciculées, plus laxes. Calice pubescent, rarement glabre. Ecaïlles involucrales plus ou moins longues que le calice, rarement égalant la longueur du tube du calice. Gaine des feuilles de 1—2 mm, blanchâtre. Epiderme des feuilles, vue au sommet, présentant les cellules avec des parois ondulées. Limbe des pétales avec des nervures anastomosées au sommet ou sous le sommet. Graines longues de 1,0—1,3 mm et larges de 0,7—0,8 mm 3
- 3 a. Ecaïlles involucrales ovoïdes, habituellement n'égalant pas le tube du calice. Ecaïlles involucrales et calice, rougeâtres. Calice abondamment pubescent, pourvu de poils $\pm$ longs. Les cellules de l'épiderme avec les parois fortement ondulées. Limbe des pétales pourvu de nervures anastomosées sous le sommet **D. armeriastrum** Wolfn.
- 3 b. Ecaïlle involucrales lancéolées, dépassant le tube du calice, quelques fois l'égalant ou plus courtes. Calice verdâtre, parfois faiblement rougeâtre, toujours court pubescent. Cellules de l'épiderme avec les parois faiblement ondulées. Limbe des pétales pourvu de nervures anastomosées au sommet **D. armeria** L.
- 4 a. Fleurs $\pm$ sessiles, réunies en cymes capitées 5
- 4 b. Fleurs $\pm$ pédonculées, mises au sommet de la tige ou des rameaux latéraux, dichotomiques 26
- 5 a. Lamine des feuilles supérieures de la tige, dilatée vers la base, avec la gaine gonflée 6
- 5 b. Lamine des feuilles de la tige, y compris celles supérieures, non dilatées vers la base, étroitement collées à la tige de la manière que la gaine ne devienne jamais gonflée 8
- 6 a. Tiges minces, ne dépassant 50 cm, feuilles larges de 1—1,5 mm. Calice long de 8,0—8,5 mm **D. kladovanus** Deg.
- 6 b. Tiges plus grosses, dépassant 50 cm, feuilles larges de 2 mm. Calice long de 10—17 mm 7
- 7 a. Ecaïlles involucrales ovoïdales, terminées graduellement dans une arrête qui atteint d'habitude les dents du calice **D. capitatus** Balbisi
- 7 b. Ecaïlles involucrales égalant la moitié ou deux tiers du tube du calice **D. andrzejowskianus** (Zapal.) Kulcz.
- 8 a. Dents du calice au sommet étroit-linéaires, étroites ou ovoïdales lancéolées, acuminées ou arristées, obtuses ou courtement mucro-

- nées, de règle triangulaires. Plantes pour d'autres terrains que ceux sablonneux 9
- 8 b. Dents du calice au sommet rond-obtuses ou court-cuspidées-at-ténues. Plantes de sables *D. polymorphus* M.B.
- 9 a. Feuilles de la tige larg-ovoïdes-lancéolées, rétrécies dans le pétiole et pourvues d'une nervation réticulée 10
- 9 b. Feuilles de la tige linéaire-lancéolées ou lancéolées, sessiles pourvues de nervation parallèle 11
- 10 a. Calice et écailles involucrales verdâtres *D. barbatus* L.
- 10 b. Calice et écailles involucrales pourprées-brunes ou bleues foncées *D. compactus* Kit.
- 11 a. Cyme composée de 3 faisceaux, terminés en capitules, de règle pauciflores. Les capitules peuvent être : courts, longuement pédonculés ou subsessiles *D. trifasciculatus* Kit.
- 11 b. Cyme capituliforme, pauciflore ou pluriflore, fourchée ou corymbeuse, glomérulaire, composée tout au plus de 2 faisceaux terminaux 12
- 12 a. Écailles involucrales du calice avec le bord évident, hyalimembraneux. Dents du calice pourvues aussi d'un bord membraneux 13
- 12 b. Écailles involucrales et dents du calice sans un bord membraneux évident 14
- 13 a. Écailles involucrales mucronées au sommet, pourvues d'une nervure médiane évidente *D. dobrogensis* Prod.
- 13 b. Écailles involucrales sans nervure médiane, contractées au sommet dans une arête de 1—2,5 mm *D. membranaceus* Borbás.
- 14 a. Écailles involucrales avec le bord ondulé-froncé *D. banatensis* (Heuff.) Borbás.
- 14 b. Écailles involucrales sans bord ondulé-froncé 15
- 15 a. Feuilles radicales et de la tige larges de 0,5—1,5 (2) mm 16
- 15 b. Feuilles radicales et de la tige plus larges de 2—6 mm 21
- 16 a. Feuilles sétacées, convolutes, larges de 1 mm 17
- 16 b. Feuilles planes 18
- 17 a. Arête des écailles involucrales évidente, de la même longueur que les écailles *D. pinifolius* Sibth. et Sm.
- 17 b. Arête des écailles involucrales courte, 4—5 fois plus réduite que les écailles *D. pontederac* Kern. ssp. *vandasii* (Vel.) Sanda
- 18 a. Feuilles larges de 0,5—1 mm 19
- 18 b. Feuilles plus larges de 1 mm 20
- 19 a. Calice de 12—15 mm. Écailles involucrales brunâtres, arristées, non émargées *D. henteri* Heuff.
- 19 b. Calice plus long de 15 mm. Écailles involucrales brunes foncées ou noires, arristées, souvent émargées, surtout celles internes *D. tenuifolius* Schur
- 20 a. Écailles involucrales brunâtres ou rougeâtres, mucronées *D. giganteus* D'Urv. f. *setaceus* Prod.
- 20 b. Écailles involucrales, noires, brunes, longuement arristées et émargées *D. carthusianorum* L. ssp. *alpestris* Neilr.
- 21 a. Plantes pubérulées 22

- 21 b. Plante entièrement glabre 23
- 22 a. Tige, feuilles, bractées et écailles, pubérulées. Feuilles de la tige plus longues que les entrenœuds *D. puberulus* (Simk.) Kern.
- 22 b. Tige et feuilles pubérulées. Feuilles de la tige plus courtes que les entrenœuds *D. pontederac* Kern. var. *urziceni* (Prod.) Sanda
- 23 a. Cyme fourchée, pourvue de peu de fleurs. Écailles involucrales externes lancéolées, longuement arristées *D. glabriusculus* (Kit.) Borbás.
- 23 b. Cyme capituliforme, dense ou composée de glomérules, jamais fourchée. Écailles involucrales externes, ovoïdal-lancéolées ou ovoïdées, mucronées ou arristées 24
- 24 a. Écailles involucrales brunes foncées, émargées, terminées brusquement en une arête de 3—6 mm *D. carthusianorum* L.
- 24 b. Écailles involucrales rougeâtres ou brunes, acuminées ou mucronées, jamais émargées 25
- 25 a. Calice ayant plus de 15 mm. Écailles involucrales externes prolongement acuminées, plus petites que celles internes terminées par un mucron. Capitules multiflores (15—50) *D. giganteus* D'Urv.
- 25 b. Calice sous 15 mm. Écailles involucrales internes et externes conformes, terminées brusquement en un mucron. Capitules pauciflores (jusqu'à 15 fleurs) *D. pontederac* Kern.
- 26 a. Lamine des pétales fimbrié-divisée, jusqu'à lacérée, rarement peu crénelée ou presque entière 27
- 26 b. Pétales au bord denté ou faiblement crénelé 29
- 27 a. Lamine des pétales, à peu près jusqu'à la base, fimbrié-divisée, blanche ou rose, ayant à la base des poils lilas. Feuilles larges de 3—10 mm *D. superbus* L.
- 27 b. Lamine des pétales fimbriée, tout au plus jusqu'à la moitié. Feuilles larges jusqu'à 3 mm 28
- 28 a. Plantes glauces (bleuâtres-veloutées). Dents du calice courtes, rondes obtuses. Écailles involucrales non arristées, courtement mucronées *D. serotinus* W. et K.
- 28 b. Plantes vertes non glaucescentes. Dents du calice arristées. Écailles involucrales contractées dans une arête longue de 1—4 mm *D. kitaibelii* Janka
- 29 a. Pétales pâle-jaunâtres 30
- 29 b. Pétales rouges, sanguin ou carmin-lilas 31
- 30 a. Calice de 20—27 mm. Pétales larges de 9 mm. Nervures des feuilles distinctement proéminentes sur la partie inférieure de la lamine *D. pallens* Sibth. et Sm.
- 30 b. Calice de 27—33 mm. Pétales larges de 4,5 mm. Nervures des feuilles non proéminentes sur la partie inférieure de la lamine *D. leptopetalus* Willd.
- 31 a. Feuilles larges de 0,5—1 mm, sétacées et rigides. Plantes touffues, petites, gris souris glauce *D. nardiformis* Janka
- 31 b. Feuilles plus larges, jamais sétacées et rigides 32
- 32 a. Tiges de 30—50 cm, ramifiées à la partie supérieure. Calice habituellement vert, rarement rougeâtre 34
- 32 b. Tiges de 10—20 cm, non ramifiées. Calice pourpre foncé 33

- 33 a. Feuilles linéaire-lancéolées, aiguées, plus larges vers la base. Lamine des pétales prévue à la partie supérieure de taches différemment colorées **D. callizonus** Schott et Kotschy
- 33 b. Feuilles de règle linéaire-spatulées, plus larges vers le sommet. Lamine des pétales non maculée sur la partie supérieure **D. glacialis** Haenke
- 34 a. Plantes $\pm$ rugueuses, pubescentes. Ecaïlles involucrales égalant la moitié du calice ou plus courtes. Racine non épaisse. Lamine de pétales sans de taches foncées à la base 35
- 34 b. Plantes glabres, tout au plus les feuilles aux bords rugueux. Ecaïlles égalant le calice, parfois un peu plus courtes. La base de la lamine des pétales avec des taches foncées qui s'unissent et forment une ligne zigzagüe. Racine fusiforme épaisse . . **D. guttatus** M.B.
- 35 a. Ecaïlles involucrales du calice 2, elliptiques et arristées, d'habitude plus courtes que le calice, rarement l'égalant . . **D. deltoides** L.
- 35 b. Ecaïlles involucrales du calice 4 — 6, égalant la moitié du calice . 36
- 36 a. Fleurs courtement pédicellées, réunies en 2 faisceaux terminaux pauciflores, avec 2—8 fleurs. Ecaïlles externes membraneuses à la base, contractées au sommet dans un sommet herbacé **D. collinus** W. et K.
- 36 b. Fleurs habituellement solitaires ou à raison de deux, disposées au sommet de la tige et des branches, formant une panicule rare. Ecaïlles coriaces, contractées à la base dans un court sommet subulé **D. campestris** M.B.

BIBLIOGRAPHIE

1. ASCHERSON P., GRAEBNER P., *Synopsis der Mitteleuropäischen Flora*. Leipzig 1929, V. Abteilung, 2, 279—480, 409—412.
2. BOISSIER E., *Flora Orientalis*. Genevae, 1867, 1, 478—516.
3. GRECESCU P., *Conspectul Florei României*. București, 1898, 93—101.
4. HALACSY E., *Conspectus Florae Graecae*. Lipsiae, 1901, 1, 199—217.
5. HEGI G., *Illustrierte Flora von Mittel-Europa*. Wien, 1909—1912, 3, 318—321.
6. KLOKOW M. V., Fam. *Caryophyllaceae* in «Flora Ucr. R. S. S.» Kiew, 1952, 4, 421—649, 654—660.
7. MARSCHALL A. BIEBERSTEIN F. L. B., *Flora taurico-caucasica*. Charkowiae, 1808, 1, 323—332; 1819, 3, 298—300.
8. PRODAN I., *Genul Dianthus L.* in «R.P.R.» Ed. Academiei, București, 1953, 2, 217—290.
9. SANDA V., St. Cerc. Biol., Seria Botanică, 1967, 19, 2, 111—120.
10. — St. Comunic. St. Nat. Muz. Brukenthal. Sibiu, 1972, 147—157.
11. TARNAVSCHI I. T., *Die Chromosomenzahlen der Anthophyten-Flora von Rumänien mit einem Ausblick auf das Polyploidie-Problem*. Bul. Grăd. Bot. și Muz. Bot. Cluj, 1948, 28, 39—40.
12. TUTIN T. G., *Genul Dianthus L.* in «Flora Europaea». Cambridge, 1964, 1, 188—204.

Reçu le 20 janvier 1980

Université de Bucarest
Faculté de biologie
Bucarest, Aleea Portocalilor 1
et
Institut de sciences biologiques
Bucarest, Splaiul Independenței 296

CYTOTAXONOMIC INVESTIGATIONS REGARDING
TWO ENDEMIC SPECIES IN ROMANIAN FLORA

BY

AURICA TĂCINĂ

The paper presents the observations made on two species of endemic plants belonging to the family *Ranunculaceae*: *Hepatica transsilvanica* Fuss. and *Aconitum lasianthum* (Rchb.) Simk. The two species were analysed in some populations in Bucegi and Piatra Craiului massifs.

Hepatica transilvanica Fuss. has a diploid set of chromosomes ($2n = 16$) among which 4 pairs are metacentric (1, 4, 6, 7) and 4 pairs submetacentric (2, 3, 5, 8). The pairs 1, 2, 4 and 5 have satellites. The karyotype of the species *Hepatica transilvanica* Fuss. was made and analysed for the first time.

Aconitum lasianthum (Rchb.) Simk. has the chromosomal complement of $2n = 16$. The pairs of chromosomes 1 and 5 are metacentric, 1, 2, 6, 8, submetacentric and 3, 4, 7 acrocentric. The analysis of morphotaxonomical statistically checked and karyological characters supports the ascription of this taxon as an independent species, endemic for the Romanian Carpathians.

The investigations refer to two endemic taxa in the Romanian flora belonging to the family *Ranunculaceae*: *Hepatica transsilvanica* Fuss. and *Aconitum lasianthum* (Rchb.) Simk.

The genus *Hepatica* Mill. is represented in the flora of our country [4] by two species *Hepatica nobilis* Mill. and *Hepatica transsilvanica* Fuss. The endemic species *Hepatica transsilvanica* is of a special interest in the investigations carried out by us. This taxon represents an element of the mountains, having a limited area in the Romanian Eastern, Southern and Western Carpathians [6].

The genus *Aconitum* L. is represented in the Romanian flora [2] by 19 species in the sections: *Anthora* DC., *Napellus* DC., *Cammarum* DC. and *Lycotconum* DC., *Aconitum lasianthum* (Rchb.) Simk. of the section *Lycotconum* DC., represents an interesting endemic taxon in our investigations. It populates the rocky or covered with grass mountains or the hilly region of the Carpathians in Romania (Eastern, Southern, Western Carpathians) [6].

MATERIAL AND METHOD

The investigations were made on some populations of *Hepatica transsilvanica* (Fig. 1) and *Aconitum lasianthum* (Rchb.) Simk. (Fig. 2) in the Bucegi and Piatra Craiului massifs. The materials were the meristems and root apexes of the plants belonging to the two species investigated. The pretreatment was made with colchicine 0.1 %, the fixation in a mixture alcohol-glacial acid 3 : 1. The hydrolysis took place with HCl IN at 60°C, followed by staining with the Schiff reagent.

The examination of squash samples was made with a microscope MC₁, and the micrographs were obtained at a direct reading (400 X).

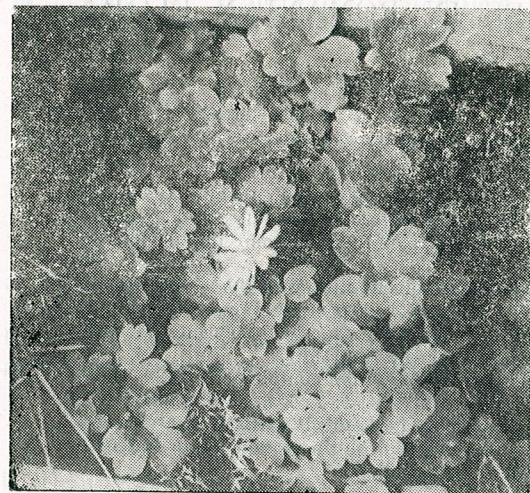


Fig. 1. — *Hepatica transsilvanica* Fuss.
— Cumpătul (Sinaia)

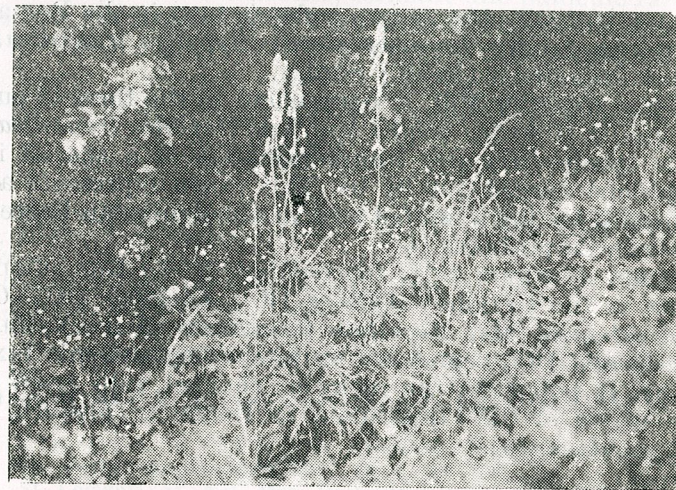


Fig. 2. — *Aconitum lasianthum* (Rehb.) Simk. — Piatra Arsă
(Bucegi).

RESULTS AND DISCUSSIONS

1. *HEPATICA TRANSILVANICA* FUSS.

A valuable study on the taxon *Hepatica transsilvanica* and the Anemons of section *Hepatica* Mill. was carried out by E. Pop [5]. Based on a detailed analysis of the morphological, anatomical and karyological characters of the two species: *Hepatica nobilis* Mill. (*Anemone hepatica* L.)

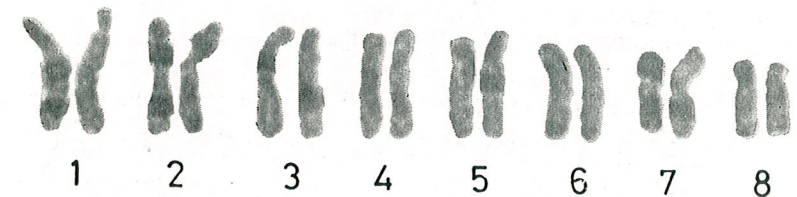
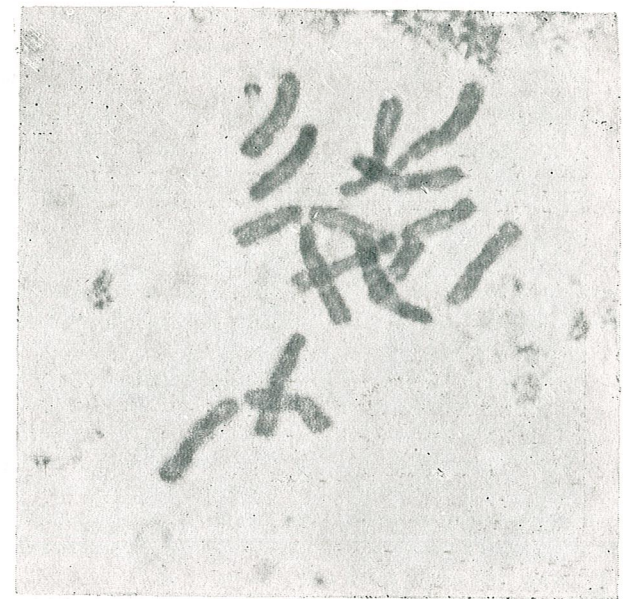


Fig. 3

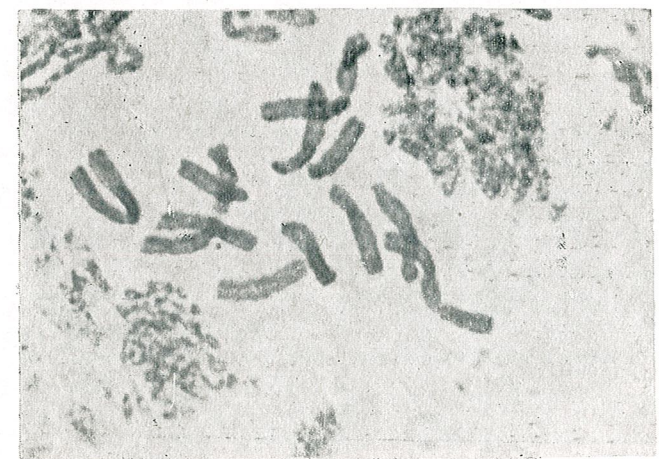


Fig. 4

Figs. 3, 4. — Metaphases with a diploid set of chromosomes $2n = 16$.

and *Hepatica transsilvanica* Fuss. (*Anemone transsilvanica* (Fuss.) Heaff.), the presentation of the taxonomical position as well as of the relationships between the two taxa was possible.

The karyological investigations carried out by us on the taxon *Hepatica transsilvanica* corroborate the basic number ($n = 8$) established by E. Pop [5]. Based on the analysis of chromosomes morphology, we could establish the karyotype of this species for the first time. It is formed of eight pairs of chromosomes (Figs. 3, 4) among which the pairs 2, 3, 5, 8, of submetacentric chromosomes. In pairs, 1, 2, 5, 6, we remark the presence of secondary constrictions. We notice that the aspect of the karyotype in species *Hepatica transsilvanica* is symmetrical, primitive, denoting in the present case the age of the taxon in discussion.

In Flora Europaea it is wrong given the diploid set $2n = 28$ for *Hepatica transsilvanica*; this is probably due to the confusion between the endemic taxon *Hepatica transsilvanica* and *Anemone angulosa* Lam. [5].

The basic number ($n = 8$, $2n = 16$) is characteristic of the species *Hepatica transsilvanica* and, besides the other morphotaxonomical characters, is a serious argument to support the idea that the species *Hepatica transsilvanica* is not in direct relationship with *Hepatica nobilis* Mill., where $n = 7$ [5], [7]. Although between the two analysed species we notice characters of similitude, the existing differences, among which, the karyological ones too, confirm some direct relationships.

At last, we may assert that the species *Hepatica transsilvanica* is a diploid species ($2n = 16$), an isolated paleoendemism not only spatial (the areal being restricted to the Romanian Carpathians) but also morphological and phylogenetical, whose correspondent taxon is *Anemone henry* Oliv. and not *Hepatica nobilis* Mill. [5].

2. ACONITUM LASIANTHUM (RCHB.) SIMK.

Among the species belonging to the section *Lycotomum* DC., special attention was paid to the endemic species *Aconitum lasianthum*. In some papers on the Romanian flora [8], *Aconitum lasianthum* is synonymous with *Aconitum vulparia* (Rchb.), within the same section. The careful analysis of the two taxa points out that although they have a number of similar characters, *Aconitum lasianthum* still has some morphotaxonomical features of clear differentiation from *Aconitum vulparia* such as: rich pilosity in the inflorescence, perianth and fruit (spreading villous ones) including peculiarities of the helmet and the length of stigmata.

In order to point out the morphotaxonomical characteristics of the two species (*Aconitum lasianthum* and *Aconitum vulparia*) we analysed the relationships between the length and breadth of the helmet as well as the length of stigmata, determining the significance of the difference by analysing the variance (the Fisher test F). As the value of empirical F ($F = 41.03$) for the relationship between the length and breadth of the helmet exceeds the theoretical value F at $\alpha 1\%$ ($F = 7.35$), we may affirm that the difference between the analysed species, regarding this character, is distinctly significant.

We also applied the calculation of the signification of the difference (test F) to the length of flower stigma of the two species (*Aconitum lasian-*

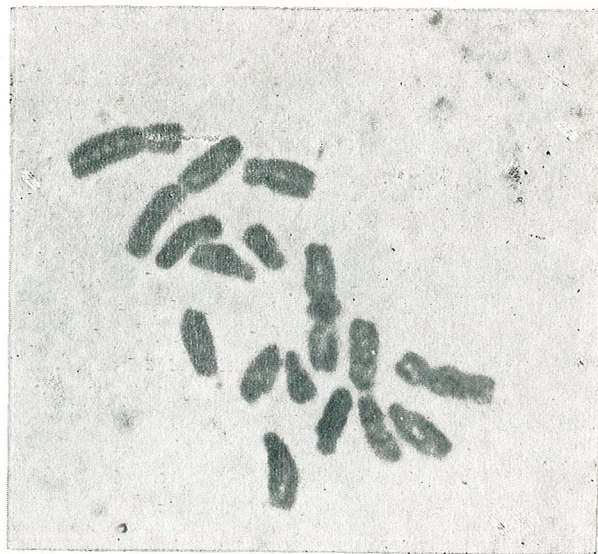


Fig. 5



Fig. 6

Figs. 5, 6. — Metaphases with a set of chromosomes $2n = 16$.

thum and *Aconitum vulparia*). In this case, the value of empirical F ($F=68.00$) exceeds the theoretical value F at $\alpha 1\%$ ($F=7.33$). Therefore, the difference between the analysed species is distinctly significant with respect to this character.

