

ACADEMIA REPUBLICII SOCIALISTE ROMÂNIA

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 ; P^r M. RĂVĂRUȚ ; P^r TR. I. ȘTEFUREAC ;
P^r I. T. TARNAVSCHI ; 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 abon-
nements) 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 \$ 32 par an

Les manuscrits, ainsi que toute cor-
respondance seront envoyés à la rédac-
tion et les livres et les publications pro-
posés en échange à INSTITUTUL DE
ȘTIINȚE BIOLOGICE, 79651 București,
Splaiul Independenței 296

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

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

REVUE ROUMAINE DE
BIOLOGIE

SÉRIE DE BIOLOGIE VÉGÉTALE

TOME 27

1982

N° 1

janvier — juin

SOMMAIRE

- GH. COLDEA and E. PLĂMADĂ, Biomass and net primary pro-
duction of bogs pinewood communities in the Romanian Car-
pathians (the Poiana Stampei nature reserve) 3
- C. BÎNDIU, V. MIHALCIUC et FILOFTEIA FIDANOFF, Réac-
tion physiologique des arbres au stress d'endommagement
de la couronne causé par la neige 9
- L. ATANASIU, IOANA SPIRESCU et LUCIA POLESCU, L'in-
fluence de la kinétine sur la croissance de l'algue *Chlorella* 17
- SALEH M. BADER, DORINA CACHIȚĂ-COSMA, TIBERIU
OSVÁTH and CONSTANTIN DELIU, Modification of some
morphophysiological variables in the cauline callus of
Forsythia suspensa grown *in vitro* in a varied hormonal ba-
lance medium 23
- ADRIANA BARNÁ and FR. NAGY-TÓTH, Contribution to
the bioconversion efficiency of N-inorganic into N-organic
by algae 29
- G. I. GHIORGHITĂ, ECATERINA TÜNDE TÓTH et T. POPESCU,
L'influence du traitement à rayons gamma et folcystéine-U chez
Hordeum vulgare L. 37
- A. IONICĂ, DORINA CACHIȚĂ-COSMA et C. CRĂCIUN, Modifi-
cation de l'équilibre physico-chimique du suc vacuolaire de
l'épiderme des pétales de pivoines (*Paeonia officinalis*) sous
l'influence de la caféine 45
- ELVIRA V. GILLE and G. I. GHIORGHITĂ, Some effects induc-
ed in *Digitalis lanata* Ehrh. by successive treatments with
gamma rays and ethylmethanesulfonate 49
- GEORGETA LAZĂR-KEUL, M. KEUL und M. SAFTA, Die
Wirkung von Naphthylessigsäure auf den DNS-Gehalt und
den Zellzyklus im Weizenwurzelmertem 55

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. VÉGÉT., TOME 27, No 1, P. 1—80, BUCAREST, 1982

GEORGETA FABIAN and E. GOMOIU, Tissue cultures in corn (<i>Zea mays</i> L.)	61
E. BADEA, A. SCRIPCARU, L. GREGORIAN and P. RAICU, Studies on the tissue cultures differentiation in grapevine	65
LUCREȚIA DUMITRAȘ, New species in the complex of fungi in- ducing black rot of carrots in Romania	69
VIE SCIENTIFIQUE	73
COMPTES RENDUS	79

BIOMASS AND NET PRIMARY PRODUCTION OF BOGS PINEWOOD COMMUNITIES IN THE ROMANIAN CARPATHIANS (THE POIANA STAMPEI NATURE RESERVE)

BY

GH. COLDEA and E. PLĂMADĂ

The *Pinus sylvestris* L. bog woods in the Poiana Stampei nature reserve (910 m alt.) — Eastern Carpathians — have been investigated as concerns their bioproductivity. The total aerial biomass of the ecosystem is of 74.02 t/ha, and the subterrestrial vegetable biomass of 19.95 t/ha. The net primary production of the ecosystem reaches 10.5 t/ha/year dry vegetable matter, out of which 7.4 t/ha/year represents the aerial production of the three synusia strata and 3.1 t/ha/year the production of the subterrestrial components.

The phytocoenoses built up by *Pinus sylvestris* L. are found sporadically and on small surfaces in the Romanian Carpathians. They cover most frequently the oligotrophic moores in the zone of the Oriental Carpathians, situated between 800 — 1300 m altitude, but sometimes they are mixed with durmast oak trees (*Quercus petraea*) and appear on rocky and sunny slopes of some mountains (Retezat, Tarcău, Gilău).

From the total surface of 1,350 ha occupied by the oligotrophic moores in Romania, about 1,000 ha are populated with *Pinus sylvestris* (Pop 1960). These moore-forests have a well-defined structure and floristic composition, forming specific ecosystems, included by Ellenberg (1973) in the group of semiterrestrial ecosystems, respectively in the subgroup of microecosystems as highmoore-forest with variable temperatures. Under syndynamic aspect, such moore forests are in their final stage of succession, i.e. in a paraclimax phase. In order to get a thorough knowledge on the bioproduction of the phytocoenosis with *Pinus sylvestris*, between 1976—1977, we carried out investigations on a swampy forest, representative for the Eastern Carpathians, in the "Poiana Stampei" natural reserve.

DESCRIPTION OF THE AREA

The Poiana Stampei natural reserve — in the Vatra-Dornei neighbourhood — is situated in the eastern part of the Poiana Stampei village, at a distance of 0.5 km, at 910 m altitude and has a total surface of 400 ha. For the quantitative determinations, we selected, in the central zone of the bog, an area of about 4 ha, where we have established the

research station. Out of the data registered in the meteorological station in Poiana Stampei, the annual mean temperature is of 4.1°C and the mean annual precipitations of 714 mm. Except for July, in all the other months the absolute minimum values are under 0°C. The soil is an oligotrophic peat with a profile of about 2 m thickness and with the following chemical characteristics: pH=4 — 4.2, organic matter 97.2%, mineral substance 2.8%, total nitrogen 0.9—1.2%, carbon 54.4%, sodium 0.013%, potassium 0.026%, calcium 0.102% and magnesium 0.031%.

The investigated phytocoenoses had 4 well individualized synusial strata: the tree synusia, the shrub synusia, the herbaceous stratum and the moss stratum. The tree stratum with a medium height of 13 m and a cover of about 60% is formed by populations of the following species: *Pinus sylvestris* L., *Picea abies* (L.) H. Karsten, and *Betula pubescens* Ehrh. The shrub stratum, with a height up to 3 m and a medium cover of 15% is formed from young individuals of the same species. The data regarding the density of these species on hectare, and the limits of variation for the diameters of the trees are given in table 1 and fig. 1. The

Table 1

Density of trees and shrubs (no/ha)

Species	trees	shrubs	Total
<i>Pinus sylvestris</i>	1,830	150	1,980
<i>Picea abies</i>	290	230	520
<i>Betula pubescens</i>	80	260	340
Total	2,100	640	2,840

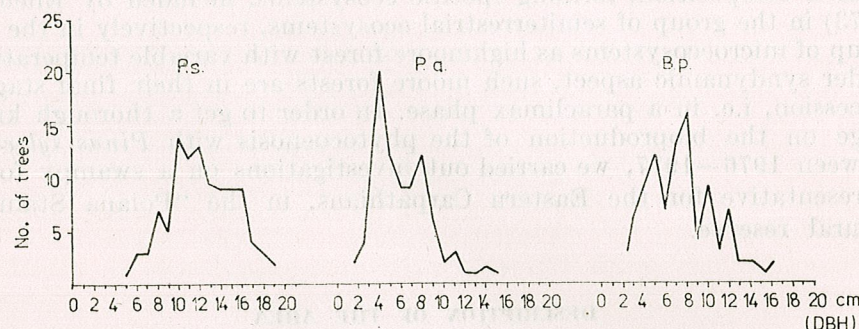


Fig. 1. — Trunk diameter (DBH) in *Pinus sylvestris* (P.s.), *Picea abies* (P.a.) and *Betula pubescens* (B.p.) populations.

herbaceous stratum, in which we included the undershrub species with a mean height of 35 cm and a mean cover of 75%, is formed of: *Eriophorum vaginatum* L., *Drosera rotundifolia* L., *Avenella flexuosa* (L.) Drej., *Vaccinium vitis-idaea* L., *Vaccinium myrtillus* L., *Vaccinium oxycoccus* L., and *Andromeda polifolia* L. The moss stratum, with a mean cover of

85%, is composed of: *Sphagnum magellanicum* Brid., *Sphagnum recurvum* P. Beauv., *Sphagnum nemoreum* Scop., *Pleurozium schreberi* (Willd.) Mitt., *Polytrichum strictum* Sm., *Ptilium crista-castrensis* (Hedw.) De Not., *Hylocomium splendens* (Hedw.) B.S.G. and *Aulacomnium palustre* (Hedw.) Schwaegr.

From the geobotanical point of view the floristic composition of the phytocoenoses is: *Pinus sylvestris* 4.5, *Picea abies* 1.5, *Betula pubescens* 1.5, *Vaccinium vitis-idaea* 4.5, *Vaccinium myrtillus* 1.5, *Vaccinium oxycoccus* 1.5, *Andromeda polifolia* + .3, *Eriophorum vaginatum* 3.5, *Drosera rotundifolia* + .4 and *Avenella flexuosa* + .2.

METHODS OF INVESTIGATION

The phytocoenoses were floristically studied in field conditions using the Braun-Blanquet method. In order to determine the biomass and the production we chose the adequate method for each constitutive synusia of the phytocoenosis. So, the biomass of the tree stratum was established based on the medium tree method (Duvigneaud et Denayer-De Smet 1968; Duvigneaud et al., 1972) cutting 3—5 samples of each tree species respectively an individual for each diameter category. The production reckoning for the aerial part of the tree (trunk, tree tops) was based on the measurements of the thickness of annual rings in the last 10 years. The annual production of the branches more than 3 years old was estimated, dividing their biomass by their medium age. The annual leaf production was assimilated to the dry weight of the leaves of one year. The biomass of the ligneous roots was estimated as 17% of the aerial wood biomass (Erteld et Hengst 1966). The annual productivity of the roots was reckoned indirectly, starting from the ratio biomass/productivity of wood aerial parts. The biomass and the production of the shrub stratum were established according to the methods utilized by Kestemont (1971); and the biomass and the production of the herbaceous and moss stratum apud Traczyk's method (1967) completed for the undershrub species by Moszynska (1973). The below ground of the herbaceous layer was estimated on the basis of extracting the roots and shoots from three lots of 0.25 m² each. The annual production of the below ground herbaceous stratum was estimated in percents (biomass/production) given by Forrest (1971) for these species. The results regarding the biomass and the net primary production of the ecosystem are given in dry weight substance (at 85°C).

RESULTS AND DISCUSSIONS

1. THE BIOMASS AND NET PRODUCTION OF THE TREE AND SHRUB STRATUM

From table 2 it results that the 3 species making these strata participate to a different extent in the formation of the biomass. The species *Pinus sylvestris* produces by its components 91% of the whole biomass — respectively 68.9 t/ha, whereas the species *Picea abies* and *Betula*

pubescens contribute in a much more reduced proportion — 6.1% and 3.3% — respectively 4.7 and 2.7 t/ha. We find a similar situation in what concerns the contribution of these species to the net production of the

Table 2

Biomass and production of the tree and shrub stratum

Species	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Picea abies</i>	<i>Betula pubescens</i>	Total
Biomass kg/ha :				
Stems	47,112.4	2,268.4	1,968.9	51,349.7
Branches	6,508.9	551.9	116.3	7,177.1
Brachyplasts	2,860.4	789.6	—	3,650
Leaves	2,845.9	435.9	49.5	3,331.3
Roots	9,601.8	613.7	354.5	10,570
Total	68,929.4	4,659.5	2,489.2	76,078.1
Production kg/ha/year :				
Stems	436.9	64.9	81.1	582.9
Branches	849.5	32.5	12.7	894.7
Brachyplasts	831.5	131.6	—	963.1
Leaves	863.8	72.7	49.5	986
Roots	294.5	30.2	13.4	338.1
Total	3,276.2	331.9	156.7	3,764.8

strata, with the difference that the species *Picea abies* and *Betula pubescens* are better represented (8.8 and 4.2%). An interesting fact is that though the stems of the trees contribute to the greatest extent in the biomass formation — 67.5% — their contribution to the realisation of the production is by far smaller: 15.5%. The situation is reverse for branches and leaves, which participate in a proportion of 75% to the net production of the synusia. The ligneous subterranean mass contributes with 13.9% to the synusia biomass, and with 8.9% to the realisation of the net production of the stratum.

2. BIOMASS AND NET PRODUCTION OF THE HERBACEOUS STRATUM

As results from table 3 the species *Eriophorum vaginatum* and *Vaccinium vitis-idaea* form 88% of the total synusia biomass, while the other species form together only 12% of the stratum biomass. Analysed as concerns their net production, the two mentioned species give more than 89% of the whole production of the synusia. Our results for this stratum are very close to those obtained by Kimsa (1980) of Poland, and about 2 times bigger than the data published by Traczyk et al. (1973) with the *Vaccinio myrtilli-Pinetum* association. The subterranean biomass (roots, shoots) totalized in this stratum 938.4 g/m², respectively 9.4 t/ha. The large quantity of the biomass is due mostly to the peat layer in which the subterranean shoots and stems of the undershrub species are abundant.

Table 3

Density, biomass and production of the species in the herbaceous stratum

Species	Density m ²	Average individual growth (G)	Average biomass of shoot (g)	Index (W)	Biomass of old shoots (B)	Total biomass (g/m ²)	Production annual shoots	(g/m ²) year old shoots	Total
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	252.4	0.276	0.304	0.336	76.730	146.392	69.662	25.781	95.443
<i>Vaccinium myrtillus</i>	23.4	0.327	0.589	0.368	13.783	21.435	7.652	5.072	12.724
<i>Vaccinium oxycoccus</i>	176.8	0.047	0.039	0.309	6.895	15.205	8.310	2.131	10.441
<i>Andromeda polifolia</i>	10.4	0.068	0.230	0.399	2.392	3.099	0.707	0.954	1.661
<i>Eriophorum vaginatum</i>	515.5	0.208	0.073	—	37.632	144.856	107.224	—	107.224
<i>Drosera rotundifolia</i>	6.4	0.020	—	—	—	0.128	0.128	—	0.128
Total	984.9				137.432	331.115	193.683	33.938	227.621

Table 4

Covering, biomass and production of the species in the moss stratum

Species	Cover %	Biomass g/m ²	Production	
			g/m ³	%
<i>Sphagnum magellanicum</i>	25	206.6	68.9	40
<i>Sphagnum recurvum</i>	21	124.6	41.5	24
<i>Sphagnum nemoreum</i>	3	37.3	12.4	7
<i>Pleurozium schreberi</i>	20	103.9	34.6	20
<i>Polytrichum strictum</i>	5	16.4	5.5	3
<i>Ptilium crista-castrensis</i>	7	21.2	7.1	4
<i>Hylacomium splendens</i>	3	8.1	2.7	2
<i>Aulacomnium palustre</i>	1	1.6	0.5	1
Total	85	519.7	173.2	100

Table 5

Biomass and annual primary production of the ecosystem

Stratum	Biomass kg/ha	%	Production kg/ha/year	%
Tree and shrub	65,508.1	69	3,426.7	33
Herbaceous	3,311.2	4	2,276.2	22
Moss	5,197	6	1,732	16
Below ground	19,954	21	3,060	29
Total	93,970.3	100	10,494.9	100

3. BIOMASS AND NET PRODUCTION OF THE MOSS LAYER

From the quantitative data presented in table 4 it results that the species of the genus *Sphagnum* give over 70 % both of the synusia biomass and of its annual production. The species *Sphagnum magellanicum* and *Sphagnum recurvum* are to be remarked by their highest percents. From the other species of Briophyta an important role in the biomass formation and in the synusia production has the species *Pleurozium schreberi*. The biomass and the production of the moss stratum in these moore-forests are much bigger than the non-swampy pineta in Poland (Puszkarski et al. 1972; Traczyk et al. 1973) and than north Pennine blanket bog (Forrest 1971), but they are very close to the pineta in the high Carpathians (Coldea and Plămadă 1978).

Summing up the biomass of the three strata which form the phytocoenosis of the ecosystem, we found that it raises up to 74 t/ha. This vegetable material results — in proportion of 88 % — from the components of the tree- and shrub strata, and only of 12 % from the components of the other strata. The situation is totally different if we analyse the net primary production of the ecosystem. From the 7.4 t/ha/year, only 46 %, respectively 3.4 t/ha, result from the arborescent and shrub stratum, and the rest of 54 % from the components of herbaceous (31 %) and moss strata (23 %).

The below ground biomass of the phytocoenosis represents 21 % of the total biomass (table 5), that is to say from 94 t/ha, and its annual production is also about 29 % out of the total primary production (10.5 t/ha/year) of the ecosystem.

REFERENCES

1. Coldea Gh., Plămadă E., Flora, 1978, **167**, 249—255.
2. Duvigneaud P. et al, Bul. Soc. Roy. Bot. de Belgique, 1972, **105**, 183—195.
3. Ellenberg H., (ed.), *Ökosystemforschung*, Berlin, Heidelberg, New York, 1973.
4. Erteld W., Hengst E., *Waldertragslehre*, Randenbeul, Neumann, 1966.
5. Forrest G. I., Journal of Ecology, 1971, **59**, 2, 453—479.
6. Kestemont P., Bull. Soc. Roy. Bot. de Belgique, 1971, **104**, 91—102.
7. Kimsa T., Ecologia Polska, 1980, **28**, 3, 367—400.
8. Moszynska B., Ecologia Polska, 1973, **21**, 24, 359—367.
9. Pop E., *Mlaştinile de turbă din R.P.R.*, Bucureşti, 1960.
10. Puszkarski L., Traczyk H., Wojcik Z., Ecologia Polska, 1972, **20**, 22, 253—285.
11. Traczyk T., Ecologia Polska, Seria A, 1967, **15**, 47, 838—867.
12. Traczyk T., Traczyk H., Moszynska B., Ecologia Polska, 1973, **21**, 3, 37—55.

Received April 20, 1980

The Biological Research Centre
Cluj-Napoca, Republicii 48

RÉACTION PHYSIOLOGIQUE DES ARBRES AU STRESS D'ENDOMMAGEMENT DE LA COURONNE CAUSÉ PAR LA NEIGE

PAR

C. BÎNDIU, V. MIHALCIUC et FILOFTEIA FIDANOFF

The paper presents the intensity of the photosynthesis, respiration and transpiration processes in trees whose crown was broken by snow in various proportions. First, the intensity of all processes increases. Further, (2—3 years after damaging) while photosynthesis and transpiration are proportionally reduced with the size of rupture, the respiration continues to increase. The trees that lost more than half the crown are seriously damaged, having a negative photosynthesis. The other categories of trees (with broken top or 1/3 of the crown missing) have the chance to remake.

INTRODUCTION

Les ruptures de neige du printemps de 1977, qui ont eu un caractère de masse et ont pratiquement affecté toutes les forêts de Bucovine situées à une altitude d'environ 650—900 m (la plupart des conifères), ont créé une situation exceptionnelle pour la sylviculture de cette région du pays. Etant donné l'ampleur sans précédent du phénomène, il s'impose à présent de fournir de grands efforts économiques, de travail, mais aussi de pensée [4], afin de remédier à la situation créée et de ramener les peuplements respectifs à un niveau normal de fonctionnalité. Nos études visent justement la mise à la disposition des praticiens d'un système d'appréciation de la résistance des plantes endommagées leur permettant d'opérer une bonne sélection des arbres d'extrait (prognose écophysiologique). Ces recherches embrassent beaucoup d'aspects (morphologie, écologie, biologie, physiologie, etc.), l'accent principal étant toutefois mis sur l'étude des processus physiologiques fondamentaux (photosynthèse, respiration, transpiration, croissance).

On sait que la rupture du sommet ou d'une partie plus grande de la couronne constitue un stress considérable pour l'arbre, ayant des conséquences plus graves pour les conifères que pour les feuillus [7] en raison de la croissance prédominante apicale de cette catégorie d'espèces et la difficulté de l'axe central de se refaire. En conséquence, la réaction de réponse des conifères au dommage est plus forte et présente une large gamme de manifestations allant jusqu'au dessèchement, soit en tant qu'effet direct de la rupture, soit en tant qu'effet indirect, dû à l'infection avec des bactéries et des champignons, ou à des attaques d'insectes.

Nous présentons ci-dessous quelques résultats concernant les trois premiers processus mentionnés, résultats obtenus pendant l'été de 1979

par les investigations effectuées en Bucovine sur l'épicéa et le sapin. Selon les nécessités nous ferons appel aussi aux résultats obtenus l'année précédente.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les recherches ont été effectuées en deux stations forestières (Deia, arrondissement de Tomnatic et Roșoș, arrondissement de Moldovița) avec des peuplements d'épicéa (âge 45 et 80 ans) et de sapin (âge 45 ans). Les peuplements ont été gravement détériorés par la neige, la plupart des exemplaires (65–90 %) présentant des ruptures de tous les degrés. Au cours des recherches ont été utilisés des rameaux verts, provenus de 4 catégories d'arbres : a) témoin, arbre non endommagé, b) arbre au sommet rompu, c) arbre dont 1/3 de la couronne est perdue et d) arbre dont 1/2 de la couronne est perdue.

On a utilisé les méthodes de recherche suivantes :

— photosynthèse : Ivanov — Kossovici (échange de gaz dans un espace limité d'air [1] [8] ;

— respiration : la même méthode que pour la photosynthèse avec laquelle on a travaillé parallèlement ;

— transpiration : Huber — Ivanov (rameaux détachés de la plante et pesage rapide à trois répétitions [3] [5].

Pour chaque détermination on a utilisé 3 rameaux (3 répétitions) On a réalisé plusieurs séries des déterminations par jour, pendant des périodes de temps favorables aux processus investigués en ce qui concerne le régime thermique et radiatif.

RÉSULTATS

1. INTENSITÉ DE LA PHOTOSYNTHÈSE

Chez les arbres intègres (témoins) le processus découle normalement en étroite corrélation avec les conditions photologiques et thermiques et au niveau caractéristique à chaque espèce (tableau 1) : 0,7–0,8 mg CO₂/g substance verte/heure chez le sapin et 0,5–0,75 mg/g/h chez l'épicéa. Il est à remarquer que chez la dernière espèce les valeurs sont presque égales, malgré l'âge (45 et 80 ans). Probablement, ici se superpose l'influence variable des conditions stationnelles (les différences de microrelief et de type de sol).

La situation est toute autre dans le cas des arbres endommagés. On peut distinguer deux types de réaction, connus aussi de la littérature de spécialité [1] [6] : a. l'intensification du processus en cas de faible dommage (rupture de sommet) et b. la réduction du processus en cas de dommage grave, qui affecte l'intégrité de la couronne sur une portion qui dépasse 1/3 de son volume. Bien que ce type de réaction soit général,

Tableau 1

Activité physiologique des arbres présentant divers degrés d'endommagement de la couronne provoqués par la neige molle, il y a 3 ans (données en juillet 1979)

No. crt.	Degré d'endommagement des arbres	Photosynthèse mgCO ₂ 1 g/heure		Respiration mg CO ₂ équiv. 1 g/heure	Transpiration *	
		Réelle	Apparente		mg/g/heure	Relative %
a. Epicea 80 ans. Roșoșa (Moldovița) (Temp. 15,5°C ; E. potent. 445 mm)						
1	Témoin (arbre intègre)	0,52	0,24	0,28	64	14,4
2	Arbre au sommet rompu	0,56	0,25	0,31	117	26,3
3	Arbre qui a perdu 1/3 de la couronne	0,69	0,37	0,32	78	17,5
4	Arbre qui a perdu 1/2 de la couronne	0,49	0,14	0,35	72	16,2
b. Epicea 45 ans. Deia (Tomnatic) (Temp. 16,7°C ; E. potent. 635 mm)						
5	Témoin (arbre intègre)	0,53	0,28	0,24	90	14,2
6	Arbre au sommet rompu	0,47	0,22	0,25	115	17,6
7	Arbre qui a perdu 1/3 de la couronne	—0,06	—0,43	0,37	108	17,0
8	Arbre qui a perdu 1/2 de la couronne	—0,21	—0,52	0,31	95	15,0
c. Sapin 45 ans. Deia (Tomnatic) (Temp. 16,5°C ; E. potent. 720 mm)						
9	Témoin (arbre intègre)	0,77	0,47	0,30	102	14,2
10	Arbre au sommet rompu	0,88	0,36	0,32	140	19,4
11	Arbre qui a perdu 1/3 de la couronne	0,66	0,32	0,34	95	13,2
12	Arbre qui a perdu 1/2 de la couronne	0,45	0,15	0,38	85	11,8

* La transpiration relative est calculée en rapport avec l'évaporation potentielle déterminée effectivement sur le terrain.

on peut distinguer également dans ce cas deux situations caractéristiques, fortement différenciées (fig. 1) :

— arbres chez lesquels la photosynthèse reste à un niveau relativement élevé tant que la couronne perdue ne dépasse pas 1/3 de son volume initial : l'épicéa âgé (80 ans) et le sapin jeune (45 ans) ;

— arbres chez lesquels la photosynthèse baisse rapidement, presque linéairement, atteignant des valeurs négatives, bien que le dommage n'affecte pas plus de 30 % du volume de la couronne : l'épicéa jeune (45 ans).

Il ressort de l'analyse de ces facteurs que la sensibilité de l'épicéa aux ruptures est grande : à des âges jeunes il n'admet la moindre réduction de l'intégrité de sa couronne. En travaillant en déficit (photosynthèse négative) ces arbres n'ont pas de chances trop grandes de survie et, s'il leur manque plus de 1/3 de la couronne ils peuvent être considérés très périlés. S'ils sont plus âgés, donc plus forts au point de vue physiologique, ils peuvent mieux supporter le stress par une photosynthèse plus active. Ce n'est que lorsque le dommage dépasse 50 % de la couronne qu'apparaît une diminution considérable du processus, sans pour autant

descendre au-dessous de la limite critique. Ces arbres ne sont pas trop affaiblis au point de vue physiologique, bien qu'ils possèdent plus qu'une moitié de leur couronne.

A l'encontre de l'épicéa, le sapin accuse un comportement physiologique bien meilleur. Au même âge (45 ans) il présente une photo-

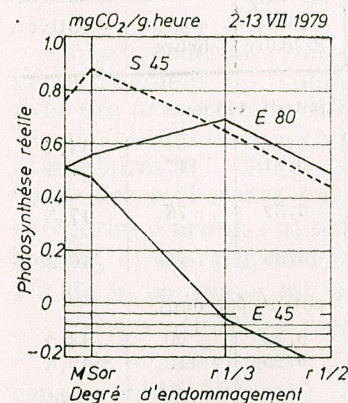


Fig. 1. — Intensité de la photosynthèse totale (réelle) chez l'épicéa (E) et le sapin (S) à couronne complète (M) et partiellement détruite (Sor — au sommet rompu ; r 1/3 — couronne détruite par la neige en proportion de 1/3 — 1/2 — couronne rompue en proportion de 1/2).

aisément le stress ; ils pourront se refaire éventuellement même à un découronnement de 1/2. Cette hypothèse sera vérifiée par des recherches futures.

2. LA RESPIRATION

Comme chez tous les organismes malades, la respiration s'intensifie à mesure que l'intensité du facteur nocif s'accroît. Ce fait est bien mis en évidence par nos recherches qui relèvent que la respiration s'accroît progressivement et presque linéairement de l'arbre intègre à l'arbre qui a perdu 1/2 de la couronne. Ceci explique pourquoi les arbres affaiblis, à petite intensité photo-assimilatrice, arrivent rapidement à une photosynthèse négative, agissant en déficit : la respiration continue à s'accroître, indifféremment de la photosynthèse qui reste la même ou diminue.