Therefore, the two morphological characters, statistically and quantitatively analysed, acquire a qualitative diagnostic value significant from a taxonomical point of view.

From a karyological point of view, for the genus *Aconitum* L., the basic number is ($n = 8$) [1], [7].

Our karyological investigations carried out on the species *Aconitum lasianthum* pointed out the fact that the diploid set is $2n = 16$ ($n = 8$), a number that confirms the literature data [1], [7].

The chromosomal complement analysed on this occasion is made of eight pairs of chromosomes (Figs. 5, 6) among which the pairs 1, 5 are metacentric, 2, 6, 8, submetacentric and 3, 4, 7, acrocentric*.

The presence of acrocentric chromosomes in the chromosomal complement of species *Aconitum lasianthum* represents a character of primitivity, an evidence of the early differentiation of the species.

The morphotaxonomical data whose statistical value was checked by the analysis of variation (the F test) with the karyological study of the species *Aconitum lasianthum*, justify its maintenance as an independent species in the Romanian flora.

Acknowledgements. We are grateful to Prof. Tr. I. Ștefureac for the assistance in the elaboration of this paper.

REFERENCES

1. BOLKOVSKII Z., GRIF V., MATVEEVA T., ZAKHAREVA O., *Chromosome number of flowering plants*, Leningrad, 1969.
2. GRINȚESCU GH., in: SĂVULESCU, *Flora R.P.R.* 2, Ed. Academiei, București, 1953.
3. MORARIU I., BELDIE AL., *Flora R.S.R.*, 13, Ed. Academiei, București, 1976.
4. NYARADY E. I., in: SĂVULESCU, *Flora R.P.R.* 2, Ed. Academiei, București, 1953, p. 522.
5. POP E., *Bul. Grăd. și Muz. Bot. Univ. Cluj*, 1937, 17.
6. ȘTEFUREAC TR. I., TĂCINĂ A., *St. și cerc. biol., Seria botanică*, 1978, 30, 1.
7. TARNAVSKI I., *Bul. Grăd. și Muz. Bot. Cluj*, 1948, 28.
8. TUTIN et al., *Flora Europaea* I, Cambridge, 1964.

Received March 20, 1980

Institute of Biological Sciences
Bucharest, Splaiul Independenței 296

* Our investigations, based on the same methodology, are forthcoming for the species *Aconitum vulparia* Richb. too.

INFLUENCE DE LA NUTRITION AZOTÉE NITRIQUE SUR CERTAINS PROCESSUS PHYSIOLOGIQUES CHEZ LES PLANTES DE TABAC

PAR

C. VOICA

This paper shows some nutritional aspects of tobacco plant, especially the influence of nitrogen upon plant growth, the accumulation of net nitrogen and protein substances as well as some aspects about the plant capacity to recover from the lack of nitrogen after a period of twenty days.

L'azote représente sans doute l'un des éléments absolument nécessaires pour les plantes.

Il est absorbé par les plantes sous différentes formes et réduit ensuite jusqu'à la fonction NH_2 , utilisée pour la synthèse des acides aminés.

Dans nos expériences nous avons essayé d'élucider si les plantes de tabac peuvent surmonter le déficit d'azote pendant les premiers 20 jours d'expériences ou après.

Nous avons tenu compte de quelques processus physiologiques chez les plantes ayant reçu de l'azote tout le temps, chez les plantes qui n'ont pas reçu d'azote et chez les plantes qui ont reçu de l'azote un certain temps (au début ou en fin d'expériences).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les expériences ont été effectuées sur des plantes de tabac de la variété SPAKA cultivées dans des cristallisoirs contenant de la vermiculite humectée d'une solution minérale nutritive d'Arnon dont on a supprimé l'azote les premiers 20 jours (9–28 mai 1979) pour la moitié des plantes.

Après 20 jours nous avons divisé chaque lot en deux groupes, ayant finalement les variantes suivantes :

V_1 . — — N
 V_2 . + + N
 V_3 . — + N
 V_4 . + — N

Nous précisons que la vermiculite a été purifiée avec du HCl et lavée plusieurs fois à l'eau distillée.

Les graines ont germé dans des boîtes Petri et, après germination, les plantules ont été repiquées dans du sable ou elles ont été maintenues jusqu'au moment où elles atteignent une hauteur d'environ 3 cm.

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. VÉGÉT., TOME 25, N° 2, P. 121–127, BUCAREST, 1980

Alors les plantules ont été retirées du sable et mises dans des cristallisoirs contenant de la vermiculite. Une seule plantule a été introduite dans chaque vase. Les variantes ont été répétées à quatre reprises.

Les plantes ont été cultivées en laboratoire à lumière naturelle.

Nous avons étudié l'influence exercée par la nutrition azotée sur la croissance de la surface foliaire, la hauteur des plantes, la quantité de substance fraîche et sèche, la quantité de chlorophylle, la quantité d'azote totale et de protéine brute.

La quantité de chlorophylle a été déterminée par la photo-électrocolorimétrie en utilisant un filtre, de couleur rouge et l'azote total et la protéine brute en utilisant la méthode de Kjeldahl.

RESULTATS :

A. INFLUENCE DE LA NUTRITION AZOTÉE NITRIQUE SUR LA CROISSANCE

1. La hauteur des plantes

Les données relatives à l'influence de la nutrition azotée sur la hauteur des plantes sont inscrites dans la figure 1 où l'on remarque que les plantes les plus hautes sont celles qui ont reçu de l'azote tout le temps et les plus petites celles qui n'en ont reçu du tout.

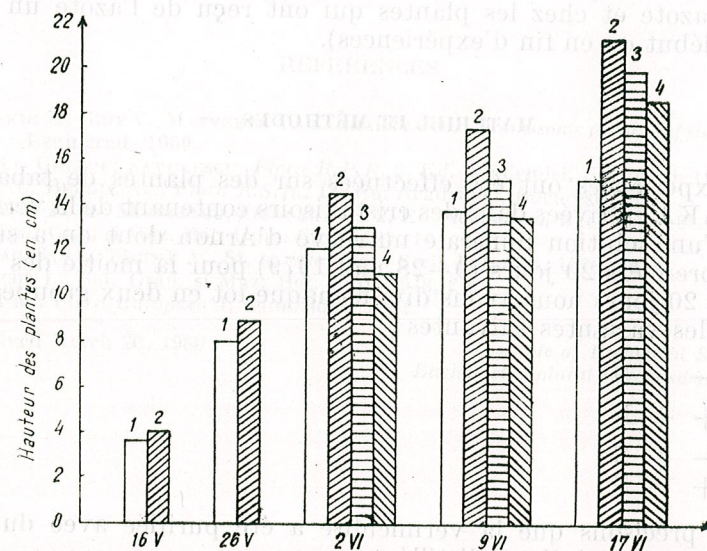


Fig. 1. — Influence de la nutrition azotée sur la croissance des plantes de tabac. 1. — N; 2. + + N; 3. + - N; 4. - + N.

On remarque aussi que les plantes qui ont reçu de l'azote pendant les premiers 20 jours de l'expérience sont bien plus grandes que celles qui

ont reçu de l'azote pendant les derniers 20 jours, bien qu'on y voit un revirement en comparaison des plantes cultivées tout le temps sans azote.

2. La surface foliaire

Nos données relatives à l'influence de la nutrition azotée sur l'augmentation de la surface foliaire (fig. 2) montrent généralement un comportement analogue à celui de la hauteur des plantes. Les plantes ayant reçu de l'azote sans interruption ont la surface foliaire la plus grande et les plantes de la variante — — N ont la surface foliaire la plus petite.

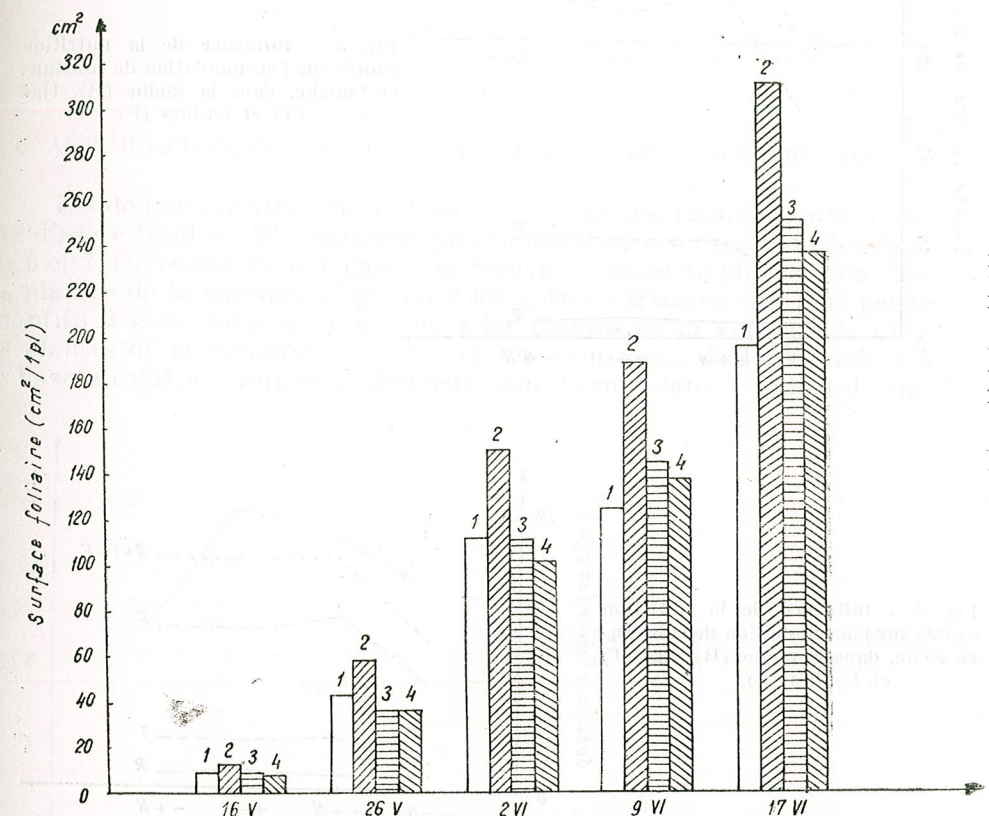


Fig. 2. — Influence de la nutrition azotée sur l'augmentation de la surface foliaire des plantes de tabac. 1. — N; 2. + + N; 3. + - N; 4. - + N.

3. La quantité de substance fraîche et sèche

En ce qui concerne la quantité de substance fraîche et sèche accumulée dans les différents organes, on peut voir d'après les figures n° 3 et 4 qu'elle est plus grande chez les plantes de la variante 2 qui ont reçu tout le temps de l'azote que chez les plantes de la variante 1 qui n'ont pas reçu d'azote.

Entre les deux autres variantes les différences ne sont pas très grandes.

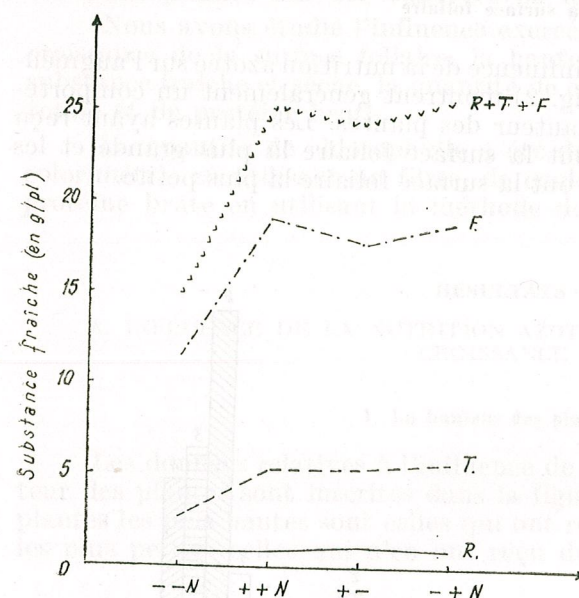


Fig. 3. — Influence de la nutrition azotée sur l'accumulation de substance fraîche, dans la racine (R), tige (T) et feuilles (F).

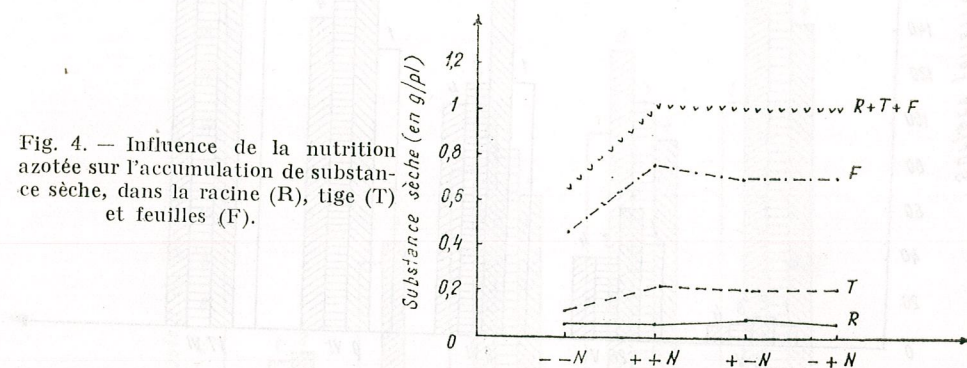
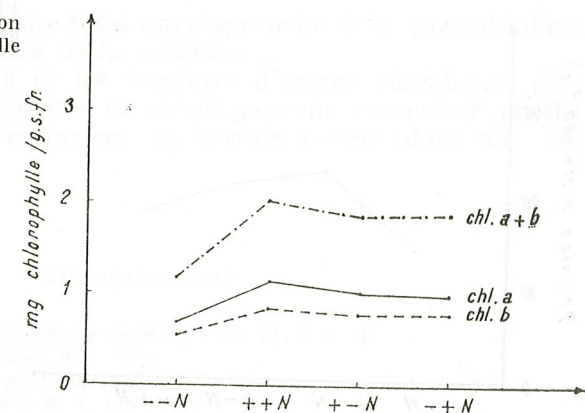


Fig. 4. — Influence de la nutrition azotée sur l'accumulation de substance sèche, dans la racine (R), tige (T) et feuilles (F).

B. INFLUENCE DE LA NUTRITION AZOTÉE SUR LA TENEUR EN CHLOROPHYLLES

Ainsi qu'on peut voir dans la figure n° 5, la quantité de chlorophylle a + b, a et b a des valeurs plus grandes chez les plantes de la variante 2 en comparaison des plantes d'autres variantes. Les valeurs les plus petites se trouvent chez les plantes de la variante 1, qui n'ont pas reçu d'azote.

Fig. 5. — Influence de la nutrition azotée sur la quantité de chlorophylle dans les feuilles.



C. ACCUMULATION DE L'AZOTE TOTAL ET DES SUBSTANCES PROTÉIQUES

Les données relatives à l'influence de la nutrition azotée sur la quantité d'azote total et de substances protéiques sont inscrites dans les figures 6 et 7. On remarque que l'azote se trouve en quantité plus grande chez les plantes de la variante 2 que chez les autres variantes. La plus petite quantité d'azote total se trouve chez les plantes de la variante 1. Chez les plantes de la variante n° 3 on voit une croissance de l'accumulation de l'azote total par suite de l'administration d'azote dans le milieu de cul-

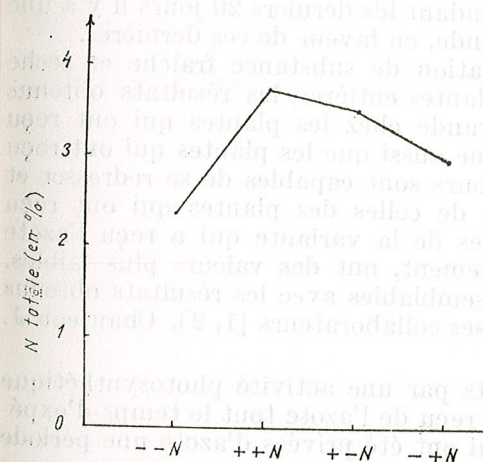


Fig. 6. — Influence de la nutrition azotée sur la quantité d'azote totale.

ture. Chez les plantes de la variante n° 4 qui ont reçu de l'azote seulement les premiers 20 jours, la quantité d'azote total décroît mais elle reste plus grande face à la quantité d'azote trouvé chez les plantes de la variante n° 1 qui n'ont pas reçu d'azote.

La quantité de substances protéiques (fig. 7) évolue d'une manière semblable à celle de la quantité d'azote total.

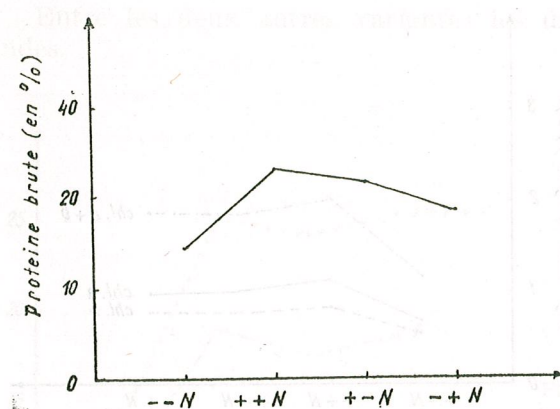


Fig. 7. — Influence de la nutrition azotée sur la quantité de protéine brute.

DISCUSSIONS

Dans nos expériences nous avons essayé de mettre en évidence l'influence de l'azote sur quelques phénomènes de croissance, à savoir la hauteur des plantes, la surface foliaire et la quantité de substance fraîche et sèche.

Nos données au sujet de la hauteur des plantes et l'augmentation de la superficie foliaire prouvent que les plantes de la variante sans azote croissent moins par rapport aux plantes qui ont reçu de l'azote.

Entre les plantes qui ont reçu de l'azote les premiers 20 jours et les plantes qui ont reçu de l'azote pendant les derniers 20 jours il y a une différence de croissance, pas trop grande, en faveur de ces dernières.

En ce qui concerne l'accumulation de substance fraîche et sèche pour différents organes et pour les plantes entières, les résultats obtenus montrent une accumulation plus grande chez les plantes qui ont reçu de l'azote tout le temps. On remarque aussi que les plantes qui ont reçu de l'azote pendant les derniers 20 jours sont capables de se redresser et atteignent des valeurs très proches de celles des plantes qui ont reçu de l'azote tout le temps. Les plantes de la variante qui a reçu l'azote pendant les premiers 20 jours seulement, ont des valeurs plus faibles.

Nos résultats sont en général semblables avec les résultats obtenus par d'autres auteurs, tels Coic Y. et ses collaborateurs [1, 2], Chateau J. [3, 4] et d'autres.

On peut expliquer ces résultats par une activité photosynthétique plus grande chez les plantes qui ont reçu de l'azote tout le temps d'expérience en comparaison avec ceux qui ont été privées d'azote une période de 20 jours ou bien tout le temps.

La teneur en chlorophylles des feuilles des différentes variantes (fig. 5) vient soutenir cette hypothèse. On remarque que les plus grandes quantités de chlorophylle se trouvent chez les plantes de la variante 2.

Les résultats concernant l'accumulation de l'azote total nous montrent que les plantes cultivées sans N les premiers 20 jours et qui en ont reçu après ces 20 jours ont surmonté le déficit d'azote et finalement elles

ont acquis une quantité d'azote total qui s'approche de la quantité d'azote total trouvée chez les plantes de la variante 2.

D'après nos résultats et les résultats d'autres chercheurs [1—4] on peut conclure que les plantes de tabac peuvent surmonter partiellement le déficit d'azote maintenu un certain temps (dans nos expériences — 20 jours).

BIBLIOGRAPHIE

1. Coic Y. et collab., Annales de physiologie végétale, 1969, **11**, 1, 5—26.
2. Coic Y., C. R. Acad. Agric., 1964, 925—932.
3. Chateau J., Bull. de Phys. végét., 1967, **13**, 4, 317—326.
4. Chateau J., Phys. végét., 1963, **9**, 4, 174—180.
5. Voica C., Rev. Roum. de Biologie, 1972, **17**, 6, 383—390.

Reçu le 20 mars 1980

Université de Bucarest
Faculté de biologie
Bucarest, Alea Portocalilor 1

MARINE PHYTOPLANKTON PHOTOSYNTHESIS IN THE OFFSHORE ZONE OF CONSTANȚA (BLACK SEA) DURING JUNE-DECEMBER 1978

BY

ALEXANDRU S. BOLOGA *, PETRE T. FRANGOPOL **, MARIA FRANGOPOL **
and IANCA STANEF **

The marine phytoplankton photosynthesis data in the offshore zone of Constanța on the Romanian Black Sea coast, obtained during June-December 1978 by means of the ^{14}C method using the liquid scintillation counting, are presented. The values ranged between 4.68-66.92 mg C m $^{-3}$ day $^{-1}$ (December) and 71.28-1,162.80 mg C m $^{-3}$ day $^{-1}$ (July).

The photosynthetic activity of plant organisms, the algae included, allows the accomplishment of primary production (productivity). *Primary production* differs essentially from the other bioproductive modalities by the fact that it represents the very transformation of mineral substances into organic matter with the expenditure of a definite quantity of energy. According to the definitions of the gross and net photosynthesis rates, *gross* primary production represents the gross rate of photosynthetic activity before any correction for respiration, while *net* primary production means the net rate of synthesis of the organic components of the plant tissue; both are expressed in mg(g) C m $^{-2}$ hour $^{-1}$ or mg(g) C m $^{-2}$ day $^{-1}$. The *primary product* or *standing crop* is the instantaneous value of the living vegetal matter in the aquatic medium and it is expressed in organic carbon on surface unit (mg(g) C m $^{-2}$) or volume unit (mg(g) C m $^{-3}$) [15].

The notions of primary production and productivity generally designate the same concept. However, *production* is considered to mean the real rate, while *productivity* is understood as the maximum possible rate in the same water mass in ideal photic and hydrological conditions [5]; respectively, production = quantity of substance produced in time unit on surface (or volume) unit = P, and productivity = ratio between production and an element of the productive ecosystem: biomass B, or free energy S [8]; or, in a very concise conception, production as reported to the main agents which determine it constitutes productivity.

The methodology for estimating planktonic primary productivity offers numerous techniques [1],[9],[16], with various degrees of applicability, among which the ^{14}C method is preferred at this time in most of the major aquatoria. As a result of the introduction of the ^{14}C method in the Romanian planktonological research [2], the study of marine phytoplankton photosynthesis and planktonic primary productivity, respectively, was continued in the offshore zone of Constanța during June-December, 1978.

MATERIAL AND METHOD

Phytoplankton samples were collected every month in the eastward section of Constanța (44°10'N) at 5 stations (1 = 1 n.m., 2 = 5 n.m., 3 = 10 n.m., 4 = 20 n.m., 5 = 30 n.m. offshore) from surface water (0 m).

The ^{14}C method [14] was used, by liquid scintillation counting [7], according to the *in situ* "simulated" variant. Light (2 of each sample) and dark (1 of each) bottles containing phytoplankton were inoculated with 1 ml $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ solution (of indigenous origin *) and introduced into a basin with continuously circulated water, exposed to natural illumination. For each sample, 25 μCi (= 925 kBq) $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ were used. Experiments on photosynthetic assimilation developed during the second half of the day, between the culmination and the sun set. At the end of the exposure period (6–8 hours), the samples were not fixed before filtration.

The content of the bottles was filtered at attenuated light, in vacuum, on membrane filter Millipore HA 04700 ($\text{O} = 0.45 \mu$) without any final washing.

The filters with the radioactive phytoplanktonic residue were preserved in Packard polyethylene vials — with a previously determined low background — and their activity measured after the following prescription: 3 ml dioxan (for the solubilization of filters) and 5 ml Unisolve** liquid scintillator.

The measurements were carried out after 24 hours at $+5^\circ\text{C}$ with a Packard Tri-Carb spectrometer model 3385. The counting efficiency was 85%. Background and quenching corrections were applied to the obtained results.

Computation of planktonic primary productivity values was carried out after Burkaltseva's formula [3]. In order to determine the total inorganic carbon content of the sea water, from the modalities of establishing CO_2 concentration in the water — dosage, calculation or arbitrary value — the dosage by total carbonic alkalinity analysis was chosen to be used [17]. The measurement values of the dark (control) bottles were neither subtracted from the photosynthetic assimilation values, nor calculated as percentage of the latter, but considered as such [13].

RESULTS AND DISCUSSION

The determination of marine phytoplankton photosynthesis was carried out with the control of light and temperature (table 1).