Il est intéressant à signaler que les résultats obtenus chez les deux espèces sont très rapprochés (0,25—0,38 mg Co₂ équivalent/g/h), ce qui démontre la grande dépendance de la respiration de la température. Par rapport à la photosynthèse, ce processus représente dans les cas investigués 35—45 % chez les arbres normaux et 50—85 % chez les arbres endommagés. Ce fait démontre une fois de plus que le dépérissement des arbres à ruptures se produit principalement par déficit assimilateur.

3. LA TRANSPIRATION

Tout comme à la photosynthèse, la réaction des plantes à l'échange d'eau avec le milieu présente deux aspects :

a. l'intensification du processus, chez les arbres accusant des dommages légers jusqu'à moyens ;

b. la baisse du processus, chez les arbres plus gravement endommagés.

L'intensification ne se produit qu'au premier degré d'endommagement (arbres au sommet rompu). A partir du second degré (arbres ayant perdu plus de 1/3 de la couronne) la transpiration baisse progressivement, plus forte chez l'épicéa, plus faible mais presque proportionnellement avec le degré d'endommagement chez le sapin. Compte tenu du fait que les arbres possèdent encore 2/3 de la couronne présentant un niveau de transpiration pratiquement égal au témoin (arbres à couronne intègre), on peut considérer qu'à ce degré d'endommagement il existe de réelles possibilités de retour à un régime normal de transpiration et d'hydratation. Le stress hydrique ne devient dangereux qu'à des ruptures supérieures à 1/3 du volume initial de la couronne. Certes, indifféremment du degré de détérioration, le déséquilibre hydrique ne se produirait pas s'il n'était préalablement précédé d'une intensité considérable de la transpiration, qui conduit peu à peu à l'épuisement des réserves d'eau des feuilles, des rameaux et, finalement du tronc. Le fait est bien démontré par les déterminations de transpiration de l'année précédente : la I^{re} phase, d'intensification de la transpiration et de consommation d'eau englobait seulement les arbres à ruptures faibles et moyennes ; la II^e phase était présente seulement chez les arbres à ruptures fortes (plus de 1/3 de la couronne). Ce qui paraissait il y a une année encore très fort, apparaît cette fois-ci affaibli, fait qui ne doit pas nous surprendre, étant en parfaite concordance avec les déterminations de photosynthèse.

4. LA RÉACTION DES PLANTES AU STRESS

A base des recherches écophysiologiques effectuées, les réactions des plantes au stress d'endommagement peuvent être résumées dans le schéma suivant :

- a. Epicea jeune : — sommet rompu : faiblement affecté
— découronnement de 1/3 : réaction moyenne, l'arbre est affaibli
— découronnement de 1/2 : réaction forte, l'arbre est très affaibli
- b. Epicea âgé : — sommet rompu : pratiquement non affecté
— découronnement de 1/3 : réaction incipiente à sens positif (intensification des processus physiologiques)
— découronnement de 1/2 : réaction faible-moyenne, l'arbre commence à s'affaiblir
- c. Sapin jeune : — sommet rompu : réaction incipiente à sens positif

- découronnement de 1/3 : réaction faible- moyenne, l'arbre commence à s'affaiblir
- découronnement de 1/2 : réaction moyenne, l'arbre est affaibli.

Les possibilités de refaire doivent être certainement appréciées selon le degré d'affaiblissement subi par les arbres après avoir perdu une partie de la couronne. Il est à observer que la situation la plus grave se trouve chez l'épicéa jeune, tandis que la situation meilleure apparaît chez l'épicéa âgé. Le sapin présente une situation intermédiaire. Au point de vue strictement physiologique, ce ne sont que les arbres très affaiblis ceux qui n'ont pas de chances sûres de redressement, c'est-à-dire le jeune épicéa. L'évolution des autres catégories d'arbres dépend d'une série de facteurs dont l'effet favorisant ou, au contraire aggravant, est difficile à prévoir, au moins à cette étape des recherches.

CONCLUSIONS

Les recherches effectuées aboutissent à quelques conclusions dont nous mentionnons :

1. La réaction de réponse au stress d'endommagement par le découronnement (ruptures par le neige) est prompte, forte et de durée chez les deux espèces investiguées (épicéa et sapin) ; l'épicéa s'avère néanmoins plus sensible au facteur nuisible que le sapin.
2. Pendant la première phase, peu de temps après le moment d'endommagement, la réaction est à sens positif, d'intensification des processus physiologiques fondamentaux (photosynthèse, respiration, transpiration, métabolisme). Au cours de la phase suivante, conséquemment à l'épuisement de l'organisme ou au dépassement du seuil de résistance, la réaction est à sens négatif, l'intensité des processus diminuant progressivement et proportionnellement à l'étendue du dommage. Seule la respiration fait exception à cette règle : elle ne diminue pas, mais continue à croître, jusqu'au déclenchement de la crise de survivance. Pendant cette phase d'évolution la photosynthèse devient négative.
3. Les chances de redressement biologique et de dépassement de la crise dépendent en premier lieu de l'étendue du dommage, ce qui ne veut pas dire que d'autres facteurs, tels que la nature de l'espèce, la station, les agressions biotiques secondaires sont à négliger. On pourrait affirmer que seuls les arbres qui ont perdu 1/2 de la couronne ou de plus sont fortement périclités. Les arbres qui possèdent 2/3 de la couronne ont de grandes possibilités de se refaire, tandis que ceux au sommet rompu ont un comportement presque similaire aux arbres intègres.
4. Dans la sylviculture pratique un accent tout particulier doit être mis sur les jeunes peuplements, leur résistance aux ruptures étant plus réduite et leur réaction au stress par rapport aux peuplements adultes plus intense.

BIBLIOGRAPHIE

1. Binet P., Brunel J. R., 1967, *Physiologie végétale*. Ed. Doin, Paris.
2. Bindiu C., 1973, *Influența factorilor ecologice asupra creșterii radiale la brad*. Thèse de doctorat, ASAS, București.
3. Huber H., 1927, *Deutsche Bot. Gesell.*, **45**, 611—613.
4. Ichim R., 1979, *Rev. Păd. Ind. Lemn. Cel. și Hirt.*, **94**, 4, 241—243.
5. Ivanov L. A. et coll., 1951, *Bot. jurnal*, **36**, 1, 5—20.
6. Lyr H., Polster H., Fiedler H., 1967, *Gehölzphys.* Fischer. Jena.
7. Mihalciuc V. et coll., 1979, *Cercetări privind efectul rupturilor de zăpadă și vânt asupra rezistenței arborelor de rășinoase la factorii biotici și antibiotici dăunători și elaborarea măsurilor de gospodărie a acestora*. Ms. Inst. de Rech. Sylv. București.
8. Péterfi St., Sălăgeanu N., 1972, *Fiziologia plantelor*. Ed. didactică și pedagogică, București.

Reçu le 18 juin 1980

Institut de recherches et aménagements
sylvicoles
Bucarest, Șos. Ștefănești, 128

L'INFLUENCE DE LA KINÉTINE SUR LA CROISSANCE DE L'ALGUE *CHLORELLA*

PAR

L. ATANASIU, IOANA SPIRESCU et LUCIA POLESCU

L'ouvrage touche à quelques problèmes concernant l'influence de la kinétine sur la croissance de l'algue *Chlorella vulgaris* 157. Le traitement avec de la kinétine dans des concentrations comprises entre 10^{-4} et 10^{-7} M, produit un accroissement du nombre cellulaire de la culture, la stimulation la plus évidente étant remarquée à la concentration de 10^{-6} M. Parallèlement, on a constaté l'accroissement de l'intensité de la photosynthèse (dégagement d'oxygène), du contenu de chlorophylles a et b et de la quantité de biomasse séchée.

Le rôle des cytokinines a été principalement associé au contrôle de la division cellulaire, le métabolisme protéinique et l'absorption des nutriments.

L'influence de la kinétine sur la chloroplastogenèse [2], sur la synthèse des protéines [3], [5], sur le contenu de chlorophylles et caroténoïdes, ainsi que sur la réaction Hill et la photophosphorilisation [7] a été déjà étudiée chez les plantes supérieures. Les feuilles ainsi traitées ont démontré la stimulation de ces processus. En outre, les chloroplastes isolés des cotylédons de *Raphanus*, traités à la kinétine manifestaient une augmentation du P_{700} , ainsi qu'une intensification de la réaction Hill [3].

En ce qui concerne les extraits liquides des mauvaises herbes marines, utilisés comme stimulateurs de la croissance des plantes de culture, il est bien connu maintenant que leur influence positive sur les récoltes n'est pas due aux éléments présents dans l'extrait, mais à la présence dans le liquide d'un groupe naturel d'hormones — les cytokinines.

Dans la littérature portant sur cette question, nous n'avons pas trouvé des données concernant les algues unicellulaires. Par conséquent, en vue de tester l'influence de la kinétine sur certains aspects du développement cellulaire et en utilisant l'algue *Chlorella* dans nos expériences, nous avons déterminé les paramètres suivants : a) la dynamique du nombre cellulaire pendant le cycle de culture ; b) l'évolution du facteur de multiplication des cellules à la longue ; c) l'intensité de la photosynthèse selon la quantité de O_2 dégagé ; d) le contenu en chlorophylles et e) la biomasse entière obtenue à la fin du cycle.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'algue *Chlorella vulgaris* 157 a été cultivée dans une solution Arnon avec des microéléments. Le barbotage était assuré par un courant d'air à vitesse relativement constante. Pendant les expériences, la tem-

pérature était maintenue à 25–26°C et l'intensité de la lumière fluoescence à 10 000 lx.

La kinétine a été introduite dans le milieu de culture avant l'ensemencement et dans des concentrations comprises entre 10^{-4} et 10^{-7} M.

L'intensité du développement des algues était déterminée journellement et pendant le cycle de culture entier, par voie photo-électrocolorimétrique. En même temps et comparativement, les déterminations du nombre cellulaire étaient faites à l'aide de la chambre Thoma.

L'intensité de la photosynthèse a été déterminée par la méthode Warburg, en utilisant des cultures d'algues traitées et la solution-tampon n° 9. Le contenu en chlorophylles était déterminé après l'extraction à l'acétone 85 %, suivie d'une lecture au spectrophotomètre. L'extinction des chlorophylles était mesurée en utilisant des cuves de 2 cm, à 663 et 645 nm ; l'évaluation des chlorophylles a et b était ensuite effectuée selon la formule de Mackinney [5].

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Les données obtenues sur la croissance des algues pendant le cycle de culture ayant une durée de 7 jours sont présentées dans la figure 1. Le nombre cellulaire se trouvait toujours en bonne concordance avec le coefficient d'absorption de la lumière par la culture. Les variantes étudiées ont démontré une augmentation du nombre cellulaire, en présence de la kinétine par ml de culture, par rapport au témoin. La stimulation se produit à partir du 2^e jour d'exposition et devient la plus évidente à la concentration de 10^{-6} M.

La stimulation paraît bien plus nette lorsqu'on suit le facteur de multiplication de la culture (fig. 2). On peut remarquer, même après le 2^e jour qui suit à l'exposition, que les échantillons traités à la kinétine se séparent nettement du contrôle, la plus fortement étant stimulée la variante avec de la kinétine en concentration de 10^{-6} M. Toutes les concentrations utilisées dépassent largement comme effet la solution témoin.

L'intensité de la photosynthèse, comme on peut remarquer dans la figure 3, présente les valeurs les plus élevées, à la concentration de 10^{-6} M-M, même si les différences enregistrées entre les concentrations $5 \cdot 10^{-6}$ M et 10^{-5} M ne sont pas très grandes par rapport au témoin. Le dégagement d'oxygène produit aux concentrations plus grandes, comme 10^{-4} M, a démontré une tendance d'abaissement par rapport au contrôle.

Le contenu en chlorophylle a et b se trouve en concordance avec la stimulation obtenue à la concentration de 10^{-6} M. Quand on analyse séparément l'évolution de ces deux chlorophylles, on peut constater un fait digne d'attention : la chlorophylle b se trouve toujours en concentration plus forte dans les variantes traitées, par rapport au contrôle ; la quantité entière de chlorophylle a+b augmente dans les variantes traitées, surtout au compte de l'accroissement du contenu en chlorophylle b. Mais, il est bien difficile d'affirmer maintenant que cet accroissement de la chlorophylle b serait dû à la présence de la kinétine.

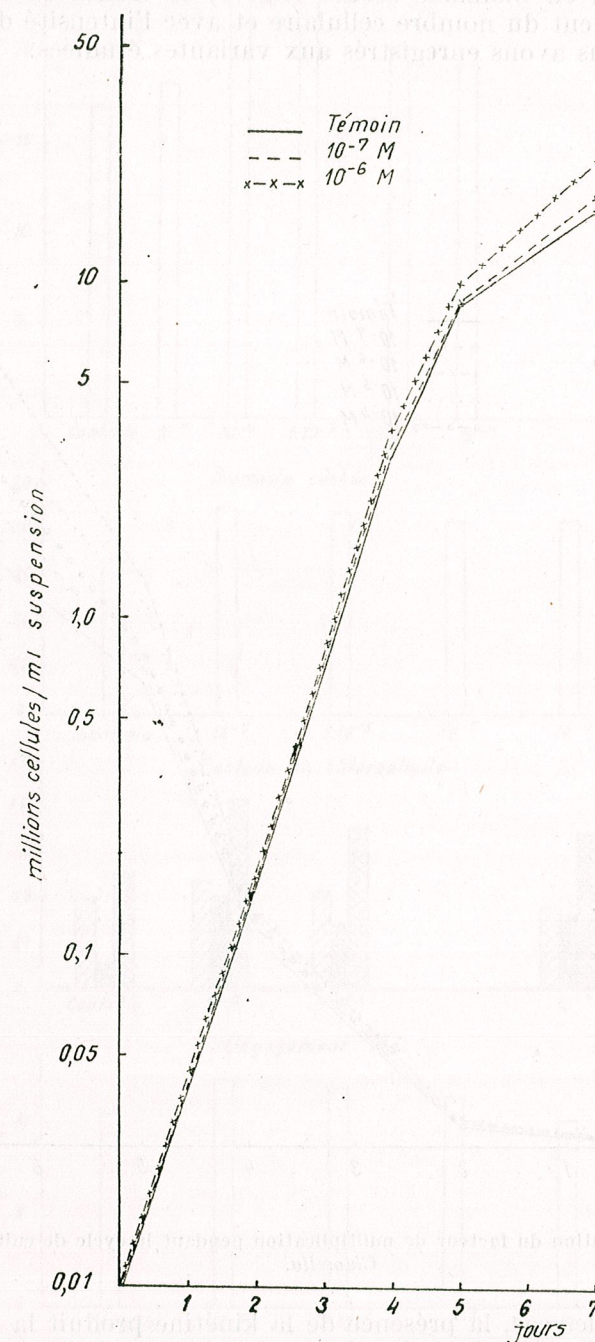


Fig. 1. — Dynamique du nombre cellulaire pendant le cycle de culture chez *Chlorella*.

Le contenu en biomasse séchée (fig. 3) se trouve en concordance avec l'accroissement du nombre cellulaire et avec l'intensité de la photosynthèse que nous avons enregistrés aux variantes étudiées.

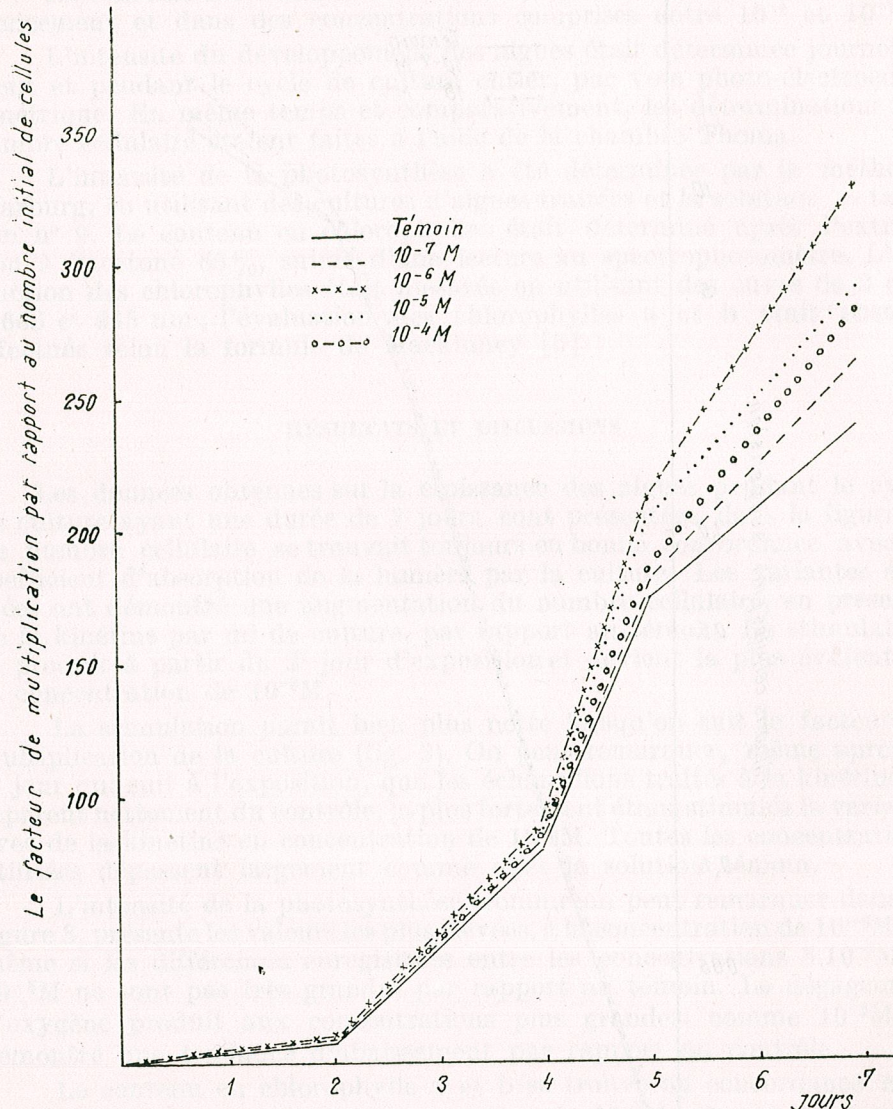


Fig. 2. — Evolution du facteur de multiplication pendant le cycle de culture chez *Chlorella*.

Dans tous les cas, la présence de la kinétine produit la stimulation des paramètres étudiés, les plus fortement étant influencés l'accroissement du nombre cellulaire, le contenu en chlorophylle et la biomasse séchée finale.

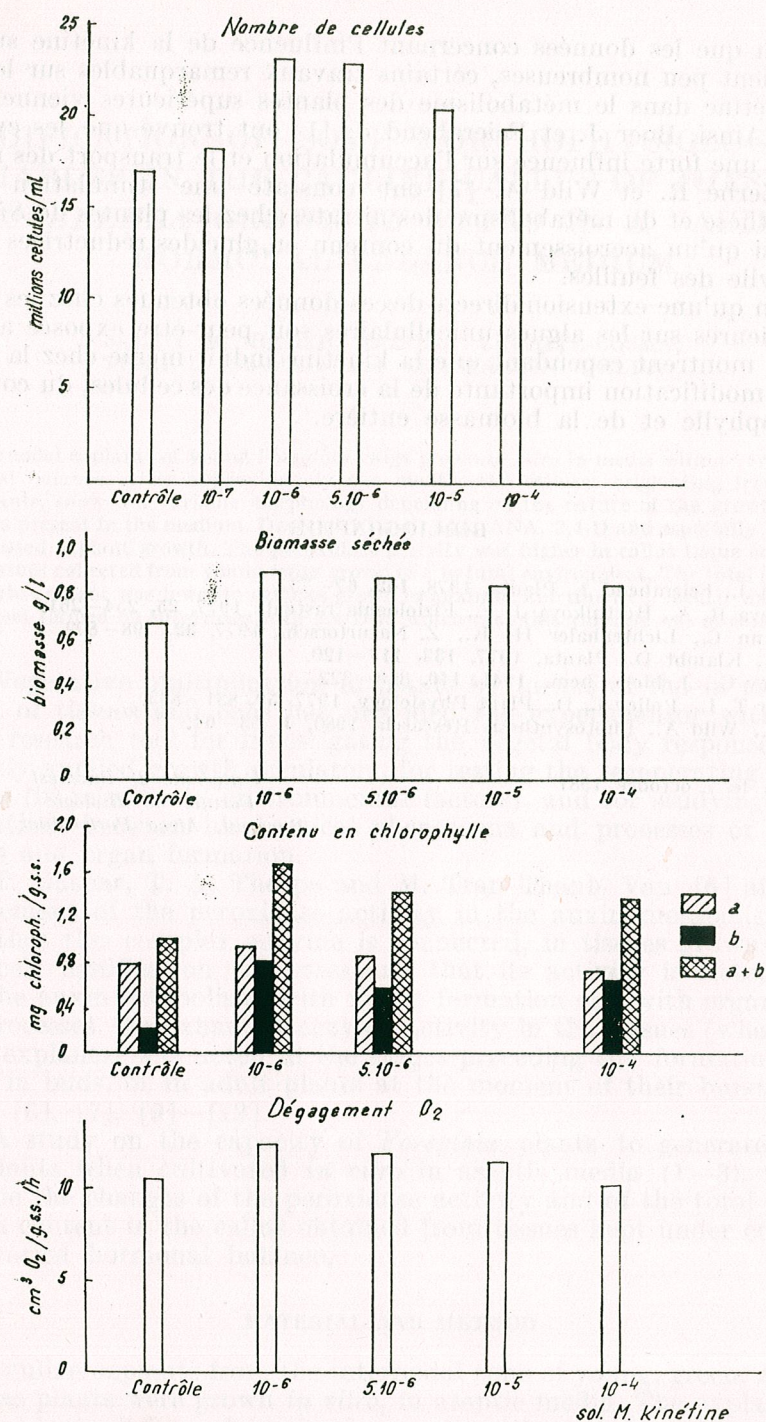


Fig. 3. — Influence de la kinétine sur le nombre cellulaire, la biomasse, le contenu en chlorophylle et le dégagement d'oxygène chez *Chlorella*, 7 jours après l'exposition dans la culture.

Bien que les données concernant l'influence de la kinétine sur les algues soient peu nombreuses, certains travaux remarquables sur le rôle de la kinétine dans le métabolisme des plantes supérieures viennent de paraître. Ainsi, Boer J. et Feierabend J. [1] ont trouvé que les cytokinines ont une forte influence sur l'accumulation et le transport des métabolites. Zerbe R. et Wild A. [7] ont constaté une stimulation de la photosynthèse et du métabolisme des nitrates chez les plantes de *Sinapis alba*, ainsi qu'un accroissement du contenu en glucides réductrices et en chlorophylle des feuilles.

Bien qu'une extension directe de ces données obtenues chez les plantes supérieures sur les algues unicellulaires soit peut-être exposée au risque, elles montrent cependant que la kinétine induit même chez la *Chlorella* une modification importante de la croissance des cellules, du contenu en chlorophylle et de la biomasse entière.

BIBLIOGRAPHIE

1. Boer (de) J., Feierabend J., *Planta*, 1978, **142**, 67-73.
2. Borzenkova R. A., Bortnikova J. F., *Fiziologhia rastenii*, 1977, **25**, 254-261.
3. Buschmann C., Lichtenhaler H. K., *Z. Naturforsch.*, 1977, **32**, 798-802.
4. Maab H., Klambt D., *Planta*, 1977, **133**, 117-120.
5. Mackinney G., *J. biol. Chem.*, 1941, **140**, 315-322.
6. Shininger T. L., Polley L. D., *Plant Physiology*, 1977, **59**, 831-835.
7. Zerbe R., Wild A., *Photosynthesis Research*, 1980, **1**, 53-64.

Reçu le 7 octobre 1981

Université de Bucarest
Faculté de Biologie
Bucarest, Aleea Portocalilor 1

MODIFICATION OF SOME MORPHOPHYSIOLOGICAL VARIABLES IN THE CAULINE CALLUS OF *FORSYTHIA SUSPENS*A GROWN *IN VITRO* IN A VARIED HORMONAL BALANCE MEDIUM

BY

SALEH M. BADER, DORINA CACHITĂ-COSMA,
TIBERIU OSVÁTH and CONSTANTIN DELIU

Internodal explants of young *Forsythia* twigs grown *in vitro* in media with a varied hormonal balance. After approximately one month, the calluses originating from these explants, showed a variable morphology depending on the nature of the growth regulators present in the medium. Doses of 10 mg/l AIA, ANA, 2,4-D and especially kinetine repressed explant growth. The peroxidase activity was higher in callus tissue compared to tissues collected from young twigs grown in a natural environment. The total (soluble) protein content was lower in calluses grown in auxin or kinetine-rich media, except for calluses formed on substrates with 2,4-D in which case this variable was augmented.

Vegetative multiplication in plants by means of the *in vitro* cultivation of tissues and cells has provided the experimenter with a very useful research tool for investigating the vegetal body response to exogenously applied growth regulators, for testing the regenerating capacity of cells (in relation to environmental factors), and for studying possible correlations between biochemical phenomena and processes of morphogenesis and organ formation.

T. Gaspar, T. A. Thorpe and M. Tran Thanh Van [6] affirm the involvement of the peroxidase activity in the auxin metabolism. They show that this complex enzyme is connected, in tissues grown *in vitro*, with cell lignification processes and that its activity is closely linked with the auxin catabolism, with xylem formation and with organ formation processes. An enhanced enzyme activity in the tissues (whether callus or explants) was noted in the stages preceding the formation of rhizomes in buds, or in adult plants at the moment of their bursting into flower [6], [7], [9]-[12].

A study on the capacity of *Forsythia* plants to generate *de novo* new plants when cultivated *in vitro* in aseptic media (1-3), made us examine the changes of the peroxidase activity and of the total (soluble) protein content in the callus obtained from tissues kept under conditions of a varied hormonal balance.

MATERIAL AND METHOD

Cauline explants from the internodal zone of young, green, *Forsythia suspensa* plants were grown *in vitro*, in aseptic media. The explants were collected in April from the twig of green tips (the first 6 cm from the top)

obtained from axillary buds of *Forsythia* cuttings rooted in the greenhouse parapet. The twig was sectioned transversally into fragments of about 2 cm long, with 2–2.5 mm in diameter. The explants were placed in an aseptic medium whose chemical composition was as follows: Knop 1/2 macroelements [4], Heller microelements [8], vitamins and White organic substances [14], FeEDTA [8], 20 g/l saccharose, 1 g/l, agar-agar, pH = 5.6. The experimental variants had a modified hormonal content and ratio in the growth substrate. The hormonal balance of each variant is given in Table 1.

Table 1

Scheme of experimental variants

Variants	Hormones used	Concentration (mg/l)
G ₀	Control	0
G ₁	2,4-D	10
G ₂	"	1
G ₃	"	0.1
G ₄	AIA	10
G ₅	"	1
G ₆	"	0.1
G ₇	ANA	10
G ₈	"	1
G ₉	"	0.1
G ₁₀	kinetine	10
G ₁₁	"	1
G ₁₂	"	0.1
G ₁₃	2,4-D + ANA + kinetine	10+10+10
G ₁₄	" " "	1+1+1
G ₁₅	" " "	0.1+0.1+0.1
G ₁₆	2,4-D + AIA + kinetine	10+10+10
G ₁₇	" " "	1+1+1
G ₁₈	" " "	0.1+0.1+0.1
G ₁₉	AIA + kinetine	10+10+10
G ₂₀	" "	1+1+1
G ₂₁	" "	0.1+0.1+0.1
G ₂₂	ANA + kinetine	10+10+10
G ₂₃	" "	1+1+1
G ₂₄	" "	0.1+0.1+0.1
G ₂₅	2,4-D + kinetine	10+10+10
G ₂₆	" "	1+1+1
G ₂₇	" "	0.1+0.1+0.1

Substrate test-tubes were sterilized by self-cleavage at 1 atmosphere for 25 m. Since the agar content was reduced, the growth medium was semifluid and so the plants were floating at its surface.

Inoculum test-tubes were kept in the laboratory (photo period: 12 hrs in the light and 12 hrs in the dark) at a temperature of 25–27°C in the day and 20–22°C at night. Fluorescent light was used (2,300 lx at the level of the cultures). The explants generated calluses.

Two months after the explants had been placed in the aseptic medium, determinations started being made on the content of total peroxidases [5] and of total soluble proteins [13]. Total peroxidases were assayed by triturating the calluses (2 g every time) in a phosphate buffer mixture, pH = 6; the mixture was centrifuged at 9000 rpm for 25 m, the supernatant being afterwards put into test-tubes previously maintained in an ice-bath. The total peroxidase content was assayed by the guaiacol method; in the presence of tissue extracted peroxidase and oxygenated water the colour becomes yellow-brown; the change of colour and intensity in time were recorded on a speed-type photocolorimeter (D.D.R.). The total soluble protein content was also determined from the supernatant, with Folin reagent, by Lowry's method [13]. Since this is a colour reaction, too, its intensity was estimated photocolorimetrically.

The means obtained after repeating the experiment three times for each variant (and three series of variants by repetition), were graphically represented in relative per cent values in relation to control data (cultures grown in hormone-free media) and taken 100%.

RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained after determining the total peroxidase activity and the content of total soluble proteins are shown in Figs 1, 2. The control test of biochemical analyses was the internode of young green twigs grown in a natural medium.

From the internodal explants of *Forsythia* tip twigs there developed variously shaped and sized calluses, depending on the nature of the hormones present in the culture medium and their ratio [1].

What should be emphasized in the first place are the morphological changes noticed during explant growth and particularly the fact that doses of 10 mg/l inhibited callus formation. Complete inhibition occurred in variants V₁₀, V₁₃, V₁₆, V₁₉, V₂₂ and V₂₅ that is, in the variants in which there was a 10 mg/l kinetine concentration. There was no hindrance of tissue growth or callus formation with 2,4-D, heteroeuxine (AIA) and alpha naphthalic acid (ANA) in doses of 10 mg/l. The callus was well developed in V₁ (with 2,4-D in the substrate) and V₇ (with ANA in the substrate), and rather not so in V₄ (with AIA in the substrate). In the central variant and in the variants with 10 mg/l kinetine (alone or mixed with various auxins) the explants necrosed.

Hormone concentrations of 1 mg/l and 0.1 mg/l (whether auxins, kinetine or auxin-kinetine mixtures, V₁₃–V₂₇), facilitated the growth of explants into calluses. The lower the hormone dose, the bigger the

calluses. In general, the presence of 2,4-D in the medium favoured the growth of the cell biomass. The callus that formed in exclusively kinetidine media (V_{11} — V_{12} in concentration of 1 mg/l and 0.1 mg/l) was small,

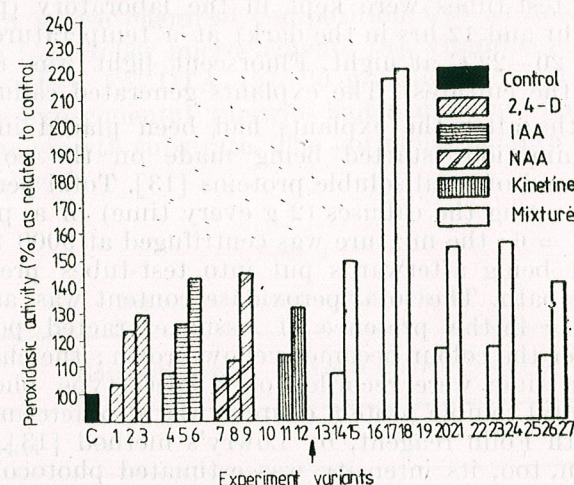


Fig. 1. — The total peroxidase activity in calluses originating from *Forsythia suspensa* cauline explants grown *in vitro* for two months in media with a varied hormonal balance.

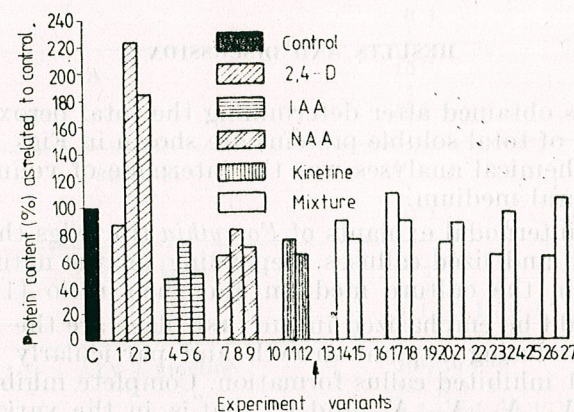


Fig. 2. — The total soluble protein content determined in calluses obtained from *Forsythia suspensa* cauline plants grown *in vitro* for two months, in a medium with a varied hormonal balance.

and it developed at either end of the explant. The explant volume *in vitro* was much increased. The callus was compact, with a velvet-like aspect, and dark green coloured. The other calluses especially those formed on 2,4-D substrates were better developed, larger, green, light-green or cherry coloured. Calluses grown in auxin media formed at the surface of the substrate and had an uneven crust-like aspect. Usually, a part

of the initial explant was submersed in the medium; it grew without turning into a callus, or being comprised in its mass, the callus mass developing on the surface, in contact with the air. After 45 days of vegetation, in the ventral portion of the callus of AIA variants (V_5 and V_6), small rootlets were observed.

The analysis of the total peroxidase content (Fig. 1), led to a second conclusion, namely, that the peroxidase activity was considerably augmented in callus tissues compared to the values of this variable in the cauline tissue of the internodal zone of green twigs. This augmented activity recorded maximum values in high hormone delutions, e.g. doses of 0.1 mg/l. Lower peroxidase values were found in kinetidine variants with maximum levels in the variants grown in a 2,4-D, AIA and kinetidine mixture (V_{16} — V_{18}), exceeding by 120 per cent control indices. We may say that a hormone mixture generally increased the peroxidase values in the calluses above the levels recorded in the variants with calluses formed in one hormone-type media. This experiment would indicate that the peroxidase activity is augmented by the presence of auxins in the medium, especially if their concentration is low (from 10 mg/l to 0.1 mg/l). This augmentation is to a certain extent dependent on the nature of the auxins; thus, highest values were recorded in AIA and ANA media (0.1 mg/l, V_{5-6} and V_{8-9} , Fig. 1), with lowest ones in 2,4-D (V_{1-3} , Fig. 1). The picture was unchanged in the case of hormone mixtures, too (V_{21} , V_{24} , and V_{27} , Fig. 1). It is quite possible that auxins (especially AIA and ANA) should enhance the peroxidase activity due to the stimulation or rhizome formation in the calluses (at two months after the mounting of the experiments). The marked increase of the peroxidase activity with mixtures of 2,4-D, kinetidine and AIA might somehow be explained by a higher percentage of the callus colour changing to a cherry tinge, an aspect indicative of physiological modification. But, experiments conducted so far could not elucidate the metabolic implications of this phenomenon. In point of ultrastructure, the process is expressed by the loading of the vacuolar juice with autocins and metabolites deposited in the vacuole in the form of conglomerates [1], [2]. Unlike the ultrastructures of a normal cell, or of a green callus cell of *Forsythia*, the green-cherry coloured callus cells have their chloroplasts turned into amyloplasts. So, in this type of callus, there is progressive deposition of substances taken from the nutritive substrate. It is risky to interpret this phenomenon at the level of molecular biology, or to link it to a greater or lower vitality of the callus tissues. Future experiments are expected to solve the problem.

The content of total soluble proteins (Fig. 2) in the callus of *Forsythia* (induced from internodal explants in media with a varied hormonal balance) oscillates in terms of the nature of the growth regulators present in the culture medium. In general, we noticed a decrease of the total soluble protein content under the effect of AIA, ANA, and kinetidine (Fig. 2, variants: V_{4-6} ; V_{7-9} ; V_{11-12} ; V_{20-21} ; V_{23-24}). The presence of 2,4-D in the culture medium had considerably augmented this variable (Fig. 2, variants V_{2-3}) especially at physiologically stimulating concentrations: 1 mg/l and 0.1 mg/l. With these doses, 2,4-D mixed with AIA or ANA (V_{17-18} and V_{26-27}) increased the total soluble protein content to values

close to the control ones, or even exceeded them. This could be due to the fact that most calluses formed on 2,4-D substrates, while the enhanced growth of these tissues and the higher total soluble protein content would indicate that 2,4-D is involved in the processes of proteosynthesis.

Our investigation led to the following conclusions:

1. Cauline mini-explants taken from the internodal zone of young *Forsythia suspensa* twigs grown *in vitro* in media with 2,4-D, AIA, ANA, or kinetine, developed and formed calluses. The shape, size, colour and consistency of the callus varied with the nature of the growth reagents present in the medium, kinetine alone or mixed with auxin (10 mg/l) inhibited explant cell growth, hence no callus formed and tissues necrosed; calluses were most abundant in a 2,4-D medium. The growth regulators present in the medium (1 mg/l and 0.1 mg/l) proved to stimulate callus formation and growth.

2. The peroxidase activity in the callus tissue was much enhanced in all the experimental variants as against young green twigs taken from *Forsythia* plants grown in a natural environment. Highest values were recorded with lowest hormone concentrations (0.1 mg/l). A significant increase of the peroxidase activity was noted in the callus grown in media with mixtures of 2,4-L, AIA and kinetine (the concentration of each hormone being of 1 mg/l or 0.1 mg/l). With doses of 10 mg/l 2,4-D, AIA, ANA the peroxidase activity was moderate, and very depleted at kinetine concentrations.

3. The total soluble protein content was lower in the tissue of calluses formed in AIA, ANA, kinetine media or their mixture. 2,4-D increased the percent of total soluble proteins in the calluses compared to young twig tissue (taken as control).

REFERENCES

1. Bader S. M., Thesis, The Agronomical Institute "Dr. Petru Groza", Cluj-Napoca, 1980.
2. Bader S. M., Cachiță-Cosma Dorina, Crăciun C., under print.
3. Bader S. M., Cachiță-Cosma Dorina, Osváth T., Deliu C., under print.
4. Gamborg O. L., Wetter L. R., *Plant Tissue Culture Methods*, Saskatoon, 1975.
5. Gaspar T., Khan A. A., Fries D., *Plant. Physiol.*, 1973, **51**, 146-149.
6. Gaspar T., Thorpe T. A., Tran Thanh, Van M., *Acta Horticulturae*, 1978, Symposium on tissue culture for horticultural purposes, 1977, Ghent, 61-74.
7. Hirsch A. M., Bligny D., Tripathi B. K., *Acta Horticulturae* 1978, Symposium on tissue culture for horticultural purposes, Ghent, 1977, 75-79.
8. Homès J., *Travaux pratiques de morphologie végétale. Histologie-Anatomie, Morphologie expérimentale*, Bruxelles, 1975.
9. Lee T. T., *Canad. J. Bot.*, 1971, **49**, 678-693.
10. Lee T. T., *Phytochem.*, 1974, **13**, 2445-2453.
11. Penel C., Thesis nr. 1667, 1976, University of Genève, 1-160.
12. Leschem Y., Galston A. W., Kaur-Sawhney R., Shih L. M., *Plant Growth Substances* (D. J. Carr ed.), 1970, 228-233.
13. Lowry O. H., Farr A. L., Randall R. J., *J. Biol. Chem.*, 1951, **193**, 139-149.
14. White P. R., *The cultivation of Animal and Plant Cells*, 2 ed., 1963, Ronald Press, New York.

Received October 25, 1980

Centre of Biological Sciences
Cluj-Napoca, Republicii 48

CONTRIBUTION TO THE BIOCONVERSION EFFICIENCY OF N-INORGANIC INTO N-ORGANIC BY ALGAE

BY

ADRIANA BARNA and FR. NAGY-TÓTH

The conversion ratio of nutrient-N into protein-N of the cells of *Scenedesmus acutiformis* and *Spirulina platensis* grown in different media, light intensity and vessels was followed. It was found that during the time elapsed till the end of log phase (when the samples were taken off) the conversion ratio (mg N in the media/mg N in the cells) varied largely (5.62-100%). The variation depended conversely on the amount of N and directly on the light energy available, but not on the quality of N-compounds (nitrates, urea) of the media.

The total protein content of the cells varied slightly (20.94-75.60%) (as compared to the conversion ratio) and was not correlated to N-available, therefore its higher values could not be the result of a higher bioconversion efficiency.

The bioconversion efficiency of energy resident in life processes is an essential criterion of the degree and the rate of recycling the energy carriers and of the net production of algae as well. Experimental data referring to the multiple biochemical and physiological processes which determine the efficiency of transformations from the inorganic phase into organic (cellular) one are not yet sufficient for applying in algae cultivation technologies discounted and expected about a quarter of century ago.

The light energy bioconversion coefficient reached 10% in several experiments. However, its further increase is not proportional with the material and intelligence investment needed. Compared to these endeavours much less effort has been spent to ascertain the efficiency of nutrients bioconversion.

A decisive prerequisite of algae cultures has been and is still their high protein content. Researches dealing with improvement of nutrient media fitted to algae [8] proved that the various N-sources suitable to algae, their quantities and ratios with other essential elements deeply modify [5] — within the limits of their genetic potential [21] — the trend of biosynthesis and thus the quantity of cell proteins, too. The attention of researchers being focussed mostly on increasing the productivity and the proteosynthesis correlated to the rate of consumption of the stock of nutrients [8]—[12], seems to neglect (at least compared to other topics tackled) the estimation of the capacity of cells for useful metabolism of these resources, i.e. the bioconversion of N-inorganic into N-organic (cellular compounds).

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. VÉGÉT., TOME 27, No 1, P. 29-35, BUCAREST, 1982

MATERIAL AND METHODS

It is relatively easy to maintain the nutrient balance in an artificial ecosystem of small- (laboratory-) scale, or of large- (semiindustrial or industrial) scale by a continuous control of the input and the output. But it is more difficult to design and control the nutrient flow from ecosystem and its conversion in cell structures because it depends on the energy cycle governed by physiological processes. To provide the highest level and best correlation of all factors required for a continuous algal growth and development is possible only in steady state cultures. However, under such conditions transition of elements from a physical state into live systems is so much subtle and variable as its detection needs a highly sophisticated apparatus.

The efficiency of metabolizing the nutrients into cell components and their consuming rate can be ascertained by batch cultures. The growth of these cultures is subject to distinct physiological and biochemical phases (i.e. lag, log, stationary, decline) as a consequence of the adaptation and the limiting factors. The physiological status of cultures is definitive in the analyses carried out. Under these circumstances from a larger number of experiments carried through with several species (strains) of algae (*Scenedesmus*, *Chlorella*, *Spirulina*) only the intensive batch cultures [13]–[16], have been selected, the continuous or semi-continuous ones being not taken into account.

The experimental conditions differed first of all in the composition of nutrient media, then in the initial cell density, the light intensity, the shape and volume of culture vessels, the time of cultivation elapsed, and of course in respect of the species used (table 1). However in spite of their diversity, the experiments could have been compared by the fact that the samples were taken in all cases at the end of log phase, as well as at the beginning of the stationary phase of the growth of cultures; standard for this being the control culture of the respective set of experiments.

The growth of cultures was determined by optical (FEK-56M) and cell (Bürker's hemacytometer) density, and by the biomass photosynthesized out of which the N and P and photosynthetic pigment contents were analysed. Total-N was determined by Kjeldahl modified by Scheitinina and Butenko (1957) [18] and Ginzburg et al. (1963) [6] on which the total protein contents were computed (multiplying by 6.25). The amount of mg N/liter nutrient solution compared to the mg N/liter cell suspension was the rule of computation of the bioconversion efficiency (table 1).

RESULTS AND DISCUSSIONS

The most important criterion in evaluating the usefulness of algae is their protein content, so their capacity to metabolize nutrient-N into organic cell compounds could be considered that way. The protein content in these cases varied between large limits (20.94–75.60%), depending especially on N-source of media. These variations are, otherwise, cha-

Table 1

The bioconversion coefficient of nutrient -N into cellular-N of *Scenedesmus acutiformis* and *Spirulina platensis* grown in various batch culture conditions

Algae	Device	Days	Optical density	Dry weight g/l	Nutrient media	N-sources	mg nutrient-N/l	mg nutrient-P/l	mg cell-N/l algal culture	nutrient N/cell-N	Coefficient of bioconversion %	Protein %/dry weight
Sc.a.	P.v.	11	1.340	4.60	orig. KPF*	KNO ₃ + Ca(NO ₃) ₂ (NH ₂) ₂ CO	149	41	164	0.91	100	22.25
		15	1.580	5.02	mod. KPF	"	1411	41	427	3.30	30.24	53.12
			0.835	2.30	orig. Tm	"	1400	284	210	6.66	15.03	57.19
		11	1.590	5.82	mod. Tm	(NH ₂) ₂ CO + soil extr.	1400**	284	525	2.66	37.54	56.43
		10	1.310	3.76	orig. KPF	KNO ₃ + Ca(NO ₃) ₂	149	41	142	1.05	95.38	23.62
			1.295	3.90	orig. KPF + ethanol	"	149	41	130	1.15	87.68	20.94
		8	1.230	3.14	mod. Tm	(NH ₂) ₂ CO + soil extr.	1400	284	289	4.84	20.63	57.50
			1.510	4.33	mod. Tm + Zizin	(NH ₂) ₂ CO	700	142	442	1.58	63.09	63.75
		11	1.280	4.61	orig. KPF	KNO ₃ + Ca(NO ₃) ₂	149	41	178	0.84	100	24.19
			1.110	3.24	orig. KPF + light	"	149	41	178	0.84	100	34.38
		9	1.680	5.62	mod. Tm	(NH ₂) ₂ CO + soil extr.	1400	284	450	3.11	32.11	50.00
			1.860	7.12	mod. Tm + light	"	1400	284	629	2.22	44.95	55.25
	V.t.	15	0.725	2.05	mod. Tm	(NH ₂) ₂ CO	1400	284	204	6.86	14.55	62.12
			0.940	2.21	mod. Tm + Zizin	"	700	142	162	4.27	23.43	46.37
			0.510	1.11	Tm-salts in W.W. beer fact.	"	1400	284	78	17.95	5.62	44.37
			0.865	2.19	Tm-salts in W.W. beer fact. + Zizin	"	700	142	210	3.33	30.03	60.00
		24	0.970	2.77	mod. Tm	(NH ₂) ₂ CO	1400	284	139	10.07	9.89	31.25
			1.020	3.06	" - Co	"	1400	284	187	7.49	13.33	38.13
			0.670	1.87	" + Co	"	1400	284	131	10.69	9.35	43.75
			1.030	2.08	" - Zn	"	1400	284	185	7.57	13.18	40.62
			0.910	1.56	" + Zn	"	1400	284	95	14.74	6.80	38.13
			0.910	2.33	mod. Tm + Zizin	"	700	142	126	5.55	17.98	33.75
	Sp.pl.	11	0.175	1.02	orig. Zar.	NaNO ₃	412	75	123	3.35	30.00	75.60
			0.462	2.62	mod. Zar.	"	412	75	157	2.62	38.00	37.56
			0.362	2.11	Zar. 2 × N	"	824	75	200	4.12	24.00	59.37
			0.328	2.44	Zar. 2 × P	"	412	150	188	2.19	46.12	48.12
			0.268	1.64	Zar. N + P	NaNO ₃ + (NH ₄) ₂ HPO ₄	412	75	140	2.94	34.00	53.38
			0.238	1.38	Zar. 1/6N	(NH ₄) ₂ HPO ₄	68	75	70	9.70	100	32.81

* Abbreviations : a) Algae : Sc.a. — *Scenedesmus acutiformis* ; Sp.pl. — *Spirulina platensis*. b) Devices : P.v. — parallelepipedal vessels ; V.t. — vertical glass tubes ; Erl. — Erlenmeyer flasks c) Nutrient media : orig. KPF — original Knop-Pringsheim-Felföldy ; mod. KPF — modified Knop-Pringsheim-Felföldy medium, by substituting the N-source ; orig. Tm — original Tamiya ; mod. Tm — modified Tamiya's medium by adding soil extract 10% ; mod. Tm + Zizin — modified Tamiya's medium diluted (to 1+1) with "Zizin" mineral water ; orig KPF + light and mod. Tm + light — at the start and the end of lightphase blue-, red- and yellow-light transition was applied [13] ; orig. Zar. — original Zarrouk ; mod. Zar. — modified Zarrouk medium in which Fe was chelated ; W.W. beer factory — waste water from beer factory.

** d) Mentions : the amount of N was slightly modified by the soil extract and the waste water added, but it was not determined.

racteristic of algae. However, the protein content of the cells, or its variations were not correlated to the N-amount of media, or to the coefficient of bioconversion of inorganic-N into organic-N. Therefore, its higher value in cells is not a consequence of a more efficient bioconversion.

The amount of metabolized-N (expressed in % as compared to the total nutrient-N) varied even much more than the protein content. The amount of metabolized-N could not be put in connection, undoubtedly, with the time of cultivation elapsed (from which it could not be exempted), as it could have been expected according to the rate of consumption of N-sources from media [8], [11], [12], or with the quantity of biomass synthesized. The data gathered showed evidently a **converse correlation**, apparently surprising enough, with the quantity of N of the medium. The less this quantity was, the higher the bioconversion coefficient became (*Scenedesmus acutiformis*). In various combinations of the modified Knop-Pringsheim's media, in which the N-sources were KNO_3 and $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ with a quantity of 149 mg N/liter, the rate of metabolization achieved 80–100 %. Meanwhile in variants of modified Tamiya's urea EH medium containing 1400 mg N/liter the rate of bioconversion was much lower, fluctuating between 10–30 %. The converse correlation has been found by *Spirulina platensis* cultures as well grown in the well-known Zarrouk medium and in its modifications with changed ratios of N : P. When the initial quantity of N in the medium was scarcely 68 mg/liter the bioconversion coefficient reached 100 %, while when it was 700 or 824 mg/liter this became merely 24.0–24.3 %; thus being comparable with the values of *Scenedesmus acutiformis* grown under weaker light, i.e. vertical glass tubes and modified Tamiya's medium diluted to 1+1 with "Zizin" mineral water (table 1).

The most balanced ratio (compared to data obtained and to some published ones) between nutrient-N and organic (cell)-N was found (of all experiments analysed) by the cultures grown in modified Tamiya's medium diluted to 1 + 1 with "Zizin" mineral water under optimal light conditions, i.e. in parallelepipedal plexiglas vessels. In these cultures the initial quantity of 700 mg N/liter nutrient solution into 63.9 % biomass-N was transformed, a value which could be compared with those published by Bhumiratana (1977) [3]. If, however, the cultures of this medium have been exposed to weaker light the bioconversion efficiency became less. Thus, the less bioconversion rate could be due, in this case, to insufficient light energy which, as it is known, stimulates the uptake of nitrates and urea by some species of *Chlorella* [2], [20].

The converse correlation of the bioconversion of nutrient-N is proved by some data published, from which these computations could be done. Thus, it is clear from Kuznetsov's (1967) [10] data that in *Chlorella* sp. K cultures grown in Tamiya's medium containing 629, and 1400 mg N/liter respectively the bioconversion ratio was hardly 10–12 %. However, in other experiments in the same medium but concentrations of 700, 280, or 140 mg N/liter and tripled dose of Fe the bioconversion coefficient was of 70 % and 100 % respectively, in concordance with the

decrease of initial N-contents of the media. In complete nutrient medium containing urea-N and ammonium-N sources in an amount of 85.18 mg N/liter the bioconversion efficiency by *Scenedesmus acutus* has been almost full [1]. Meanwhile if the urea containing medium was supplied with molasses, though N became less, its uptake was not complete and the bioconversion rate varied between 30–60 % [3].

The discrepancy between available-N and that assimilated has certainly many causes. Krauss (1961) [8] has affirmed that "the uptake of nutrients is not necessarily correlated with actual metabolic requirements", and Bhumiratana and Payer (1974) [4] have concluded that "if a strain can assimilate urea this does not mean, however, that it is a useful one". The dependence of absorption intensity on concentration, both of N in the media [17], [20] and of other nutrients, could be one of the most important causes. From the data considered it came out that the absorption and consumption of N were still more perfect and more efficient in those cases when its amounts in the media were less (the converse relation between efficiency and availability).

The difference (either greater, or lesser) between available-N and bioconverted-N calls the attention on some consequences of peculiar importance concerning the algae cultivation (either in absolute artificial media or in those based on waste waters) estimated as more prospective [7], [12] and generally the ecophysiological role of algae. The usefulness of algal cultures depends on a great number of factors (reappraised recently [7], [12]), thus implicitly on the bioconversion of N. From the estimated energy needs in U.S.A. for the year 1990 the highest amount realizable through algae could reach only 5–10 % (if the bioconversion efficiency is considered 10 % which is the highest at present), for which 2.2×10^{14} g N and 2.5×10^{13} g P would be necessary, which means that the whole stock of these elements would be exhausted in this way during 50 years [7]. The least useful quantity of N (but still in proportion with other nutrient elements) in a medium would be followed by its almost entire removal, however this would not result implicitly in a highest and most efficient possible productivity. Conversely, from a higher initial concentration of N in the medium a certain amount will remain unused. In the environment the dynamics of N-quantities can likely be, in equal proportion, favourable or unfavourable. Its most complete removal from polluted waters, of course, is desirable, yet this can be achieved more effectively from moderate quantities, but which fit with other factors and nutrients, especially with P. Its full exhaustion in unpolluted waters could have a consequence on the limitation of growth of a more diverse natural phytoplankton (which is more desirable in trophic chains) (i. 3. *Chlorophyceae*, *Xanthophyceae*, *Chrysophyceae*) and — at the same time — furthering a redundancy of N_2 -fixing blue-green algae, which are not affected by N-limitation [12]. Thus, apparently a paradox, just the removal of one of the most important eutrophication factors could cause its appearance.

CONCLUSIONS

In intensive batch cultures of *Scenedesmus acutiformis* and *Spirulina platensis* the bioconversion of N of the nutrient solution into cellular proteinic-N (mg nutrient-N/mg cell-N) varied between 5.62–100%. The variation did not correlate positively with the nutrient-N, ratio of N:P in the medium, algal species, amount of biomass photosynthesized, cell protein contents, or with the time of cultivation elapsed up to the end of log phase, within the experimental conditions given. Yet, a converse correlation was evident between the available-N and metabolized-N and a direct one with the light intensity at which the algae were grown.

The cell protein contents varied between 20.9–75.6% and did not correlate with the available-N, thus its higher values could not be due to a more efficient bioconversion. A more efficient bioconversion was found in media containing moderate (optimal or suboptimal) amounts of N; however, these did not assure higher productivities, or higher protein contents, but ascertained more complete consumption and removal. Higher concentrations of N in the medium could condition increased productivities and protein contents, but result in residual unused N.