The results on planktonic primary productivity during June–December, 1978, comprise values between 4.68–1,162.80 $\text{mg C m}^{-3} \text{ day}^{-1}$, respectively between 62.44–739.34 $\text{mg C m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (June), 71.28–1,162.80 $\text{mg C m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (July), 44.80–357.00 $\text{mg C m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (August), 38.48–152.44 $\text{mg C m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (October), 17.17–358.11 $\text{mg C m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (November) and 4.68–66.92 $\text{mg C m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (December) (table 2).

* Institute for Physics and Nuclear Engineering, Măgurele — Bucharest.

** Unisolve Koch-Light Lab. Ltd., a universal liquid scintillator, patented, ready prepared, a cocktail specially used for aqueous samples.

Table 1
The experimental conditions during the marine phytoplankton photosynthesis determinations in the offshore zone of Constanța

Date of sampling	Number of stations	Horizon (m)	Time of experiment (h)	Light ($\bar{x}$ of 5 det.) (lx)	Temperature ($\bar{x}$ of 5 det.) ($^\circ\text{C}$)	Activity of inoculated $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ (μCi)	Date of activity measurement	Total inorg. carbon content of sea water (mg l^{-1})
21 VI	5	0	12–20 ⁰³	19,218	19.6	25	01.09.1978	35
20 VII	5	0	12–19 ⁵³	62,163	24.0	25	01.09. "	38
28 VIII	5	0	12–19 ⁰⁰	45,665	21.3	25	04.10. "	35
24 X	5	0	12–17 ¹⁵	27,877	16.3	25	04.10. "	37
10 XI	5	0	12–16 ⁴⁷	12,042	11.0	25	07.03.1979	38
12 XII	4	0	12–16 ³⁶	2,123	11.0	25	07.03. "	39

Table 2
Values of marine phytoplankton photosynthesis in the offshore zone of Constanța during June–December 1978 ($\text{mg C m}^{-3} \text{ d}^{-1}$)

Station	Horizon (m)	JUNE	JULY	AUGUST	OCT.	NOV.	DEC.
1 (1 n.m.)	0	62.44	853.63	18.20	152.44	358.11	4.68
2 (5 n.m.)	0	296.24	1,162.80	138.88	119.88	164.46	38.22
3 (10 n.m.)	0	383.24	112.93	123.20	134.68	116.12	34.47
4 (20 n.m.)	0	739.34	626.08	357.00	115.44	17.17	66.92
5 (30 n.m.)	0	544.74	71.28	44.80	38.48	29.48	—

It follows from the results, which are both spatially and temporally variable, that the highest value of the primary productivity was recorded in July at station 2—1,162.80 mg C m⁻³ d⁻¹; this value is higher as compared to the upper limit of the primary productivity within the stretch of Constanța-Agigea in the same month of the previous year—825 mg C m⁻³ d⁻¹ [2]. The lowest value was recorded in December at station 1—4.68 mg C m⁻³ d⁻¹. The development of the photosynthetic assimilation and the implicit primary productivity, which is maximum in summer (July) and minimum in winter (December), follow in close correlation the evolution of the environment agents, e.g. light and temperature: July = 62,163 lx, 24°C; December = 2,123 lx, 11°C.

As specified, the results so far obtained by the ¹⁴C method in front of the Romanian coast refer only to the upper layer (0 m) and, therefore, are expressed in volume units (m³). However, the values obtained on the water column (m²), in different areas of the Black Sea during August-October [11], are comparatively shown: 700—1,200 mg C m⁻² d⁻¹ in the coastal zone (bays), in the north-western region of the Black Sea and by the side of the Danube river mouths; 300—600 mg C m⁻² d⁻¹ in the zone of the rotational currents, in the open sea and by the side of the Kertch Strait; 50—200 mg C m⁻² d⁻¹ in the centers of the eastern and western halistatic zones and near the east coast by the side of Batumi. According to the data on the primary productivity distribution in the Black Sea as obtained during August-October, 1961 [12] and in September, 1964 [6], which indicate 5 productive levels—1,000, 500—1,000, 200—500, 100—200 and 50 mg C m⁻² d⁻¹—the primary production of the north-western region of the Black Sea, including the Romanian coastal waters, is ranging between 500—1,000 mg C m⁻² d⁻¹, with higher values in the shallow coastal waters of the northern extremity of the littoral.

The interpretation of the results of 1978 requires a comparison between the main hydrological factors which influence the development of the marine phytoplankton, especially the thermal regime, the saline regime and the P—PO₄ concentration in the reference years 1961 [12] and 1964 [6] as compared with 1978 (table 3).

Table 3

Annual mean values of temperature, salinity and P—PO₄ concentration in the eastward section of Constanța (30 nm) at surface (0 m) (cf. [4], [10], [18])

Year	t°C	S ‰	P — PO ₄ (mg l ⁻¹)
1960	12.50	15.39	7.4*
1964	13.32	16.39	3.6
1978	13.31	15.93	12.3

* P — PO₄ measured only in the shore area.

As it follows from the dynamics of the annual mean values of the physico-chemical parameters examined in the offshore zone of Constanța, there is stability in the thermal and saline regime [4], [10], [18]. But in

contradistinction with these factors, an increase in P—PO₄ concentration was noticed in this zone, too. However, this P—PO₄ enrichment did not determined a proportional increase in planktonic primary productivity in the offshore zone of Constanța, at 0 m, within the stretch of 30 n.m. from the shore; nevertheless, the data of 1978 attest the eutrophic feature of the mentioned sector.

CONCLUSIONS

1. Measurement of ¹⁴C was improved as compared with our previous measurements by using dioxan and Unisolve liquid scintillators.
2. For a more accurate calculation of primary productivity, the total inorganic carbon content of sea water was measured.
3. Primary productivity level in the offshore zone of Constanța during June-December, 1978, ranged between 4.68—66.92 mg C m⁻³ day⁻¹ in December and 71.28—1,162.80 mg C m⁻³ day⁻¹ in July.
4. Primary productivity values show both spatial and seasonal variations during the period investigated.
5. The data on planktonic primary productivity attest the eutrophic feature of the offshore zone of Constanța from the Romanian Black Sea coast.

Acknowledgements. Sincere gratitude to dr. Adriana Petran for her constant mainstay to the present research.

REFERENCES

1. BOLOGA A. S., *Progr. St.*, **10**, 253—260, 1974.
2. —, FRANGOPOL P. T. *Cerc. mar.-Rech. mar.*, **12**, in press.
3. BURKALTSEVA M. A., in *Sovremennye metody rybohosiastvennykh morskikh gidrohimicheskikh issledovaniy*, M. V. Fedosova (ed.), Isd. Pisc. promysl., Moskva, 146—169, 1973.
4. COCIAȘU A., POPA L., *Cerc. mar.-Rech. mar.*, **9**, 41—58, 1976.
5. DAVIS H. C., *Arch. Hydrobiol. (Plankt.)*, **59**, 145—161, 1963.
6. FINENKO Z. Z., *Vopr. biooceanogr.*, Kiev, 69—75, 1967.
7. FRANGOPOL P. T., BOLOGA A. S., *Preprint CSEN/ICEFIZ*, May, București, 1—39, 1979.
8. JACQUES G., *Vie et Milieu*, **21**, 513—516, 1970.
9. SCHLIEPER C., *Methoden der meeresbiologischen Forschung*, VEB G. Fischer Verl., Jena 1968.
10. ȘERPOIANU G., *Cerc. mar.-Rech. mar.*, **5—6**, 5—144, 1973.
11. SOROKIN Y. I., *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **144**, 914—917, 1962.
12. —, *Izv. AN SSSR, ser. biol.*, **5**, 749—758, 1964.
13. SOURNIA A., *Bull. de l'Ét. en comm. de la Médit.*, Num. spéc. **5**, Monaco, 1—128, 1973.
14. STEEMANN NIELSEN E., *J. Cons. perm. int. Explor. Mer.*, **18**, 117—140, 1952.
15. STRICKLAND J. D. H., in *Chemical Oceanography*, **1**, J. P. Riley and G. Skirrow (ed.), Academic Press, London and New York, 477—610, 1965.
16. VOLLENWEIDER R. A., *A Manual on Methods for Measuring Primary Production in Aquatic Environments*, I. B. Handb. **12**, Blackwell Sci. Publ., Oxford and Edinburgh, 1969.
17. * * *, *Protecția calității apelor (Protection of the Waters Quality)*, Bibl. Stand., ser. teha. A., **62**, 137—138, 1967.
18. * * *, *Anuarul oceanografic (Oceanographic Year Book)*, IRCM, Laboratorul de hidrologie, 1978.

Received December 18, 1979

* Romanian Marine Research Institute
Constanța—Agigea
and
** Institute for Physics and Nuclear
Engineering
Bucharest—Măgurele

THE MICROPROPAGATION OF *VITIS VINIFERA* L. I. THE INDUCTION AND CHARACTERIZATION OF CALLUS FROM TISSUES OF SOMATIC ORIGIN

BY

AURELIA BREZEANU, MARGARETA IORDAN and ANA ROȘU

The possibilities for initiation and growth of the callus, *in vitro*, from explants of somatic origin are presented in the paper, considering 5 cultivars of *Vitis vinifera* L., aiming at using it in the experiment of cellular cloning. The explants of various origins show differentiated capacities to initiate callus. Positive results were obtained on Linsmaier and Skoog nutrient media and variants of the medium Murashige and Skoog which contained 2,4-D in a proportion of 1mg/l, BAP between 0-0.10 mg/l and IAA between 10-20 mg/l, and for growth on the Linsmaier and Skoog medium with a double quantity of kinetine and on the Murashige and Skoog medium to which 2,4-D was substituted with 2 mg/l NAA and the quantity of IAA was increased as far as 20 mg/l. The calli obtained show morphological heterogeneity irrespective of cultivar, medium, explant origin.

One of the important directions in biological research, where the technique of plant cell and tissue culture has a wide application, is the vegetative multiplication of many species of plants. The advantage of this method as compared to the conventional ones (cuttings and graftings) consists in the possibility of rapid in mass cloning of healthy plants, free of viroses, with well-preserved genetical characteristics. Among the ways to multiply the plants by means of cell and tissue cultures, the following are frequently used: bud culture, meristem culture and plant regeneration by organogenesis and somatic embryogenesis. Among these possibilities, the somatic embryogenesis presents the advantages of obtaining a large number of plants starting from a reduced quantity of callus because of the plant cells capacity to be totipotent.

Up to the present, Murashige [13] described the possibilities to perform the somatic embryogenesis starting from the cells of calli of various origin, for about 30 species of Dicotyledoneae and some Monocotyledoneae.

The information regarding the possibility to induce the somatic embryogenesis in *Vitis vinifera* L. is scarce and relatively recent [7]—[11]. The first experiments of multiplication *in vitro* of this species had in view the obtaining of plants starting from superficially sterile buds grown in aseptical conditions in gelled nutrient medium [5], [6]. The method was intended to obtain vegetal material free of viroses, by thermal treatment, which must assure the preservation of a collection of healthy plants and their rapid multiplication by cutting in sterile conditions, followed by a transfer in the field of the obtained clones.

Later Favre [2], [3] described for a hybrid clone of *V. ripria* and *V. rupestris*, the possibility of cauline buds neoformation, capable to differentiate a new plant from mesophyll and petiole explants originating from plants grown *in vitro*.

In the same period of time Hirabayashi and collab., [8] obtained the simultaneous differentiation of roots and structures similar to the cauline buds, starting from a callus initiated from the anthers of *V. thunbergii*. These two organs were, however, at a distance in various areas of the mass of callus and did not have the possibility to regenerate a whole plant.

Recently Krul and Worley [9] have succeeded to obtain the differentiation of adventive embryos, starting with a callus from somatic origin explants of *V. species*, Seyval cultivar, which regenerated completely differentiated plants, with morpho-functional and genetical, well preserved characteristics.

The results obtained by Krul and Worley were of real interest both for the contribution brought in the development of fundamental information concerning the micropropagation by somatic embryogenesis in plants as well as for the applicative aspects.

Our investigations carried out in this respect were intended to test the possibilities for vegetative multiplication of some valuable varieties of vine, widely cultivated in our country, using nonconventional techniques, as well as their advantages.

The paper presents the preliminary results that refer to obtaining a callus from somatic tissues of various origin, its growth and morphological characterization in view of using it in the cloning experiments.

MATERIAL AND METHOD

Shoots of about 15 cm length, belonging to the cultivars: Fetească regală, Riesling italian, Coarnă neagră, Ananas and Americana, were collected during the vegetation period in 10 successive stages between March and November.

Fragments of tissues of somatic origin including stem axes (node and internode regions), leaf, petiole, tendril, axillary buds, inflorescence and buds in the first weeks after pollination (Pl. 1) were used for inoculations. The material was superficially sterilized by rapid diving into absolute ethyl alcohol (3—10 seconds), washing in bromocete 1 % by shaking for 15—20 minutes (according to the type of tissue), rinsing for a short period (3—10 minutes) in ethyl alcohol 70 % and by repeated rinsings in sterile distilled water (by continuous shaking) for 30 minutes.

After sterilization explants of 1 mm thickness and 2—5 mm diameter were collected for inoculation.

For callus initiation the standard nutritive media were used, e.g. B₅ [4], White [16], Murashige and Skoog [4], Linsmaier and Skoog [16] as well as the Murashige and Skoog (1962) medium modified by a supplementation with 2.4—D (1mg/l), BAP (0—0.1 mg/l), IAA (1—30 mg/l)*.

* 2.4-D — dichlorophenoxy acetic acid; IAA- α -indolyl acetic acid; NAA- α -naphthyl acetic acid; BAP — benzyl amino purine.

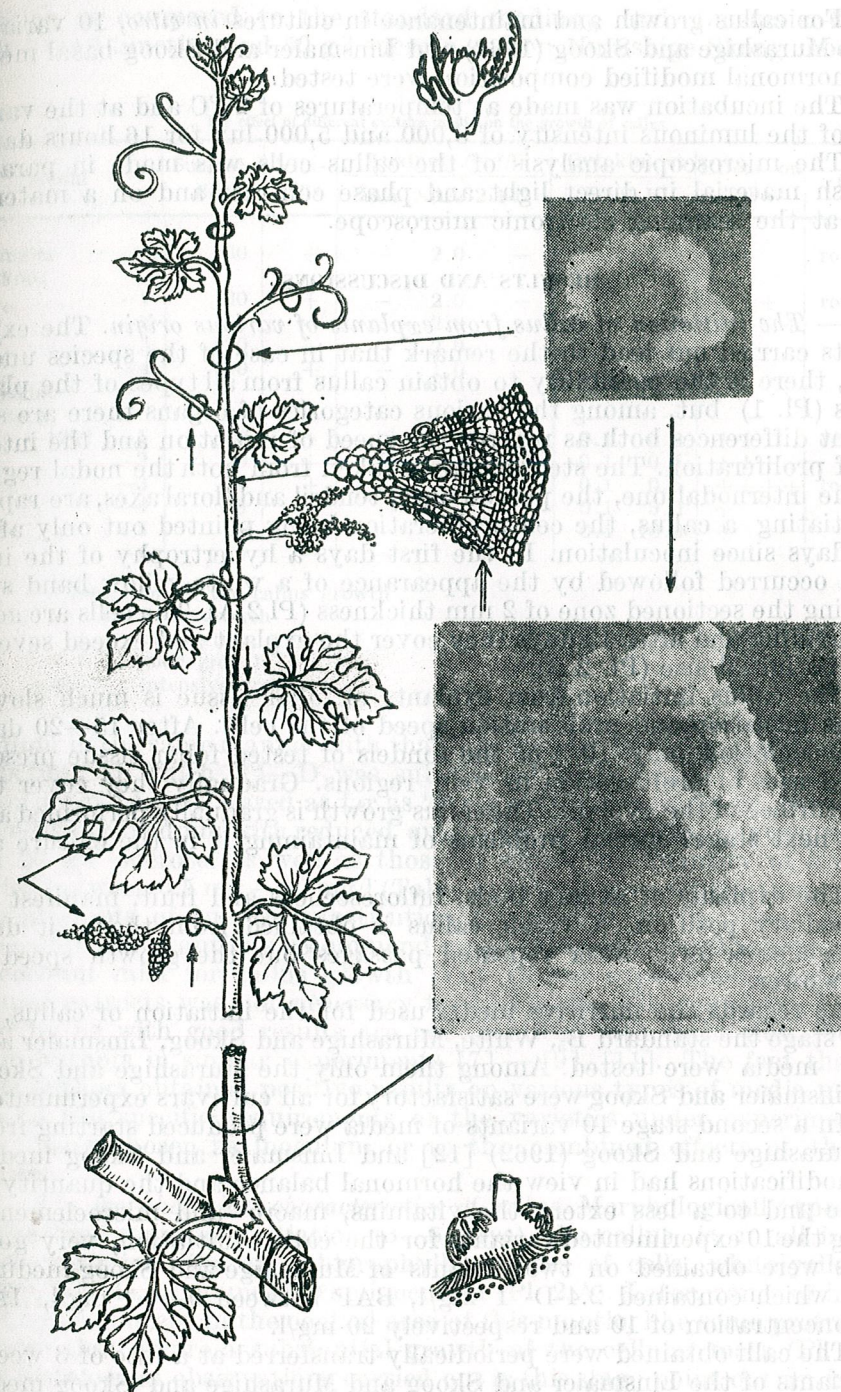


Plate 1. — Diagram of the main categories of organs from which explants for inoculation were taken.

For callus growth and maintenance in cultures *in vitro*, 10 variants of the Murashige and Skoog (1962) and Linsmaier and Skoog basal media with hormonal modified composition were tested.

The incubation was made at temperatures of 27°C and at the variations of the luminous intensity of 3,000 and 5,000 lux for 16 hours daily.

The microscopic analysis of the callus cells was made in parallel on fresh material in direct light and phase contrast and on a material fixed at the scanning electronic microscope.

RESULTS AND DISCUSSIONS

— *The initiation of callus from explants of various origin.* The experiments carried out lead to the remark that in case of the species under study, there is the possibility to obtain callus from all types of the plant tissues (Pl. 1) but, among the various categories of organs there are significant differences both as regards the speed of initiation and the intensity of proliferation. The stem explants taken from both the nodal region and the internodal one, the petiole ones, tendril and floral axes, are rapidly initiating a callus, the cell proliferation being pointed out only after 3—5 days since inoculation. In the first days a hypertrophy of the inoculum occurred followed by the appearance of a white-yellow band surrounding the sectioned zone of 2 mm thickness (Pl. 2 A). The cells are actively dividing and after 12 days they cover the explant and exceed several times its initial size (Pl. 2 B).

The callus initiation from explants of foliar tissue is much slower both as initiation and proliferation speed of the cells. After 15—20 days since inoculation only 10 % of the rondels of tested foliar tissue present isolated isles of proliferation in vein regions. Gradually they cover the whole surface of the explant. The callus growth is gradually performed and in the next stages special problems of maintaining it in the culture are risen.

The explants of axillary buds, inflorescences and fruit, manifest an intermediary position. A viable callus is obtained from them; it does not degenerate even after repeated passages but the growth speed is much slower.

As regards the nutritive media used for the initiation of callus, in a first stage the standard B₅, White, Murashige and Skoog, Linsmaier and Skoog media were tested. Among them only the Murashige and Skoog and Linsmaier and Skoog were satisfactory for all cultivars experimented.

In a second stage 10 variants of media were produced starting from the Murashige and Skoog (1962) [12] and Linsmaier and Skoog media. The modifications had in view the hormonal balance and the quantity of sucrose and to a less extent the vitamins, macro- and microelements. Among the 10 experimented variants for the callus initiation, very good results were obtained on two variants of Murashige and Skoog medium (1962) which contained 2.4-D- 1 mg/l, BAP between 0—0.1 mg/l, IAA in a concentration of 10 and respectively 20 mg/l.

The calli obtained were periodically transferred at a rate of 3 weeks on variants of the Linsmaier and Skoog and Murashige and Skoog media (Table 1). The best results were obtained on two variants of the Linsmaier and Skoog medium, namely Linsmaier-Skoog with a double quantity of

kinetine as compared to the standard medium, and Linsmaier-Skoog with 4 mg/l kinetine and 50 g/l sucrose and on Murashige-Skoog modified

Table 1
The effect of different culture media on the growth of callus

Media	Sucrose g/l	Vita- mins	Auxines (mg/l)			Cytokinines		Effect on growth	Obs.
			IAA	NAA	2.4-D	BAP	K		
Linsmaier-Skoog	30	+	—	2.0	—	—	0.5	++	roots
"	—1	30	+	—	2.0	—	1.0	+++	roots
"	—2	50	+	—	2.0	—	4.0	++++	
"	—3	30	+	—	2.0	—	2.0	++	
"	—4	30	+	—	1.0	—	1.0	++	
Murashige-Skoog	30	+	—	—	—	—	—	—	—
" -1962	—1	30	+	10	—	1.0	0.1	0.5	++
"	—2	30	+	20	—	1.0	0.1	0.5	++++
"	—3	30	+	20	2.0	—	0.1	0.5	++++
"	—4	30	+	—	—	—	0.1	5.0	+
"	—5	30	+	—	—	—	0.1	10.0	+
"	—6	20	—	—	—	—	—	—	—

— : inhibition of the callus growth

+: weak growth

++ : satisfactory growth

+++ : good growth

++++ : intensive growth

medium in the same manner with that one used by Krul for morphogenesis induction, at which 2.4-D was substituted with 2 mg/l NAA and the quantity of IAA increased as far as 20 mg/l. Other variants of the Murashige-Skoog medium with reduced quantities of vitamins, phytohormones and 20 g/l sucrose, as well as those in which the quantity of kinetine varied between 0.5 mg—10 mg/l (Table 1) did not give satisfactory results. The attempts of sucrose substitution by glucose or fructose were not successful. Some authors recommend an addition of natural products such as coconut milk for callus growth [11]. In our experiments the use of natural extracts was not necessary for this stage. The variants of media used by us with good results are not identical with those described by other authors in similar experiments [7]—[9], [11]. The fact that various authors obtained positive results on various types of media may be due to the specific requirements of the varieties under experiment, to the tissues chosen as inoculum or to the combined effects of the two factors.

The morphological characteristics of callus. Morphologically speaking, in the first stages of initiation (3—5 days), the callus is, in all investigated varieties, like an achlorophyllous mass of cells, white-yellowish, glassy, friable, surrounding the inoculum (Pl. 2 A). Later, zones of intense proliferation occur in the central area of this mantle, like some protrusions (arrow) that assure a substantial growth of the cellular mass (Pl. 2 B). The histological observations carried out in this stage point out an intense proliferative activity of the cambial cells of the inoculum, leading to the callus formation (Pl. 1 — double arrow). Further the mass of the callus

grows by the participation of the parenchymatic cells including both the xylo-phloem parenchyma cells and the medular ones.

The callus microscopic analysis, in the first stages of its initiation, shows cells with an oval oblong shape, of relatively small dimensions; they are under active division (Pl. 2 A). The same aspects are remarked by an analysis of the cells with a scanning electron microscope. Moreover, a smooth cellular wall is noticed, a typical character of young cells (Pl. 3 B). After about 20 days since inoculation some morphological peculiarities occur according to the cultivar, irrespective of the type of medium, especially as regards the colour of the callus. These are, however, reduced in the following successive stages. There are frequent cases, however, when the same callus has various areas with different colours, namely a basal white area in direct contact with the medium, an intermediary violet area and the central intensely green region, with a more compact consistence.

The various colours of the same callus may indicate a differentiated physiological activity of the cells. The microscopical observations on fresh cells, from variously coloured areas, come to support this idea. The cells from the red-violet region are the larger ones and are predominantly oval oblong. They contain little cytoplasm, a parietal nucleus and large vacuoles full of pigments that give a characteristic colour (Pl. 3 D). The cells from the green area are generally cylindrical or oval, with central nuclei, surrounded by numerous amyloplasts (Pl. 3 C). The presence of starch grains is characteristic and is pointed out by the specific reaction to the Lugol solution (changes into bright blue).

The rest of the callus is made of large cells, oval or round, with large vacuoles, parietal nucleus and less numerous starch grains.

The calli obtained in this way may be preserved for a long time by repeated subcultures on fresh media at intervals of three weeks.

After 25 days of maintaining in the culture on the same medium, the callus changes its colour into brown, and the proliferation capacity reduces.

Using this type of callus as an inoculum gave nonsatisfactory results. After 5 days since inoculation the necrosis of the callus is noticed. The microscopic analysis pointed out cells in various stages of aging. A small number of cells remained viable. It justifies the impossibility of using them as inoculum for further subcultures. We may therefore consider that the best moment for subcultures is between 10—15 days since the last inoculation.