REFERENCES

1. Becker E. W., Venkataraman L. V., *A Manual on the Cultivation and Processing of Algae as a Source of Single Cell Protein*, Central Food Technological Research Inst., Mysore (India), 1978.
2. Bekheet I. A., Syrett P. J., *New Phytol.*, London, 1979, **82**, 179–186.
3. Bhumiratana A., *Algae Project*, Ramkhamhaeng University Press (Thailand), 1977, 56–93.
4. Bhumiratana A., Payer H. — D., *Second Report on the Production and the Utilization of Microalgae as a Protein Source in Thailand*, Government Printing Office, Bangkok, 1974.
5. Davis E. A., Dedrick J., French C. S., Milner H. W., Myers J., Smith J. H. C., Spoehr H. A., *Laboratory experiments on Chlorella culture at the Carnegie Institution of Washington Department of Plant Biology*, In: Burlew J. S. (ed.), *Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant*, Carnegie Inst. Washington Publ. 600, Washington D. C., 1961, 105–153.
6. Ginzburg K. E., Sheglova G. M., Vulfius E. V., *Pochvovedenie*, 1963, **5**, 89–96.
7. Goldman J. C., Ryther J. H., *Mass production of algae: Bioengineering aspects*, In Mitsui A. et al. (eds.), *Biological Solar Energy Conversion*, Academic Press, London, 1977, 367–378.
8. Krauss R. W., *Inorganic nutrition of algae*, In Burlew J. S., op. cit. 85–102.
9. Kuznetsov E. D., *Fiziol. Rast.*, 1966, **13**, 25–28.
10. Kuznetsov E. D., *Fiziol. Rast.*, 1967, **14**, 626–633.
11. Kuznetsov E. D., Vladimirova M. G., *Fiziol. Rast.*, 1965, **12**, 33–38.
12. Oswald W. J., Benemann J. R., *A critical analysis of bioconversion with microalgae*, In Mitsui A. et al., op. cit., 379–396.
13. Péterfi Št., Barna A., Nagy-Tóth Fr., *Studia Univ. Babeş-Bolyai, Ser. Biol., Fasc. 1*, 1974, 25–33.
14. Péterfi Št., Nagy-Tóth Fr., *Studia Univ. Babeş-Bolyai, Ser. Biol., Fasc. 1*, 1973, 37–45.
15. Péterfi Št., Nagy-Tóth Fr., Barna A., *Studia Univ. Babeş-Bolyai, Ser. Biol.*, **20**, 1975, 17–33.
16. Péterfi Št., Nagy-Tóth Fr., Brugovitzky E., *Contrib. Bot., Cluj*, 1969, 321–329.
17. Rzezzycka M., Przytocka-Jusiak M., *Acta Microbiol. Polonica*, 1979, **28**, 135–144.
18. Schetinina L. L., Butenko V. A., *Pochvovedenie*, 1957, **8**, 98–101.
19. Seshadri C. V., Murugappa A.M.M., *Study of some engineering parameters and the effect of harvesting time in mass culture of algae*, In: Sun: Mankind's Future Source Energy, **2**, Proc. Int. Solar Energy Soc. Congr., New Delhi, 1978, New York, 1978, 782–86.
20. Tischner R., Lorenzen H., *Biochem. Physiol. Pfl.*, 1979, **174**, 99–105.
21. Vladimirova M. G., Rudova T. S., Shatilov V. R., Salamatova L. V., Nazarova G. D., *Fiziol. Rast.*, 1979, **26**, 1125–1134.
22. Zarnowski J., *Acta Hydrobiol. (Krakow)*, 1972, **14**, 215–223.

Received May 18, 1981

The "Babeş-Bolyai" University
Faculty of Biology
Cluj-Napca, M. Kogălniceanu 1

L'INFLUENCE DU TRAITEMENT À RAYONS GAMMA ET FOLCYSTÉINE-U CHEZ *HORDEUM VULGARE* L.

PAR

G. I. GHIORGHITĂ, ECATERINA TÛNDE TÓTH et T. POPESCU

In this paper the authors attempted to point out the influence exerted by the folcysteine-U administered before and after gamma irradiation. It has been noticed that the pre-irradiatory treatment, and especially the post-irradiatory one, contributed to the diminution of cytogenetic disturbances induced only with high doses of gamma rays. The most favourable action on the analysed genetical, physiological and biochemical parameters was obtained by applying a double treatment with folcysteine-U (both before and after gamma irradiation).

Ayant constaté l'existence d'une relation directe entre le niveau des combinaisons naturelles à soufre des organismes et leur radiorésistance bien de chercheurs ont entrepris de tester la capacité radioprotectrice de telles substances et de divers autres composés de synthèse qui contiennent du soufre dans leur molécule [1]—[5], [7]—[14].

Le mécanisme d'action de ces substances est complexe, du fait qu'elles contribuent à : réduire la pression de l'oxygène, réaliser leur interaction avec les peroxydes et les radicaux libres à longue vie, former les liaisons temporaires entre les groupes -SH des protéines et des protecteurs (ce qui empêche les produits radio-chimiques de léser les groupes -SH), augmenter le contenu des groupes -SH de nature non protéique, neutraliser les radio-toxines, former des complexons avec les acides nucléiques, etc.

Prenant comme point de départ quelques résultats des recherches antérieures dans ce domaine [5], [14], au cours de l'année 1979, nous avons testé la capacité d'un produit pharmaceutique roumain, la folcystéine-U, d'intervenir dans les processus de radio-protection et de radio-réfection de l'orge.

MATÉRIAUX ET MÉTHODES DE TRAVAIL

Des graines de *Hordeum vulgare* L., variété *Horpácsi* (récoltées en 1978), ont été traitées à des solutions de folcystéine U, soit avant, soit après l'irradiation, soit avant et après l'irradiation. La concentration de la solution du produit pharmaceutique est d'à peu près 100 mg/ml; une fiole contient 0,05 g d'acide follique, 0,250 g de chlorhydrate de cystéine et 0,250 g d'urotropine. Les concentrations que nous avons utilisées dans notre expérience ont été 10, 50 et 100 fois plus petites par rapport à la solution originelle et nous les avons notées par FC₁, FC₂

et FC₃. Les graines ont été irradiées avec des rayons gamma. Les doses employées : 1, 3, 5 et 8 kR pour un débit de la source de 220 R/mn.

Les graines traitées à la folcystéine avant l'irradiation ont été laissées 5 heures dans les solutions testées ; ensuite, on les a irradiées avec les doses mentionnées, après quoi, on les a laissées dans l'eau encore 5 heures. Les graines traitées après l'irradiation, ont été d'abord maintenues dans l'eau (5 heures), puis irradiées et à la fin, de nouveau, 5 heures dans les solutions de folcystéine. Les graines traitées à la folcystéine avant et après l'irradiation, sont restées donc dans ces solutions 5 heures avant et 5 heures après le traitement aux rayons gamma. Au moment de l'irradiation, les graines avaient une teneur en eau de 26,0 %.

Nous avons réalisé un total de 44 variantes expérimentales. Pour chaque variante, on a traité 200 graines. Après le traitement, les graines ont été mises à germer sur du papier-filtre dans des germoirs Linhardt et placées dans une pièce à végéter ayant des conditions semi-climatisées (température 23—25°C, humidité relative de l'air-presque 65 %, et luminosité 5000 lucs-illumination continue). Pour les petites plantes, âgées de 100 heures, on a déterminé : la survivance, la longueur des racines et des tiges, la teneur en azote total au niveau des deux organes des plantes, l'activité de la catalase et de la peroxydase (l'activité de ces deux enzymes dans les racines n'a été déterminée que pour quelques variantes, c'est pourquoi les données obtenues ne figurent pas en tableau). Les méthodes d'analyse utilisées ont été exposées dans d'autres travaux [6].

Pour l'étude des effets cytogénétiques des traitements avec les deux agents, on a pris les racines (d'une dimension de 1 à 2 cm) de 25 petites plantes de chaque variante. Celles-ci ont été fixées dans un fixateur éthanol-acide acétique 3:1. Pour les observations microscopiques, nous avons utilisé la méthode de coloration Feulgen et la technique « squash ».

Les résultats des recherches entreprises sont présentées dans le tableau 1.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

L'examen du tableau nous conduit à l'évidence que les traitements aux solutions de folcystéine-U, même diluées, telles qu'on les a utilisées, ont exercé un effet inhibiteur sur certains processus métaboliques des plantes, fait révélé par la réduction de leurs dimensions en comparaison des plantes de contrôle. Cependant, au niveau cytogénétique, le pourcentage de cellules présentant des aberrations chromosomiales est réduit, voire inférieur au pourcentage enregistré pour les plantes témoin.

Vu que, au moment de l'irradiation, les graines se trouvaient dans un état physiologique actif (la teneur en eau était de 26 %) leur susceptibilité au traitement aux rayons gamma a été évidente. Pour une dose de 8 kR, relativement réduite pour l'espèce présente, le pourcentage d'aberrations chromosomiales a été fort élevé — 24,75 (tableau 1). Les perturbations enregistrées au niveau cytogénétique ont conduit au dérèglement et à l'inhibition de certains processus biochimiques et physiologiques des plantes et, finalement, se sont répercutées de façon négative sur leur

croissance. Par conséquent, les dimensions des tiges se sont réduites au fur et à mesure que la dose d'irradiation augmentait.

Nous avons constaté aussi que l'activité de certaines enzymes oxydantes, ainsi que la teneur en azote total étaient spécifiques de l'organe analysé et en plus, ils réagissaient différemment au traitement aux rayons gamma. Dans les racines, la teneur en azote et l'activité de la catalase étaient plus réduites que dans la partie aérienne ; en échange, l'activité des peroxydases, était plus marquée.

À la suite de l'irradiation, la teneur en azote augmentait dans les deux organes observés. La situation change dans le cas des enzymes, c'est-à-dire que, au niveau des racines, l'activité de la catalase et de la peroxydase s'intensifie sensiblement, tandis que, dans la partie aérienne, l'activité des deux enzymes se maintient à des valeurs proches des valeurs enregistrées pour les plantes de contrôle.

Du fait qu'au moment de la germination des graines, les processus de risogénèse et les processus métaboliques sont très intenses dans les racines, il est normal qu'à la suite de l'irradiation l'activité des enzymes oxydantes augmente pour neutraliser les radiotoxines de nature peroxydique. Les résultats du test cytogénétique nous ont indiqué que les solutions de folcystéine-U administrées avant l'irradiation ne réussissent pas à contre-carrer l'effet exercé sur le matériel génétique par les radiations ionisantes. Le pourcentage de cellules aberrantes des plantes provenues du traitement combiné est proche du pourcentage enregistré pour les plantes provenant du traitement unique aux rayons gamma, excepté la dose de 8 kR où le pré-traitement aux solutions de folcystéine a manifesté des vertus radioprotectrices ($\bar{x} \% = 24,75$ pour 8 kR et respectivement 20,33 % — 15,73 % et 17,21 % dans le cas du traitement aux solutions FC₁, FC₂, FC₃ appliqué avant l'irradiation).

Ce qui est particulièrement intéressant c'est la réduction des déficiences génétiques correspondant à cette dose de 8 kR qui ne s'est pas répercutée positivement sur les processus de croissance des plantes. Et, paradoxalement, dans les autres combinaisons (var. 21—29) où, à la suite du traitement avec la folcystéine-U, la fréquence des cellules aberrantes avait les mêmes valeurs ou même elle augmentait, les processus de croissance des plantes s'amélioraient, les racines et les tiges enregistraient des dimensions supérieures.

Le traitement à la folcystéine avant l'irradiation a déterminé une réduction de la teneur en azote total dans les racines et une augmentation de celle-ci dans les tiges. En même temps, l'activité de la catalase diminue au niveau de la partie aérienne des plantes, tandis que l'activité de la peroxydase connaît des modifications insignifiantes.

Dans les conditions du traitement à la folcystéine-U appliqué après l'irradiation, les résultats du test cytogénétique n'ont pas été non plus suffisamment éloquentes. L'influence positive de la folcystéine ne s'est manifestée que pour les doses de 5 et 8 kR (variantes 27—32), auquel cas, le pourcentage de cellules aberrantes a été significativement inférieur au pourcentage enregistré pour les plantes traitées aux rayons gamma (variantes 7 et 8). Dans ce cas, comme dans les traitements appliqués avant

Tableau

Valeurs de quelques indices cytogénétiques, physiologiques et biochimiques

N°	La variante	A + T aberrantes	Longueur de racines (en mm)	Azote total % p.s.	Longueur de tiges (en mm)
		$\bar{x} \pm s\bar{x} \%$	$\bar{x} \pm s\bar{x}$		$\bar{x} \pm s\bar{x}$
1	Contrôle	2,15 0,03	48,65 1,04	2,55	50,17 1,27
2	FC ₁	1,50 0,02	45,22 0,85	3,98	41,50 1,09
3	FC ₂	1,85 0,02	43,38 0,87	4,01	42,66 0,88
4	FC ₃	1,77 0,02	47,12 0,80	3,44	42,18 0,96
5	AD + 1 kR	3,85 0,03	49,20 0,89	2,32	44,74 0,84
6	AD + 3 kR	5,75 0,03	38,52 0,86	2,26	40,75 1,02
7	AD + 5 kR	13,07 0,04	35,26 0,85	3,78	35,98 0,99
8	AD + 8 kR	24,75 0,04	27,02 0,94	3,15	32,62 1,09
9	FC ₁ + 1 kR	3,18 0,01	49,98 0,80	2,88	51,90 0,91
10	FC ₂ + 1 kR	3,92 0,02	48,42 0,80	2,65	47,50 1,00
11	FC ₃ + 1 kR	4,43 0,02	48,70 0,80	—	47,26 0,77
12	FC ₁ + 3 kR	7,70 0,02	42,70 0,76	1,50	39,38 0,90
13	FC ₂ + 3 kR	5,86 0,02	44,62 0,78	1,87	43,86 0,93
14	FC ₃ + 3 kR	9,50 0,02	42,86 0,76	1,29	51,18 0,91
15	FC ₁ + 5 kR	12,97 0,03	37,60 1,20	3,03	45,35 1,55
16	FC ₂ + 5 kR	15,24 0,03	39,30 0,83	3,06	40,10 0,87
17	FC ₃ + 5 kR	13,51 0,03	38,02 0,92	2,07	39,34 0,79
18	FC ₁ + 8 kR	20,33 0,11	26,34 0,94	3,40	32,62 0,92
19	FC ₂ + 8 kR	15,73 0,04	27,72 0,69	2,56	37,45 0,63
20	FC ₃ + 8 kR	17,21 0,04	25,40 0,73	2,31	28,80 0,99
21	1 kR + FC ₁	5,00 0,03	47,19 0,50	3,24	51,86 0,54
22	1 kR + FC ₂	5,61 0,02	44,06 0,70	3,43	55,85 0,96
23	1 kR + FC ₃	5,25 0,04	47,90 0,90	—	46,60 0,93
24	3 kR + FC ₁	6,54 0,02	39,02 0,80	3,05	44,42 0,87
25	3 kR + FC ₂	—	40,78 0,75	2,08	47,05 1,01
26	3 kR + FC ₃	10,08 0,03	44,38 0,72	2,66	53,06 0,80
27	5 kR + FC ₁	11,46 0,04	33,73 0,73	3,45	37,66 0,89
28	5 kR + FC ₂	7,46 0,04	32,85 1,13	1,83	43,40 1,21
29	5 kR + FC ₃	8,39 0,03	36,46 0,84	1,99	54,55 0,95
30	8 kR + FC ₁	18,01 0,07	22,80 0,84	2,31	32,00 1,02
31	8 kR + FC ₂	17,37 0,07	20,96 0,77	2,65	32,75 1,21
32	8 kR + FC ₃	19,38 0,05	20,90 0,89	2,73	32,70 0,98
33	FC ₁ + 1 kR + FC ₁	2,83 0,02	41,33 0,60	3,57	48,16 0,61
34	FC ₂ + 1 kR + FC ₂	3,31 0,03	39,03 0,66	—	43,94 0,85
35	FC ₃ + 1 kR + FC ₃	2,46 0,01	43,68 0,59	3,49	46,78 0,39
36	FC ₁ + 3 kR + FC ₁	5,11 0,02	38,90 0,62	1,92	48,42 0,71
37	FC ₂ + 3 kR + FC ₂	3,69 0,02	41,70 0,84	2,77	55,95 1,03
38	FC ₃ + 3 kR + FC ₃	2,32 0,01	42,05 0,92	2,82	52,24 1,15
39	FC ₁ + 5 kR + FC ₁	8,42 0,03	31,74 0,91	2,71	40,24 1,15
40	FC ₂ + 5 kR + FC ₂	6,79 0,02	32,38 0,80	3,03	45,65 1,00
41	FC ₃ + 5 kR + FC ₃	11,86 0,02	33,06 0,75	3,60	42,15 0,91
42	FC ₁ + 8 kR + FC ₁	17,18 0,03	24,38 0,88	2,10	40,65 1,05
43	FC ₂ + 8 kR + FC ₂	13,58 0,07	28,42 0,86	3,70	43,62 0,82
44	FC ₃ + 8 kR + FC ₃	16,74 0,04	29,06 0,80	2,24	44,60 0,71

AD = l'eau — 5 heures; FC₁ = folcystéine 11 mg/ml — 5 heures; FC₂ = folcystéine et télophases

1

chez *Hordeum vulgare* L. traité aux rayons gamma et folcystéine-U

Sucres	Azote aminique libre % p.s.	Azote total % p.s.	L'activité			
			Catalasique		Peroxydasique	
			H ₂ O ₂ mg/ml	Activ. sp.	H ₂ O ₂ mg/ml	Activ. sp.
5,77 15,85	3,07	4,41	22,26	9,19	5,63	2,32
7,51 22,12	2,24	4,47	22,16	8,92	6,99	2,81
5,95 18,91	2,69	5,03	20,04	7,55	6,51	2,45
9,13 20,28	2,00	5,02	19,69	—	6,96	—
10,64 31,54	2,26	4,90	19,65	8,09	6,33	2,61
11,11 37,93	3,41	4,72	15,89	6,60	5,40	2,24
6,09 28,97	3,11	5,06	19,15	7,63	5,35	2,13
10,35 42,28	3,75	5,17	19,11	8,21	6,19	2,66
6,76 14,91	3,54	6,08	19,78	8,30	6,07	2,54
7,24 19,65	3,00	5,33	20,14	8,29	6,04	2,49
7,50 28,59	3,33	5,15	19,83	7,67	6,39	2,47
7,15 27,70	2,86	—	—	—	5,97	2,29
8,98 22,46	3,18	—	19,36	8,26	5,32	2,27
4,50 13,79	2,32	4,83	19,76	8,03	5,48	2,22
8,95 23,25	2,93	4,72	19,05	7,77	6,84	2,79
11,08 25,52	2,80	5,44	17,57	8,52	—	—
8,69 18,79	3,46	5,21	16,76	6,27	5,35	2,00
2,69 5,79	3,19	5,98	16,80	6,94	6,11	2,52
16,46 29,88	3,31	5,10	15,53	6,50	5,85	2,45
6,84 29,26	3,24	5,89	16,71	6,85	5,77	2,37
6,57 16,65	1,50	4,40	17,97	7,88	6,17	2,70
9,34 22,57	2,49	4,49	—	—	—	—
4,85 26,65	2,98	4,62	16,80	6,83	5,15	2,09
8,79 22,67	2,23	5,34	19,54	8,41	6,07	2,60
6,72 19,06	1,70	5,38	18,69	7,36	6,41	2,72
1,19 14,89	2,14	4,71	18,21	7,17	6,25	2,46
14,77 26,38	5,06	5,37	16,24	6,77	6,63	2,76
6,79 15,86	1,72	5,42	18,71	7,26	6,47	2,51
5,82 15,52	2,59	3,90	19,60	7,81	6,27	2,50
13,81 34,53	5,52	4,03	15,84	7,27	6,08	2,79
2,34 5,40	2,33	4,75	17,61	7,39	6,37	2,67
8,11 23,52	3,81	5,43	15,49	6,05	6,28	2,45
7,30 19,97	2,90	5,22	17,92	7,45	5,41	2,25
13,01 32,53	3,61	5,07	18,13	7,12	5,51	2,16
4,37 13,62	2,26	3,70	17,79	6,84	6,39	2,45
8,21 25,26	3,93	5,47	18,87	6,90	7,15	2,61
9,67 35,69	3,53	5,32	18,22	7,38	6,65	2,69
7,70 23,25	2,40	4,39	18,69	7,48	5,88	2,35
3,24 17,46	1,58	5,09	18,03	6,73	6,53	2,44
10,76 25,97	2,98	4,97	18,78	7,63	5,48	2,23
2,25 6,92	1,51	4,95	17,16	6,27	6,01	2,20
5,88 34,55	3,68	5,25	16,89	6,59	6,17	2,41
7,43 22,23	3,85	5,37	20,23	7,44	7,20	2,65
7,85 22,42	3,44	4,95	15,24	5,88	5,54	2,14

2,2 mg/ml — 5 heures; FC₃ = folcystéine 1,1 mg/ml — 5 heures; A + T = anaphases aberrantes.

l'irradiation, les résultats des tests effectués ont été en quelque sorte contradictoires, dans le sens que, l'amplification ou la diminution des perturbations cytogénétiques n'était pas directement corrélée à la dynamique des processus de croissance. Par conséquent, les dimensions des plantes ont été supérieures aux dimensions des plantes provenant du traitement unique aux rayons gamma. Les effets les plus favorables ont été enregistrés sur les variantes 22 (avec un surplus de croissance de 24,8 % par rapport à la variante 5), 26 (30,2 % par rapport à la variante 5) et 29 (surplus de croissance supérieur de 51,6 % en comparaison des plantes de la variante 7), (tableau 1). Le comportement des autres indices biochimiques analysés a été, en général, identique à celui déjà commenté à propos du traitement à la folcystéine-U appliqué avant l'irradiation.

On peut donc conclure que l'administration des solutions de folcystéine-U soit avant, soit après le traitement aux rayons gamma n'a pas été suffisamment révélatrice quant à la modification des perturbations induites par les radiations au niveau cytogénétique. En échange, l'application d'un traitement double à la folcystéine (c'est-à-dire avant et après l'irradiation, variantes 33-44) a déterminé, sans aucune exception, la diminution du pourcentage de cellules comportant des aberrations chromosomiales. Les plus efficaces dans ce cas ont été les solutions FC₂ et FC₃.

On s'est demandé pourquoi dans les conditions nouvellement créées au niveau cytogénétique par le traitement double avec la folcystéine, les perturbations induites par les rayons gamma dans les processus de croissance des racines ne s'amélioraient pas. Comme on peut voir dans le tableau, non seulement les dimensions des racines n'ont pas augmenté, mais celles-ci ont été bien plus petites que celles des plantes des variantes traitées rien qu'aux radiations. Au niveau des tiges pourtant, la situation a été celle prévue, c'est-à-dire que, dans toutes les combinaisons, la folcystéine a engendré en même temps la diminution des perturbations cytogénétiques et l'amélioration des processus de croissance, la taille des plantes étant supérieure à celle des plantes provenant du traitement unique aux radiations. L'amendement des processus de croissance a été possible grâce à la normalisation de certains processus métaboliques. Ainsi, par exemple, l'activité de la catalase dans les tiges a été un peu plus réduite; au niveau des racines, l'intensité des deux enzymes oxydantes investiguées avait diminué. A cette occasion nous avons constaté aussi que l'activité de la catalase était plus importante dans la tige, alors que, dans la racine, c'était la peroxydase qui prévalait. D'ailleurs, l'activité de la peroxydase au niveau de la tige enregistrerait des oscillations insignifiantes en fonction des traitements administrés.

Les résultats que nous avons obtenus dans nos recherches quant à la folcystéine-U sur les processus radio-biologiques induits par les rayons gamma au cas de la *Hordeum vulgare* n'ont pas été suffisamment éloquentes dans les combinaisons simples. Comme nous l'avons déjà vu, appliquée avant ou après l'irradiation, la folcystéine ne diminuait les perturbations cytogénétiques des radiations que pour les doses fortes de rayons gamma. La situation a changé lorsqu'on a administré le traitement double avec folcystéine — U (avant et après l'irradiation), quand, l'effet améliorateur de la folcystéine, à tous les niveaux investigués, a été indubitable. Ce dernier fait nous amène à avancer l'idée que la durée du traitement à la

folcystéine, dans de semblables recherches, peut être un facteur extrêmement important. Il est possible aussi qu'on obtienne, par les traitements simples mais échelonnés sur une plus longue période, d'autres résultats, similaires aux résultats enregistrés par le traitement double. Il s'impose comme nécessaire également un autre emploi de concentrations des solutions, ainsi que le test séparé de chacune des substances qui entrent dans la composition de la folcystéine-U. Et cela parce que, si l'on connaît relativement bien les effets pré- et postirradiatoires de la cystéine, on ne peut pas dire la même chose quant à l'acide folique et à l'urotropine.

Sans doute, les résultats obtenus impliquent un rôle particulier de la cystéine; pourtant, les effets révélateurs constatés lors de l'administration de la folcystéine avant et après le traitement aux rayons gamma supposent une intervention efficace de celle-ci dans les processus de radio-réfection, outre son action radioprotectrice. L'affirmation ci-dessus repose aussi sur le fait que, par l'administration de la folcystéine en dose simple à certaines variantes, nous avons réalisé une amélioration des processus de croissance même dans les conditions du maintien ou de l'amplification des perturbations cytogénétiques induites par les rayons gamma. Nous considérons que la folcystéine contribue à la réfection de l'activité de certaines enzymes, à la neutralisation de certaines radiotoxines, à la diminution des perturbations cytogénétiques radio-induites, et finalement, à la normalisation des processus métaboliques des organismes irradiés et à l'amélioration des processus de croissance.

Les résultats que nous avons obtenus sont intéressants et prometteurs; ils plaident pour l'amplification de ce genre de recherches et leur extension aux organismes animaux, en vue d'une application ou la suppression de certaines manifestations de la maladie d'irradiation chez l'homme.

CONCLUSIONS

Les recherches que nous avons entreprises relatives aux effets des rayons gamma de la folcystéine-U sur la *Hordeum vulgare* variété *Horpácsi* nous ont conduit aux conclusions suivantes:

— Se trouvant dans un état physiologique actif (26 % teneur en eau), les graines d'orge ont fait le preuve d'une radio-sensibilité très élevée. Au niveau des racines, dont les processus de croissance ont été plus fortement affectés par l'irradiation, l'activité de la catalase et de la peroxydase s'est intensifiée.

— Les traitements à la folcystéine-U précédant l'irradiation et surtout les traitements administrés après l'irradiation ont conduit à la réduction des perturbations cytogénétiques induites par les rayons gamma seulement aux doses fortes d'irradiation. Indépendamment de l'effet cytogénétique, ces traitements ont exercé une influence positive sur les processus biochimiques et physiologiques des tiges des plantes et ont stimulé leur croissance.

— Lorsqu'on a administré les solutions de la folcystéine-U avant et après l'irradiation, le pourcentage de cellules manifestant des aberrations chromosomiales a été nettement plus réduit et les dimensions des

tiges ont été évidemment plus grandes que pour les plantes traitées rien qu'aux rayons gamma. Au niveau des racines, la folcystéine a réduit l'activité des enzymes investiguées, mais elle n'a pas amélioré les processus affectés négativement par le traitement aux rayons gamma.

— Les résultats obtenus et, en particulier, le fait que la folcystéine-U contribue à l'amélioration de certains processus physiologiques même en présence de perturbations cytogénétiques importantes induites par les rayons gamma, nous permettent d'affirmer que, outre l'action radio-protectrice, la folcystéine intervient de manière efficace dans les phénomènes de radio-réfection. Elle contribue à la réfection de l'activité des enzymes, à la neutralisation de radiotoxines, à la normalisation de certains processus et fonction des plantes irradiées qui conduisent à la diminution des perturbations génétiques et à l'amélioration de leurs processus de croissance.

BIBLIOGRAPHIE

1. Bacq Z. M., *Chemical protection against ionizing radiation*. Ch. T. Thomas publish., Springfield, Illinois, USA, 1965.
2. Bacq Z. M., Liébecq C., *Drugs and enzymes*. Proceed. 2-nd Internat. Pharmacol. Meeting, Aug. 20—23—1963, Pergamon Press, Oxford, Edinburgh, New York.
3. Bacq Z. M., *Radiobiologia și biologia moleculară*. Ed. medicală, București, 1967, p. 13—32.
4. Bayonove J., Marien J. N., Ravelomanana D., Soler A., Jonard R., Marie R., Pereau Leroy P., *Radiation Botany*, 1975, **15**, 349—362.
5. Brezeanu Aurelia, Táciná Fl., Ciobanu I., *Rev. Roum. Biol., Sér. Biol. vég.*, 1980, **25**, 1, 87—91.
6. Ghiorghiță I. G., *Repercusiuni de natură fiziologică ale unor procese genetice declanșate de tratamente cu radiații ionizante și în câmpuri magnetice la plante de ploidii diferite*. Thèse de doctorat, Univ. «Al. I. Cuza», Iași, 1975.
7. Gigineishvili K. A., Gudkov I. N., Zezina N. V., *Biofizika*, 1974, **75**, 2, 449—52.
8. — *Biofizika*, 1974, **73**, 1, 185—188.
9. Gigineishvili K. A., Gudkov I. N., *Radiobiologia*, 1975, **1**, 4, 321—324.
10. Gudkov I. N., Grodzinski D. M., *Radiobiologia*, 1972, **12**, 2, 260—266.
11. Gudkov I. N., *Radiobiologia*, 1972, **12**, 3, 467—471.
12. Reddy C. S., Smith J. D., *Environ. Exp. Bot.* 1978, **18**, 4, 241—243.
13. Semerdjean S. P., *Simp. Deistvie radiatsii na rastenia*, 1971, Tashkent, Izd., „FAN”, UzbSSR.
14. Spârchez Constanța, Uray Z., Maniu Mariana, Ban Camelia, *St. cerc. biol., Ser. biol., veg.*, 1979, **31**, 2, 111—113.

Reçu le 9 février 1980

Station de recherches «Stejaru»
5648 Pingărași, Neamț

MODIFICATION DE L'ÉQUILIBRE PHYSICO-CHIMIQUE DU SUC VACUOLAIRE DE L'ÉPIDERME DES PÉTALES DE PIVOINES (*PAEONIA OFFICINALIS*) SOUS L'INFLUENCE DE LA CAFÉINE

PAR

A. IONICĂ, DORINA CACHIȚĂ-COSMA et C. CRĂCIUN

Caffeine, at concentrations of 0.1—1 g/l, easily penetrates the epidermal cells of peony petals, inducing the corpuscular formations looking like those obtained after similar treatments using procaine. Although both compounds are chemically different, the vacuolar processes have the same appearance but they are not identical. In the molecular structure of corpuscles there are implicated the vacuolar phospholipides as well as other components of the cellular sap. Anthocyanins are adsorbed into corpuscles. The longer is the treatment with caffeine, the clearer becomes the process of small corpuscles, the big ones being vacuolised.

Les vacuoles jouent un rôle particulièrement important dans l'établissement de l'équilibre biologique entre la cellule et le milieu ambiant, ou entre les divers types de tissus constituant un organisme végétal. Les vacuoles peuvent également emmagasiner divers produits de métabolisme, accumuler certaines substances en excès dans la cellule et même annihiler l'effet toxique de certaines substances qui pénètrent dans le cytoplasme et dans le suc vacuolaire. Le rôle complexe des vacuoles dans la vie des cellules dépend aussi des fonctions des différents types de cellules qui constituent un organisme végétal.

Le phénomène d'absorption des colorants vitaux dans les vacuoles des cellules, ainsi que celui d'autres substances chimiques, étrangères à l'organisme végétal sont bien connus [1], [4], [5], [8—10], [12]. La pénétration de celles-ci dans la cellule permet de constater leur accumulation dans les vacuoles, soldée parfois par l'apparition de formations, de forme et grandeurs diverses, en fonction de la nature chimique des constituants de suc vacuolaire. Ainsi, les flavons et les tanins sont considérés comme responsables de la formation de certains corpuscules dans les vacuoles comme suite de l'accumulation des colorants vitaux basiques (rouge neutre ou bleu de méthylène) [4], [5], [8]—[10]. D'ailleurs on sait aussi que d'autres substances, une fois dans la vacuole, perturbent l'équilibre physico-chimique des constituants de suc vacuolaire.

Nous avons précisé dans des travaux antérieurs que la procaine est un tel composant chimique qui, une fois accumulé dans les cellules, déclenche un phénomène de corpusculation des substances qui sont dissoutes dans le suc vacuolaire [1]—[3]. De même, la caféine, la théophylline, la théobromine et autres dérivés du noyau purinique mènent à l'altération de l'équilibre du suc vacuolaire à mesure que ce dernier pénètre dans les vacuoles.

On suppose, aussi bien au cas de la procaine, qu'au cas des dérivés à noyau purinique, que les molécules ou phospholipides se groupent d'une certaine manière et donnent naissance à des formations corpusculaires de type sphérique ou à des conglomerats [1]—[3], [6], [7].

Etant donné nos études effectuées sur la réactivation des vacuoles des cellules de l'épiderme, en particulier celles des pétales de fleurs provenant des plantes dicotylédones, moyennant le microscope optique, nous avons jugé opportun d'approfondir ces recherches sur le plan ultra-structural.

MATÉRIEL ET MÉTHODE DE TRAVAIL

Des fragments de pétales de pivoines ont été infiltrés dans le vide, dans de l'eau distillée et ont été ensuite plongés dans une solution de caféine en concentration de 1 g/l. Périodiquement, on a effectué des observations au microscope optique; 48 heures après, on a fixé des fragments des pétales pour le microscope électronique. Le matériel végétal a été passé dans une solution de glutaraldéhyde en tampon phosphaté au pH 7,4, puis a été inclus dans du Westopal. Les blocs ont été sectionnés à l'aide d'un microtom LKB-Ultratome III et l'examen des préparations (des sections) a été réalisé au moyen d'un microscope électronique TESLA type BS-613.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Les cellules épidermiques des pétales de pivoines sont extrêmement perméables à la solution de caféine. Au microscope optique on a constaté que la pénétration de la caféine dans les vacuoles détermine l'apparition d'une série de petites sphères hyalines, en mouvement brownien, qui confluent à une durée de traitement prolongée [5], [6], [7], [12]. Le processus évolue en temps et a la tendance à se stabiliser, mais seulement après la réunion des corpuscules minuscules en 1—3 grandes sphères qui occupent une grande place dans les vacuoles. En général, 48 heures après ce processus s'achève, un prolongement du traitement menant à une altération de la structure interne des corpuscules et finalement à la mort des cellules. Les cellules maintenues en solution de caféine conservent très longtemps leur turgescence; elles se maintiennent rigides et viables. En comparaison du phénomène d'altération de l'équilibre du suc vacuolaire dans l'épiderme des pétales de pivoines, causé par d'autres substances, la procaine ou le diéthylaminoéthanol, la caféine s'avère bien plus perméable que les substances déjà citées, phénomène apprécié d'après la vitesse de formation des corpuscules. Au niveau de la microscopie électronique, les corpuscules formés dans les vacuoles, comme suite au traitement à la caféine, sont grands et fréquents et sont ancrés sur la face interne du tonoplaste. Dans le cas de la procaine, les corpuscules étaient de règle sphériques et flottaient dans les vacuoles, leur masse était compacte et l'électron dense: d'autre part, sur le tonoplaste, au contact avec le suc vacuolaire on remarquait un dépôt massif (électron dense) estimé être de nature phospholipidique [1], [2], [3]. Les corpuscules formés dans les vacuoles comme suite de la présence de la caféine dans le suc vacuo-

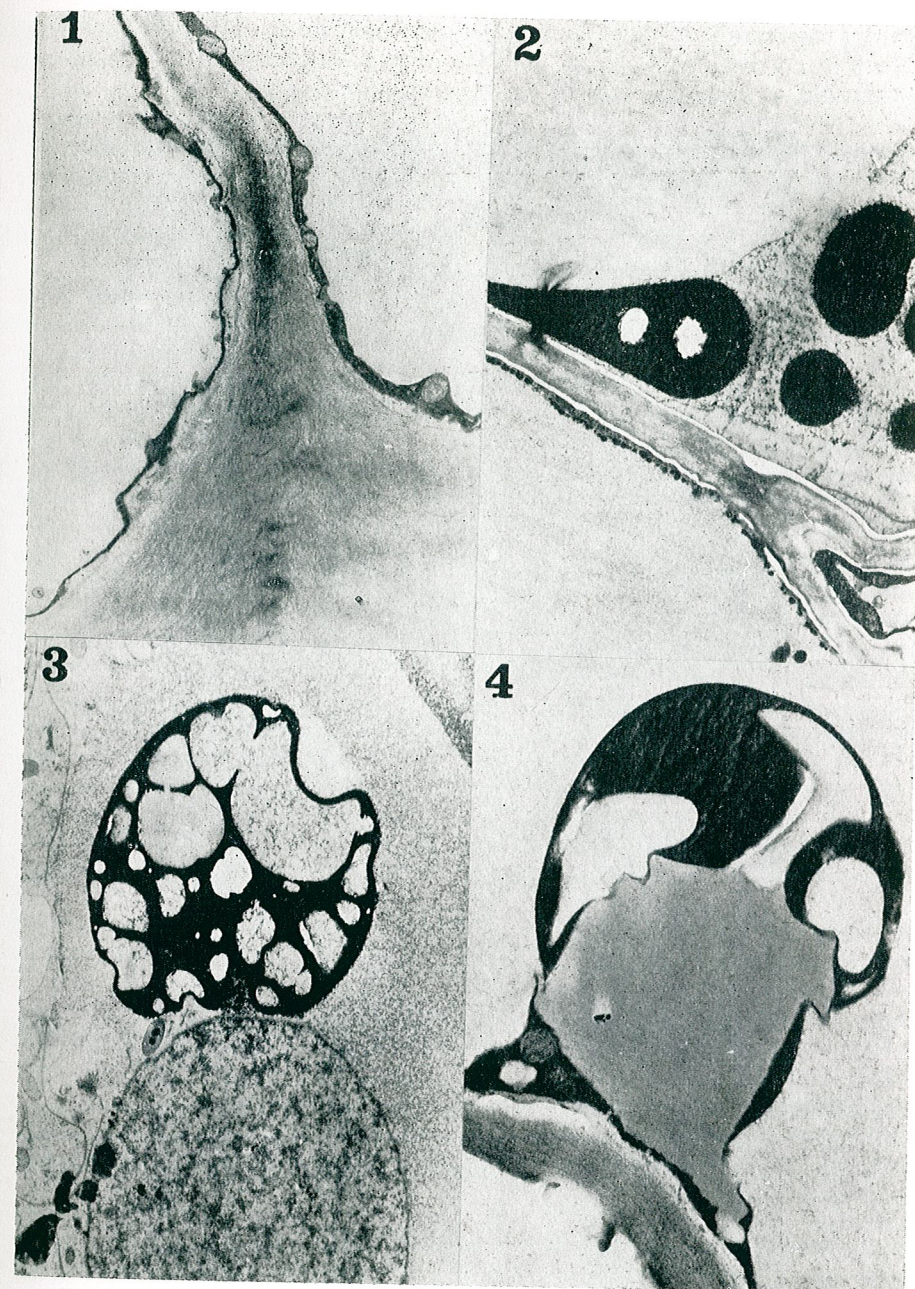
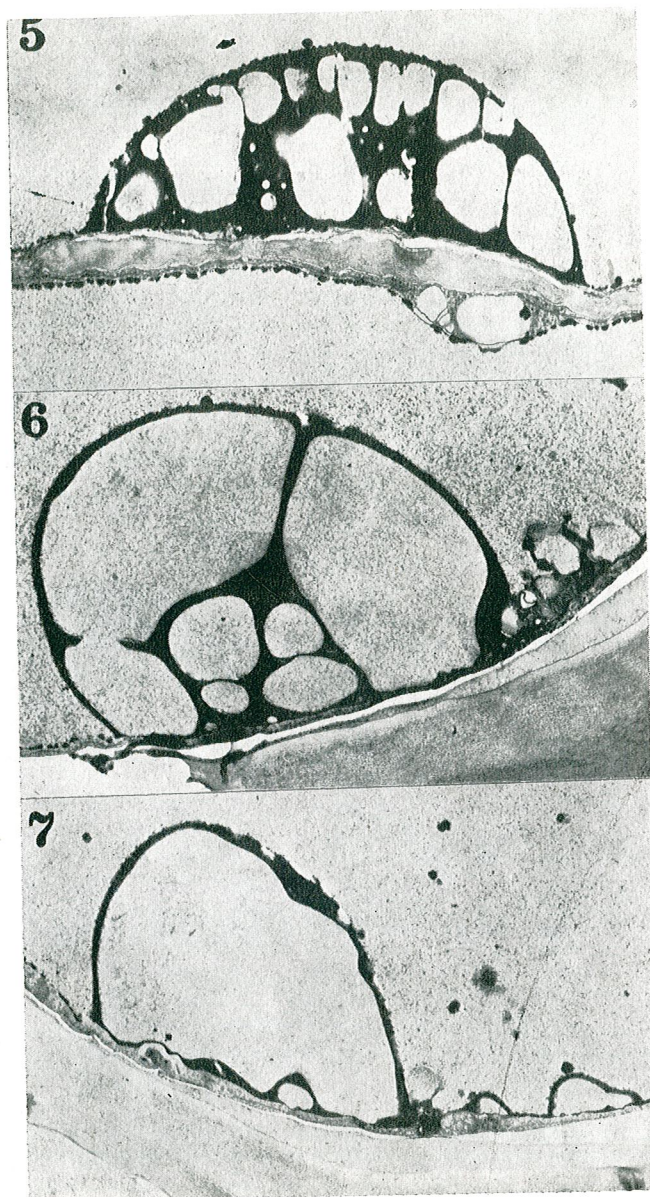


Fig. 1. — L'image des cellules épidermiques des fragments de pétales de pivoines (*Paeonia officinalis*) maintenus dans l'eau distillée durant 48 heures.

Fig. 2—7. — Aspects observés dans les cellules épidermiques de fragments de pétales de pivoines (*Paeonia officinalis*) traités à la caféine.

Fig. 2. — Corpuscles électron-denses, compactes (5.200 ×); Fig. 2—7. — Différentes phases de vacuolisation (compartmentation) de corpuscules (Fig. 3: 5 700 ×; Fig. 4: 12.400 ×; Fig. 5: 6 200 ×; Fig. 6: 6 200 ×; Fig. 7: 5 700 ×).



laire sont allongés, ayant une structure spongieuse, à l'intérieur présentant des parois qui délimitent une multitude de cavités qui contiennent un milieu où l'on distingue des formations et des agrégats moléculaires de nature inconnue.

Dans la fig. 1 est donnée l'image des cellules épidermiques provenant des fragments de pétales de pivoines maintenues, durant 48 heures, dans de l'eau distillée, les vacuoles sont homogènes du point de vue optique et électro-microscopique.

Dans les fig. 2—7 sont présentés les différents aspects observés dans les cellules épidermiques provenant de fragments de pétales traités à la caféine. Ainsi, dans la fig. 2, on distingue plusieurs corpuscules électrodenses, semblables à ceux formés au cas des traitements à la procaine [2], [3]; une partie des corpuscules paraissent dans le cytoplasme. Mais, la grande majorité ont l'aspect d'une sphère multicompartimentée (fig. 3—6). En général, les dépôts sur le tonoplaste sont négligeables, fait qui explique aussi la vitesse de pénétration et d'accumulation de la caféine dans les vacuoles par rapport à la procaine. Dans la fig. 4 on peut remarquer la formation du corpuscule sur une formation lipidique, fait qui justifie, au niveau ultrastructural, la technique d'identification des lipides cellulaires par l'intermédiaire de la solution de la caféine, recommandée par Spannhof [11]. A une durée de traitement des cellules à la caféine prolongée, le processus de la cohésion des sphères s'achève et à un certain stade, probablement au moment de « saturation » du complexe macromoléculaire qui entre dans la composition des grandes sphères, un phénomène dynamique de cohésion des cavités est déclenché. Ainsi, peu à peu, on passe de la phase de sphères compactes à une phase de sphères compartimentées (fig. 2, puis 3, 4, 5 et 6) pour qu'en fin on atteigne l'état de sphère à la paroi mince et avec un contenu liquide dans lequel flottent des agrégats moléculaires (fig. 3 — 7). Au contraire du phénomène similaire décrit pour la procaine [2], [3], l'action de la caféine est beaucoup plus forte sur les colloïdes vacuolaires, affirmation basée sur le fait que le phénomène de production de corpuscules et celui de modification des cavités internes des sphères ont lieu bien plus rapidement au traitement à la caféine. La métamorphose des cavités des sphères sous l'effet de la procaine a lieu seulement au cas de leur plasmolyse puis les tissus se déplasmolysent et seulement ainsi les corpuscules commencent à se compartimenter; au cas contraire les corpuscules ne se modifient pas.

Nous avons établi ce parallélisme entre les deux substances car, en apparence, au microscope optique, le phénomène de formation des corpuscules dans les vacuoles des cellules épidermiques est semblable et pourtant, quoiqu'il s'agisse du même suc vacuolaire, les corpuscules ont une composition chimique plutôt différente. On peut donc supposer que dans la composition des corpuscules sont entraînées les mêmes substances vacuolaires, en particulier les phospholipides. Les réactions *in vitro* que nous avons effectuées nous ont permis d'opiner que les phospholipides dirigent la formation des corpuscules décrits par nous dans les vacuoles, respectivement, *in vitro*; la lécithine (comme phospholipide), en mélange avec la caféine ou la procaine (en conc. de 1%), donne naissance à des corpuscules visibles au microscope optique. Si on ajoute à ce milieu du tanin dans le champ microscopique se produit un bouleversement de

la masse des corpuscules, après quoi s'installe une situation équilibrée et le microscope optique ne révèle plus de modifications dans l'état des corpuscules avant ou après l'addition du tanin. En 1933, A. Guilliermond et G. Mangenot ont communiqué qu'une solution de caféine (0,1 %) détermine la précipitation du tanin dans les vacuoles contenant des tanins; dans ce cas, les vacuoles présentent de nombreuses granulations, en mouvement brownien, d'abord incolores après un certain intervalle de temps adsorbant le pigment anthocyanique [5]. Selon nous, il est possible que les tanins soient adsorbés à l'intérieur des corpuscules, formant ainsi un complexe multimoléculaire, mais, à elle seule, la caféine avec les tanins *in vitro* ne donne de tels corpuscules qu'en présence de la lécityne. On peut supposer que l'interposition des molécules de caféine ou de procaine dans le complexe moléculaire composant la sphère mènerait à une stabilisation plus réduite ou plus élevée en fonction de la stabilité des couches moléculaires du corpuscule.

En conclusion, on peut donc affirmer que le phénomène d'altération de l'équilibre physico-chimique des composants du suc vacuolaire est un processus dépendant de la nature chimique de la substance administrée aux cellules, de la nature des tissus traités (les cellules du mésophile ne présentent qu'une très faible réactivité aux traitements administrés) et naturellement de la nature chimique des substances vacuolaires. Les cellules épidermiques des pétales de pivoines ont un très fort degré de perméabilité à l'égard des substances et ont une capacité particulière d'accumuler ces substances dans leurs vacuoles sous forme de corpuscules sphériques.

BIBLIOGRAPHIE

1. Cachiță-Cosma Dorina, 1976, Rev. roum. Biol., Série Biol. végét., **21**, 2, 93-97.
2. Cachiță-Cosma Dorina, Crăciun C., 1978, Rev. roum. Biol., Série Biol. végét., **23**, 2, 111-114.
3. Cachiță-Cosma Dorina, Crăciun C., 1979, Cytologia, **44**, 71-75.
4. Drawert H., 1968, *Vitalfärbung und Vitalfluorochromierung pflanzlicher Zellen und Gewebe* in: L. V. HEILBRUNN, F. WEBER, *Protoplasmatologia. Handbuch der Protoplasmaforschung*, II, T3, Springer-Verlag, Wien - New York.
5. Guilliermond A., Mangenot G., 1933, *Traité de cytologie végétale*, Paris, p. 596-597.
6. Ionică A., Ciobanu I., Cachiță-Cosma Dorina, Popovici Gh., 1975, Bull. Soc. Bot. Fr., **122**, 3-4, 109-114.
7. Ionică A., Cachiță-Cosma Dorina, 1976, Farmacia, București, **XXIV**, 1, 17-24.
8. Keul M., Cachiță-Cosma Dorina, Popovici Gh., 1972, Rev. roum. Biol., Sér. Biol. Végét., **17**, 5, 327-334.
9. Pop E., Soran V., 1962, Flora, **152**, 91-112.
10. Pop E., Cachiță-Cosma Dorina, 1972, Acta Botanica Horti Bucurestiensis, 1970-1971, 43-52.
11. Spannhof L., 1967, *Einführung in die Praxis der Histochemie*, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, p. 57.
12. Strugger S., 1949, *Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanzen*, II. Aufl., Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg.

Reçu le 20 juin 1980

Faculté de pharmacie
Discipline botanique
Bucarest, Traian Vuia 6
et
Centre de recherches biologiques
Cluj-Napoca, Republicii 48

SOME EFFECTS INDUCED IN *DIGITALIS LANATA* EHRH. BY SUCCESSIVE TREATMENTS WITH GAMMA RAYS AND ETHYLMETHANESULFONATE

BY

ELVIRA V. GILLE and G. I. GHIORGHITĂ

The seeds of *Digitalis lanata* Ehrh. were treated with gamma rays in the first generation and with ethylmethanesulfonate in the second generation. The treatments determined stimulation of the growing processes in the plants, their superior vigour, a richer branching and raised values of the total content of cardenolides in the first vegetation year of plants. The investigations did not render evident relations between the cardenolides content, on the one hand, and the applied treatments, their duration, the dimensions of the plants, the content of soluble sugars and free amine nitrogen, on the other hand.

Unlike other cultivated plants, the medicinal and aromatic plants are not so often studied from the point of view of radiobiology and experimental mutagenesis. This may also probably be due to the fact that researches on these plants are not very easy. The use of mutagens in the melioration of medicinal and aromatic plants is an unsufficiently explored way although these plants are being reconsidered in pharmaceutical industry. In 1973 Sigurbjörnsson and Micke showed that there were 150 varieties of plants created by means of chemical mutagens and ionizing radiations, but only the Todd's Mitchum mint type was a medicinal plant.

These facts made us start a series of researches at the "Stejarul" Research Station, aiming the behaviour, under different circumstances, of some species of medicinal plants treated with ionizing radiations and alkylating agents. We also aimed the selection - in experimental field - of some mutants valuable in the melioration action of the respective species. Our previous experiments on *Cynara scolymus*, *Datura innoxia*, *Vinca minor*, *Digitalis lanata* proved that the gamma ray treatment generally produced a raising of the content of active principles in the first generation plants [4], [5], [10] even if exposed to relatively high irradiation doses. A similar effect was proved by Tihonov et al. (1980) in *Datura innoxia* but exposed only to small doses of gamma rays (0.5-1 kR).

In the experiments with *Atropa belladonna* and *Vinca minor* individuals with a changed morphological aspect appeared in the second generation of irradiation. They also differed from the control plants by their alkaloid content, peroxidase and esterase forms, and other biochemical parameters investigated [5]. This proves again that one must not neglect the use of mutagens in the meliorating and selecting activity of medici-

REV. ROUM. BIOL. - BIOL. VÉGÉT., TOME 27, No 1, P. 49-54, BUCAREST, 1982

nal plants. Thus we treated with gamma rays or ethylmethanesulfonate seeds of *Digitalis lanata* which had already been treated with gamma rays in the first generation.

MATERIAL AND METHODS

At the beginning of May 1980, seeds of *Digitalis lanata*, harvested in 1979 from plants irradiated in the first generation with doses of 3, 6, 10, 15 and 20 kR (gamma rays), were treated again with solutions of 0.075–0.15 and 0.30% ethylmethanesulfonate (EMS) for 12 and 24 hours. The smaller quantity of seeds harvested from the plants irradiated with 15 and 20 kR determined us to treat them with a concentration of 0.15% EMS only. After the treatment, the seeds were washed with water and then sowed in boxes with soil. Those treated with EMS for 12 hours were put in a special room, the others taken into the open air. On the 8th of July and the 19th of August respectively, the plants have been planted in the experimental field. By this opportunity their height has been determined. We harvested leaves from the established experimental variants (medium test per variant) at the beginning of October. Their total content of cardenolides was analysed.

In June 1981, we harvested leaves being in the second vegetation year and analysed the total contents of cardenolides, of soluble sugars and free amine nitrogen. The dimensions of the mature plants were also determined.

The dosing of the cardenolides was made after the method of Fuchs et al. (1959), the sugars and the amine nitrogen being analysed after the methods presented in other papers [3]. The results of our investigations may be found in table 1.

RESULTS

The *Digitalis* plants that grew from seeds irradiated in the first generation with gamma rays and EMS treated for 12 hours in the second generation had a better growing rhythm. They presented superior dimensions as compared to those of the control plants (the control plants were treated only with gamma rays in the first generation). We think that this stimulating effect developed itself on a background of increased resistance of the genetic material appeared at the action of the mutagen. Our assertion is based on the proved fact that successive treatments with mutagens increase the resistance of the biological material against their stressing action. It is interesting to note that the growing processes of the plants are inhibited exactly by the combination with a dose of 3 kR, the same dose that was stimulating the plants in the first generation. This assertion is only apparently contradictory, being in fact an argument in favour of the above affirmation: the 3 kR dose applied in the first generation was not sufficient to induce in plants a superior resistance to a new perturbatory action. It practically rendered the biological material more sensitive. The data in table 1 reveal different growing rhythms

Table 1
The values of some physiological and biochemical indices of *Digitalis lanata* plants treated with gamma rays and EMS for two generations successively

No.	The treatment		First vegetation year						Second vegetation year					
			Treatment with EMS — 12 hours			Treatment with EMS — 24 hours			Treatment with EMS — 12 hours			Treatment with EMS — 24 hours		
	First generation	Second generation	Transplanting height of plants (mm) 8.07. 1980 $\bar{x} \pm \bar{s}_x$	Total content of cardenolides 10.X.1980 % d.s.	Transplanting height of plants (mm) 19.08. 1980 $\bar{x} \pm \bar{s}_x$	Total content of cardenolides 10.10.1980 % d.s.	Transplanting height of plants (mm) 19.08. 1980 $\bar{x} \pm \bar{s}_x$	Total content of cardenolides 10.10.1980 % d.s.	Free amine nitrogen % d.s.	Reducing sugars % d.s.	Total sugars % d.s.	Total content of cardenolides % d.s.	Free amine nitrogen % d.s.	Reducing sugars % d.s.
1	3 kR	0.3%-EMS	69.02 1.71	1.29	154.83 3.85	1.29	154.83 3.85	1.29	0.94	1.93	12.70	0.98	0.94	1.93
2	3 kR	0.15%-EMS	49.06 1.01	2.24	145.90 3.35	1.27	145.90 3.35	1.27	0.88	1.72	9.88	1.33	0.88	1.72
3	3 kR	0.075%-EMS	83.75 1.53	1.50	143.44 3.09	1.07	143.44 3.09	1.07	1.10	2.33	11.67	0.93	1.10	2.33
4	3 kR	0.075%-EMS	67.93 1.05	1.74	130.42 3.23	1.33	130.42 3.23	1.33	0.72	1.78	11.47	1.08	0.72	1.78
5	6 kR	0.3%-EMS	60.69 1.38	1.57	150.19 3.85	1.57	150.19 3.85	1.57	1.07	1.82	11.73	1.42	1.07	1.82
6	6 kR	0.15%-EMS	75.69 1.32	1.75	112.40 3.35	1.06	112.40 3.35	1.06	1.12	1.62	6.53	1.45	1.12	1.62
7	6 kR	0.15%-EMS	78.85 1.70	1.50	116.33 2.19	0.74	116.33 2.19	0.74	1.33	1.67	11.15	1.03	1.33	1.67
8	6 kR	0.075%-EMS	73.07 1.47	1.40	120.01 4.15	1.10	120.01 4.15	1.10	0.94	2.10	13.28	1.21	0.94	2.10
9	10 kR	0.3%-EMS	60.50 0.98	1.42	139.25 2.42	1.42	139.25 2.42	1.42	1.04	1.76	7.72	1.45	1.04	1.76
10	10 kR	0.15%-EMS	61.64 1.22	1.71	154.77 3.58	1.29	154.77 3.58	1.29	1.10	1.80	12.60	0.96	1.10	1.80
11	10 kR	0.15%-EMS	67.46 1.32	1.84	117.76 2.22	0.84	117.76 2.22	0.84	0.82	1.67	11.95	0.81	0.82	1.67
12	10 kR	0.075%-EMS	69.35 1.03	1.26	132.84 4.41	0.92	132.84 4.41	0.92	0.70	2.01	16.58	0.93	0.70	2.01
13	15 kR	0.15%-EMS	73.45 1.48	1.01	—	—	—	—	0.89	1.95	10.89	0.94	0.89	1.95
14	20 kR	0.15%-EMS	70.96 0.95	1.61	—	—	—	—	0.93	1.94	14.84	1.18	0.93	1.94

of the plants in the second generation, plants that received in the first generation only gamma ray treatment.