— *The effect of phenological phase on the callus initiation.* The physiological peculiarity of plant at the moment of explants harvesting is an important factor in the process of initiation and proliferation of callus. The experiments pointed out that the callus initiation is possible along the whole year. However, it was noticed that the speed of initiation and growth is more rapid in the period of April—May. The samples harvested in summer time (June—July) are characterized by a capacity of active proliferation of cells, assuring a vigorous growth of the callus (Pl. 2 E). Similarly, after 3—4 passages, an abundance of aery roots is noticed (Pl. 2 C). In case of inoculation in autumn time (October) the callus growth is slower and the rhizogenesis is evident even since the first stages of cells proliferation (Pl. 2 D).

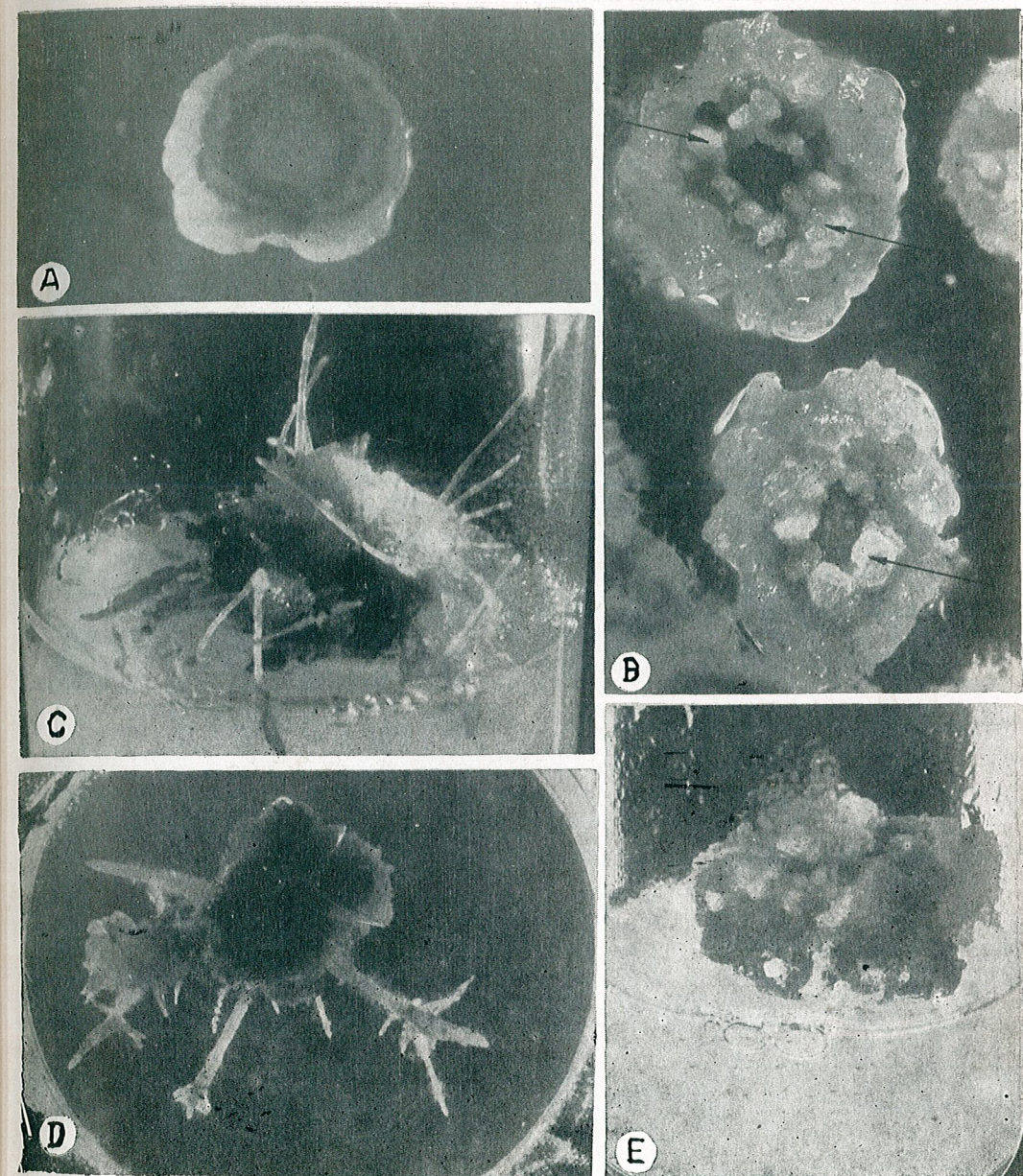


Plate 2. — Successive stages of callus proliferation

- A : incipient stage of callus initiation — 3—5 days since inoculation ;
 B — Zones of intense proliferation of cells (arrow), 10 days since inoculation ;
 C — Callus originating from explants harvested in summer time ; The differentiation of aery roots is noticed.
 D — The general characteristics of callus from autumn inoculum with intense and fast rhizogenesis ;
 E — Morphological characteristics of callus obtained in spring time after 20 days since inoculation.

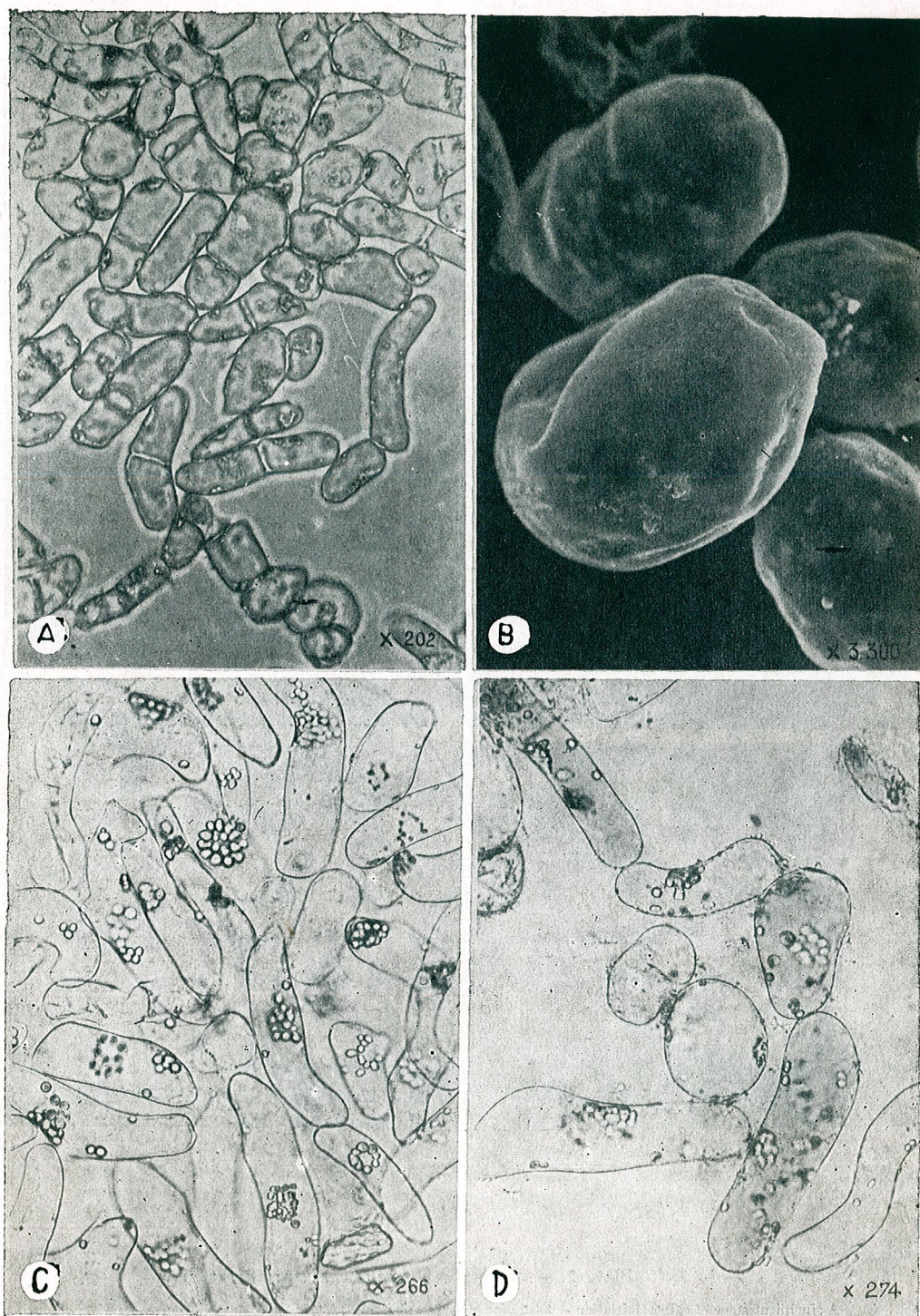


Plate 3. —

- A — Group of young cells as they appear in the phase contrast microscope; (150 $\times$).
 B — Young cells pointed out by the scanning electron microscope; $\times 3,300$.
 C — Morphological characteristics of cells from the green coloured zone of the callus; The presence of starch grains is noticed; $\times 266$.
 D — General view of the cells from the red-violet zone of the callus. The arrow indicates the cells full of pigments giving a characteristic colour. $\times 274$.

In variants where explants in latent stage were used (February) a more reduced initiation of callus and proliferation of cells was recorded. The initiation was produced after a longer period — 20 days. Mention should be made that this callus, after 2–3 passages on fresh nutrient medium, shows a higher speed of growth. We consider that these modifications may be determined by variations in the content of endogenous hormones, few investigations being carried out in this field. It is necessary to analyse if there is any direct correlation between the phenological phase, the high callogenic potential of explants and the embryogenic capacity of the callus. An increased embryogenic capacity creates the premise of a rapid regeneration of plants starting from the callus cells.

— *The influence of explant age.* As regards the age of the organ from which the explant was taken, the best results were obtained by using young tissues for inoculation. In these cases the percentage of contamination is reduced.

The explants from one year old axes have a low proliferation capacity, but the callus thereby obtained has a normal growth intensity and is easily preserved in repeated subcultures. A shortcoming is the fact that the callus formation takes place only when the section is made in the node region including also fragments of axillary buds. A high percentage of contamination with fungi and bacteria of inoculated plates was also noticed.

— *The influence of some physical factors.* Light is among the important physical factors for the callus initiation and growth and for morphogenesis induction. In case of analysed species the light was considered a necessary factor for both initiation and growth. The intensity and duration of illumination do not represent strictly limitative factors for these stages. The callus initiation was noticed to be produced both under continuous light of 3,000 lux and under normal light (8 and 16 hours) respectively at 4,000 and 5,000 lux. However, the best results were obtained for a daily light period of 16 hours and a luminous intensity between 5,000 and 6,000 lux. The variants incubated only in the dark did not show satisfactory results.

The temperature for incubation, besides light, is an important factor for the callus obtaining and the induction of morphogenesis. In case of the species under study, some authors [8] recommended for morphogenesis induction mainly low temperatures or alternative low and high temperatures. Still, other authors [9] noticed that both initiation and morphogenesis take place in good conditions at relatively constant temperatures which should not go beyond 30°C. In our experiment, the best results were recorded at temperatures between 28–30°C. We consider that these differences are determined by the varieties and the types of explants chosen for inoculation.

CONCLUSIONS

1. The explants of somatic tissues of various origin from *V. vinifera* show differentiated capacities of initiation and growth of callus. In general the explants of stem axes, petiole, tendril, buds, initiate much faster a

callus in comparison with the ones from mesophylle, inflorescence and fruit;

2. For initiation and callus growth the analysed varieties of *V. vinifera* require complex nutrient media which should contain, besides micro and macroelements, some auxins and cytokinines, vitamins and important quantities of sugars. The best results for initiation were given by the Linsmaier-Skoog medium and variants of the medium Murashige-Skoog medium which contain 2,4-D (1 mg/l), BAP (0-0.1 mg/l) and IAA (10-20 mg/l), and for growth the Linsmaier-Skoog medium with a double quantity of kinetine and Murashige and Skoog medium in which 2,4-D was substituted with 2 mg/l NAA and the quantity of IAA was increased as far as 20 mg/l.

3. The callus initiation and proliferative speed of the cells are influenced by the physiological state of the plant, depending on the age and the phenological phase. The best results were obtained by using the explants of very young organs harvested in spring time.

4. Morphologically speaking, the callus of *Vitis vinifera* presents *in vitro* a great heterogeneity as regards the consistence, colour and microscopical characteristics of cells, even if they belong to the same cultivar, explant and medium. It is possible that these peculiarities could indicate a differentiated physiological activity and be correlated with the processes of morphogenesis.

Acknowledgements. The authors are grateful to the staff of the Experimental Vine Station-Ștefănești and Ing. Popescu Ilie for their kindness to offer us vegetal material for experiments as well as for their efficient talks. We also thank Mr. C. Dimitriu for his assistance to in the preparation of the material in order to be studied at the scanning electron microscope. The authors express their gratitude to Prof. W. R. Krul from the Univ. of Rhode Island, U.S.A., for his guiding advice during the research experiments.

REFERENCES

1. ABBOTT A. J., Forth International Congress of Plant Tissue and Cell Culture, 1978, 25
2. FAYRE M. J., Actes du 101^e Congrès national des sociétés savantes, Lille, 1976, Sciences fasc. I, 465-474.
3. FAYRE M. J., Ann. Amélior. Plantes, 1977, 27, 2, 151-169.
4. GAMBORG L. O., WETTER R. L., *Culture methods*, Ed. NRC, Canada, Saskatoon, 1975, 1-95.
5. GALZY R., C. R. Acad. Sci., 1961, 261, 524-527.
6. GALZY R., COMPAN H., *Vitis*, 1965, 120-128.
7. GRESSHOFF P., DOY M., *Pflanzenphysiol.*, Dtsch., 1974, 73, 132-141.
8. HIRABAYASCHI T., KOZOKI I., AKIHAMA T., *Hort. Science*, 1976, 11, 511-512.
9. KRUL W., WORLEY J., *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1977, 102, 360-363.
10. MULLINS S., SRINIVASAN C., *J. Expt. Bot.*, 1976, 27, 1022-1030.
11. MU SIH-KIN, KWEI YAO-LIN, LIU SHU-KIUNG, CHANG FENG-CHIN, LO FANG-MEI, YANG MEI-YUNG, WANG FU-HSIUNG, *Acta Bot. Sinica*, 1975, 19, 93-94.
12. MURASHIGE T., SKOOG F., *Physiol. Plant.*, 1962, 15, 474-497.
13. MURASHIGE T., *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 1974, 25, 135-166.
14. REINERT J., BAJAJ P., *Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, N.Y., 1977, 18-107, 179-207.
15. REUTHER G., *Acta Horticulture*, 1977, 78, 217-222.
16. STREET H., *Botanical Monographs II., Plant Tissue and Cell Culture*, California University Press, Berkeley, Los Angeles, 1973, 31-58.

Received February 6, 1980

Institute of Biological Sciences,
Bucharest, Splaiul Independenței 296

THE ULTRASTRUCTURE OF HORMOGONIAL CELLS IN BLUE-GREEN ALGA *SPIRULINA PLATENSIS* (NORDST.) GEITL.

BY

H. TIȚU, G. POPOVICI, O. BOLDOR, IOANA SPIRESCU, DOINA STANCA

The electron microscopic study of *Spirulina platensis* hormogonia in synchronous culture revealed new data about the ultrastructure of cellular inclusions. The cyanophycin granules are usually striated and are more numerous in the neighbourhood of cross walls. The polyhedral bodies as well as large areas with granular texture are localized in the central region of the cell. Some sequential changes were noticed at the level of polyphosphate bodies. The polyglucoside-like inclusions occupy more than half of the cell content and are of two main forms: rods or tubuli and ellipsoidal particles similar to glycogen. The photosynthetic apparatus is not much developed. The hypothesis regarding the participation of polyglucoside inclusions to the thylakoid differentiation is emitted.

The electron microscopic investigations pointed out important details of cellular ultrastructure in numerous blue-green algae, both in free forms [1], [5], [7], [12], [13], [23], [24], [34] and in lichenized ones [3], [4]. These studies facilitated the establishment of correlations between the frequency of cell organelles and cytoplasmic inclusions, on the one hand, and the cycle of ontogenetic development, the stage of culture growth and the ecological factors, on the other hand [20], [32].

In a previous paper [35] we presented some cytological data in the blue-green alga *Spirulina platensis* on the polyglucoside-like inclusions in a rod form, which are abundantly found in those microorganisms made of a reduced number of cells. It should be pointed out that we studied the hormogonial stage which appears following the fragmentation in the necridial zones of long spiralized trichomes. The purpose of the present paper is to continue these investigations in another strain of *S. platensis* in synchronous culture, analysing all inclusions noticed in hormogonial cells.

MATERIAL AND METHOD

The object of the study. Between 1978-1979 we worked with a strain of *Spirulina platensis* from the collection of algae of the Institute of Biological Sciences, Bucharest. The culture was carried out in Erlenmeyer flasks on a standard Zarrouk medium [38], continuously stirred, under a subnormal illumination of 2 000 lux with an alternating 12 hours

light and 12 hours dark, at a temperature of $\pm 30^\circ\text{C}$. After 4 days from the inoculum with spiralized trichomes, a synchronous culture was obtained consisting only of hormogonia made of 12–15 cells.

Transmission electron microscopy. The samples from the culture were centrifuged at 2 200 g, and the sediment was fixed with 3 % glutaraldehyde in cacodylate buffer 0.1 M, pH 6.8 and postfixed with 1 % osmium tetroxide in the same buffer. The dehydration was made in the ethanol series and the inclusion in Epon 812. The ultrasections were obtained with a TESLA BS 490A apparatus, stained with uranyl acetate and lead citrate [25] and examined with an electron microscope JEM-7.

The chemicals successfully used in this experiment were supplied by *Serva Feinbiochemica*, Heidelberg.

RESULTS

Light microscopy. The samples of *S. platensis* used as inoculum were made of 7–10 spires (Fig. 1). After 48 hours since inoculation there was only a limited growth of the trichome and the occurrence of 2–3 necridia (Fig. 2) was recorded; later on the number of necridia increased leading to the formation of hormogonia whose number is equal with the constitutive spires of the trichome (Figs. 3, 4). Figure 5 shows the final stage of this process where we can notice that in place of each necridia breaking the fibrillar sheath is already formed.

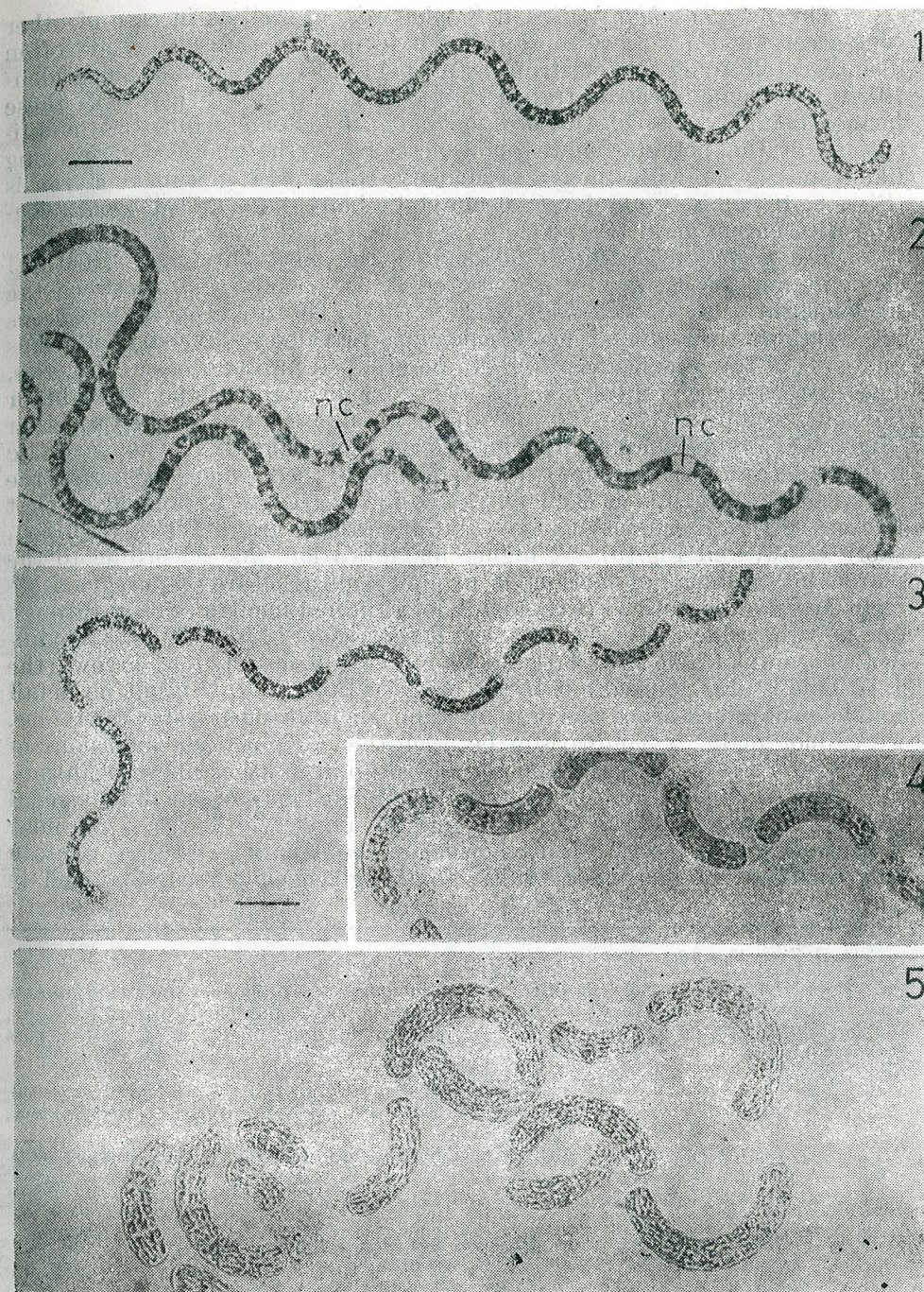
Electron microscopy. The images obtained from ultrasections have a round shape in cross section, and a rod, dumbbell and, much seldom, typical form of hormogonia in median longitudinal section. This last aspect is showed in Fig. 6 which represents an almost entire hormogonium.

The cell wall (Figs. 6, 7, CW) is made — according to the terminology suggested by Jost [20] — of 4 layers: L_1 — electron-transparent, situated in the exterior of the cytoplasmic membrane; L_2 — electron-dense, L_3 — electron-transparent, and L_4 — somewhat similar to the cytoplasmic membrane (Fig. 23). Sometimes, in the apical cells an appreciable thickness of L_2 is found. Figure 8 shows one of the two layers of pores (P) that surround the trichome along the cross walls.

The cell content is almost wholly structured (Fig. 6) pointing out, first of all, the abundance of protoplasmic inclusions: the *cyanophycin* or *structured granules* (SG), *polyglucoside inclusions* (PG), the *polyphosphate bodies* (PH), the *polyhedral bodies* or *carboxysomes* (C), *plastoglobuli* or lipid inclusions (L), a.s.o.

The *cyanophycin granules* have an ovoid or round shape, with a diameter of 0.4–0.6 μm , and are generally situated in the peripheral regions, but they are more abundant near the cross walls; they are strongly osmiophilic and sometimes an inner finely granular or striated texture can be decelated (Fig. 12, SG).

The *polyhedral bodies*, variable in size (0.2–0.5 μm), are located in the central region of the cell, closely related to the ribosomes and nucleoplasmic fibrils. They have a fine granular texture (Figs. 6, 13, C) and, rarely, the above mentioned inclusions are delimited by a single membrane. Areas of low density are noticed inside of some polyhedral bodies (Fig. 11, C, arrow).



Figs. 1. — 5. — Stages of hormogonia formation in blue-green alga *Spirulina platensis*. nc, necridia. The bar represents 30 μm .

The *polyphosphate bodies* in *S. platensis*, as well as in case of other blue-green algae [32], are more difficult to notice because they are often disintegrated under the electron beam of the microscope, they being identified like some electron-transparent vesicles (Fig. 6, arrows), these images being typical of the hormogonial cells. Some sequential modifications of the polyphosphate bodies can be further noticed, appearing like some areas with moderate density containing granules or fibrils (Figs. 9, 10) or only one larger osmiophilic body, surrounded by an electron-transparent halo (Fig. 11).