The plants that grew from seeds irradiated with 3 kR are with 12% superior ($\bar{x} = 69.02$ mm) to those treated with 6 kR ($\bar{x} = 60.69$ mm) and 10 kR ($\bar{x} = 60.50$ mm) respectively. This is proved by the fact that the plants of the corresponding variants from the other experiment show the same growing rhythm. Without considering the generally greater dimensions of these plants (better breeding conditions) and their being measured at an older age (40 days older), we notice that the plants treated with 3 kR have the most intense growth ($\bar{x} = 154.83$ mm). The plants treated with 6 kR in the first generation have the $\bar{x} = 150.19$ mm followed by the plants treated with 10 kR ($\bar{x} = 139.25$ mm). Thus, we may conclude that the effect of gamma rays on the growth of *Digitalis lanata* is felt in the second generation too.

Referring again to the combined treatment (gamma rays and EMS), the most evident stimulating effect was induced by the combination of 6 kR and 0.15% EMS (applied to the seeds for 12 hours). The plants of this variant show dimensions that are 30% superior to those of the corresponding control variant ($\bar{x} = 78.85$ mm as to $\bar{x} = 60.69$ mm, variants 7 and 5 — table 1). A longer EMS treatment, whatever concentration, determined a plant growth inhibition. The genetical resistivity induced by the gamma ray treatment in the first generation was exceeded by the mutagen and toxic effect of the lasting EMS treatment. The plants irradiated with 6 kR in the first generation and treated with 0.3% EMS for 24 hours in the second generation supported the greatest inhibition ($\bar{x} = 112.40$ mm as to $\bar{x} = 150.19$ characteristic of the corresponding control variant).

The applied treatments induced a great variability of the content of active principles in the first year of vegetation between 1.01 and 2.24% in plants treated with EMS for 12 hours and between 0.74 and 1.57% in those for 24 hours. We may consider our results good if we have in view the fact that we harvested the leaves in October, the pedo-climatic conditions in Pingărați and the total values of cardenolides indicated by some authors — i.e. between 0.4–1% [6], and up to 1.8% [9].

The average of the medium values per variant is very high: 1.56% cardenolides in the leaves of the plants treated for 12 hours with EMS in the second generation and 1.16% in the case of a 24 hours treatment. The longer treatment with EMS solutions — that inhibited the growth processes — had also a negative effect on lanataglycosides in the synthesis of plants. If in the first experiment (gamma rays + EMS for 12h) the medium values of the total cardenolides was over 1.50%, in 8 cases out of 14, in the second (gamma rays + EMS for 24h) only in one variant out of 12 we met with such a situation. The highest value in the first vegetation year was characteristic of the individuals belonging to the variant treated with 3 kR in the first generation and with 0.3% EMS for 12 hours in the second generation (2.24%); the lowest value was found among the individuals of the variant treated with 6 kR and 0.15% EMS for 24 hours.

The obtained data do not permit any relation between the content of glycosides of *Digitalis lanata* plants and the applied treatment or the dimensions attained by the plants.

The biological disturbances induced by the lasting EMS treatment, those caused by unfavourable climatic conditions, especially in the moment of transplanting (drought and raised temperature) and in winter time, brought about a very reduced genetic survival in case of plants treated with EMS for 24 hours. A few of these plants belonging to this experiment make the whole ontogenetic cycle and so we did not analyse them in the second vegetation year. Even in the first experiment (EMS treatment for 12 hours) — in the case of some variants — only 30–40 mature individuals survived from 100 or 200 planted. That is why $s\bar{x}$ surpassed the value 3 which is the maximum admitted one to attest the exactness of statistical results.

As to the height of mature plants, the situation revealed in the moment of transplanting is the same: the plants alternately treated with gamma rays and EMS attained dimensions much superior to those that received only gamma-ray treatment in the first generation (table 1). Even the combination with a 3 kR dose, an exception in the first vegetation year, has the same intensification of the growth rhythm. The plants treated with gamma-rays and EMS showed a special vigour and their branches were superior to those of the plants treated only with gamma rays in the first generation. The greater dimensions were attained by the individuals of the variant irradiated with 6 kR in the first generation and with 0.075% EMS in the second generation ($\bar{x} = 128.47$ cm). They were with 50% higher than the smallest plants (variant 1: $\bar{x} = 83.64$ cm).

In the leaves of *Digitalis lanata* harvested in June of the second vegetation year we found the same variability of the cardenolides content, but the values of this parameter are much smaller than in the first year. There are even changes in the value of different experimental variants from the point of view of the total cardenolides content compared to the situation rendered evident in the first vegetation year. The greatest cardenolide content is obtained by the individuals of the variant treated with 6 kR in the first generation and with 0.3% EMS for 12 hours in the second generation (over 1.40% glycosides). The lowest value of the total cardenolides was registered by the variant treated with 10 kR in the first generation and with 0.15% EMS for 12 hours in the second generation (0.81%). The variant presented a very high total cardenolide content in the first vegetation year (1.84% — more than twice the actual). The results we obtained render evident the possibility to modify — by means of treatments with mutagens — the content of active principles as well. Other authors obtained the same results on *Papaver somniferum* (7), *Rubia tinctorum* (8), *Carum carvi* (1) etc. using alkylating agents.

The treatments applied also produced a significant variability of the soluble sugars content, a parameter whose value varies between 6.55 and 16.58% (table 1). The data of the table do not permit to assert the existence of a true relation between the cardenolide content and the other investigated parameters. There seems to be a certain relation between the total cardenolides and soluble sugars, in the way that some plants bearing a high cardenolides content register a lower total of soluble sugars (see variants 2, 6 and 9).

CONCLUSIONS

1. Applying in the second generation a treatment of 12 hours with ethylmethanesulfonate (EMS) to the seeds of *Digitalis lanata* Ehrh. harvested from plants that received a treatment of 3, 6, 10, 15 and 20 kR (gamma rays) in the first generation, stimulated the growing processes of the plants, determined a superior vigour, a richer branching and raised values of the total content of cardenolides in the first vegetation year.

2. The longer treatment with EMS solutions (24 hours) inhibited the growth of plants also causing more reduced values of the cardenolides content in the first vegetation year.

3. The values of the total cardenolides in *Digitalis lanata* in the second vegetation year are reduced as to those of the first year. From the glycoside content point of view even the value of different variants differs in the first and second vegetation year.

4. Our investigations did not render evident any relation between the cardenolides content, on the one hand, and the applied treatments, their duration, the dimensions of the plants, the content of soluble sugars and free amine nitrogen, on the other hand.

5. The alternative treatments with gamma rays and EMS may be recommended for melioration of *Digitalis lanata*. They amplify the degree of variability of the plants in all their aspects. Thus, one may obtain a valuable starting material for the selection and melioration of this species.

REFERENCES

1. Floria Fl., Tibori G., Rácz G., Lucr. Staț. "Stejarul", 1976—1977, **7**, 195—200.
2. Fuchs L., Wichtl M., Sachs H., Arch. Pharm., 1959, **15**, 272.
3. Ghiorghiță I. G., Doctoral thesis, Univ. "Al. I. Cuza", Iași, 1975, 191 p.
4. Ghiorghiță I. G., Tóth Ecaterina, Gille V. Elvira, Lucr. Staț. "Stejarul", 1980, **8**, 157—164.
5. — — — Rév. Roum. Biol. — Biol. Vég., 1981, **26**, 2.
6. Hornok L., Gyógynövények termesztése és feldolgozása, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1978, p. 228.
7. Ivanova R. M., Ghenetika, 1972, **8**, 1, 30—37.
8. Kondratenko L. M., Ghenetika, 1975, **11**, 7, 34—39.
9. Rácz G., Laza A., Coiciu E., Plantele medicinale și aromatice, Edit. "Ceres", București, 1970, p. 103.
10. Sigurbjörnsson B., Micke A., Polyploidy and induced mutations in plant breeding, IAEA, Vienna, 1974.
11. Tihonov Iu. B., Panarin V. P., Alimova G. V., Mihailova N. B., Morozova S. B., Rastit. resursy, Leningrad, 1979, **16**, 237—242.
12. Tóth T. Ecaterina, Gille V. Elvira, Ghiorghiță I. G., Lucr. Staț. "Stejarul", 1980, **8**, 165—170.

Received April 29, 1981

"Stejarul" Research Station
5648 Pingărați, Neamț

DIE WIRKUNG VON NAPHTHYLESSIGSÄURE AUF DEN DNS-GEHALT UND DEN ZELLZYKLUS IM WEIZENWURZELMERISTEM

VON

GEORGETA LAZĂR-KEUL*, M. KEUL* und M. SAFTA**

To test the auxin efficiency of the naphthylacetic acid (NAA) and its K-salt ("Chemical Center Timișoara") an investigation of the NAA action on nuclear DNA content and on the mitotic cell cycle in wheat root meristems was undertaken utilizing α -NAA ("Chemapol") as standard preparation. A relative high NAA- concentration of 1 mg/l induced a strong inhibition of root growth accompanied by the perturbation of the cell cycle. The NAA-action caused a lowering of the G_1 -phase frequency and an increase of the S- and G_2 -phase cells as a manifestation of the inhibitory NAA-effect on the DNA-synthesis related to the mitotic activity. The similar effects induced by NAA of different sources indicate a similar auxin efficiency.

Die Wachstums — und Entwicklungsprozesse höherer Pflanzen werden durch den koordinierten Ablauf von Zellvermehrung, Zellstreckung und Zelldifferenzierung unter der Kontrolle endogener Phytohormone gewährleistet, wobei die Auxine eine wichtige regulatorische Rolle spielen [2]. Heute kennt man zahlreiche synthetische Auxine, die entweder als Herbizide oder als Wachstumsstimulatoren verwendet werden [15], [18]. So hat die Naphtyl-1-essigsäure (NES) aus der Gruppe der synthetischen Auxine in der landwirtschaftlichen Praxis zur Förderung des pflanzlichen Wachstums und besonders in der Gewebezüchtung zur Induktion der spezifischen Organogenese eine breite Anwendung gefunden [4], [6], [10].

Die Auxine verursachen je nach Konzentration und Pflanzentest verschiedene morphologische, physiologische, cytologische und biochemische Effekte. In überoptimalen Dosen verabreicht, induzieren die synthetischen Auxine charakteristische phytotoxische Symptome, die sich durch die Blockade der Mitoseaktivität in den Spitzenmeristemen, die Hemmung der Zellstreckung und des Wachstums, Organverdickungen und die massive Seitenwurzelbildung durch die Aktivierung des Perizykels kennzeichnen [1], [3], [15], [17]. Diese Symptome werden bei der Beurteilung der hormonalen Wirksamkeit der synthetischen Wachstumsregulatoren als Testkriterien verwendet [2], [15]. In diesem Zusammenhang untersuchten wir die hormonale Wirksamkeit von α -NES bzw. ihres Kalium-Salzes („Chemisches Forschungszentrum Timișoara“) auf den DNS-Kerngehalt und den Zellzyklus im Weizenwurzelmeristem im Vergleich zur Wirkung eines α -NES-Standardpräparates („Chemapol“).

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. VÉGÉT., TOME 27, No 1, P. 55—59, BUCAREST, 1982

MATERIAL UND ARBEITSMETHODE

Als Versuchsmaterial dienten Winterweizen-Keimpflanzen (*Triticum aestivum* L., cv. „Aurora“), die in Linhardt-Schalen auf Filterpapierunterlagen mit verschiedenen Konzentrationen (1,0; 0,1; 0,01 und 0,001 mg/l) der Teststoffe, bzw. mit destilliertem Wasser (Kontrolle) aufgezogen wurden. Als Lösungsmittel wurde 1 ml Äthylalkohol (96 %) verwendet. Die Arbeitslösungen wurden mit destilliertem Wasser hergestellt, wobei der Alkoholgehalt, einschließlich bei der Kontrolle, konstant gehalten wurde.

Die 4 Tage nach dem Ansetzen abgetrennten Wurzelspitzen wurden im Carnoy-Gemisch (absoluter Äthylalkohol-Eisessigsäure, 3:1) fixiert und in Alkohol (70 %) konserviert. Zur Durchführung der Feulgen-Reaktion wurde 1 Stunde in HCl 5N bei 28°C hydrolysiert und anschließend 2 Stunden im Schiffschen Reagens gefärbt.

Der relative DNS-Gehalt wurde in Quetschpräparaten cytophotometrisch (Mikroskop Ortholux mit Photometeraufsatz MPE, Leitz) nach der Zwei-Wellenlängen-Methode unter Standardbedingungen (vgl. [9], [12]) bestimmt und in Arbeitseinheiten (AE) angegeben. Zur Bestimmung der diploiden [2C] und tetraploiden (4C) Referenzwerte wurde der DNS-Gehalt der Telophasen bzw. der Pro- und Metaphasen gemessen [8], [9].

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Wirkung der Testsubstanzen äußert sich bei Dosen von 1,0 und 0,1 mg/l durch die offensichtliche Hemmung des Wurzelwachstums. Die quantitative Analyse der Wachstumsreaktion unter NES-Behandlung in einem breiteren Konzentrationsbereich [17] zeigt die für Auxine charakteristische Wirkungskurve [2], [4], wobei je nach Dosis eine Hemmung oder Förderung des Wachstums verursacht wird. Im Bereich der supra-optimalen Konzentrationen nimmt die Hemmung mit der Dosis zu [17]. Diese gewöhnlich von typischen cytologischen und anatomisch-morphologischen Veränderungen begleitete Wachstumshemmung ist für die phytotoxische Wirkung überoptimaler Auxin-Dosen kennzeichnend [3], [4], [10], [14].

Im Zusammenhang mit der NES-Wirkung auf das Wurzelwachstum wurde der Einfluß auf den DNS-Kerngehalt im Wurzelmeristem untersucht. Die cytophotometrischen Mittelwerte des relativen DNS-Gehaltes der Interphasekerne sind in Abb. 1 dargestellt.

Die Ergebnisse zeigen, daß die NES-Präparate verschiedener Herkunft bei äquivalenten Konzentrationen vergleichbare Wirkungen auf den mittleren DNS-Gehalt der Zellkerne ausüben. Diese Feststellung deutet im Einklang mit den Schlußfolgerungen des Wachstumstestes [17] darauf hin, daß sich die verschiedenen NES-Präparate durch die gleiche phytohormonale Wirksamkeit auszeichnen. Im Gegensatz zu den Befunden des Wachstumstestes zeigen die NES-Effekte auf den DNS-Gehalt keine direkte Beziehung zur angewandten Dosis. Andererseits scheinen die Wirkungen auf den relativen DNS-Gehalt im Vergleich

zur Wirkung gleicher Dosen auf das Wurzelwachstum [17] relativ gering zu sein.

Zahlreiche experimentelle Befunde beweisen, daß die Auxine auf die DNS-Synthese in pflanzlichen Meristemen einwirken [2], [5], [6], wodurch die das Wachstum bestimmenden Prozesse der Zellvermehrung

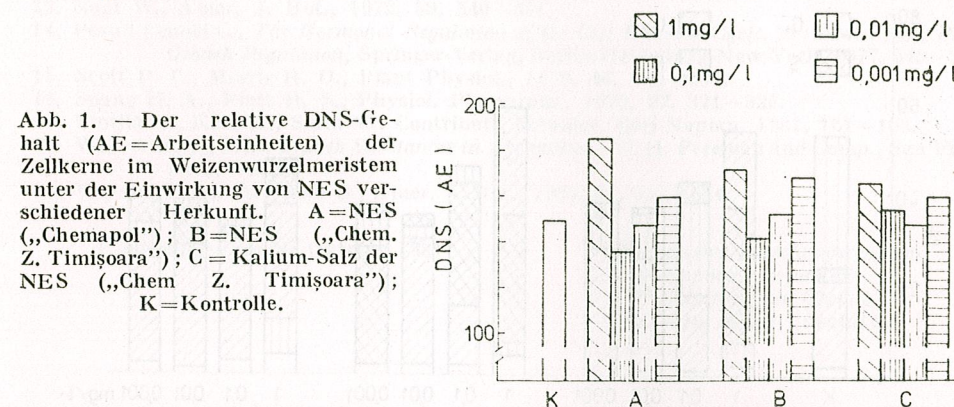


Abb. 1. — Der relative DNS-Gehalt (AE=Arbeitseinheiten) der Zellkerne im Weizenwurzelmeristem unter der Einwirkung von NES verschiedener Herkunft. A=NES („Chemapol“); B=NES („Chem. Z. Timișoara“); C=Kalium-Salz der NES („Chem. Z. Timișoara“); K=Kontrolle.

[7], [14] und der Zellstreckung [1] beeinflusst werden. In diesem Sinne ist bekannt, daß überoptimale Auxinkonzentrationen das vegetative Wachstum und die DNS-Synthese hemmen bzw. die Mitoseaktivität blockieren, während optimale Dosen fördernd wirken [1], [3], [4], [6], [10], [13], [15], [19]. Obwohl der molekulare Mechanismus der Auxinwirkung nicht völlig aufgeklärt ist, wird allgemein angenommen, daß die Auxine Wachstum und Organogenese über die Primärwirkung auf den Protein- und Nukleinsäure-Stoffwechsel kontrollieren [14], [16].

Aufgrund dieser Angaben kann angenommen werden, daß die durch NES induzierten Veränderungen im DNS-Gehalt der Wurzelmeristemzellen (Abb. 1) die Wirkung auf die DNS-Reduplikationssynthese und auf die Mitoseaktivität widerspiegeln. Die NES-Wirkung auf die Mitoseaktivität geht aus der Analyse der DNS-Häufigkeitsverteilung nach dem Anteil der verschiedenen Zellzyklusphasen in der untersuchten Zellpopulation hervor (Abb. 2). Diese Analyse beruht auf der Bestimmung des prozentuellen Anteils der Phasen G₁, S und G₂ bzw. der polyploiden Zellkerne aufgrund des relativen DNS-Gehaltes der Interphasekerne im Vergleich zu den diploiden [2C] und tetraploiden (4C) Referenzwerten.

Aus den in Abb. 2 dargestellten Ergebnissen geht hervor, daß die Behandlung mit NES verschiedener Herkunft den Zellzyklus im Wurzelmeristem in gleicher Weise beeinflusst. Diese Übereinstimmung ist besonders bei 1 mg/l ausgeprägt. Die NES-Wirkung äußert sich durch eine starke Abnahme des Anteils der G₁-Phase und die Zunahme der Zellen die die S- und G₂-Phase durchlaufen. Bei kleineren Dosen ist die NES-Wirkung schwächer, wobei der Prozentsatz der Zellen in der S-Phase weiterhin stark erhöht bleibt. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen hat die NES keine polyploidisierende Wirkung.

Die Zunahme des prozentuellen Anteils der Phasen S und G₂ mit einem höheren DNS-Gehalt der Zellkerne erklärt die Erhöhung des mittlere-

ren DNS-Gehaltes in der Zellpopulation unter der Einwirkung von 1 mg/l NES (Abb. 1). Die festgestellten Veränderungen lassen darauf schließen, daß die NES den normalen Ablauf des Zellzyklus stört. Die Zunahme des prozentuellen Anteils der S- und G₂-Phase zeigt, daß NES die DNS-Synthese hemmt und ein Auflaufen in der G₂-Phase bewirkt, so daß die

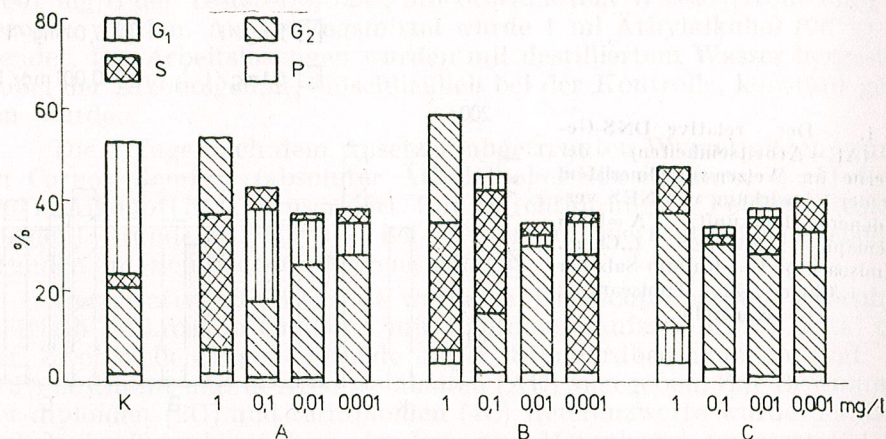


Abb. 2. — Die Wirkung von NES verschiedener Herkunft auf die Verteilung der Zellzyklusphasen im Weizenwurzelmeristem. G₁ = Posttelophase; S = Synthesephase; G₂ = prämitotische Phase; P = polyploide Zellkerne (weitere Erklärungen in Abb. 1.).

Mitoseaktivität herabgesetzt und infolgedessen das Wurzelwachstum gehemmt werden. Ähnliche Wirkungen induzieren auch andere in supra-optimalen Dosen verabreichte auxinartige Stoffe [1], [11], [13], [19]. Die durch NES hervorgerufenen Wirkungen widerspiegeln die Störung im Gleichgewicht der endogenen Hormone, die sowohl die Mitoseaktivität [6], [7], [14], als auch die Zellstreckung [2] über die DNS-Synthese regulieren [1], [13], [14], [16].

Die übereinstimmende Wirkung von NES verschiedener Herkunft auf den DNS-Gehalt und den Zellzyklus im Weizenwurzelmeristem läßt im Einklang mit den Ergebnissen des Wachstumstestes [17] darauf schließen, daß die getesteten NES-Präparate eine vergleichbare hormonale Wirksamkeit aufweisen.

LITERATUR

1. Apelbaum A., Fisher Y. B., Burg S. P., Amer. J. Bot., 1972, **59**, 697–705.
2. Audus L. J., *Plant Growth Substances*. Vol. I. *Chemistry and Physiology*, Leonard Hill, London, 1972.
3. Bairathi M. K., Nathawat G. S., Flora, 1980, **169**, 336–350.
4. Blakely L. M., Rodaway S. Y., Hollen L. B., Croker S. G., Plant Physiol., 1972, **50**, 35–42.
5. Brossard D., Ann. Sci. Nat. Bot. 12^e Série, 1975, **16**, 43–150.
6. Gamborg K. Z., Osharova L. M., Cytology (Moskow), 1973, **15**, 681–689.

7. Godlewski M., Biochem. Physiol. Pflanzen, 1980, **175**, 314–321.
8. Keul M., Lazăr-Keul G., Vintilă R., St. și cerc. Biol., seria biol. veget., (im. Druck).
9. Landré P., Ann. Sci. Nat. Bot. 12^e Série, 1976, **17**, 5–104.
10. Lane W. D., Physiol. Plantarum, 1979, **45**, 260–264.
11. Lazăr-Keul G., Keul M., Polizu Al., Contribuții botanice Cluj-Napoca, 1981, 169–173.
12. Lazăr-Keul G., Soran V., Vintilă R., Polizu Al., Keul M., Rev. Roum. Biol., Biol. Végét., 1979, **24**, 1, 69–75.
13. Nagl W., Amer. J. Bot., 1972, **59**, 346–351.
14. Péaud-Lenoël C., *The Hormonal Regulation of the Cell Division Cycle*, in: Pilet P. E., *Plant Growth Regulation*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1977, 240–248.
15. Scott P. C., Morris R. O., Plant Physiol., 1970, **46**, 680–684.
16. Spang H. A., Platt R. S., Physiol. Plantarum, 1972, **27**, 321–326.
17. Vintilă R., Keul M., Safta M., Contribuții botanice, Cluj-Napoca, 1981, 161–168.
18. Weaver R. J., *Plant Growth Substances in Agriculture*, W. H. Freeman and Comp., San Francisco, 1972.
19. Webster P. L., Davidson D., Amer. J. Bot., 1967, **54**, 633–634.

Eingegangen am 20. Oktober 1981

* Biologisches Forschungszentrum
Cluj-Napoca, Republicii 48
** Zentrum für Chemie
Timișoara, Mihai Viteazul 24

TISSUE CULTURES IN CORN (*ZEA MAYS* L.)

BY

GEORGETA FABIAN and E. GOMOIU

Plant regeneration was obtained from immature embryos and from the first node of young shoots.

Callus tissue was obtained from endosperm, scutellum and from immediately superior and inferior fragments of the node.

The roots provided both a callusal mass with little roots and secondary callused roots. The results point out the importance of the genotype and of the presence or absence of 2,4-D for plant regeneration and callus formation.

The investigations regarding the tissue culture in maize were initiated by La Rue in 1949 [14] and their further evolution was briefly presented by Freiling et al. [9] and Beckert and Pollacsek [1].

Based on literature data, the paper presents our investigations regarding the development of tissue and embryo cultures in maize genotypes capable of satisfying some practical requirements.

MATERIAL AND METHOD

The material was obtained from the Laboratory of maize breeding of the Fundulea. Research Institute for Cereals and Technical Plants. The methods were those used by Green and Phillips [10] [11] in experiments on immature embryos, by Vuillaume and Deshayes [18] in experiments on mesocotyls and coleoptiles, and by Gorham and Peterson [13] and Beckert and Pollacsek [1] for scutellum.

Research was carried out on immature embryos (18 — 21 days after pollination) as well as on immature endosperm, unfertilized ovaries, young plants obtained by seeds germination, and developing plants from which explants of stems (nodes and internodes), roots, pith and anthers were obtained.

RESULTS

Our investigation began with the culture of immature embryos extracted together with the scutellum from grains fertilized 18 — 20 days after pollination, out of which plants developed up to full maturity. When the embryos were younger than 18 days no plants grew, but the scutellum formed a white callus (Pl. I—1).

10 — 12 days after pollination 1 — 2 mm explants were cross-sectioned and grown on a medium. After 20 — 25 days, a white callus grew fast on the endosperm and a large white translucent callus on the scutellum (Pl. I — 2 A, B). In some explants where embryo sections were left, some parts of plants (springs or roots) also grew besides the callus.

In order to obtain haploid plants unfertilized ovaries were used. The very young ovaries did not develop and died after two weeks. Better results, namely a development of the ovary diameter from 3 mm to 5 — 8 mm, followed by splitting of the cover and callus formation were obtained from the material collected in the period of fecundation (Pl. I — 3, 4, 5, 6).

The ovaries developed better when they were placed on the medium without cover, peduncle or cobtissue: they grew in volume, became greener and later died without callus formation. In three cases, roots appeared from the ovaries' peduncles. Investigations regarding the ovaries are under way.

Plants derived from immature embryos and young plants were used in another series of experiments. Explants of first node, segment above or below the node, coleoptiles and mesocotyls were performed from the young plants. The explants were placed on media with or without 2,4-D. Roots but not callus developed from mesocotyls on media without 2,4-D. A white callus was formed on media with 2,4-D (1 mg/l) (Pl. II — 7).

From the first node, plantlets grew on a medium without 2,4-D, while on a medium with 2,4-D (1 and 2 mg/l) only the higher part of the plant grew, without any roots (Pl. II — 8).

The explant above the node (on a medium with 2,4-D) produced a yellow-green callus (Pl. II — 9) and from the explant below the node a white-violet callus developed. After the second passage intensely coloured violet primordia grew (Pl. II — 10). The explants of coleoptiles grew much in volume and died without any callus formation (Pl. II — 11).

The experiments where we used explants of roots, stems (nodes and internodes), 6 — 8 leaves from growing plants and mature plants, no favourable results were obtained.

These explants, placed on the culture medium either as isolated fragments or as groups of fragments, after a period of 30 min. — 24 hours emitted into the culture medium brown substances visible with the naked eye, and then underwent necrosis. The same difficulties were met when attempting to obtain callus from anthers.

DISCUSSION

Our experiments show the importance of the presence or absence from the medium of 2,4-D, in fact the only substance necessary for maize tissue growth.