The *polyglucoside-like inclusions* are the most abundant structural elements and are uniformly distributed in the whole region between the nucleoplasm and the cell wall (Fig. 6, PG). The analysis of numerous ultrasections through various hormogonia revealed a diversity of forms and sizes of these inclusions that can be grouped into two basic categories. The first category represents the inclusions in a rod shape, straight or flexuous, as long as 100–400 nm, and as thick as 25 nm, packed together (Figs. 6, 14). Sometimes such inclusions are perpendicular on the plasmatic membrane and into contact with it. Generally, a regular display of the constitutive elements in each polyglucoside aggregate is noticed so that in cross section the inclusions look like crystalline granules (Fig. 6, insert, short arrow, and Fig. 15). At higher magnification, and according to the plane and thickness of sections, a granular substructure of polyglucoside inclusions can be noticed (Fig. 14). A longitudinal median section through one polyglucoside element shows that it represents in fact an empty cylinder whose axial hole is as large as 10 nm (Fig. 6, insert, long arrow); the axial hole is also pointed out in the cross sections (Fig. 15), but no detail could be obtained from the wall of each element separately; therefore, we cannot make a comparison between the polyglucoside inclusions of this category in *S. platensis* and the microtubuli in other microorganisms.

The second category of polyglucoside inclusions consists of ellipsoidal granules averaging 60 nm in length and 25 nm in width with a granular texture (Fig. 16, insert). Some hormogons consist of cells that contain only this type of inclusions similar to the glycogen particles noticed in

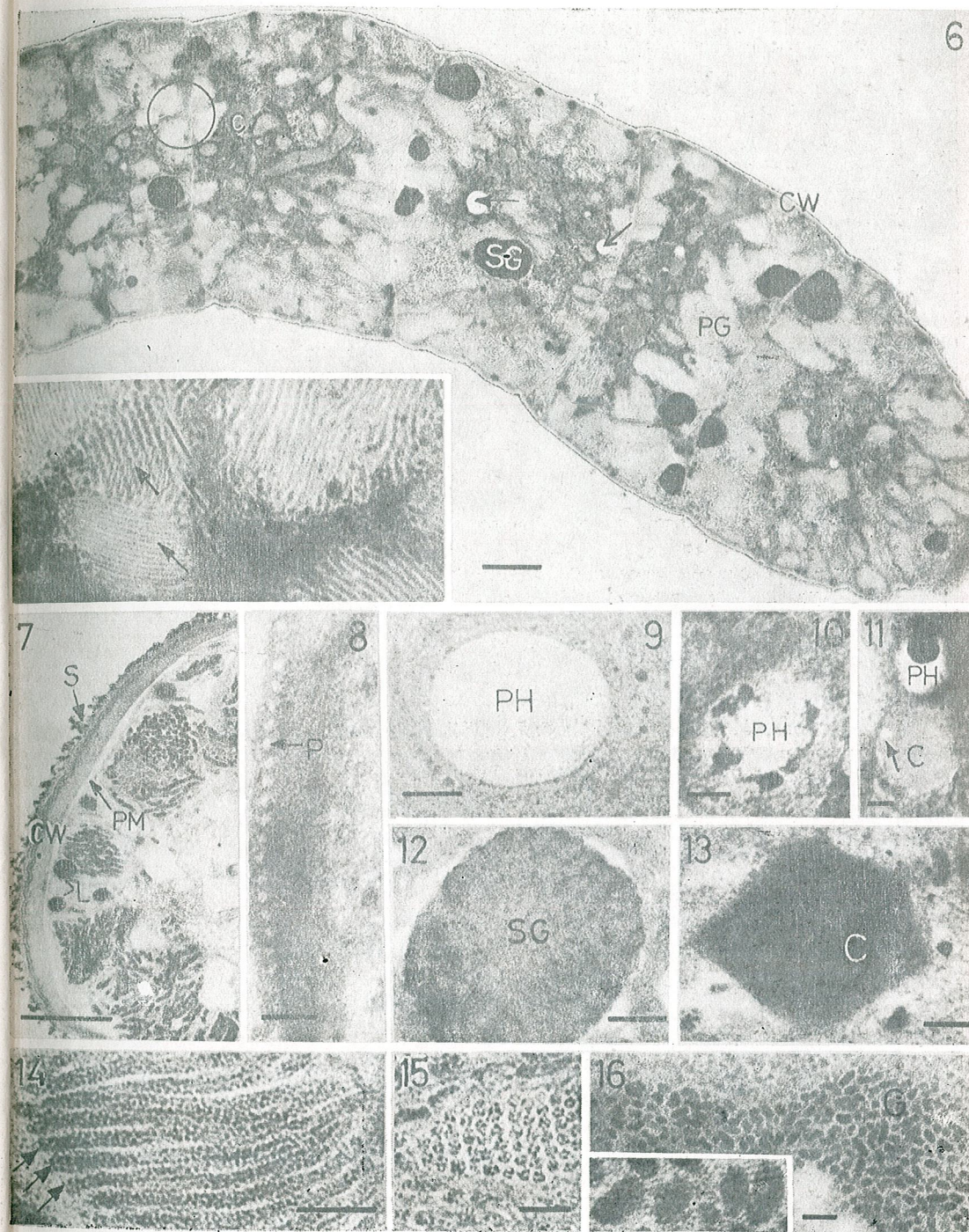


PLATE I Figs. (6.–16.)

Figs. 6 – 27. Ultrastructure of cell content in *Spirulina platensis*. In figura 6 the bar represents 1 μm ; in figure 7 the bar represents 0.5 μm ; in figures 8, 19, 27 the bars represent 0.05 μm ; in figures 9–16, 18, 20–21, 23–26 the bars represent 0.1 μm ; in figures 17, 22 the bars represent 0.2 μm .

Fig. 6. — General view of an important part of the hormogonial fragment. The inset represents high magnification of polyglucoside-like inclusions marked with a circle. CW, cell wall; C, polyhedral body; SG, cyanophycin granules; PG, polyglucoside-like inclusions.

Fig. 7. — Polar thickening of cell wall (CW). PM, cytoplasmic membrane; L, plastoglobuli; S, sheath.

Fig. 8. — Cross section of hormogonia showing one of two layers of pores (P).

Figs. 9, 10, 11. — Sequential changes of polyphosphate bodies (PH).

Fig. 12. — Cyanophycin granule (SG) with striated appearance.

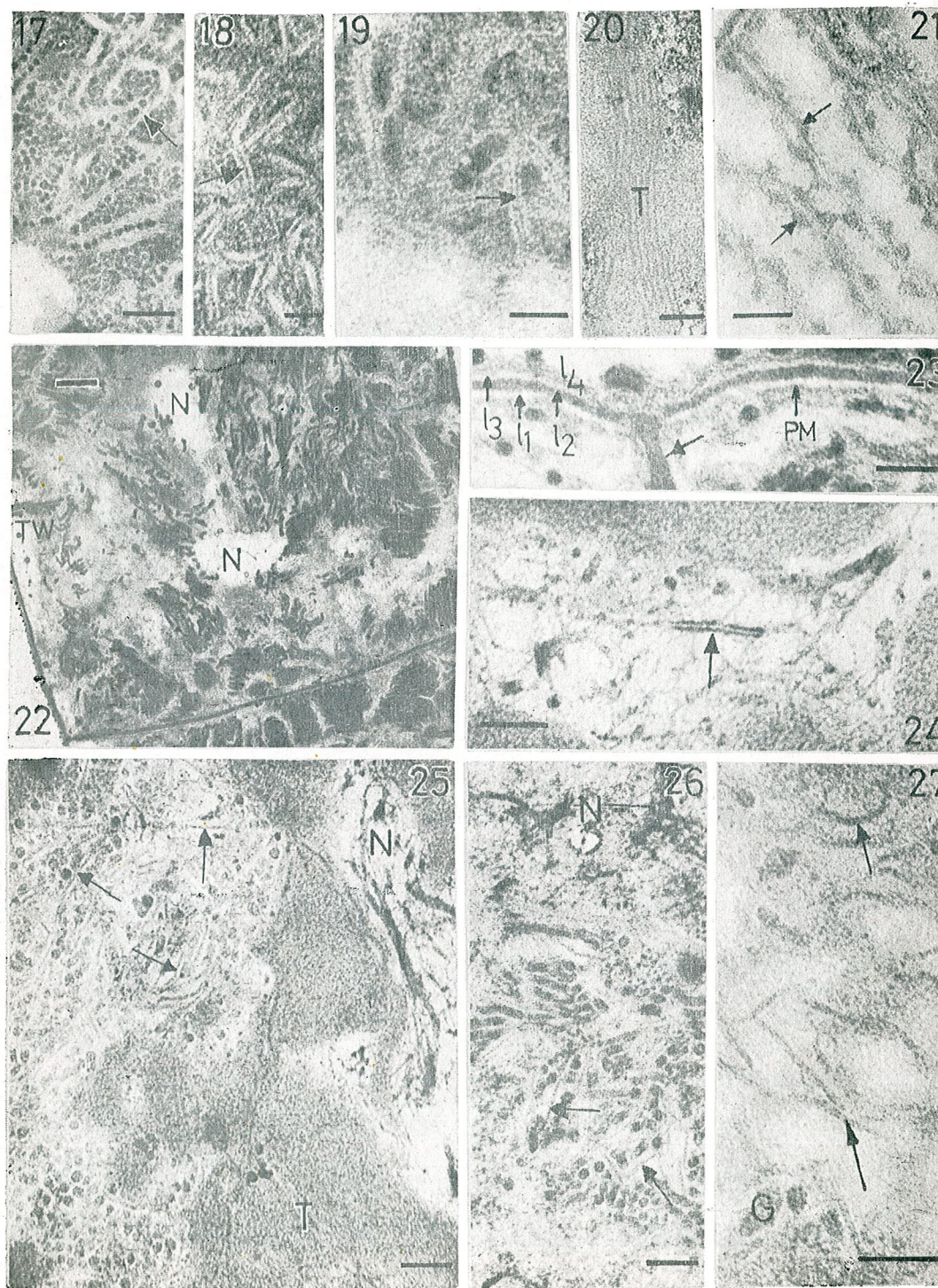
Fig. 12. — Cyanophycin granule (SG) with striated appearance.

Fig. 13. — Polyhedral body (C) with a fine granular texture.

Fig. 14. — Aggregate of polyglucoside-like rod inclusions ("botuli") in longitudinal section (arrows).

Fig. 15. — Cross section of the polyglucoside-like rod inclusion showing a paracrystalline pattern.

Fig. 16. — Glycogen-like particles (G) randomly disposed. The inset shows the substructure of particles at higher magnification.



other blue-green algae. We mention that the second category of polyglucoside inclusions never form aggregates similar to a paracrystalline network. Inclusions of intermediary sizes were noticed, looking like short rods, of 80 nm length and 25 nm width, but there is the possibility that they should result from degradative fragmentation of the first category of polyglucoside inclusions.

The photosynthetic apparatus is much regressed so that typical thylakoids with pycnobilisomes are never found. In some images only incipient stages of thylakoids differentiation can be seen, consisting of electron-transparent narrow areas of 25–30 nm (Figs. 17–18, arrows); they have a variable length and are mixed with polyglucoside inclusions. Such canaliculi are generally crossed by an electron-dense core of 50 Å, suggesting a thylakoid appearing as such only in the negative staining. An effect of negative staining of a pack of two thylakoids is noticed in figure 19; in this case the electron-transparent areas mentioned above are crossed by a canal looking like a unit membrane. Groups of two or more membranous formations closed together; they have a sinuous shape covering large electron-dense areas. This last type of membranes (Figs. 20, 25, T) is closer to the granal structure than the photosynthetic lamellar system endowed with pycnobilisomes (Fig. 21, arrows).

The lipid inclusions (Fig. 7, L) are more frequently in the peripheral regions of the cell.

Nucleoplasm occupies an important area in the hormogonial cells being situated in their central zone; a peripheral location of the nucleoplasm near the cross walls is also visible in our material suggesting a short time since the last division. A median longitudinal section through hormogonia reveals that there is no rigid delimitation of the nucleoplasm as compared to the rest of the cell content because some of the inclusions previously described and especially the polyhedral and polyphosphate bodies are mixed among DNA fibrils. Figure 24 represents a part of the nucleoplasm with numerous anastomosed fibrils, variable in thickness, the thin ones being up to 30 Å; the analysed area has a low density in general, the fibrillar elements having no connection with cytoplasmic inclusions. Sometimes isolated fibrils, homogeneous in length and thickness, are found in the neighbourhood of the typical nucleoplasmic regions, interspersed among numerous polyglucosidic inclusions (Figs. 25, 26, 27, arrows).

PLATE II (Figs. 17–27.)

Figs. 17, 18, 19. — Early stages of thylakoid differentiation (arrows).

Fig. 20. — Grana-like lamellar aggregate (T).

Fig. 21. — Typical thylakoids with pycnobilisomes (arrows) in the inoculum material with spiralized trichomes.

Fig. 22. — Early stage in cell division. Septum formation (TW) is accompanied by an equal distribution of the nucleoplasmic area (N) between future daughter cells.

Fig. 23. — Later stage in cell division. Note thickness of the cell layer L_2 in the septum. PM, cytoplasmic membrane.

Fig. 24. — Nucleoplasmic area with thin and thick anastomosed DNA-like fibrils. The arrow shows the splitting of thick DNA fibrils.

Figs. 25, 26. — Portion of the cytoplasm with zones of different density: N, typical nucleoplasmic regions with DNA anastomosed fibrils; isolated straight thin fibrils (arrows) interspersed among polyglucoside granules; areas with fine granular texture crossed by grana-like lamellae (T).

Fig. 27. — Fibrillar (short arrow) and membranous structures (long arrow) are regularly found in the vicinity of nucleoplasmic areas.

In spite of the fact that the nucleoplasm electron micrographs analysed on ultrasections are in a way irrelevant to obtain some data on the DNA-fibrils molecular structure, the aspects illustrated by figure 24 somewhat suggest the semiconservative DNA-replication.

The cell division is carried along the pattern met in other filamentous blue-green algae [7]. Figure 22 represents a portion from a longitudinal section through a hormogonium where it can be noticed that parallel with cross wall septum initiation (TW) an almost equal distribution of a nucleoplasmic region occurs among the cells resulting from division. The septum formation begins together with the symmetric invagination of cytoplasmic membrane and layers L_1 and L_2 ; in the first stages of this process, L_2 is synthesized differentially (Fig. 23, arrow), and at the end of division it has the same thickness as in the structure of outside external walls of mother cells. The layers L_3 and L_4 never appear in the structure of cross walls.

DISCUSSION

Our results on the hormogonial ultrastructure of *S. platensis* reveal the general conception regarding the dynamics of cell organelles according to the microorganisms stage of development [13], [22].

The diversity and abundance of cyanophycin and polyglucoside granules as well as the polyphosphate and polyhedral bodies reflect the capacity of hormogonial cells to store in the respective inclusions mineral elements and enzymes necessary to begin a new cycle of development. The conclusion also results from a series of previous investigations regarding the structure and chemical composition of the above mentioned inclusions. So, as regards the cyanophycin granules [12] or structured granules [10] it was demonstrated that in *Anabaena cylindrica* they consist of polypeptides with a large molecular weight [29] and are more abundant in the stationary stage; when an old culture is diluted and the growth begins again, the structured granules are lesser and lesser proving that these inclusions represent a nitrogen source used in the construction of new cell organelles [30]. The polyhedral bodies [27], [28], [31], [9] contain ribulose-1,5-diphosphate carboxylase and they have higher frequency in the growth lag phase and the post-exponential phase of the culture [32]. Modifications of structure and frequency in polyphosphate bodies were previously described in other blue-green algae [18], [19], [32]. These literature data regarding the higher frequency of cell inclusions in the phases with halt in the culture growth can be correlated with our present observations in *S. platensis* where the hormogonia represent in a way a latent and a transition stage at the same time either to a normal development of the spiralized trichomes or to a degenerative process in unfavourable conditions of growth. Stewart and coll. [32] mention that the nitrogen and phosphorus as well as the key Calvin cycle enzyme located in the cellular inclusions may play an important role in maintaining the growth of blue-green algae when the nutrients are limited and in the accumulation of nutrients when they are available.

Some commentaries can be made in connection with the rod inclusions (Fig. 14) and ellipsoidal granules similar with glycogen (Fig. 16, G), whose frequency is quite high in *S. platensis*. Mention should be made first that these inclusions of a polyglucoside nature were previously found in numerous blue-green algae, [26], [37], [31], being first called α -granules. Giesy [14] is the first who, using tests of ultrastructural cytochemistry in *Oscillatoria chalybia*, establishes the polyglucoside nature of these inclusions and that "they vary in number and size with available nitrogen, light intensity and age of culture"... considering them as food reserves; the glycogen granules, of 65 nm length and 31 nm width, were further pointed out by means of differential centrifugation of the homogenates of *Nostoc muscorum* [8], *Synechococcus* sp. [11] and in ultrasections in *Aphanizomenon flos-aquae* [36], a.o. By improved cytochemical methods [33], other authors [3], [4] detect, in free and lichenized forms of *Nostoc*, polyglucoside particles under the shape of short rods of 79 nm length and 21 nm width, made up of subunits of 40 Å, with random disposition, with the mention that these inclusions are more abundant in young gonidia and disappear under the conditions of a long period of darkness.

We mentioned for the first time in ultrasections of *S. platensis*, stained with uranyl acetate and lead citrate, ellipsoidal inclusions of 60 nm length and 25 nm width, with a structure similar to that of glycogen particles in the above mentioned blue-green algae. The analysis of some data in literature shows that the polyglucoside granules are less visible in the cells of spiralized trichomes in *Spirulina major* [16] and *Spirulina* strain 6313 [2]; it suggests that a conclusion regarding the absence or presence of some inclusions can be formulated only when the various phases of culture growth are analysed. On the other hand, in *Anabaena cylindrica*, *A. flos-aquae* and *Microcystis* the polyglucoside bodies are more difficult to be observed all stages of culture growth without using methods of ultrastructural cytochemistry [32].

An interesting aspect in our material is offered by polyglucoside-like inclusions of a rod shape, as long as 100–400 nm, displayed on a paracrystalline pattern. This type of inclusions is noticed in few species of blue-green algae grouped in the family *Oscillatoriaceae*. Jost [20] remarks that in *Oscillatoria chalybia* the inclusions in a rod shape (botuli) are very numerous in the hormogonial cells, a fact also confirmed by our investigations.

Summarizing the data obtained by us it results that in *S. platensis* some hormogonia are made of cells where the polyglucoside structures are similar with the glycogen particles and other hormogonia contain inclusions in a rod shape. It would be interesting to elucidate if this heterogeneity of morphological forms is reflected in the polyglucoside composition at a molecular level. Part of these investigation aspects will be the object of some of our further papers in collaboration.

At last some speculations regarding the participation of polyglucoside inclusions met by us in the hormogonial cells in the differentiation of some cell organelles, such as thylakoids generally found at plenty in mature trichomes [20], [6]. Up to now only in *Anabaena* sp. [22] a membranous network was noticed in a crystalline form of a prolamellar body. The tubular aspects of polyglucoside inclusions come to support

our hypothesis formulated above regarding the possible transformation of some of these inclusions into thylakoids. Part of the proteins resulted from the disintegration of cyanophycin granules, polyhedral bodies as well as the lipids from plastoglobuli are going to participate in this process of complete differentiation of thylakoids. It would be the case of general pattern of membrane biogenesis and, consequently, the complex analysis of the respective phenomenon may reveal new peculiarities of the cell biology in blue-green algae.

This work is dedicated with affection and gratitude to Prof. Dr. I. T. Tarnavski at his 76th anniversary.

REFERENCES

1. ALLEN M. M., J. Bacteriol., 1968, **96**, 842-852.
2. ALLEN M. M., Arch. Mikrobiol., 1972, **94**, 199-206.
3. BOISSIÈRE M. C., C. R. Acad. Sc., Paris, sér. D, 1972, **274**, 2643-2646.
4. BOISSIÈRE M. C., Rev. Cyt. Biol. végét., 1976, **39**, 139-177.
5. BOURDU R., LEFORT M., C. R. Acad. Sc., sér. D 1967, **265**, 37-40.
6. CHANG H. Y. Y., ALLEN M. M., J. gen. Microbiol., 1974, **81**, 121-130.
7. CARR N. G., WHITTON B. A., eds., *The biology of blue-green algae*, 1973, 686 pp., Blackwell, Oxford.
8. CHAO L., BOWEN C. C., J. Bacteriol., 1971, **105**, 331-338.
9. CODD G. A., STEWART W. D. P., Planta (Berl.), 1976, **130**, 323-326.
10. DREW G., NIKLOWITZ W., Arch. Mikrobiol., 1956, **24**, 147-162.
11. EIZERLING F. A., GLAZER A. N., J. Ultrastruct. Res., 1974, **47**, 16-25.
12. FOGG G. E., Ann. Bot., N. S., 1951, **15**, 23-25.
13. FOGG G. E., STEWART W. D. P., FAX P., WALSBY, A. E., *The blue-green algae*, 1973, 459 pp., Academic Press, London.
14. GIESY R. M., Amer. J. Bot., 1964, **51**, 388-395.
15. GROMOV B. V., *Ultrastruktura sinezeliionnyh vodoroślei*, 1976, Nauka, Moscow.
16. HOLMGREN P. R., HOLSTETTER H. P., SCHOLES V. E., J. Phycol., 1971, **7**, 309-311.
17. HALFEN L. N., CASTENHOLZ R. W., J. Phycol., 1971, **7**, 133-145.
18. JENSEN T. E., Arch. Mikrobiol., 1969, **67**, 328-333.
19. JENSEN T. E., SICKO L. M., Canad. J. Microbiol., 1974, **20**, 1235-1239.
20. JOST M., Arch. Mikrobiol., 1965, **50**, 211-245.
21. LAMONT H. C., J. Bacteriol., 1969, **97**, 350-361.
22. LANG N. J., RAE P. M. M., Protoplasma, 1967, **64**, 67-74.
23. PANKRATZ H. S., BOWEN C. C., Amer. J. Bot., 1963, **50**, 387-399.
24. PESHKOFF M. A., SHADRINA M., Mikrobiologiya, 1977, **47**, 486-499.
25. REYNOLDS E. S., J. Cell. Biol., 1963, **17**, 208.
26. RIS H., SINGH R. N., J. Biophys. Biochem. Cytol., 1961, **9**, 63-80.
27. SHIVELY J. M., BALL F. L., BROWN D. H., SAUNDERS R. E., Science, 1973, **182**, 584-586.
28. SHIVELY J. M., BALL F. L., KLINE B. W., J. Bacteriol., 1973, **116**, 1405-1411.
29. SIMON R. D., Proc. Natn. Acad. Sci., U. S. A., 1971, **68**, 265-267.
30. SIMON R. D., Arch. Mikrobiol., 1973, **92**, 115-122.
31. STEWART W. D. P., CODD G. A., Br. Phycol. J., 1975, **10**, 172-178.
32. STEWART W. D. P., PEMBLE M., AL-UGAILY L., Mitt. Internat. Verein. Limnol., 1978, **21**, 224-247.
33. THIERY J. P., Microscopie, 1967, **6**, 987-1018.
34. THOMAS J. C., C. R. Acad. Sc., Paris, Sér. D, 1972, **274**, 2485-88.
35. TIȚU H., PARASCHIV M., SĂLĂGEANU V., Rev. Roum. Biol.-Biol. Vég., 1977, **22**, 85-89.
36. WILDMAN R. B., BOWEN C. C., J. Bacteriol., 1974, **117**, 886-881.
37. WILDON D. C., MERCER F. V., Aust. J. Biol. Sci., 1963, **16**, 585-596.
38. ZARROUK C., 1966. *Contribution à l'étude d'un Cyanophycée. Influences de divers facteurs physiques et chimiques sur croissance et la photosynthèse Spirulina maxima*. Thèse de doctorat des Sciences appliquées, Paris.

Received April 22, 1980

Institute of Biological Sciences,
Department of Cell Biology and
Plant Photobiology,
Bucharest, Splaiul Independenței 296

THE INFLUENCE OF THE TREATMENT WITH ALKYLATING AGENTS ON *PAPAVER SOMNIFERUM* L., IN M_1 .

BY

FL. GH. FLORIA, G. I. GHIORGHITĂ

The treatments of *Papaver somniferum* L. seeds with alkylating agents (EMS, DES, DMS, MNNG) increased the frequency of the chromosome aberrations and induced negative effects on seed germination, plant growth and survival. The treatments increased the transpiration, water deficit and water consumption of plants. The soluble sugars and nitrogen contents were more reduced than those of the control. DMS induced more significant seedling injuries than the DES, MNNG and EMS treatments.

From the category of mutagenic chemical substances, the most comprising and utilized group in the researches on higher plants is represented by alkylating agents. Their mutagenic capacity consists in transferring the alkyl radical to the genetic material. This leads to the appearance of errors in the replicative biosynthesis of DNA as an effect of modifying the genetic code [1], [9], [13], [17].