2,4-D is not necessary either for the growth of immature embryos or for the regeneration of plants derived from the first node. The presence of 2,4-D in the culture medium did not affect the length of the aerial part of the plant, no matter whether the explant originated from the node or from immature embryos; in exchange, no roots could be formed even

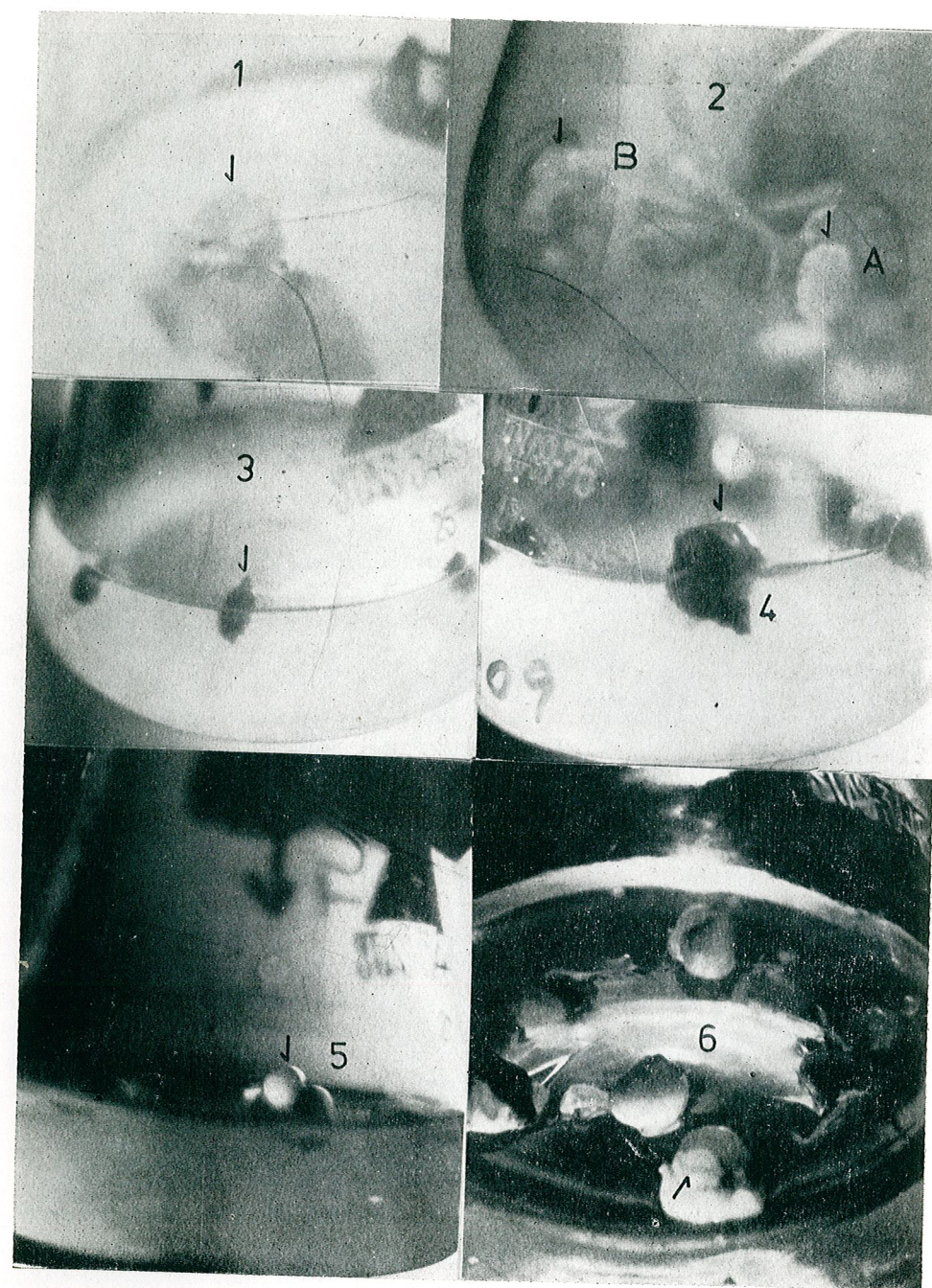


Plate I

1, Callus from scutellum. 2 A, Callus from endosperm; B, callus from scutellum. 3, Young ovary. 4, Increased ovary. 5, Split ovary. 6, Callus on the ovary.

if the concentrations were low. In this respect our results are in agreement with those obtained by Dahmen and Mock [5].

From root explants, secondary roots appeared first, on which a callus was formed; it grew and formed a white mass. In some cases, new roots but no other organs appeared from the root callus.

Le Tran Binh and Köhler [15] showed that root callus induction requires DNA synthesis or additional DNA in the medium. The presence of darkness is also necessary for the differentiation of callus from roots. The presence of nucleic acids (DNA) and other substances may be necessary to obtain callus from other parts of the plant. This may be one of the causes which, as shown by Beckert and Pollacsek, account for the fact that some genotypes are capable of callogenesis while others are not. Edallo et al. [8] demonstrated that at present, tissue cultures regenerated from maize may be currently induced starting from a 10–12-day-old scutellum. These data were confirmed by our results. The failure in obtaining explants from other organs may be due to the presence of large quantities of phenolic compounds which diffused from explants into the medium and inhibited the callus formation. This aspect was mentioned by Vuillaume and Deshayes [18] as well as by Chesneaux [4] and Stafford [17].

As regards the culture of anthers, recent data of Brettell et al. [2] show that it is quite unsuccessful and requires large quantities of sugars in the medium. Some results exist, however, and they are promising.

As concerns plants regeneration there are various opinions. Dhaliwal and King [6] pointed out that the existence of totipotent somatic cells in maize mature organs has not been demonstrated and hence the conclusion that plants cannot be regenerated from haploid tissue cultures.

On the contrary, Green and Phillips [12] as well as Dunstan et al. [7] showed that scutellum and immature embryo cells are totipotent and the tissue cultures in scutellum regenerate repeatedly. Molnar et al. [16] are of the same opinion, demonstrating that the axillary buds in mature plants are capable of regenerating new plants; the existence of totipotent cells was thus confirmed.

The regeneration of new plants is dependent on many internal or external factors and therefore further investigations are necessary.

At present, tissue and embryo cultures can be used for other purposes as well, such as selection of mutants with high concentrations of lysin [10], selection of haploid embryos by chemical methods [6], or selection of tissue cultures (callus) resistant to noxious fungi, meant to regenerate resistant plants [2].

CONCLUSIONS

— Our investigations showed that callus formation is dependent on the genotype, source of explants (organs) and plants' age.

— As regards regeneration, positive results were obtained from the first node of the plantlet and from sections of immature embryos.

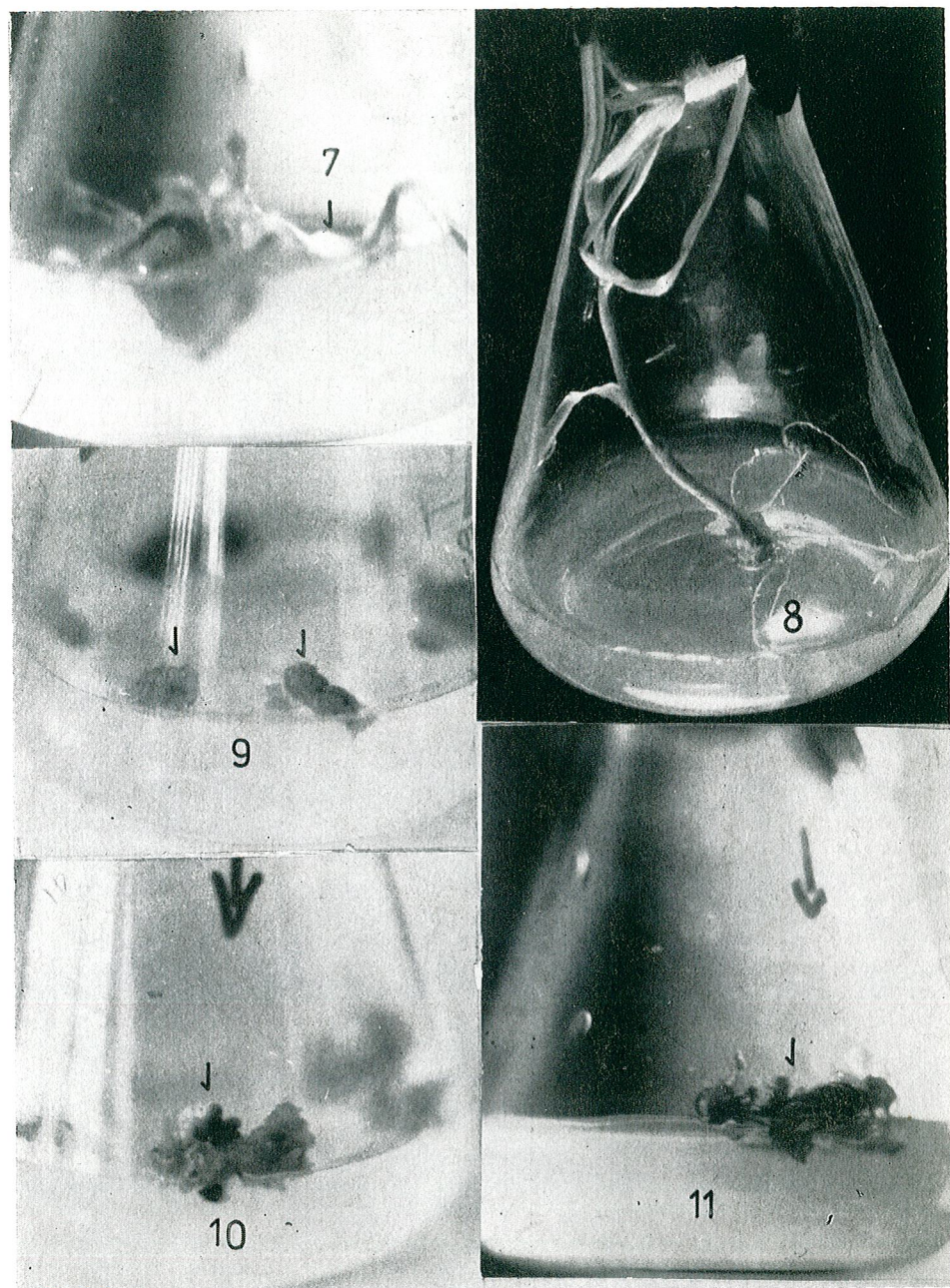


Plate 11

7, Callus on the secondary roots. 8, Plant regenerated from the node. 9, Callus from the superior fragment of the node. 10, Callus from the inferior fragment of the node. 11, Increased fragments of coleoptile.

— In order to obtain and maintain the callus, the presence of 2,4-D in the medium is necessary in concentrations less than 2 mg/l.

— 2,4-D is not necessary for the development of immature embryos and plantlet regeneration from nodes.

REFERENCES

1. Beckert M., Pollacsek M., 1979, Ann. Amélior. Plantes, **29**, 5, 563–581.
2. Brettell R. I. S., Goddard B. V. D., Ingram D. S., 1979, Maydica, **24**, 4, 203–213.
3. Brettell R. I. S., Thomas E., Wernicke W., 1981, Maydica, **26**, 2, 101–111.
4. Chesneaux M. T., 1979, Ann. Amélior. Plantes, **29**, 4, 427–437.
5. Dahmen W. J., Mock J. J., 1972, Crop Sci., **12**, 4, 549–550.
6. Dhaliwal H. S., King P. J., 1979, Theor. Appl. Genet., **55**, 6, 257–262.
7. Dunstan D. I., Short K. C., Thomas E., 1978, Protoplasma **97**, 251–260.
8. Edallo S., Zucchini C., Perentin M., Salamini F., 1981, Maydica, **26**, 1, 39–56.
9. Freling M., Woodman J. C., Cheng D. S. K., 1976, Maydica, **21**, 2, 97–112.
10. Green E. C., Phillips R. L., 1974, Crop. Sci., **14**, 1, 54–61.
11. Green E. C., Phillips R. L., 1974, Crop Sci., **14**, 6, 824–830.
12. Green E. C., Phillips R. L., 1975, Crop Sci., **15**, 4, 417–427.
13. Gorham M. B., Peterson P. A., 1978, Maydica, **23**, 4, 173–186.
14. La Rue C. D., 1949, Am. J. Bot., **36**, 798, Abst.
15. Le Tran Binh, Köhler K. H., 1976, Biochem. Physiol. Pflanzen, **170**, 3, 189–200.
16. Molnar S. J., Gordon P. N., Rice T. B., 1980, Canad. J. Genet. Cytol., **22**, 4, 671–672.
17. Stafford H. A., 1969, Plant. Physiol., **42**, 3, 450–455.
18. Vuillaume Elisabeth, Deshayes A., 1977, Ann. Amélior. Plantes, **27**, 6, 657–673.

Received October 15, 1981

Research Institute for Cereals and
Technical Plants
Laboratory of Plant Physiology
8264 Fundulea, Călărași

STUDIES ON THE TISSUE CULTURES DIFFERENTIATION IN GRAPEVINE

BY

E. BADEA, A. SCRIPCARU, L. GREGORIAN, P. RAICU

Using a modified Murashige-Skoog medium containing more auxins and less cytokinins, the callus formation was induced in 6 varieties of *Vitis vinifera*, 5 interspecific hybrids, and in *Vitis sylvestris*. In some calli the differentiation is achieved by the initial appearance of some meristematic noduli, which subsequently may differentiate embryos and plantlets. From 16 embryos of *V. sylvestris* 10 plants were obtained.

In some plant species the cells and tissues cultivated "in vitro" have the capacity to regenerate plants by somatic embryogenesis or organogenesis (adventitious shoots), a phenomenon controlled by endogenous and exogenous factors. The tissue culture technique has been successfully applied to grapevine with the aim to eliminate by thermotherapy some viruses which produce the fan leaf [1], [2], [3] [4], the leaf roll or yellow mosaic [7], [10].

By somatic embryogenesis the "in vitro" regeneration of plants was obtained in *Vitis vinifera* from nucellar callus and in interspecific hybrids from anther [9], and stem callus [6].

Since the use of the tissue culture technique in the production of new genotypes (experimental androgenesis, cell hybridization, polyploidization, etc.), as well as in their fast multiplication, is limited by the lack of efficient methods for "in vitro" regeneration, we studied the callus differentiation in two *Vitis* species and 5 interspecific hybrids with the view to obtain plants.

MATERIALS AND METHODS

Cuttings of 6 varieties of *V. vinifera* (Fetească regală, Fetească neagră, Cabernet Sauvignon, Tămîioasă românească, Chasselas doré, Coarnă neagră), 5 interspecific hybrids (Seyve — Villard 12375 and 12283, Bacco 22 A, Millard French hybrid and the hybrid *V. berlandieri* × *V. riparia* (SO₄)) were forced under laboratory conditions and juvenile plant shoots were used as initial material for callus induction. The material was sterilized by immersion in a solution of 7 % calcium hypochlorite for 10 minutes followed by three fold rinsing with sterile distilled water. The callus was induced from fragments of leaves, stems, roots, inflorescences and anthers. For the induction and growth of callus, as well as for the induction of differentiation, there were used both the Murashige-Skoog [8] and the Gresshoff and Doy [5] media, supplemented with

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. VÉGÉT., TOME 27, No 1, P. 65–67, BUCAREST, 1982

5–c. 1819

auxins: 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D), naphthyl-acetic acid (NAA) and indoleacetic acid (IAA) and cytokinins: 6-benzyl aminopurine (BAP) and kinetine (K) alone or in various combinations ranging from 0.01 to 2 mg/l.

For the study of the differentiation, small pieces of callus were fixed in Navashin (chrome-acetic formalin) and FAA (5 formalin: 5 acetic acid: 90 ethanol, v/v), passed through an ethanol series, embedded in paraffin, serially sectioned at 13–15 microns, stained in safranin and counterstained in aniline blue.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The enrichment of the culture medium with the auxins 2,4-D or NAA induced the formation of callus in the experimental material, while IAA or BAP have not favoured it. A high ratio of auxin relative to cytokinin favours callus formation.

The stem and anthers constitute the best material for callus induction as compared with the leaves and young inflorescences. The morphologic type of callus (the colour, texture and friability) varied to a great extent function of the genotype. Thus, the calli of Seyve-Villard 12375 and Fe-tească regală were friable, while the calli of Seyve-Villard 12283 and Fe-tească neagră were more compact and chlorophyllous. A high ratio of cytokinin relative to auxin favours the callus growth. By culturing every 3–4 weeks, the calli were maintained for 2 years in all varieties and hybrids experimented.

The study of calli differentiation in *V. vinifera* (F. neagră, Tămioasă românească), *V. sylvestris* and in Millard French hybrid showed that a high ratio of auxin relative to cytokinin (1 mg/l 2,4-D and 0.1 mg/l BAP) determined, after 2 passages, in the mass of callus or on its surface, the appearance of some globular formations surrounded by a darkcoloured cell layer gradually turned brown as the rest of the callus did. After about 60 days embryos appeared from the callus of *V. sylvestris*, sixteen embryos in different development stages could separate from one nodular formation. After a latency period (7–45 days), 10 embryos developed plants from the adventitious buds arising on cotyledonary leaves but not from the growth apices.

Krul and Worley [6] have obtained a small white embryoid-like protrusion at Seyval when calli were transferred to the Murashige-Skoog medium with 2 mg/l of NAA instead of 2,4-D. In our experiments the transfer of calli on this medium determined the development of roots or new calli only.

The histologic study of calli showed that tracheids or vascular noduli were differentiated in all varieties and hybrids experimented. In the case of the hybrid *V. berlandieri* × *V. riparia* (SO₄) the calli also formed roots, even on a medium with a high content of cytokinin. The sections made through nodular formations in the initial stage show the presence of a globular mass of meristematic cells (Fig. 1). Subsequently, these meristematic noduli get longer "budding" and become branched (Fig. 2).

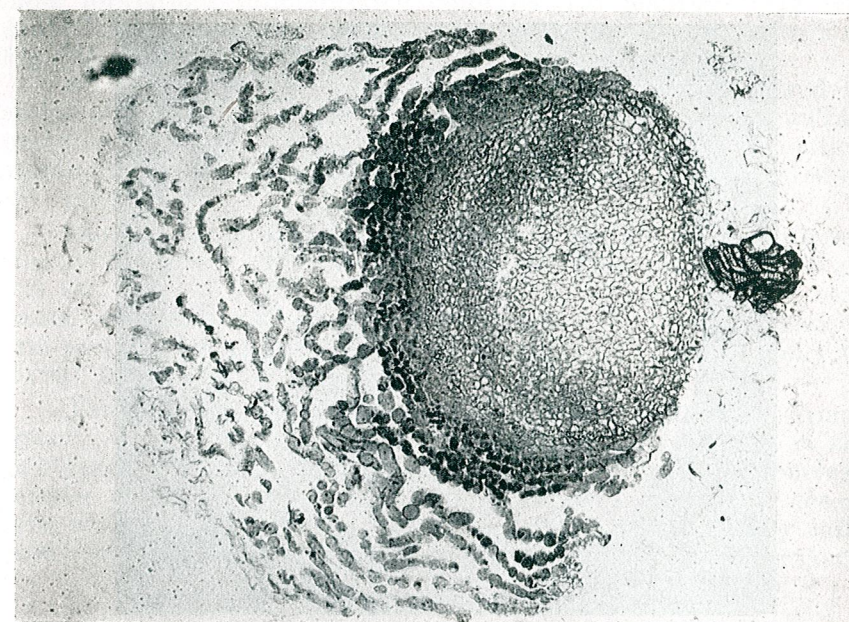


Fig. 1. — Globular formation with meristematic cells at the surface of the callus of *Vitis sylvestris*.



Fig. 2. — Different stages in the development of a globular formation of *V. sylvestris*.

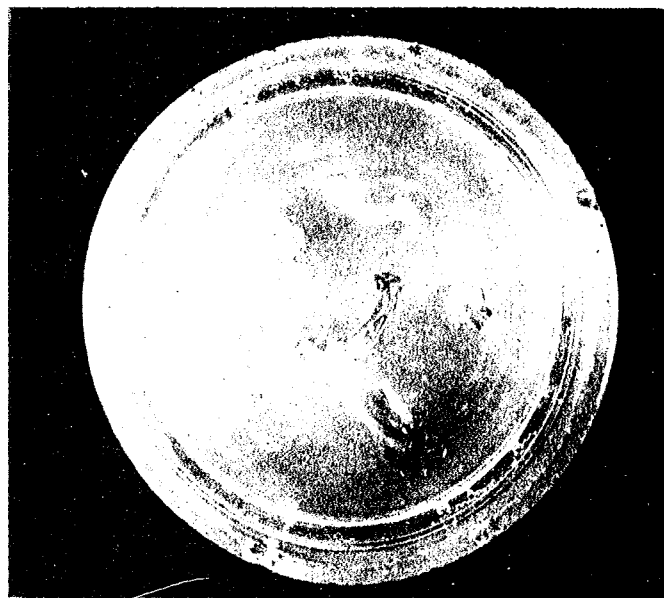


Fig. 3. — Plantlets differentiated from the globular formation.

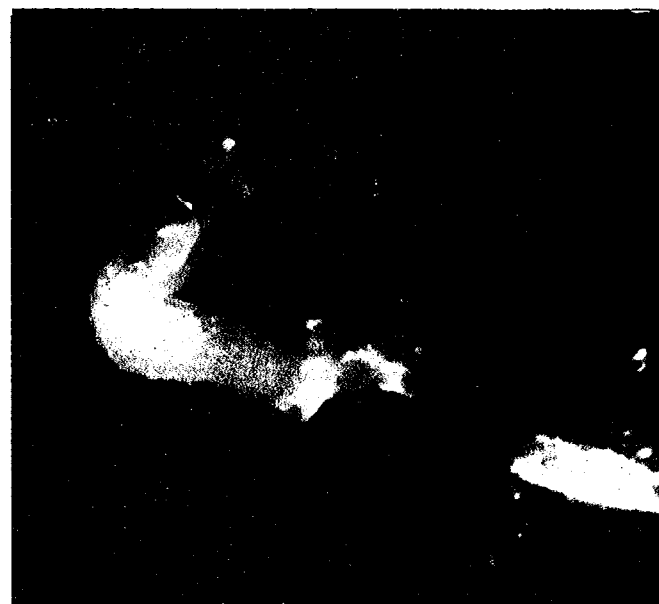


Fig. 4. — Plantlet developed from an adventitious bud appeared on a cotyledonary leaf.

These formations differentiated embryos and plantlets (Fig. 3). Some plants have developed from leaves in contact with the culture medium (Fig. 4).

All interspecific hybrids and species studied by us showed the formation of calli and their growth. In two varieties of *V. vinifera* (Tămîioasă românească, Fetească neagră) and in *V. sylvestris* meristematic noduli appeared, but only in the case of *V. sylvestris* they differentiated embryos and plants.

Our results prove that the capacity of "in vitro" differentiation depends to a great extent on the genotype of the material used and confirm the data of Rajasekaran and Mullins [9] who obtained callus and plants only from anthers of *Vitis vinifera* × *V. rupestris*, and those of Krul and Worley [6], who obtained plants from the callus only with the Seyval hybrid.

The calli studied by us showed a great variability as concern the capacity of differentiation. This variability manifests even in the same genotypes and under identical conditions of culture. In conclusion, we consider that for the regeneration of plants "in vitro" it is necessary to work with a large number of genotypes and also with many calli of the same genotype, because only a part of them show morphogenetic capacity.

REFERENCES

1. Galzy R., 1961, C. R. Acad. Sci., **253**, 706—708.
2. Galzy R., 1964, Ann. Epiphyties, **15**, 245—256.
3. Galzy R., 1966, Bull. Soc. fr. Physiol. vég., **12**, 392—399.
4. Galzy R., 1969, Vitis, **8**, 191—205.
5. Gresshoff P. M., Doy C. H., 1974, Z. Pflanzenphysiol., **73**, 132—141.
6. Krul W. P., Worley J. F., 1977, J. Amer. Soc. Hort. Sci., **102**, 3, 360—363.
7. Mur G., Valat C., Branas J., 1972, Progrès agric. vitic., **1**, 4—7.
8. Murashige T., Skoog F., 1962, Physiol. Plant., **15**, 473—497.
9. Rajasekaran K., Mullins M. G., 1979, J. of Exp. Bot., **30**, 116, 399—407.
10. Valat. C., Mur G., 1976, Progrès agric. vitic., **6**, 200—202.

Received May 27, 1981

Institute of Biological Sciences
Bucharest, Splaiul Independenței 296
and

University of Bucharest
Faculty of Biology, Department of Genetics
Bucharest, Aleea Portocalilor 1

NEW SPECIES IN THE COMPLEX OF FUNGI INDUCING BLACK ROT OF CARROTS IN ROMANIA

BY

LUCREȚIA DUMITRAȘ

The presence of *Chalaropsis thielavioides* Peyronel and of a host plant for *Thielaviopsis basicola* (Berk. et Br.) Ferraris, new to Romania, are reported. Both species are parasitic on carrot roots and induce black rots. The disease was reproduced experimentally on carrot seedlings and with *T. basicola* infections were obtained also on tobacco and cotton seedlings. Optimum conditions for the growth and sporulation of both fungi were provided by temperatures ranging between 18 and 23°C and relative humidity above 85%. The disease is controlled mainly by agrotechnical and sanitation measures.

In 1978 and 1979 on carrot roots sampled in the districts of Sibiu and Brașov* there was detected a disease with symptoms resembling the black rot caused by *Stemphylium radicinum* (Meier, Drechs. et Eddy) Neergard, found in Romania under storage conditions [6].

The examination of the diseased roots revealed the presence of relatively shallow brown-olive-blackish spots, irregular in size and shape, disseminated on the entire root but prevailing in its upper part; under favourable conditions, the diseased areas became depressed in the cortical tissue. Later the lesions were covered by a greyish dust (Plate I, Fig. 2, d, e, f). At temperatures ranging between 17 and 22°C and 100% relative humidity or even less (15–17°C and 80–90% RH) the roots were completely affected by the attack and, finally, almost totally damaged.

Two fungal species were isolated from the infected tissues, i.e.: *Thielaviopsis basicola* (Berk. et Br.) Ferraris, detected in this country for the first time on carrots, and *Chalaropsis thielavioides* Peyronel, a species new to Romania. Both species belong to the family *Dematiaceae*, order *Hyphales*, class *Fungi Imperfecti*. The fungi were detected on the roots, either associated or single at a relatively even frequency. Thus, *T. basicola* and *C. thielavioides* were isolated in a proportion of 8.0–11.3% and 7.8–10.9%, respectively, from diseased carrot roots sampled at Hărman and Cristian, and both fungi were again found together in a proportion of 4.5–8.8% and 4.9–7.0%, respectively, in the samples collected from Codlea and Făgăraș. Only *T. basicola* was isolated from the samples collected at Feldioara, Hălchiu, Ghimbav and Sînpetru (6.0–8.7%) and exclusively *C. thielavioides* was found (4.8–9.6%) in the samples from Săcele and Șercaia. *S. radicinum* was isolated sporadically from a few roots and only from the site of constantly blackish-brown spots.

* A sample consisted of 4–6 Kg roots.

The present study refers to the species *T. basicola* and *C. thielavioides* inducing brown-olive-blackish rots with a greyish hue, frequently located in the root area close to the crown.

The isolations were made on a medium consisting of potato extract-glucose-agar (PGA) and sterilised carrot slices. PGA was more suitable for growth and sporulation; after 11–14 days *T. basicola* formed dark-brown to olive-blackish velvety or grey pulverulent colonies.

The profusely branched, septate mycelium grows both on medium surface and immersed. The life-history of this species also includes a *Chalara* state consisting of rigid lageniform phialides, up to $105\ \mu$ long, $5.5\text{--}8.5\ \mu$ wide in the thicker proximal part and $2.5\text{--}3.5\ \mu$ in the tapered distal part. Endoconidia are observed both inside and on the tapered part of the lageniform phialides; they are colourless, cylindrical, truncate at one end, catenulate, and are discharged through an opening at the distal end of the phialides. They are $6\text{--}16.5 \times 2\text{--}4.5\ \mu$ in size.