To deepen our knowledge of how the alkylating agents influence plants we take for granted the fact that the widening of the investigation area on physiological and biochemical processes brings about more information. This could contribute to a more thorough foundation of some hypotheses regarding the action of this category of chemical mutagens.

Thus, besides registering the cytogenetic effects induced by mutagens on *Papaver somniferum*, we made investigations at the level of some physiological and biochemical processes, too.

MATERIAL AND METHODS

In our investigations we have used *Papaver somniferum* seeds, Cluj-A variety. Six hours treatments have been undertaken at a temperature of 20 to 22°C with water solutions of ethymethansulphonate (EMS), diethyl sulphate (DES) and dimethyl sulphate (DMS) at the concentrations of 0.01-0.05 and 0.20 percent and N-methyl-N-nitroso-N'-nitro-guanidine (MNNG) at concentrations of 0.625-1.25-2.50-5.00 and 10.0 mg%. After treatment, the seeds have been washed in water for 15 minutes.

For the cytogenetic test, the seeds were germinated on filter paper in Petri dishes and the plants were grown in small boxes with earth that

REV. ROUM. BIOL. - BIOL. VÉGÉT., TOME 25, N° 2, P. 151-155, BUCAREST, 1980

were kept in a climatized room (temperature 23–25°C; relative humidity of the air — 75–80% and light intensity — 5000 lux, continuous illumination). For cytogenetic analyses the Feulgen method and the "squash" technique were used. There were registered anaphases and telophases with fragments, bridges, bridges and fragments, retardatory chromosomes, disorganized anaphases and micro-nuclei in root meristem mitosis.

The rhythm of plants growth, survival, the behaviour of some indices of hydric regime, of carbohydrate and protein metabolism were tested on 30-day-old plants. The methods used to determine the physiological and biochemical indices were presented in another paper [3].

RESULTS AND DISCUSSIONS

One of the basic criteria to appreciate the biological effects induced by the alkylating agents is represented by the registering of the injuries at the chromosome level. The extension of biochemical changes in plants treated with chemical mutagens noticed in phenotypic changes depends on the size of the altered zone, on the type of injuries, on the part played by the segment of the affected chromosome in the genetic determinism of different characters, on cell recovering processes, etc.

Analysing the data in Table 1 one can notice that the frequency of chromosome aberrations increases with the concentration growth of the 4 mutagens tested. A similar relationship has been obtained by other authors too after having used alkylating agents on higher plants [2], [14], [19]. The decreasing order of the effectiveness of inducing chromosome aberrations is EMS, then DES, DMS and MNNG.

No doubt that one of the most frequently used means to appreciate the effects of some mutagenic agents is plant growth. Any disturbance that appears in the behaviour of some physiological and biochemical processes has repercussions on the processes of seed germination, on growth and on the survival capacity of plants.

The percentage of germination with poppy seeds was reduced along with the growth of mutagens concentration. DMS disturbs the germination processes more than DMS and especially EMS. The mutagenic action caused by DES and DMS sided with the toxic effects caused by the acid products resulted from the hydrolysis of the two mutagens, which takes place at a much higher speed than in the case of EMS [5], [11].

With few exceptions, an inhibition of the plant growth processes can be noticed, namely that their size is reduced along with the growth of mutagen concentration. The depressive effects induced by DMS and DES are more obvious than in the case of EMS (MNNG being intermediary). When analysing the table, one can also notice that the survival of the treated plants was reduced, as compared to the control, being dependent on the same factors as in the previous parameter, the variation being alike.

The test concerning the degree of survival of poppy plants shows the persistency and the aggravation of some injuries induced by mutagens in the period of ontogenetic development of plants. The results obtained confirm the data given in scientific literature, data concerning the beha-

Table 1
The effects of 6 hours treatments with EMS, DES, DMS and MNNG in *Papaver somniferum* L.

Variant	A + T analysed	A + T aberrants $\bar{x} \pm s\%$	Germination %	Survival %	Height of plants (in mm) $\bar{x} \pm s\bar{x}$	Transpiration intensity (mg/g fr.s./1 min)	Hydric content (% fr. s. res. at sat.)	Hydric shortage (% tot. water res.)	Water losses (% tot. water res.)	Red. sugars % d.s.	Total sugars % d.s.	Free amino-acids % d.s.	Total nitrogen % d.s.
Control	1733	7.56 0.01	88	77.05	61.54 1.54	8.31	92.55	9.55	72.58	4.77	22.26	1.71	6.22
0.01% - EMS	1810	11.90 0.02	90	76.35	80.43 1.45	8.05	93.65	8.31	73.30	4.20	16.62	1.19	5.56
0.05% - "	1778	16.31 0.02	88	72.19	69.17 1.13	—	—	—	—	2.60	17.34	1.28	5.40
0.10% - "	1613	19.52 0.02	83	62.11	62.10 1.44	8.01	90.66	10.84	76.67	4.57	17.41	1.75	5.11
0.20% - "	1699	19.94 0.02	87	64.11	34.86 0.88	9.37	91.05	11.76	75.77	3.62	12.36	1.05	4.08
0.01% - DES	1605	12.44 0.02	92	74.11	59.16 1.51	9.03	92.87	9.32	68.89	3.77	11.86	1.93	3.78
0.05% - "	1892	13.63 0.02	89	78.58	56.55 1.09	—	—	—	—	3.33	12.22	1.38	3.60
0.10% - "	1667	17.14 0.02	83	60.66	51.42 1.41	8.41	93.03	9.78	77.87	4.38	9.49	1.34	3.69
0.20% - "	1410	18.45 0.03	78	57.76	47.94 1.21	8.84	89.19	11.74	79.19	4.26	8.13	1.98	3.43
0.01% - DMS	1686	10.24 0.02	82	38.35	40.05 1.42	8.62	92.33	14.42	71.77	4.47	9.54	1.88	3.49
0.05% - "	1569	14.11 0.02	51	11.88	29.45 1.05	—	—	—	—	3.71	8.21	1.46	2.96
0.10% - "	1732	14.18 0.02	18	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.20% - "	1610	18.24 0.02	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.62 mg% MNNG	1735	9.77 0.02	86	71.88	68.54 1.45	9.41	93.58	7.61	70.05	3.46	15.24	1.67	4.64
1.25 mg% "	1789	8.73 0.02	83	76.11	67.24 0.93	8.93	91.89	11.26	76.59	4.16	8.43	1.35	4.62
2.50 mg% "	1613	13.13 0.02	81	66.82	58.28 1.27	8.34	93.78	9.96	69.58	3.29	9.48	1.24	4.50
5.00 mg% "	1703	15.65 0.02	82	59.76	54.10 1.25	9.18	90.98	9.78	72.09	4.13	8.37	1.38	4.00
10.00 mg% "	1515	16.21 0.02	80	51.88	56.52 1.15	8.51	90.04	12.29	74.34	2.71	8.48	1.77	4.02

Abbreviations: A = anaphases; T = telophases; EMS = ethyl methanesulphonate; DES = diethyl sulphate; DMS = dimethyl sulphate; MNNG = N-methyl-N-nitroso-N'-nitroguanidine.

viour of the 3 parameters analysed when treated with the same mutagens [4], [6], [7], [8], [10], [12], [15], [16].

The treatment with alkylating mutagens also caused changes in water behaviour of plants. If the intensity of transpiration and water content of plants show reduced oscillations at the treatments applied, the water shortage and the water retaining power of the tissues present evident changes. With a few exceptions the water retaining power of plasmatic biocolloids is reduced which leads to an increasing water shortage of plants. It seems that even the water absorption of roots is influenced, as the water losses through transpiration cannot be retrieved.

The content of soluble sugars suffered important reductions with respect to the control, reductions that become more obvious by increasing the concentration of mutagens. The same relation was obvious for plant growth, too. This suggests the appearance of profound disturbances in the synthesis processes of treated plants. It is quite possible that the applied treatments could have inhibited even the synthesis of assimilatory pigments or could have determined changes in their ratio thus modifying their share in converting the light energy into chemical one.

A behaviour similar to that of sugars had also the content of total nitrogen in the treated plants. As in the case of sugars, the most severe disturbances of the nitrogen metabolism were induced by DMS, and then, in decreasing order, by DES, MNNG and EMS. The content of free amino acids slightly oscillated in both directions as compared to the control. Therefore, the alkylating agents affected to a great extent the nitrogen metabolism, too. The behaviour of carbohydrate and nitrogen metabolism as well as of the hydric regime in the treatment with alkylating mutagens supposes quantitative and qualitative enzyme changes.

CONCLUSIONS

1. The frequency of chromosome aberrations induced by EMS, DES, DMS and MNNG into *Papaver somniferum* L. increased with the concentration of mutagen solution.
2. The treatment with alkylating agents reduced the percentage of seed germination and survival of plants as well as the rhythm of plant growth.
3. The tested alkylating agents caused important disturbances in water behaviour, sugar and nitrogen metabolism of plants.
4. DMS caused a greater functional deficit to the poppy plants as compared to DES, MNNG and especially EMS.
5. Generally, the depressive effects induced by alkylating agents on poppy plants grew along with the concentrations of mutagens.

REFERENCES

1. AUERBACH CH., *Science*, 1967, **158**, 3805, 1141—1147.
2. AVETISOV V. A., S. A. VALEVA, *Genetika*, 1975, **11**, 3, 12—20.
3. FLORIA FL., *Studiu comparativ asupra comportării unor specii de plante superioare la tratamentul cu agenți mutageni chimici alkilanți*. Teză de doctorat, Univ. „Al. I. Cuza” — Iași, 1979.

4. FOWLER D. B., B. R. STEFANSSON, 1972 *Can. J. Plant Sci.*, **52**, 53—62.
5. FROESE-GERTZEN E. E., C. F. KONZAK, R. FOSTER, R. A. NILAN, *Nature*, 1963, **198**, 4879, 447—448.
6. GAUL H., K. AASTVEIT, *Contemp. Agric.*, 1966, **11—12**, 263—276.
7. GICHNER H., H. GAUL, *Radiat. Bot.*, 1971, **11**, 53—58.
8. HACIATRIAN N. K., G. G. BATIKIAN, *Biol. J. Armenii*, 1974, **27**, 9, 38—43.
9. HESLOT H., *The use of induced mutations in plant breeding*, Pergamon Press, 1964, 3—45.
10. KONDRATENKO L. M., *Genetika*, 1975, **11**, 7, 34—39.
11. KONZAK C. F., R. A. NILAN, E. E. FROESE-GERTZEN, R. J. FOSTER, *Induction mutations and the mutation process*, 1965, 1—9.
12. KONZAK C. F., M. NIKNEJAO, I. WICKHAM, E. DONALDSON, *Mutation Res.*, 1975 **30**, 55—62.
13. LAWLEY P. D., P. BROOKES, *Nature*, 1961, **192**, 1081—1085.
14. MEHRA P. N., S. K. MANN, *The Nucleus*, 1974, **17**, 3, 167—182.
15. MIKAELSEN K., G. AHNSTRÖM, W. C. LI, *Hereditas*, 1968, **59**, 353—374.
16. PRASAD M. V. R., R. KRISHNASWAMI, M. S. SWAMINATHAN, *Curr. Sci.*, 1967, **36**, 16, 438—439.
17. SINGER, B., *Progr. Nucl. Acid Res. Molec. Biol.*, 1975, **15**, 219—232.
18. SRIVASTAVA L. S., C. HIRA, SUDHIR K., *Sci. Cult.*, 1973, **39**, 8, 345—347.
19. ŞAMAEVA N. N., K. P. GARINA, 1975, *Genetika*, **11**, 9, 15—21.

Received October 5, 1979

“Stejarul” Research Station,
56 48 — Pingăraşi, Neamţ

SOME ELECTRONMICROSCOPICAL ASPECTS OF HOP VIRUSES DETECTED IN ROMANIAN HOP PLANTATION

BY

AL. MACOVEI

In this paper some data in connection with different hop viruses are presented. Based on electronmicroscopical investigations the author describes some morphological features of the following hop viruses: Hop Mosaic Virus, Necrotic Ring Spot Virus, V-246 Hop Virus, Cucumber Mosaic Virus.

The hop (*Humulus lupulus* L.), dioecious plant, member of the *Cannabaceae* family, is cultivated for the female inflorescences (cones), which are used in brewing, where they impart both bitterness and flavour to the beer.

Among the different pathogen groups which produce diseases in hop plants, a great importance present the viruses, investigated in many countries as well as in Romania [4]. Romanian researches on the biology of hop viruses [4], [5], included electron microscopy studies too the results being presented briefly in this paper.

MATERIAL AND METHODS

Different naturally infected hop plants, from Sighisoara and Cluj hop plot farms, were used as virus sources. The virus identifications were made by mechanical inoculations on various herbaceous hosts as well as by cyp budding on *Petham Golding*, *Early Prolific* and *KAV* hop indicators.

For electron microscopy studies, the viruses were purified by differential ultracentrifugation [9] from experimentally inoculated test plants, negative stained by uranyl acetate 1% and examined at TESLA BS-500 electron microscope.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The electron microscopy of hop viruses emphasized some characteristic features for these pathogens.

HOP MOSAIC VIRUS

It is a latent virus which infects all the commercial growers from Romanian hop plantations: *Northern Brewer*, *Brewer's Gold*, *Hüller Bitterer* and *Record* [4]. It can be detected only by indexing on *Petham Golding* hop variety and *Nicotiana clevelandii*, test plant which has a specific reaction (Fig. 2).

The electron microscopy of a purified virus shows the flexuous rod particles of 650 nm length (Fig. 1), and at high resolutions even the structure of protein subunits (Fig. 1a).

In ultrathin sections of infected leaves of *Nicotiana clevelandii*, the numerous virus particles appear intracytoplasmically located only in those places corresponding to green-yellow areas of infected leaves (Fig. 1b).

PRUNUS NECROTIC RING SPOT VIRUS

Reported in hop by Friedlund (1959) and later by Bock (1966), this virus was found by us too, in hop plants which manifest different kinds of symptoms: necrotic crinkle mosaic, necrotic spot or rings and line pattern mosaic. Hop strain of Prunus necrotic ring spot virus has two serotypes: A and C, and can be identified by indexing on *Cucumis sativus*, *Phaseolus vulgaris* and *Momordica balsamina* [2]. By our investigations this virus was found in *Northern Brewer*, *Brewer's Gold*, *Sighişorean*, *Popperinge*, *Early Cluster*, *Prince of Kent*, *Belgian* and *Sunshine* hop varieties [4], [5].

The virus, purified from *Cucumis sativus* (Fig. 3), presents spherical particles of 28–30 nm (Fig. 4).

V-246 HOP VIRUS

Detected for the first time by us in the Romanian hop hybrid K/31/71, it has as a characteristic feature the property to induce local necrotic lesions in all the herbaceous host plants infected as well as in the hop indicators [6], [7]. The best test plant for its identification is *Ocimum basilicum*, which reacts by specific black ring spot symptoms (Fig. 5).

This unusual hop virus has polyhedral outline particles of 32–34 nm (Fig. 6) which, at high resolution and magnification, shows a specific surface structure.

1. — Hop Mosaic Virus particles purified from *Nicotiana clevelandii*.

a — Same particles photographed in electron microscope at high resolution and magnification.

b — Hop Mosaic Virus particles (V) seen in ultrathin sections through *Nicotiana clevelandii* leaves.

2. — *Nicotiana clevelandii* experimentally infected with Hop Mosaic Virus, and the source of virus for purification and ultrathin sections.

3. *Cucumis sativus*, experimentally infected with hop strain of Prunus Necrotic Ring Spot Virus.

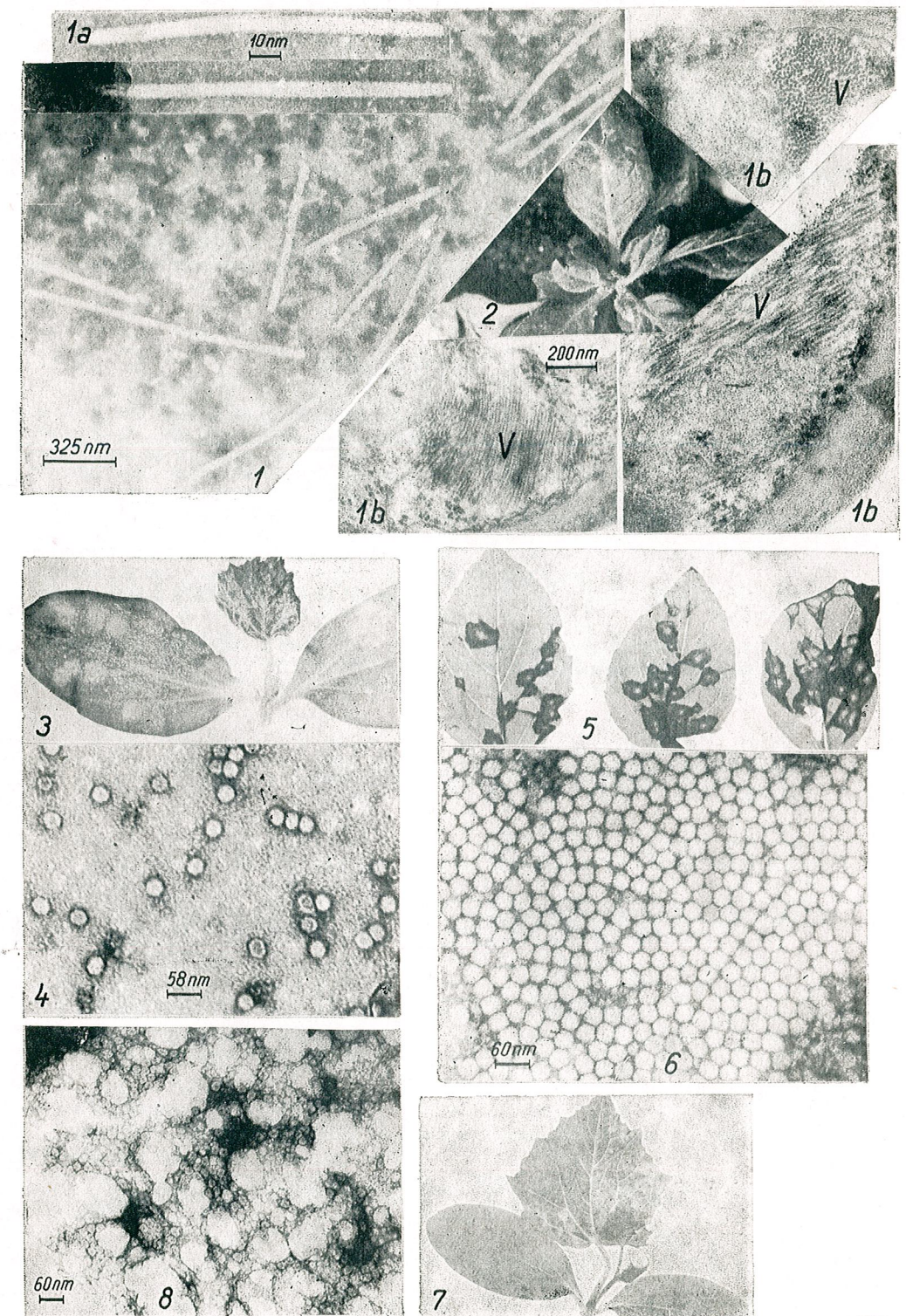
4. Electronmicroscopical aspect of Necrotic Ring Spot Virus, detected in different hop varieties.

5. Specific black ring spot symptoms on *Ocimum basilicum*, experimentally infected with V-246 Hop Virus.

6. Polyhedral particles of V-246 Hop Virus, isolated from K/31/71 hop hybrid and purified from *Nicotiana megalosiphon*.

7. Systemic infection on *Cucumis sativus* induced by Cucumber Mosaic Virus, detected in *Hüller Bitterer* hop variety.

8. Cucumber Mosaic Virus particles purified from *Cucumis sativus*.



CUCUMBER MOSAIC VIRUS

Although the presence of this virus was reported in *Humulus scandens* earlier [8], we found it in *Humulus lupulus* (commercial variety *Hüller Bitterer*), which manifests distortions and chlorotic spots on leaves. The virus particles, purified from *Cucumis sativus* (Fig. 7), have polyhedral outline of 30 nm in diameter (Fig. 8).

Our investigations on the hop viruses point out that the best important and dangerous viruses are Hop Mosaic Virus and Necrotic Ring Spot Virus for the control of which it is necessary to take special measures.

REFERENCES

1. BOCK, K. R., Ann. Appl. Biol., 1966, **57**, 131-140.
2. BOCK, K. R., Ann. Appl. Biol., 1967, **59**, 437-446.
3. FRIEDLUND, D. P., Plant Dis. Repr., 1959, **43**, 594.
4. MACOVEI, AL., Arch. Phytopath. Pflanzenschutz., 1976, **12**, 75-86.
5. MACOVEI, AL., Anal. ICPP, 1977, **XII**, 47-52.
6. MACOVEI, AL., PERSECA ELENA, *Al doilea simpozion: Cultura hameiului in România*, Cluj-Napoca, 1978, 127-131.
7. MACOVEI, AL., Anal. ICPP, 1980, **XV**, 10-14.
8. SCHMIDT, H. E., KARL, E., Phytopath. Z., 1968, **62**, 272-278.
9. STEERE, R. L., Phytopath., 1956, **46**, 60-69.

Received September 10, 1979

Research Institute for Plant Protection
Bucharest, Bd. Ion Ionescu de la Brad, 8

ETUDE TAXONOMIQUE ET ÉCOLOGIQUE DE CERTAINS MICROORGANISMES SPÉCIFIQUES DE LA POLLUTION DE LA RIVIÈRE DE CRIȘUL REPEDE DANS LA ZONE D'ORADEA

PAR

EMILIA NESTORESCU

L'analyse microbiologique effectuée sur une série de prélèvements récoltés des eaux de la rivière de Crișul Repede dans trois périodes différentes (mars, juin, septembre), a révélé une importante fluctuation qualitative et quantitative de la microbiocénose, représentée surtout par les bactéries hétérotrophes et les champignons du groupe des *Saprolegniaceae*, ce dernier connu pour sa périodicité liée à la nature et à la quantité du substrat nutritif, à la température et à la luminosité du milieu.

Il n'y a pas longtemps, dans le monde entier, le domaine de la microbiologie des eaux courantes était complètement négligé, ce qui se reflète dans le nombre extrêmement réduit de ce genre de travaux.

La pollution croissante des rivières a attiré l'attention sur les implications pratiques et théoriques que relève la connaissance des microbiocénoses aquatiques.

Celles-ci présentent plusieurs aspects :

- Les microorganismes en tant que polluants (surtout ceux pathogènes) des rivières utilisées comme source d'eau potable ou de récréation.
- Les microorganismes comme consommateurs intensifs de O_2 , ayant des conséquences sur les processus d'autoépuration des rivières.
- Les microorganismes en tant qu'indicateurs du degré et, en une certaine mesure, de la nature de la source de la pollution.

Dans l'ouvrage que nous présentons nous nous référerons à ce dernier aspect.

Une rivière représente un biotope complexe dans lequel les facteurs chimiques influent dans la plus grande mesure sur la composition et sur le développement de la biocénose respective et inversement.

Cette influence réciproque se manifeste, entre autres, par trois propriétés importantes des eaux courantes, à savoir.

- La périodicité (diurne ou annuelle) des propriétés chimiques de l'eau
- L'autoépuration
- L'eutrophisation ou pollution secondaire (K. Wuhrmann — 1952).

La périodicité du chimisme de l'eau est due, d'une part, au débit non uniforme des impuretés et d'autre part à l'activité métabolique de la biocénose.

Pendant la journée, par suite de l'activité photosynthétisante des organismes autotrophes, se produit une augmentation de l'oxygène dans l'eau parallèlement à la diminution de la teneur en acide carbonique et en ions bicarbonates.

Par conséquent le pH de l'eau s'accroît. Au contraire au cours de la nuit, par la respiration de tous les organismes de l'écosystème, l'oxygène est consommé et le CO₂ est éliminé.

La périodicité diurne de ces variations chimiques est d'autant plus importante que le parti autotrophe de la biocénose est plus développée et que l'eau contient moins de substances organiques.

Dans les eaux aux polluants organiques, les organismes autotrophes sont remplacés presque entièrement par les organismes hétérotrophes. En ce cas, les variations dont nous avons parlé sont, elles aussi, différentes, impliquant la consommation de O₂ et l'élimination de CO₂, quelles que soient les conditions de luminosité.

Le développement des organismes hétérotrophes dans les eaux polysaprobies est considérablement plus grand que celui des organismes autotrophes dans les eaux pures.

Ils jouent le rôle principal dans les processus d'autoépuration.

Pourtant, il y a extrêmement peu de données concernant les types de microorganismes impliqués, le nombre et l'intensité de leur métabolisme. En grandes lignes on peut les diviser en deux catégories :

- Microorganismes qui vivent libres dans la masse de l'eau (planctoniques).
- Microorganismes fixés à la surface des macrophytes, des algues ou des animaux aquatiques, ainsi que à celle des particules minérales ou des restes organiques, charriés par les eaux et qui constituent la plupart de la micropopulation d'une rivière.

La première catégorie représente moins de 1% du nombre total (on rencontre des valeurs plus élevées dans les eaux polluées) et par conséquent les principales fonctions sont réalisées par les microorganismes fixes (Geesey G. G.—1977).

La microflore des eaux est, dans la plus grande proportion, allochtone, provenant du sol ou des restes organiques qui arrivent dans les eaux et au dépens desquels ils se développent abondamment jusqu'à ce qu'ils épuisent le substrat. Si les eaux sont polluées avec certaines substances chimiques, on constate l'apparition, à un moment donné, d'une population dense de microorganismes spécialisés dans la dégradation du substrat respectif et qui agissent comme facteur de sélection pour les espèces qui l'utilisent à priorité.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les analyses ont été effectuées sur des échantillons récoltés de la masse de l'eau et de dépôts fixés sur des pierres, sur de grosses pierres ou des restes végétaux de la zone des berges, dans quatre endroits dont l'un en amont d'Oradea — noté par nous du chiffre I pour les échantillons de

l'eau et par 1' pour ceux récoltés sur les pierres — et trois en aval d'Oradea — notés par les chiffres 2, 3 et respectivement 4 pour l'eau et 2', 3', 4' pour les dépôts sur les pierres.

On a effectué trois séries de prélèvements aux dates suivantes : 23 mars, 8 juin et 10 septembre.

Les échantillons ont été immédiatement analysés sur des préparations fraîches, de même que sur des frottis colorés par la méthode Gram.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

A la suite des observations macroscopiques et surtout des examens microscopiques sur les échantillons analysés on a pu faire des appréciations qualitatives et mettre en évidence comme prédominants les types suivants de microorganismes :

LES ÉCHANTILLONS DU 23 MARS

Tous les échantillons de cette série, à l'exception de l'échantillon n°1 et dans une certaine mesure de l'échantillon n°2, voire même après un sommaire examen macroscopique, se sont révélés fortement impurifiés, présentant divers suspensions et fragments végétaux, des développements massifs de microorganismes, ainsi qu'une prononcée odeur fécaloïde.

Les examens microscopiques ont mis en évidence :

Echantillon n°1 : de rares cyanobactéries du genre *Phormidium* et de rares diatomées : *Diatoma* et *Achnanthes*.

Echantillon n°2 : d'extrêmement rares bactéries libres, mobiles, nonsporillées, Gram négatives. Cyanobactéries des genres *Lyngbya* et *Phormidium*. De fréquents protozoaires : *Euglena*, *Paramoecium bursaria*.

Echantillon n°3 : de nombreux et variés types de bactéries Gram négatives et Gram positives. Fréquemment *Zoogloea ramigera*, *Spirillum* sp., *Beggiatoa* sp. ainsi que des bactéries filamenteuses, autres que *Sphaerotilus*. Cet échantillon est caractérisé par un grand nombre de champignons microscopiques des genres *Achlya* (*Saprolegniaceae*) *Fusarium* et *Mucor racemosus*, formant de grandes masses globuleuses, fixées sur divers supports ou flottant librement dans la masse de l'eau.

Dans le réseau formé par les hyphes entremêlées on observe de nombreux organismes : bactéries, algues, protozoaires, rotifères, représentés par des types indicateurs d'eaux polysaprobies.

Echantillon n°4 : de même qu'à l'échantillon n°3.

LES ÉCHANTILLONS DU 8 JUIN

Comme aspect microscopique, les échantillons d'eau et les dépôts récoltés à cette date se sont présentés incomparablement plus purs que ceux de mars, c'est-à-dire : ceux de l'eau (n°1, 2, 3, 4) clairs, avec un dépôt fin sablonneux au fond des récipients où ils ont été récoltés. Les dépôts réduits comme dimensions et variété d'organismes.

A l'examen microscopique se sont révélés :

Echantillon n° 1 : de rares bactéries photosynthétisantes vertes (*Chlorobacteriaceae*), de même que de très rares diatomées : *Navicula*, *Cymbella*.

Echantillon n° 2 : de très rares bactéries libres, mobiles, certaines spirales. Diatomées : *Diatoma*, *Cymbella*, *Navicula*, *Pinnularia*, *Synedra ulna*. De rares petits flocons, bruns, formés par les hyphes des champignons du genre *Achlya*, parmi lesquels on rencontre divers types de diatomées.

Echantillon n° 2' : de nombreuses bactéries, dont : espèces de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Pelagloea*, *Spirillum*, *Beggiatoa*. Relativement, de fréquentes petites colonies d'*Achlya*. Des diatomées extrêmement nombreuses et variées : *Tabellaria*, *Navicula viridula*, *Nitzschia palea*, *Pinnularia*, *Fragillaria*. De rares protozoaires de l'espèce *Amoeba proteus*.

Echantillon n° 3 : comme au n° 2. En outre, plus de protozoaires et en particulier des amibes : *Amoeba proteus*, *Actinosphaerium*, ainsi que des ciliés : *Aspidisca costata*.

Echantillon n° 3' : de fréquentes bactéries des genres : *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Pelagloea* et *Spirillum*. Relativement, de fréquents champignons du genre *Achlya*. De très nombreuses et variées diatomées : *Fragillaria*, *Nitzschia palea*, *Synedra ulna*.

Echantillon n° 4 : Le frottis effectué du sédiment très fin déposé au fond du flacon, relève de nombreuses diatomées et algues vertes unicellulaires indicateurs des eaux pures.

LES ÉCHANTILLONS DU 10 SEPTEMBRE

A l'examen microscopique tous les quatre échantillons récoltés à cette date présentent les caractéristiques de l'eau pure. Les frottis effectués du sédiment fin, à prédominance minérale, déposés dans les récipients contenant les échantillons 1, 2, 3 et 4, ont mis en évidence de nombreuses et variées espèces de diatomée représentées dans la majorité des cas par des types β — mésosaprobies.

Echantillon n° 1 : De rares diatomées : *Cymbella*, *Tabellaria fenestrata*, *Navicula*; relativement, de fréquents protozoaires de l'espèce : *Amoeba proteus*.

Echantillon n° 2 : De rares cyanobactéries du genre *Oscillatoria*. Extrêmement rares, des diatomées parmi lesquelles on rencontre plus fréquemment *Nitzschia acicularis*; de rares protozoaires *Amoeba proteus*.

Echantillon n° 2' : De fréquentes cyanobactéries du genre *Oscillatoria* et diatomées : *Nitzschia palea*, *N. acicularis*, *Synedra ulna*.

Echantillon n° 3 : De rares bactéries pédonculées du genre *Caulobacter* fixées sur les particules minérales qui forment le sédiment.

Echantillon n° 3' : Qualitativement similaire, mais plus riche que l'échantillon n° 2'. En plus, de nombreuses bactéries mobiles, nonsporulées, Gram négatives et spirilles; fréquentes cyanobactéries du genre *Oscillatoria* et *Spirulina*. Parmi les diatomées : *Closterium acerosum* et *Cosmarium zotrytis*. De nombreuses algues vertes unicellulaires et de rares protozoaires : *Paramoecium bursaria*.

CONSIDÉRATIONS ÉCOLOGIQUES CONCERNANT LES GROUPES ET LES TYPES DE MICROORGANISMES DÉCELÉS

En examinant les listes des microorganismes rencontrés dans les trois séries d'échantillons récoltés aux mêmes endroits de la rivière de Crisul Repede à différentes dates, on constate de grandes variations qualitatives entre la première série d'échantillons (surtout celles des points 3 et 4) et les deux dernières.

La caractéristique la plus importante des premiers, c'est l'abondance des bactéries et particulièrement des champignons, organismes spécifiques des milieux fortement chargés organiquement. L'analyse chimique de l'eau à cette date indique d'ailleurs une teneur élevée des composés organiques, surtout polysaccharides. Il est intéressant de remarquer le fait que dans aucun des échantillons examinés nous n'avons rencontré les bactéries du genre *Sphaerotilus* connues comme indicatrices d'eaux polysaprobies. Ce fait, apparemment paradoxal pourrait avoir plusieurs explications — la plus possible pourrait être la nature des polluants — inaccessibles, ou ne convenant pas à ces bactéries qui, on le sait, consomment aisément et de préférence des sacchares simples.

La présence en abondance des champignons du groupe des saprolegniacées, connues à leur tour pour leur faculté d'utiliser des substances complexes : cellulose, lignine, chitine, pesticides, phenols et d'autres composés aromatiques, en éliminant ainsi par concurrence les espèces incapables de les utiliser — représentent une preuve de plus pour cette hypothèse.

Les grandes concentrations de polluants organiques pourraient représenter une autre explication pour l'absence de bactéries *Sphaerotilus* dans les eaux analysées, étant connu que ces bactéries préfèrent les milieux à concentrations modérées de substances organiques, condition dans laquelle elles ont à affronter une moindre concurrence de la part d'autres organismes (Wuhrmann, 1964).

On a montré que, parmi les champignons, le groupe le mieux représenté est celui des *Saprolegniaceae*. Les données de la littérature de spécialité (N. Toma, 1976) attestent que la distribution et le développement des saprolegniacées sont en étroite corrélation avec les suivants facteurs du milieu : la nature du substrat, la température, le régime et la profondeur de l'eau, la luminosité, le pH, la concentration des ions minéraux, la quantité de O_2 et la structure des biocénoses dont elles font partie.

Parmi tous les facteurs énumérés ci-dessus la relation la plus serrée et la plus évidente est celle établie avec le substrat nutritif. La nature du substrat — plus que tout autre facteur du milieu, détermine des changements essentiels et irréversibles, tant dans la morphologie que dans la biologie de ces champignons.

La température de l'eau détermine une distribution numérique et qualitative inégale des saprolegniacées au cours de l'année, une périodicité saisonnière dans leur développement. D'après leur températures optimale et la période de développement, les espèces de saprolegniacées ont été classifiées en trois groupes : criophiles (hibernales), thermophiles (estivales) et indifférentes. Les criophiles se développent abondamment pendant les périodes froides de l'année, lorsque la température de l'eau

ou du sol ne dépasse pas $+10^{\circ}\text{C}$. Les thermophiles se développent dans les périodes et les biotopes où la température dépasse $+15^{\circ}\text{C}$. Sont considérées indifférentes les espèces dépourvues de périodicité, qui se développent de manière égale pendant tout le cours de l'année.

Bien que l'existence d'une dynamique saisonnière des saprolegniacées en corrélation avec la température soit incontestable, le phénomène est encore insuffisamment expliqué, puisque outre la température tout une série d'autres facteurs écophysologiques y concourent. Parmi ceux-ci, on a prouvé que l'intensité lumineuse a un rôle inhibiteur important.

Si la première série d'échantillons (mars) se caractérise par l'abondance des champignons, les deux dernières (juin, septembre) et surtout les dépôts de la zones des rivages, abondent en diatomées, dans leur grande majorité des types β — mésosaprobies dont la présence est normale pour la zone et la période analysée.

BIBLIOGRAPHIE

1. CLEARY E. J., Journal W.P.C.F., 1972, **44**, 7, 1301—1306.
2. FIERDINGSTAD E., *Microbial criteria of environment qualities*, Ann. Rev. Microbiol., 1971, **25**, 563—583.
3. GEESEY G. G., *Abstracts of the 77th Annual Meeting of the American Society for Microbiology*, New Orleans, 8—13 May, 1977.
4. JONES J. G., J. appl. Bacteriol., 1970, **33**, 679—86.
5. OLSEN S., CHAPMAN G. D., Bio Science, 1972, **22**, 3, 158—161.
6. TOMA N., Thèse de doctorat, 1976.
7. WOOLLETT L. L., Antonie van Leeuwenhoek, 1970, **38**, 427—435.
8. WUHRMANN K., Bulletin du C.B.E.D.E., 1952, **15**.
9. WUHRMANN K., *Principles and Applications in Aquatic Microbiology*, edited by H. Heukelekian and Dondero H., Rutgers — the State University, 1964, 167—193.

Reçu le 20 avril 1980

Faculté de biologie
Chaire de microbiologie
Bucarest, Aleea Portocalilor 1

CONSÉQUENCES ÉCOLOGIQUES DES MONOCULTURES FORESTIÈRES DANS LA ZONE MONTAGNEUSE DE LA ROUMANIE

PAR

CONSTANTIN BÎNDIU et NICOLAE PĂTRĂSCOIU

A cause des coupes à blanc étoc effectuées sur de grandes surfaces un demi-siècle auparavant, beaucoup de nos pessières ont perdu leur équilibre naturel, devenant très vulnérables aux facteurs biotiques et abiotiques défavorables (vent, insectes, champignons, pourriture, etc.) Un autre écosystème profondément transformé par l'homme sont les hêtraies où on introduit des conifères, spécialement l'épicéa, avec des conséquences négatives pour la stabilité des peuplements (monocultures hors de l'aréa).

Pour l'espace géographique de la Roumanie, la zone forestière montagneuse occupe une position de plus grande importance à cause non seulement de sa grande surface par rapport aux zones collinaires et de plaine, mais plutôt du rôle qu'elle joue dans l'équilibre écologique et la protection de l'environnement. Ce rôle est complexe et s'exerce sur la répartition des précipitations, la genèse et l'évolution du réseau hydrographique, la réduction de l'érosion du sol et du transport du matériel solide, la protection des sources des eaux minérales, potables et industrielles, la purification de l'eau et de l'air, la production du bois et sur d'autres fonctions spécifiques à la végétation forestière. Il suffit pour démontrer le rôle hydrologique de mentionner que les forêts montagneuses assurent 66% du débit des eaux fluviales et que seules ces forêts protègent les grands lacs d'accumulation d'eau pour l'énergie électrique. La zone montagneuse occupe 21% de la surface totale du pays et présente un degré de boisement de 60%.

La présence des monts dans le centre du pays fait que les conditions orographiques, climatiques, hydrologiques et biotiques soient distribuées par des étages altitudinales, qui correspondent successivement aux pessières, aux mélanges d'épicéa, sapin et hêtre et aux hêtraies, la dernière formation végétale qui appartienne à la zone montane. Chaque étage présente des conditions écologiques spécifiques et bien délimitées dans l'espace, qui correspondent aux exigences des espèces zonales. Ces espèces sont arrivées à une structure naturelle relativement stable, en équilibre dynamique avec l'environnement. La correspondance entre la zonalité géographique, bioclimatique et de végétation est très étroite.

Suite à l'activité de l'homme, la plupart des biocénoses naturelles sont transformées aujourd'hui en biocénoses de culture. La surface des forêts naturelles est de plus en plus moindre et presque seules les réserves naturelles conservent l'écofond originaire et non altéré des forêts de Roumanie [3]. Les transformations ont affecté tant l'étage des pessières que l'étage des hêtraies, mais d'une façon différente.

A. DANS LES PESSIÈRES

Le processus de transformation est très long et commence au XIX^e siècle. Il consiste spécialement dans l'élargissement des surfaces avec peuplements équiennes et monodominants au détriment des peuplements du type mélangé et pluriel. Quoique cette action soit initiée et promovée par la sylviculture autrichienne, dans les provinces de l'Empire des Habsbourg (Bucovine et Transylvanie), elle a continué jusqu'à présent, malgré les nombreuses implications négatives d'ordre écologique. La cause est bien connue et s'explique par les pressions économiques exercées par la société humaine contre les forêts, qui doivent fournir plus de bois à l'industrie, plus de services utilitaires, sans tenir compte de leur potentiel silvo-productif réel. Une cause pareille a conduit, on le sait bien, à la transformation presque totale des forêts mélangées allemandes (feuillus et résineux) en forêts pures d'épicéa.

En Roumanie, aussi bien que dans autres pays, l'extension des monocultures d'épicéa est réalisée par des coupes rasées sur des grandes surfaces, qui ont affecté profondément l'équilibre écologique [4]. En termes cybernétiques on peut dire que la quantité d'information existante dans l'écosystème a été réduite, l'entropie s'accroît et que la capacité fonctionnelle et l'hierarchie structurelle sont devenues moins fortes. En termes biophysiques on peut dire encore que les circuits biogéochimiques sont dérangés, le type d'humus est changé (de mull à moder, de moder à humus brut), concomitant avec la déviation du type de pédogénèse. Les substances nutritives, l'humus et même le sol fertile sont lavées par les eaux de précipitations, spécialement sur les grandes pentes. On peut parler encore de la dégradation des facteurs climatiques, ce qui contribue à l'abaissement de la limite supérieure de la végétation forestière et aux nombreux échecs en ce qui concerne les reboisements. C'est pourquoi pour régénérer la forêt des hautes montagnes sont nécessaires beaucoup d'efforts, non seulement financiers mais surtout d'intelligence humaine.

Un autre effet négatif des monocultures d'épicéa, signalé par la littérature de spécialité, sont les chablis, qui provoquent périodiquement de grands impacts sur les forêts, menaçant leur stabilité et leur équilibre écologique [5]. Au chablis on vient ajouter d'autres calamités naturelles, telles que les ruptures des couronnes et des troncs par la neige, les préjudices provoqués par les effectives surnombreuses de la faune cinégétique herbivore, les attaques des insectes nuisibles, etc. On peut signaler un seul exemple édicateur : pendant une période de 31 ans (de 1947 jusqu'à 1978) on connaît dans le cantonnement sylvique de Stulpicani 11 chablis de grande proportion et 3 autres calamités naturelles (neiges, insectes), qui ont affecté sérieusement la structure des peuplements, leur pouvoir de production et leur capacité fonctionnelle [6]. Il faut mentionner que les neiges lourdes, les insectes et les animaux sauvages ont rompu en particulier les arbres fort détériorés par le vent.

On a établi avec certitude que les plus fréquentes chablis et ruptures de neige se sont produits dans les pessières équiennes, d'origine artificielle, ayant une productivité supérieure. L'altitude de ces forêts est inférieure à 1000 m et varie avec l'exposition du versant : plus bas sur le versant

sud, plus haut sur le versant nord. Les peuplements à structure plurielle (naturelle), ainsi bien que les peuplements mélangés (épicéa, sapin, mélèze, hêtre, pin), ont été moins affectés.

B. DANS LES HÊTRAIES

Après les pessières, les hêtraies occupent la place la plus importante dans l'économie forestière nationale, étant donnée leur grande surface (presque 2 millions ha) et la valeur particulière du bois, qui est utilisé dans l'industrie en grande proportion.

L'intérêt accru pour les forêts de hêtre a eu comme résultat la diminution progressive des peuplements naturels à structure plurielle et non altérée et l'extension des peuplements équiennes, monoétagés. De plus, à cause des pressions économiques de conjoncture plusieurs hêtraies de grande production ont été remplacées par des monocultures des résineux, spécialement par des pessières.

Le manque d'intérêt pour maintenir et conserver les peuplements naturels d'hêtre a été bien remarqué par le professeur M. Drăcea, il y a 6 décennies auparavant : « La génération antérieure et celle d'aujourd'hui se sont délectées en exploitant les forêts de chêne de la plaine et celles des résineux. Nous et ceux qui nous suivront, nous sommes la génération de l'hêtre ». Et cette génération a remplacé en grande proportion les forêts plurielles par des forêts monoétagées d'hêtre, en appliquant des traitements à courte période de régénération, y compris les coupes à blanc étoc. On procède à présent à l'extension à large échelle des résineux en une proportion qui, conformément au « Programme national pour la conservation et le développement du patrimoine forestier jusqu'en 2010 », doit arriver à 40% de la surface totale des forêts.

Les conséquences de ce mode de gestion économique des forêts ne sont pas difficile à prévoir si l'on a en vue l'expérience homologue effectuée à l'échelle nationale dans les pays de l'Europe centrale. Quoiqu'elles ne soient pas visibles à présent, elles seront sûrement très bien marquées au futur, par suite de l'accumulation progressive des effets négatifs. On sait que les hêtraies, surtout celles plurielles ont d'importantes et multiples fonctions protectives. Leur capacité de conserver le milieu [1] dépasse celle des résineux de plus de 40% (dans des stations équivalentes). Leur protection est réalisée par la conservation de la fertilité des sols, l'assurance de l'équilibre hydrologique, la défense contre l'érosion, le maintien et la remise progressive des substances nutritives dans le circuit biogéochimique, la réduction à minimum des dégâts causés par les calamités naturelles : vent, neige, insectes phytophages, sécheresse, gibier, etc. Même à la pollution, les hêtraies s'avèrent assez résistantes [2, 7].

Sûrement, le remplacement de certaines hêtraies par des résineux, surtout par des cultures d'épicéa, est justifié du point de vue économique, bien qu'on ne puisse pas demander le retour à la forêt spontanée. La forêt cultivée doit, évidemment, s'adapter aux lois du développement écologique, pour gagner la stabilité et la rentabilité. Les lois du développement économique ne sont et ne doivent pas être en contradiction avec les lois de la conservation de l'environnement. On doit tenir compte des intérêts les

plus généraux de la société humaine, de l'évolution à long terme de l'espace géographique. A la base de la stratégie humaine on doit poser la stratégie de la nature [3]. C'est la seule modalité de maintenir l'équilibre naturel et de recouvrir en même temps les demandes de bois et des services utiles pour l'homme. C'est-à-dire, on doit adopter des structures et des compositions à même d'éliminer les échecs et d'assurer à la fois l'accomplissement de toutes les fonctions des forêts à efficience maxima.

Les différences entre la stratégie de la nature et celle humaine sont d'autant plus grandes que les modifications des écosystèmes naturels sont plus fortes. La nature présente une diversité maxima, de nombreuses chaînes trophiques, très variées et très longues, une grande structuration et une organisation optimale (entropie minima). Ce sont des avantages importants qui ne sont pas rencontrés dans la forêt cultivée, où sont nécessaires beaucoup d'interventions humaines et des soins permanents. A cause des chaînes trophiques très courtes et très réduites, la forêt cultivée d'épicéa par exemple s'approche beaucoup de la structure et du caractère des agrobiocénoses.

Ces cultures, difficilement maintenues en équilibre avec l'environnement, deviennent aisément dégradables, en nécessitant une surveillance permanente. Seulement apparemment elles sont rentables, vu qu'on ne tient pas compte des conséquences écologiques à longue durée. Nos recherches, effectuées dans des pessières pures plantées dans des biotopes d'hêtre ont démontré que celles-ci sont bien exposées aux conséquences néfastes des sécheresses, ayant besoin d'une plus grande quantité d'eau pour la transpiration (10–15%), le sol devient plus intensivement séché dans la zone du maxima développement des racines (humidité plus réduite à 12–15%), l'évaporation directe des précipitations est plus grande (interception 20–25%, par rapport à 10–15% aux hêtraies). Aux conséquences hydrologiques négatives on doit ajouter l'impact sur les chaînes trophiques (changement de la microflore et de la microfaune) et le retardement de la décomposition de la litière (index Jenny 10–15%, par rapport à 35–50%), avec le changement du type d'humus et la forte réduction du potentiel trophique, spécialement sur substratum acide. Bien qu'on puisse remarquer certaines réussites (sur les substratums enrichis en calcium surtout), l'introduction des résineux dans les hêtraies reste une action sans justification écologique, comportant de nombreux et graves risques.

Pour illustrer cette idée, on peut remarquer les grandes dégâts causés par le vent, ainsi bien que l'effet désastreux des grandes neiges, les dépérissement en masse des arbres à cause de la pourriture rouge, les attaques cryptogamiques, etc. Ces faits démontrent que dans l'aréal des hêtraies, les monocultures d'épicéa ne sont pas aptes pour une évolution positive, ayant un grand degré d'instabilité et un niveau d'organisation biologique inférieure (entropie élevée). Ces désavantages sont d'autant plus grands que le cycle de production est plus court (dans les cultures spéciales pour cellulose) et, la seule solution possible de pallier aux inconvénients est de concilier les intérêts économiques de la société humaine (de circonstance) avec les demandes écologiques et les lois du développement des forêts.

Par conséquence, on doit éviter les monocultures et adopter des solutions rationnelles, pour assurer tant la production du bois en quantité appropriée que la polyfonctionnalité maxima des forêts. On peut réaliser

ce but par une combinaison judicieuse des espèces, de manière d'assurer pour chacune d'elle un rendement maximum et par l'application du principe de la conservation du milieu. Il faut créer des mélanges bien proportionnés, tels que feuillus et résineux, dans une succession d'âges plus variée. Selon nous, le pourcentage maximum des résineux ne doit pas dépasser 35% et cela seulement dans des certaines hêtraies, qui ont une stabilité plus grande.

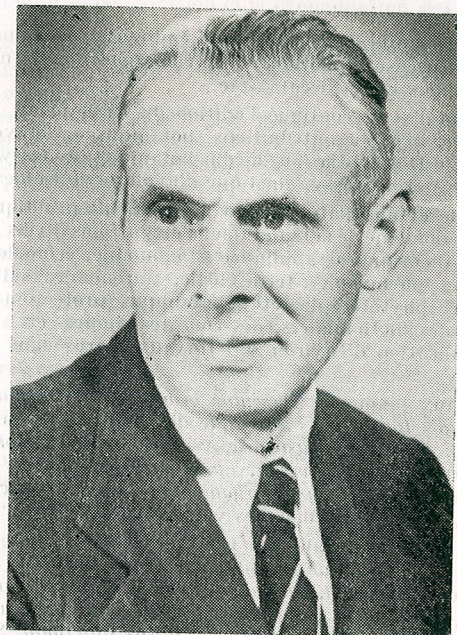
On doit mentionner que la production du bois ne peut pas être séparée à présent du principe de la conservation de la nature. Ce principe demande un cadre d'application plus grand, loin des intérêts égoïstes de branche, qui n'ont pas le droit de décider à leur faveur dans un processus de longue durée, qui concerne l'intérêt et la pérennité de la nation entière.

BIBLIOGRAPHIE

1. DINU VAL., 1974, *Pădurea, apa și mediul înconjurător*. Ed. «Ceres», București.
2. DUMITRIU-TĂTĂRANU I., FIDANOF F., 1979, *Revista pădurilor — Industria lemnului — Celuloză și hirtie*, 4, 252–253.
3. GIURGIU VICT., 1978, *Conservarea pădurilor*. Ed. «Ceres», București.
4. GIURGIU VICT., 1979, *Revista pădurilor — Industria lemnului — Celuloză și hirtie*, 4, 195–201.
5. ICHIM R., 1979, *Revista pădurilor — Industria lemnului — Celuloză și hirtie*, 4, 241–243.
6. PĂRĂȘCOIU N., 1977, *Organizarea procesului de producție în unitățile de gospodărire în care se extinde cultura rășinoaselor în afara arealului*. ICAS, Seria II^a, București.
7. SMEJKAL GHEZA, 1978, *Contribuții la cunoașterea influenței emanațiilor industriale de la Zlatna asupra principalelor specii forestiere*. Teză de doctorat, ASAS, București.

Reçu le 15 septembre 1979

ICAS-Institut de Recherches et Aménagements
Forestiers, Șos. Ștefănești, N° 128,
București,



LE PROFESSEUR OCTOGÉNAIRE EMILIAN TOPA

Le prof. dr. doc Em. Topa s'inscrit parmi les botanistes roumains d'une belle longévité, qui déploient une longue et féconde activité scientifique, d'organisation et civique ininterrompue.

La célébration de son 80-ème anniversaire a eu lieu le 9 février 1980 au Jardin botanique de l'Université «Al. I. Cuza» de Jassy, le plus grand et le plus jeune jardin botanique universitaire de Roumanie, dont il fut le fondateur.

Né à Cuciurul Mic, en Bucovine (le 9 février 1900), Em. Topa suit les cours du lycée et les cours universitaires à Cernăuți, ayant comme professeurs des personnalités scientifiques, telles M. Gușuleac, E. Botezat, F. Netolitzky, A. Penecke et autres.

Après une spécialisation en phytosociologie, en France, à l'Institut S.I.G.M.A. de Montpellier (1938—1939) avec le prof. J. Braun-Blanquet, il passa son doctorat à l'Université de Cernăuți (1939) avec un valeureux ouvrage concernant la végétation halophile de Roumanie.

Observateur et expérimentateur attentif, Em. Topa étudie assidûment la flore et la végétation de la Roumanie, participant activement aux manifestations scientifiques à caractère itinérant, de même qu'aux sessions scientifiques organisées dans différents centres botaniques de Roumanie.

Bon connaisseur des langues étrangères et des littératures spécialisées, Em. Topa a assimilé un large horizon biologique, sous l'aspect théorique et pratique et a accumulé une multitude de données et de faits représentant une riche et vive source d'information pour ces travaux.

Son activité didactique, dans l'enseignement secondaire et universitaire, a contribué à la formation de nombreux enseignants et chercheurs.

L'activité soutenue et compétente du prof. Em. Topa se concrétise surtout dans l'organisation bien méritante des jardins botaniques universitaires à Cernăuți, Bucarest, Cluj et Jassy; directeur du premier et des deux derniers, il fait publier des guides, des catalogues de semences et de nombreux articles et a organisé d'admirables expositions florales.

Il a entrepris des voyages d'études en France, en Bulgarie, en Pologne et en Podolie, en Hongrie, en Autriche et dans d'autres pays et a envoyé un ouvrage au symposium sur le genre *Iris*, à Florence.

Son large échange de publications, avec de nombreuses personnalités et institutions lui permet d'organiser une valeureuse bibliothèque, de contribuer substantiellement à l'enrichissement des collections d'herbiers et d'exiccata, etc.

On lui est redevable d'avoir continué l'édition du Bulletin du Jardin botanique et du Musée botanique de Cluj avec « Contributions botaniques », d'avoir organisé et édité l'exiccata de Moldavie et de Dobroudja (au Jardin botanique de Jassy), de faire construire les serres monumentales de Cluj et de Jassy, ainsi que d'avoir organisé des jardins scolaires.

Son activité féconde et multilatérale, particulièrement prolifique, de plus d'un demi-siècle (1928—1980) dans le domaine de la botanique, s'étend, sous divers aspects, sur les disciplines de biologie végétale, théorique et appliquée : taxonomie, écologie, corologie, phylogénie, phytocénologie, génétique, phénologie, terratologie, agronomie, sylviculture, horticulture, apiculture, phytopatologie, phytothérapie, ethnobotanique, protection de la nature, historiographie. Il a collaboré à des dictionnaires, des comptes rendus, etc. Son activité s'est concrétisée aussi dans la publication d'environ 300 travaux, parus dans 43 périodiques de Roumanie et dans 3 étrangers.

Il décrit de nouveaux taxons : *Aesculus hemiacantha*, *Sparganium tardivum*, *Ribes heteromorphum*, *Iris pallida* « *Racovitzae* » ainsi que de nombreux infrataxons dans le cadre de la variabilité des espèces : *Scorzonera austriaca*, *Arachis hypogaea*, *Euonymus nanus*, *europaeus*, *radicans*, *Elatine alsinistrum*, *Gentiana verna*, *Lunaria annua*, *Buxus sempervirens*, *Callitriche verna*, *Rhododendron kotschyi*, *Hippophaë rhamnoides* ssp. *carpatica*, *Potamogeton crispus*, *Najas graminea* et autres, insérés aussi dans les volumes de la « Flora R.P.R.-R.S. România ».

Parmi les nouveaux taxons signalés par Em. Ţopa pour la flore de la Roumanie, il y a certains *Cormophytes* : *Aspidium falcatum*, *Armeria maritima*, *Bidens vulgata*, *Boutsin-gaultia cordifolia*, *Cyclamen europaeum*, *Euphorbia nulus*, *Habitzia lamnoides*, *Helianthus decapetalus*, *Iva xanthiifolia*, *Laburnum anagyroides*, *Muscari armeniaca*, *Narcissus intermedius*, *Nelumbo nucifera*, *Panax ginseng*, *Populus bolleana*, *Pyrus salicifolia*, *Sagittaria latifolia*, *Sedum sieboldii*, *Utricularia intermedia* et autres, de même que de nombreuses formes de culture et parmi les *Micophytes* : *Septoria cyclaminis*, *Claviceps wilsonii*.

En phytocénologie remarquons surtout ses études sur la végétation halophile de Roumanie à partir de la thèse « La végétation des halophytes de Roumanie en relation avec celle du reste du pays » (1939), c'est une première monographie de ce genre, où il décrit de nouveaux cenotaxons : *Puccinellio-Salicornietea*, *Camphorosmetum annuae*, *Camphorosmetum monspeliaceae* var. *pilosa*, *Leuzea salina* cum *Oenanthe silaifolia*, *Agrostideto-Beckmannietum*, *Juncetum gerardi*, *Astero tripolii-Triglochinietum maritimi*, *Staticeto-Artemisietum monogynae* et en continuant avec d'autres travaux sur ces formations « La végétation sur les terrains salins de la Roumanie » (1954), sur ceux du département de Maramureş (1971), de Băile Turda (1965) ouvrage présenté au symposium « Flora europaea » (1963, en Roumanie).

Bien nombreuses sont ses considérations écologiques-biologiques et corologiques se référant à une série de plantes spontanées indigènes et exotiques, cultivées et acclimatées dans des jardins botaniques et dans leurs serres, telles que : *Ophioglossum vulgatum*, *Anemone transsilvanica*, *Solanum alatum*, *Trifolium neglectum*, *Loranthus europaeus*, *Carex humilis*, *Apios americana*, *Tetragonolobus purpureus*, *Langerstroemia indica*, *Victoria amazonica*, etc.

Dans le cadre de la « Flora R.P.R. — R.S. România vol. I—XII, (1952—1972), Em. Ţopa a le grand mérite d'avoir analysé 37 familles (*Plérédiphytes* et *Angiospermes*), de même que plusieurs genres d'autres familles (*Fabaceae*).

En collaborant à presque tous les volumes de cette œuvre botanique contemporaine, il contribue avec une série d'observations et précisions critiques, ayant de nouveaux caractères en diagnoses et les clés dichotomiques.

Ses travaux ont été fréquemment cités en Roumanie par : Borza, Guşuleac, Săvulescu Prodan, Pop, Nyárády, Buia, Grîntescu aussi bien qu'à l'étranger, par Braun-Blanquet, Tüxen, Scamoni, Oberdorfer, Gajewski, Wendelberger.

Le prof. I. Prodan lui dédie les taxons : *Centaurea tzopae*, *Dianthus tzopae*, *Iris brandzae* f. *tzopae*.

Un autre aspect de sa riche activité : il a attiré l'attention sur les plantes utiles de la flore spontanée et cultivée, en ce qui concerne la valorisation rationnelle de celles-ci, en tant que plantes industrielles, médicinales, mellifères, tinctoriales, à tanin, ornementales et autres, de même que sur celles nuisibles et vénéneuses.

Em. Ţopa apporte de nombreuses contributions critiques à la flore de Roumanie (1952, 1972), des suggestions concernant l'exploration méthodique de la flore et de la végétation de la Roumanie, ainsi qu'à la délimitation et la dénomination des provinces géobotaniques de la Roumanie (1963).

Egalement valeureuses sont ses nombreuses contributions en ethnobotanique, ayant trait aux différentes provinces de Roumanie ; il est aussi collaborateur au Dictionnaire ethnobotanique publié par Al. Borza (1968).

Il déploie une intense activité quant à la protection et la conservation de la nature, du milieu environnant en publiant de nombreux travaux, des guides avec des directives méthodologiques visant surtout les prés séculaires au voisinage de Suceava.

En ce qui concerne l'histoire de la botanique, il évoque les mérites des botanistes : Porcius, Borza, Prodan, Pop, Buia, Guşuleac, Coman, Al. Popovici, R. Popovici, Brândză, Procopianu-Procopovici, Baumgarten, Oescu et autres.

Il déploie une large activité de vulgarisation des sciences biologiques en publiant divers articles, par exemple sur la vie des plantes, la lutte contre les superstitions, la nature comme facteur constitutif de l'unité du peuple roumain, la bibliographie des manuels roumains de botanique et en faisant de nombreuses conférences.

Le prof. Em. Ţopa a le mérite d'avoir édifié une ample et valeureuse œuvre botanique, faisant preuve d'une impressionnante et exemplaire force de travail, appliquée avec une créativité prolifique rarement rencontrée.

Ces qualités le consacrent comme une autorité scientifique remarquable, mise avec un dévouement constant, une noble passion, un attachement illimité et des sacrifices au service des sciences botaniques, au progrès et au prestige de la biologie en Roumanie. Il poursuit son activité aujourd'hui encore, avec la même persévérance, ténacité et élan.

A cette occasion solennelle, les botanistes roumains souhaitent au professeur Emilian Ţopa bonne santé, longue vie et la réalisation de toutes ses aspirations.

Prof. dr. doc. Traian I. Ştefureac



LE CENTIÈME ANNIVERSAIRE DE LA NAISSANCE DU SAVANT ROUMAIN PETRE ENCULESCU (1879—1957)

Le 6 février 1980 on a célébré à Bucarest, sous l'égide de l'Académie de la République Socialiste de Roumanie et de l'Institut central de biologie, le centenaire de la naissance du savant roumain, le prof. univ. dr. Petre Enculescu.

A cette manifestation scientifique, présidée par l'académicien prof. N. Sălăgeanu, on a évoqué la vie et l'œuvre du prof. P. Enculescu, ses recherches dans le domaine de la botanique en général (prof. dr. doc. Tr. I. Ștefureac) et de la géobotanique (conf. dr. D. Ivan) aussi bien que dans celui de la pédologie (prof. dr. doc. C. Chiriță et dr. C. Oancea) et de la cartographie (dr. ing. N. Doniță).

Sa personnalité scientifique a été évoquée aussi à Jassy, le 11 février 1980, par le prof. dr. doc. Tr. I. Ștefureac dans le cadre de la Faculté de biologie-géographie-géologie de l'Université « Al. I. Cuza ».

A ces manifestations avec une large participation publique, ont été présentés ses travaux scientifiques (monographies et articles, cartes, documents, manuscrits, bloc-notes, photos, des objets utilisés sur le terrain et autres).

P. Enculescu est né le 16 octobre 1879 à Bucarest, où il a fait ses études secondaires et universitaires (Faculté des Sciences). En 1913—1914 il participa à la campagne de Bulgarie et ensuite à la Première Guerre mondiale (1916—1918) où il se fit distinguer. En 1920, il soutient sa thèse de doctorat à Cluj, devant le prof. Al. Borza. Son ouvrage « Les zones de végétation ligneuse de Roumanie par rapport aux conditions oro-hydrographiques, climatiques, du sol et du sous-sol » (1924), d'une remarquable valeur, le consacre sur le plan scientifique. Il suit deux stages de spécialisation en France et visita plusieurs capitales européennes.

A la fin de ses études, il fut engagé (1906—1947) à l'Institut Géologique de Roumanie ; après la retraite, il travailla quelque temps au ministère de l'Agriculture, aux problèmes d'irrigation, de dessèchement et autres.

P. Enculescu déploya une méritoire activité didactique et d'organisation dans le domaine de la botanique et de l'agrogéologie, enrichissant les collections nécessaires à l'enseignement agricole. C'est lui qui jeta les bases d'un herbier à l'Institut géologique.

Sa formation scientifique est très vaste et il se remarque, dans son œuvre, comme botaniste-phytogéographe et écologiste, géobotaniste, pédologiste et cartographe.

S'appuyant sur une conception avancée, P. Enculescu, précurseur de la géobotanique moderne, a le grand mérite d'avoir considéré, en tant que premier botaniste roumain, de manière intégrée, les processus et les phénomènes de la nature en analysant le rapport détermi-



Exposition des travaux scientifiques du Pr. P. Enculescu

nant entre climat-sol-eau-flore et végétation. Cela a constitué, dans ses préoccupations persévérantes et passionnantes, la caractéristique essentielle de l'œuvre de toute sa vie. Ses études, basées sur de longues explorations détaillées en terrain nous permettent de souligner le fait que dans sa pensée et dans ses réalisations, devenait concrète dès lors, fondamentalement, l'intuition de ce que l'on sait aujourd'hui sur la conception des écosystèmes terrestres, domaine où P. Enculescu est vraiment un méritoire pionnier roumain.

Dans ses recherches, P. Enculescu ne s'est pas limité, en écologie, à des déductions simplistes, mais, s'appuyant sur l'enregistrement des facteurs écologiques, sur les analyses physiques et chimiques de nombreux profils de sols, sur l'étude des systèmes racinaires des plantes comme sur la connaissance de leur aréal, il a judicieusement expliqué les rapports et les connexions entre climat-sol-plante ; pour cela, il a décelé les plantes les plus caractéristiques, ligneuses et herbacées, indicatrices de divers types de sol, surtout de la flore et de la végétation de steppe de Roumanie.

Ses premières études botaniques ont un caractère floristique, se référant aux espèces : *Rhus colinus*, *Legousia speculum-veneris*, *Caragana frutex* et autres ; ont suivi de nombreuses contributions à la flore de Dobroudja, avec des recherches détaillées sur les espèces *Carpinus orientalis*, *Fagus sylvatica* — reliquaire et autres.

Sous l'aspect phytogéographique, il utilise, avec prudence, pour la flore du pays, au lieu d'éléments méditerranéens, l'expression seulement d'éléments à nuance méditerranéenne.

Dans ses études de synthèse sur la végétation de Roumanie, P. Enculescu se fait remarquer par les ouvrages : « Les zones de végétation ligneuse de Roumanie... » (1924) en établissant les aspects différentiels de l'avant-steppe (la steppe à forêts) et de la sylvosteppe, problème dont il s'est occupé surtout aussi dans d'autres travaux ; « Parallélisme entre le climat, le sol et la végétation de Roumanie » (1925), avec l'interprétation réaliste des relations des écosystèmes.

dans le cadre des formations variées de végétation; « Le sol et la végétation spontanée de Roumanie » (1929), qui constitue la première réalisation contenant de nouvelles données concernant ce genre de travaux pour notre pays; « Contribution à l'étude de la tourbe et des tourbières de Roumanie » (1916) en raison desquels P. Enculescu est considéré comme précurseur de la pollinologie en Roumanie. Il a effectué les premières analyses sporopolliniques, en classifiant, par rapport à l'altitude, les tourbières de notre pays et en établissant, selon le type de la végétation, les catégories de tourbe de Roumanie; il s'occupe aussi de la végétation des terrains salins de la Vallée du Călmățui (1941) et présente des données sur l'écologie des plantes des associations halophiles et autres.

En cartographie, P. Enculescu, a le mérite d'avoir édité (1938), de manière détaillée « La carte des zones de végétation de Roumanie par rapport au sol » (1:1500 000) et « La carte des zones de végétation ligneuse de Roumanie » (1914) (1:1500 000), ainsi que, seul et en collaboration, de nombreuses cartes agrogéologiques, y compris la carte du quaternaire de Roumanie.

Ses études floristiques, géobotaniques et agrogéologiques ont un prégnant caractère pratique-économique, concernant la zonation des cultures agricoles, des plantations forestières (*Robinia pseudacacia*) et autres. Il a participé à de nombreuses conférences internationales d'agrogéologie, de pédologie, etc.

Dans bon nombre de ses travaux, il apporte une contribution de valeurs à l'action de protection et de conservation de la flore, de la végétation, du sol, ainsi que de la protection de l'environnement.

La personnalité scientifique du prof. dr. P. Enculescu s'imposait par la modestie, la sobriété et la capacité créatrice. Son activité est bien connue et ses travaux sont unanimement appréciés.

Ils excellent en priorités dans la création avec des résultats concrets, fréquemment cités chez nous et à l'étranger, dans des monographies et encyclopédies, dans des traités et manuels de botanique, pédologie, agrobiologie, sylviculture, géographie, économie et autres.

L'étude plus approfondie encore de son œuvre pourra découvrir aussi d'autres idées et conceptions qui, étant mises en valeur à la lumière de l'actualité, vont contribuer, dans la suite, au progrès continu des sciences naturelles en Roumanie.

Pour conserver l'héritage scientifique du prof. dr. P. Enculescu et honorer, par delà les générations, sa mémoire — avec des mérites particuliers pour les recherches fondamentales et applicables — de laborieux devancier dans la connaissance de la nature de la Roumanie et pour sa contribution méritoire dans le travail d'organisation de la recherche et de l'enseignement, y compris celui civique, civil et militaire, nous proposons que certaines chambres de sa maison de Bucarest où il a habité et a créé deviennent des chambres mémorielles Petre Enculescu et que sur cet immeuble soit fixée — à l'occasion du premier centenaire de sa naissance — une plaque commémorative.

Prof. dr. doc. Traian I. Ștefureac

REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE

SÉRIE DE BIOLOGIE VÉGÉTALE

TOME 25

1980

INDEX ALPHABÉTIQUE

	N°	Page
ATANASIU L., POLESCU LUCIA, SPIRESCU IOANA, Les acides-aminés et les glucides solubles de <i>Spirulina platensis</i> (Gom.) Geiter	1	45
BĂRA I. I., The study of mitotic chromosomes at <i>Matricaria chamomilla</i> from populations Zolty Lan ($2n = 32$), Criș izolat ($2n = 18$) and Criș neizolat ($2n = 18$)	1	93
BÎNDIU C., PĂTRĂȘCOIU N., Conséquences écologiques des monocultures forestières dans la zone montagneuse de la Roumanie	2	167
BOLOGA S., ALEXANDRU, FRANGOPOL T. PETRE, FRANGOPOL MARIA, STANEF IANCA, Marine phytoplankton photosynthesis in the Constanța offshore zone (Black Sea) during June—December 1978	2	129
BREZEANU AURELIA, TĂCINĂ FL., CIOBANU I., Ultrastructural aspects regarding the combined effects of gamma radiations, caffeine and folcysteine on cellular differentiation in the cotyledons of <i>Digitalis purpurea</i> L.	1	87
BREZEANU AURELIA, IORDAN MARGARETA, ROȘU ANA, The micropropagation of <i>Vitis vinifera</i> L. I. The induction and characterization of callus from tissues of somatic origin	2	135
BULGĂREANU C., VALENTIN-ALEXANDRU, IONESCU-TECULESCU VENERA, IOANȚESCU EUGENIA, HANNICH DIETER, Plant-mud-water relations for <i>Potamogeton pectinatus</i> and <i>Cladophora fraxa</i> in muddy („pelogene”), brackish water lake Balta Albă (Buzău, Romanian Plain)	1	65
GRĂCIUN CONSTANTIN, CORNEANU C. GABRIEL, Ultrastructural characteristics of palisade parenchyma cells of the leaves of normal plants and of some chlorophyllous mutants with <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill	1	79
FLORIA GH. FL., GHIORGHITĂ I. G., The influence of the treatment with alkylating agents on <i>Papaver somniferum</i> L., in M_1	2	151
HURGHISIU ILEANA, BUCULESCU ILEANA, Modifications of growth substances and regulation of growth processes in some wooden plants under the influence of atmosphere pollution	1	99
IORDAN MARGARETA, SORAN V., GRĂCIUN C., The effect of 2,4 — DNP on mitochondrion ultrastructure in barley root meristem	1	83
MACOVEI AL., Some electron microscopical aspects of hop viruses detected in Romanian hop plantation	2	157
NAGY-TÓTH FR., BERCEA V., BARNA ADRIANA, M. ȘTIRBAN, The dynamics of photosynthetic pigments and the productivity of some <i>Scenedesmus</i> species	1	21
NESTORESCU EMILIA, ȘTEFĂNESCU LUMINIȚA, L'effet de quelques composés chimiques sur la microflore de la boue activée gonflée	1	61
NESTORESCU EMILIA, Étude taxonomique et écologique de certains micro-organismes spécifiques de la pollution de la rivière Crișul Repede dans la zone d'Oradea	2	161
POPOVICI GH., BOLDOR O., STANCA DOINA, SPIRESCU IOANA, BAR-		

BU GABI, Effects of light quality on the accumulation of biomass, protein and bound amino acids in <i>Chlorella vulgaris</i>	1	49
RACLARU P., Phytozonologische Betrachtungen über die Fichtenwälder des Rarău-Gebirges	1	3
RESMARITĂ ION, La relique glaciaire <i>Stellaria longifolia</i> Mühlenb. sur le mont Runc-Vatra Dornei	1	11
ȘERBĂNESCU-JITARIU GABRIELA, TARNAVȘCHI T. ION, Pollenmorphologie einiger <i>Salicaceen</i> -Arten und deren Bedeutung für die Pollinosis	1	15
TARNAVȘCHI T. I., SANDA V., L'analyse des caractères anatomomorphologiques et de leur importance dans la clef dichotomique de détermination des espèces spontanées de <i>Dhyanthus</i> L. de la flore de la Roumanie	2	107
TĂCINĂ AURICA, Cytotaxonomic investigations regarding two endemic species in Romanian flora	2	117
TIȚU H., POPOVICI G., BOLDOR O., SPIRESCU IOANA, STANCA DOINA, The ultrastructure of hormogonial cells in blue-green alga <i>Spirulina platensis</i> (Nordst.) Geitl	2	143
VOICA C., Influence de la nutrition azotée nitrique sur certains processus physiologiques chez les plantes de tabac	2	121

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.