Chlamydospores or arthroconidia are formed simultaneously or somewhat later on conidiophores appearing at the same site and even on the same branches where the lageniform phialides were formed.

The conidiophores are $29\text{--}52\ \mu$ long and $6.0\text{--}8.5\ \mu$ wide. Chlamydospores are formed in short chains consisting of 3 to 6 elements and remain as such for some time, resembling a single or multicellular conidium (Plate II, Fig. 4.). The separation of the 3–6 chlamydospores from chains occurs later, at maturity, and with much difficulty; they are short, cylindrical, truncate at both ends, apart from the one with rounded free end sited at the distal end of the chain. The chlamydospores are blackish-brown, thick walled, smooth, single-celled, $6\text{--}12\ \mu$ long and $8.5\text{--}18\ \mu$ wide.

The fungus survives many years in the soil in the form of chlamydospores even in the absence of host plants. In Romania it was reported as early as 1925 on *Hyoscyamus niger* L. and later on tobacco [1], [5].

Chalaropsis thielavioides was first described in 1916 in Italy by Peyronel, on lupine roots and stalks and, subsequently, also in Denmark, the Netherlands and Great Britain on carrot roots and on a few species of cultivated and wild woody plants [3]. Lately, the genus *Chalaropsis* was reported as saprophytic in Romania, but the species was not specified [7]. *C. thielavioides* Peyronel is new to Romania and is the first species of this genus to be reported here.

C. thielavioides forms greyish-olivaceous-blackish colonies on PGA, with a dense aerial or immersed mycelium. The surface of the cultures is soon covered by a greyish dust, paler in colour than the colony.

The microscope examination of the colonies collected directly from naturally infected carrot roots or isolated by us on PGA revealed the presence of a mycelium with fine, colourless to slightly coloured, flexuous, abundantly septate, branched hyphae, $2\text{--}3.5\ \mu$ in diameter, hardly visible after sporulation (Plate II, Fig. 3).

The conidiophores are flexuous, sometimes rigid, raised above the level of the colony, branched dichotomically or irregularly, first hyaline and later yellowish to light brown, with variable sizes, the terminal branches measuring $15\text{--}28\ \mu \times 5\text{--}6\ \mu$. (Plate II, Fig. 3). Conidia are globose, subglobose, ellipsoidal or ovoidal, olivaceous-blackish brown, smooth, thick-walled, single-celled, formed either singly or acrogenously



Plate I

Fig. 1. — Pathogenicity on carrot seedlings under controlled conditions (15 days after emergence): a) *Thielaviopsis basicola*; b) *Chalaropsis thielavioides*; c) healthy seedlings; Fig. 2. — Roots with natural infections, sectioned crosswise and kept in a moist chamber ($T = 18\text{--}20^{\circ}\text{C}$; 100% RH); d) *T. basicola* after 4 days; e, f) *C. thielavioides* after 3 and 6 days.

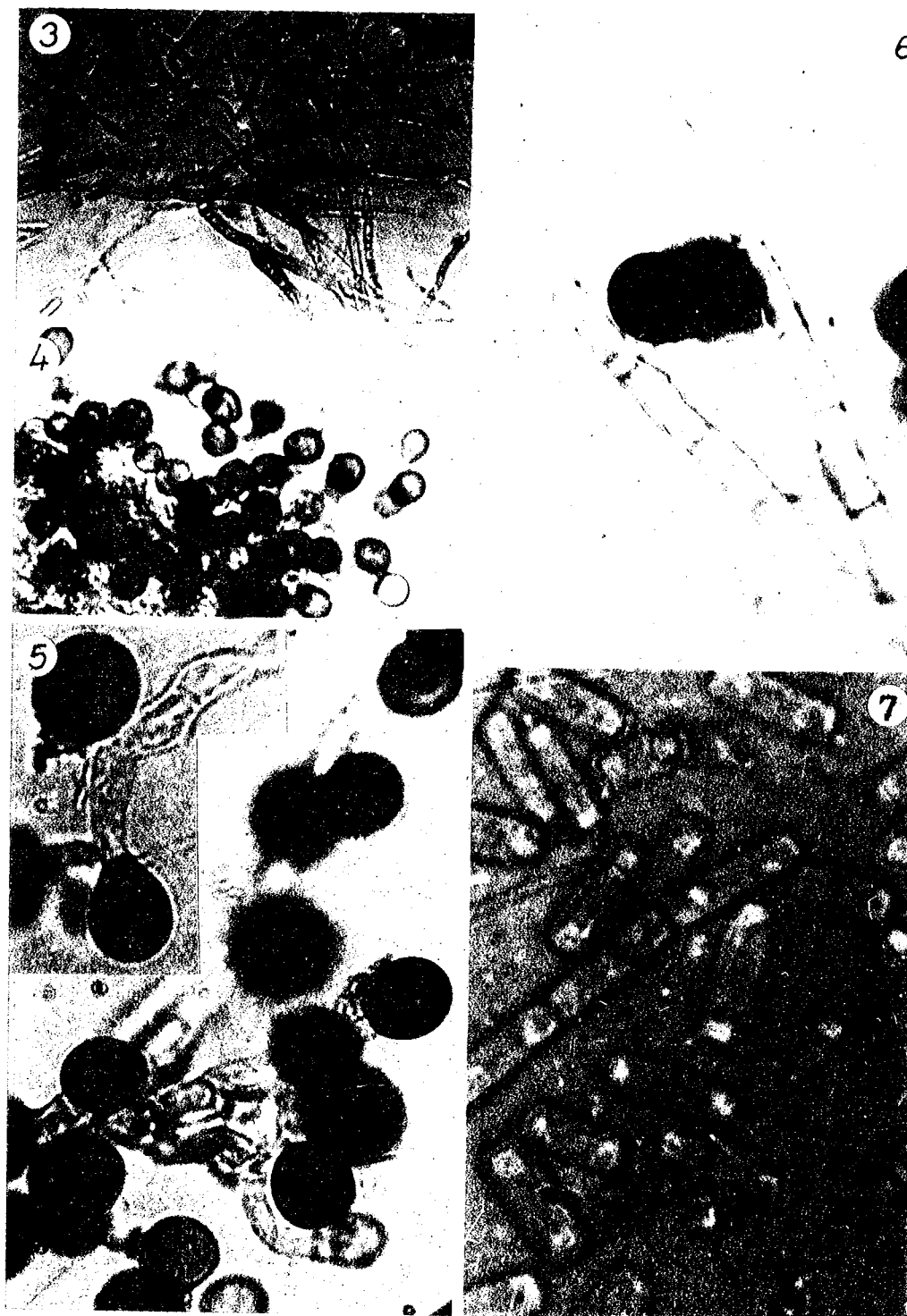


Plate II — *Chalaropsis thielavioides*.

Fig. 3. — Mycelium and conidiophores ($\times 275$); Fig. 4. — Globose blackish-brown conidia ($\times 335$); Fig. 5. — Globose blackish-brown conidia ($\times 900$); Fig. 6. — Phialides ($\times 900$); Fig. 7. — Endoconidia ($\times 1850$).

(Plate II, Figs. 4, 5); at maturity the sizes range between $12.50-18.75 \mu$ and more frequently the diameter is 15μ .

As in the case of *T. basicola*, in the life-cycle of this species there is a *Chalara* state, characteristic of all the species belonging to the genus *Chalaropsis*, with similar morphological elements but differing as regards the sizes. Thus, the lageniform phialides are $4-6 \mu$ wide at the base and 3μ wide apically, and $44-62 \mu$ long (Plate II, Fig. 6); endoconidia are cylindrical, $7.5-15.0 \mu$ long and $2.5-5.0 \mu$ wide, but more frequently $11.25-3.75 \mu$ in size (Plate II, Fig. 7).

With regard to the influence of temperature on development, it was found that irrespective of the artificial substrate used, the best growth and sporulation of both species occurred in the range between 18 and 23°C , with the lower limit up to 14°C and the upper one up to $29-30^\circ\text{C}$. Growth and sporulation were also favoured by high relative humidity above 85% .

In view of the experimental reproduction of the disease both on carrots and on other potential cultivated hosts of *T. basicola* and *C. thielavioides*, experiments were carried out in the glasshouse using sterilised soil infected with mycelium and conidia suspension and surface-disinfected seed. The experiments were conducted at $20-22^\circ\text{C}$ and $96-100\%$ relative humidity. From table 1 it results that *C. thielavioides* was able

Table 1

Frequency (%) of the seedlings attacked by *T. basicola* and *C. thielavioides* in some cultivated plants under glasshouse conditions (1978–1979)

Parasite species	Origin of isolate	Host plant	Days after planting:				
			11	14	16*	19*	21*
<i>T. basicola</i>	Härman	carrots	0	5	6	6	8
" "	"	tobacco	2	6	8	8	11
" "	"	cotton	0	4	7	8	8
" "	Săcele	carrots	3	12	12	12	16
" "	"	tobacco	0	9	9	11	14
" "	"	cotton	0	3	3	6	6
" "	Feldioara	carrots	1	5	8	12	14
" "	"	tobacco	4	11	11	17	21
" "	"	cotton	0	0	6	9	9
<i>C. thielavioides</i>	Săcele	carrots	0	6	8	8	9
" "	"	tobacco	0	0	0	0	0
" "	"	cotton	0	0	0	0	0
" "	Cristian	carrots	1	3	6	7	7
" "	"	tobacco	0	0	0	0	0
" "	"	cotton	0	0	0	0	0

* endoconidia and chlamydospores are present

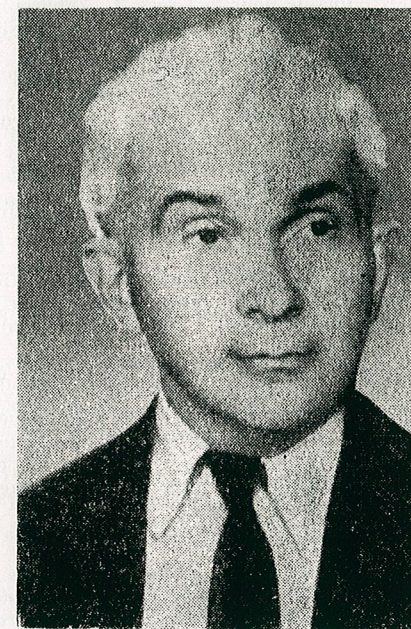
to infect carrot seedlings in a proportion of $7-9\%$ but not tobacco and cotton; infections were induced by all *T. basicola* isolates in the three plant species, but the highest percentage of attacked seedlings was recorded in tobacco ($11-21\%$).

The development of the attacked seedlings was arrested irrespective of the isolate, host plant or pathogen used, and was followed by a slight yellowing of their above-ground parts and rotting of seedling base and rootlets which, finally, caused their falling down and total damaging (Plate I, Fig. 1 a, b, c).

The observations and experiments described show that *T. basicola* and *C. thielavioides* inducing black rot in southern Transylvania are pathogenic and prevalent on carrot seedlings.

Many plant species including tobacco and cotton to which *T. basicola* is pathogenic are cited in the speciality literature from different countries and also are confirmed by our studies [2], [4], [8]; *C. thielavioides* was not present in Romania on other host species except carrot.

Since *T. basicola* and *C. thielavioides* are long-living saprophytes and survive for long periods both in the soil and in the root remains left after harvesting, and in order to prevent the attacks, carrots should be grown in the same field every 3–4 years, avoiding any potential host in the crop rotation. The attacks can be also prevented by deep ploughing, the avoidance of wet or sloping fields, timely planting, the control of weeds including those that are hosts of these parasites, and the application of sanitation measures both in the field and during storage.



DE LA VIE ET DE L'ACTIVITÉ SCIENTIFIQUE DU BOTANISTE OCTOGÉNAIRE DR. ING. C. ZAHARIADI

Né le 9/22 janvier 1901, Constantin Zahariadi suit les cours de lycée et passe son baccalauréat (1918), obtenant la médaille d'or. Il fait ses études universitaires (1919–1922) à l'Ecole supérieure d'Agriculture de Montpellier, étant classifié le 2^e de sa promotion. Il se spécialise surtout dans la viticulture et dans la œnologie. En même temps, il fréquente les cours de botanique à la Faculté des sciences du même centre universitaire et obtient le certificat de botanique.

Sa formation scientifique, son travail sérieux, constituent un modèle à suivre car il a accumulé, graduellement, avec une rare passion et abnégation, de profondes connaissances de biologie végétale.

Dans sa région natale il commence les explorations floristiques, des analyses de matériel, de même que l'organisation de ses recherches de botanique théorique et appliquée. Il collabore avec le professeur Tr. Săvulescu et Dr. T. Rayss, en publiant les résultats des recherches dans le Bulletin scientifique de l'Académie Roumaine.

Il travaille comme assistant à la Faculté d'Agronomie de Bucarest entre 1943 et 1961 puis comme chef de laboratoire et de secteur à I.C.A.R. ; à la création de l'Institut « Tr. Săvulescu » de l'Académie Roumaine il est nommé (en 1961) chef de secteur au laboratoire de Botanique systématique, où il fonctionne jusqu'en 1969, ayant pour collègue le prof. Tr. Ștefureac. La même année il soutient sa thèse de doctorat en agronomie sur le genre *Allium* de Roumanie, sujet magistralement traité, avec une particulière profondeur et originalité.

En 1952 il est nommé collaborateur à la « Flore de la R.P.R. — R. S. de Roumanie » et en 1972 il est élu *regional advisers* à « Flora Europaea », ayant, dans cette double activité

une substantielle contribution concernant ses recherches monographiques de certains genres de Liliacées et autres.

Parti officiellement de Roumanie pour la Grèce, C. Zahariadi est nommé (1970) chercheur scientifique au Musée d'histoire naturelle Goulandris de Kifissia d'Athènes, où il effectue, de nos jours aussi ses prestigieuses études botaniques.

Sa complexe activité, particulièrement prolifique, s'étend jusqu'à présent, sur une période de 5 décennies (1926—1981) et il la continue avec la même persévérance et intensité.

Ses multiples préoccupations botaniques reflètent non seulement une solide formation scientifique, une passion sans limites dans la recherche, mais elles excellent aussi à l'emploi d'une méthodologie toute actuelle et elles expriment les conceptions intégrées dans les principes d'avant-garde de la biologie végétale en biophytotaxonomie.

Dans l'évolution de l'étude de la taxonomie moderne en Roumanie on a souligné spécialement, à différentes étapes, les remarquables contributions des prof. Dr. M. Guşuleac et Dr. Ing. C. Zahariadi.

Surmontant bien souvent de grandes difficultés et des sacrifices, C. Zahariadi s'adonne pleinement aux études botaniques avec un total dévouement et contribue avec un élan inassouvi et une admirable modestie, qui le caractérisent, à l'élévation de l'édifice de la botanique roumaine et universelle.

Les résultats de ses recherches dans le domaine des variées disciplines de la botanique sont concrétisés dans la publication et la rédaction d'environ 100 travaux de valeur qui ont été largement appréciés dans notre pays et à l'étranger, étant fréquemment cités dans la littérature de spécialité. Ils sont publiés dans les périodiques de ce profil de notre pays (de l'Académie, de l'Institut agronomique, de la Flore de la Rép. Soc. de Roumanie, de la Revue « La Nature » et autres) et de l'étranger (Journal linéen de la Société de botanique, Flora Europaea, Botaniceski jurnal, Annales du Musée Goulandris etc.).

L'analyse de ses ouvrages permet de les inclure dans deux grands domaines, à savoir :

I. Travaux à caractère théorique de biologie végétale, tenant aux disciplines :

Floristique, explorant la flore de sa région natale, il publie en collaboration avec le professeur Tr. Săvulescu de nouvelles plantes rares (1926, 1934) et seul en 1937, 1940. Il étudie seul et en collaboration (1932—1971), certains taxons à signification phytogéographique : *Serratula bulgarica* (1946), *Echinops microcephalus* (1952), *Cyperus deformis* et *Echinochloa phyllopogon* nouveaux pour notre pays (1955), *Orobancha brassicae* (1955), *Lathyrus cicer* (1955), plantes nouvelles pour la Roumanie (1956), Liliacées non signalées et douteuses (1969), des taxons nouveaux dans la flore de Grèce (1973, 1977) etc. et il inscrit son nom à côté des auteurs du « Guide de cartographie de la flore des Carpates de Roumanie » (Tr. I. Ştefureac, C. Zahariadi, G. Dihoru).

Il contribue à la Flore de la R. S. de Roumanie avec 400 pages, en analysant monographiquement les familles : *Tamaricaceae* (V^e vol., 1955), *Liliaceae* et *Amaryllidaceae* (XI^e-vol., 1966). Outre les nouveaux taxons décrits, appartenant aux genres *Ornithogalum* et *Allium*, dans l'Addenda sont insérés des infrataxons dans le cadre de la variabilité des espèces : *Lilium jankae*, *Asparagus pseudoscaberrimus*, *Galanthus nivalis*, *Najas graminea*, *Serratula bulgarica* et autres.

Il élabore de manière monographique dans Flora Europaea le genre *Ornithogalum* (V^e tome, 1977), rédigeant la clef du genre, décrivant de nouvelles espèces, délimitant certains sous-genres, il y apporte de nouvelles précisions. Dans la même œuvre au genre *Allium*, analysé par D. A. Webb, sont introduites 5 espèces nouvelles, décrites par C. Zahariadi (1975, 1977).

Taxonomie : contributions à la morphologie et à la taxonomie de certaines espèces de *Galanthus* de l'U.R.S.S. et de Roumanie (1958), la taxonomie des quelques phanérogames de Roumanie (1964), des notes critiques sur quelques Rubiacées de la R. S. de Roumanie (1965), la taxonomie et la morphologie des espèces de *Colchicum* de l'Europe du sud-est et du Caucase (1968) et autres.

Biologie : recherches sur une mauvaise herbe des rizières de Roumanie (*Najas graminea*) (1962), la biologie de la floraison chez certaines espèces de Liliacées et Amaryllidacées (1963), la migration des substances élaborées et la morphologie des organes de réserve chez les espèces de *Allium* (1969), le phénomène de hétérosis chez *Gagea* (1956), l'absorption de la lumière — caractère taxonomique (1968) etc.

Flore et végétation : de certaines régions de Dobroudja (1963), les prés naturels du Bărăgan (1957), la réserve naturelle de Fintinița (1965) et autres.

Ouvrages de conception : nouvelles orientations dans la taxonomie des phanérogames (1976), la taxonomie intuitive et la taxonomie numérique dans la délimitation superspécifique du genre *Allium* (1968), modalités d'application des informations taxonomiques dans la détermination des taxons de ce genre (1968), considérations employées en taxonomie (1977).

Etudes monographiques : ses travaux de conception ont formé la base de l'élaboration de ses monographies concernant les 2 genres de Liliacées, publiées dans la « Flore de la République Socialiste de Roumanie » et dans « Flora Europaea ».

Ses recherches sur le genre *Ornithogalum* (durant plus de 30 années) commencées en Roumanie, sont continuées en Grèce, ainsi qu'un aréal plus large ponto-méditerranéen. Ses publications se réfèrent tout d'abord aux caractéristiques morphologiques, anatomiques et biologiques (1962), à la taxonomie expérimentale (1964), aux sous-genres et sections avec la valeur comparative des caractères (1965), aux taxons superspécifiques et le poids des caractères différentiels (1965), à la description de 5 espèces nouvelles en Grèce (1977), à des observations sur la méthode de classification tridimensionnelle (1977), aux genres *Ornithogalum* dans « Flora Europaea » (1977), à deux taxons nouveaux ou rares de la Méditerranée orientale, avec des considérations sur la notion d'endémisme (1978), à la délimitation des sous-genres avec l'introduction d'un tableau polytomique, ayant 52 caractères et 40 diagnèmes et autres.

Dans la « Flore de la République Socialiste de Roumanie » (XI^e vol., 1966), il inclut les espèces nouvelles décrites : *Ornithogalum psammophilum*, *amphibolum*, *oreoides* (1962), y compris des infrataxons chez *O. fimbriatum* et *O. refractum*, délimite (1965), les sous-genres nouveaux *Hypogaeum* et *Amphibolum* et introduit toute une série de nouvelles précisions critiques chez divers taxons du genre.

En analysant le genre *Ornithogalum* dans la « Flora Europaea » aussi (V^e vol., 1977), il rédige la clef pour 34 espèces européennes, en délimitant 6 sous-genres nouveaux (*Oreogalum*, *Anosmium*, *Oreoides*, *Hypogaeum*, *Amphibolum*, *Amphigalum*) et introduit 7 espèces nouvelles décrites (*O. creticum*, *ponticum*, *prassinantherum*, *oreoides*, *costatum*, *amphibolum*, *exaratum*) et, dans le cadre de la variabilité de l'espèce *O. orthophyllum* il délimite de manière critique 5 sous-espèces de Grèce (1977). Il élabore la clef dichotomique sur 24 espèces de Grèce. Les diagnèmes signalés permettent la délimitation des espèces, en utilisant les particularités morphologiques de l'androcée et du gynécée, la structure du bulbe et de la graine. Les observations analytiques, exprimées en figures claires, indiquent la valeur comparative, différentielle des espèces.

Le deuxième genre analysé de manière monographique est *Allium*. Ses longues études sur ce genre commencent à se faire valoir sur la base d'observations et d'analyses, par des ouvrages de conception en taxonomie et dans l'application des informations, des délimitations superspécifiques, la détermination des matériaux de Roumanie et de Grèce, tous accompagnés de considérations sur les méthodes modernes en taxonomie.

Dans la « Flore de la R. S. de Roumanie » de (XI^e tome, 1966), il rédige pour ce genre la clef dichotomique et la description des espèces. A l'Addenda sont décrits certains infrataxons chez les espèces *A. ochroleucum*, *tauricum*, *fuscum*, etc.

De la flore de Grèce et de Roumanie, il décrit, dans le cadre du sous-genre *Codonoprasum*, les espèces nouvelles : *A. amplyanthum*, *favosum*, *macedonicum*, *amphipulchellum*, ainsi que deux espèces de la flore de Grèce : *A. dilatatum* et *integerrimum* (1977).

Dans sa thèse de doctorat sur le genre *Allium* de Roumanie (1969) on relève, suite à ses préoccupations, en appliquant une originale technique minutieuse (travail de plus de 17 années), les résultats obtenus quant à la morphologie, à l'anatomie et à la biologie des espèces dans les phases ontogénétiques successives. Ses études expérimentales poursuivies dans des conditions écologiques variées, lui ont permis d'établir une série de caractères et de diagnèmes nouveaux saisis (rencontrés) aux organes sous-terrains et aériens, notes insérées dans les tableaux analytiques de délimitation des taxons. Y sont relevés les relations phénétiques entre les sections, avec la détermination des coefficients de ressemblance, y compris le phénogramme des relations entre les sections. Il élabore des clefs monotomique, dichotomiques et polytomiques, y compris les fiches perforées et la modalité pratique de détermination des taxons avec l'annexion des fiches pour y inclure les espèces dans les 10 sections et les 11 sous-sections.

Il décrit la sous-section nouvelle *Chloroprassum* (1968) et précise les taxons supérieurs de la catégorie des sections : *Petroprassum*, *Rhizirideum*, *Codonoprasum*. Il précise la position systématique des espèces : *A. tauricum*, *podolicum*, *fuscum*, *savranicum* et autres et classe le cycle complexe de l'espèce *A. sphaerocephalum*.

Nous estimons qu'il est important de relever, pour les genres *Ornithogalum* et *Allium*, analysés de manière monographique par C. Zahariadi, ses conceptions en taxonomie où il introduit, avec originalité, des principes qui enrichissent le sens et le but actuel de la taxonomie : réduction du rôle attribué au matériel exclusivement destiné aux herbiers ; création d'une collection de plantes ou d'organes conservés dans des fixateurs — tridimensionnelle ; organisation d'une collection vivante où par voie expérimentale l'on poursuivrait le cycle évolutif ontogénétique complet — quaternidimensionnelle, avec l'introduction aussi du temps biologique comme la IV^e dimension ; adaptation des tableaux polytomiques, de même que celle des fiches perforées qui constituent la base de la taxonomie numérique.

Parmi les méthodes employées en taxonomie il insiste sur celles morphobiogéographiques, de détecter les diagnèmes non seulement dans les chromosomes, mais aussi dans l'ensemble de l'organisme; biologiques (de jarovisation, limites); physicochimiques, chémotaxonomiques etc. Il établit les phases de croissance et de développement des plantes, avec l'application de la taxonomie numérique, en employant l'étude populationnelle pour établir la variabilité taxonomique, y compris le mode de conservation du matériel dans les collections.

« L'herbier C. Zahariadi », ayant environ 30.000 feuilles constitue une œuvre rare, comportant des matériaux de la flore de République Socialiste Moldave (U.R.S.S.), de Dobroudja, de Valachie et autres. Il constitue une entité séparée dans le cadre de l'herbier (BUC. Z) de l'Institut de biologie de Bucarest. On y remarque la précision scientifique rigoureuse, de même que la minutie technique dans l'élaboration de cette collection de valeur qui suscite l'admiration des botanistes roumains et étrangers et représente une source documentaire sûre. Les nouvelles espèces décrites par C. Zahariadi ont leurs holotypes dans cette collection. A mentionner que, à la même institution se trouve aussi le séchoir de plantes (séchoir-pressé), type Zahariadi, utilisé également de nos jours avec succès.

Il collabore, en présentant certains taxons, aux exsiccata de notre pays: « Flora Roumaniae Exsiccata », « Flora Exsiccata graminearum et leguminosarum Romaniae », « Herbarium Mycologicum Romanicum » etc. Des matériaux de son herbier sont introduits aussi dans certaines collections des instituts à ce profil, de l'étranger.

Dans le cadre du Musée d'histoire naturelle Goulandrîs, C. Zahariadi compte parmi ses préoccupations: la monographie du genre *Ornithogalum* dans les limites aréalographiques paléoméditerranéennes (Grèce, Italie, Afrique du nord, Asie Mineure, Iran et autres); la corologie de ce genre en Grèce et de nouvelles espèces au Proche-Orient et en Grèce (les deux sous presse); recherches taxonomiques sur le genre *Ornithogalum* (en collab. avec le prof. R. Gorenflot); les téguments des grains; des recherches cariologiques et pallinologiques etc; complètement de son étude sur le genre *Ornithogalum*, qu'il considère « magnum opus » de même que l'ouvrage sur le genre *Allium* avec l'inclusion des espèces de Grèce aussi, y compris des pays limitrophes; rédaction des fiches perforées et autres, contribuant en même temps à l'enrichissement de l'herbier du Musée Goulandrîs, comme à l'élaboration de la flore nouvelle de Grèce.

De cette manière, C. Zahariadi ne s'est pas limité dans ses études monographiques seulement à la flore de certaines régions de Roumanie, mais il les étend sur un aréal plus large: la Moldavie du Sud et la Dobroudja, la Dobroudja et la Valachie et autres, mais surtout, à souligner, celles se référant à la Roumanie et à la Grèce, à la Roumanie et l'U.R.S.S., à l'Europe du sud-est et au Caucase, au Proche-Orient et la Grèce, la Méditerranée orientale, les limites paléoméditerranéennes, comme les pays du bassin méditerranéen en général.

II. Dans le domaine de la botanique à l'aspect pratique économique, C. Zahariadi a publié des études de viticulture et des contributions concernant l'emploi des herbicides dans les cultures agricoles.

En tant que viticulteur et œnologue, il introduit des méthodes de pronostic sur le temps, de la lutte contre les maladies bactériennes du vin, en perfectionnant les procédés de vinification; il introduit des méthodes de rafraîchissement du moût avant et après la fermentation et propose une méthode personnelle pour obtenir les vins doux et liqueux, basée exclusivement sur des méthodes physiques, par l'effet des irradiations nocturnes.

Dans l'application des herbicides employés à combattre les mauvaises herbes apparues dans les semis, il publie, lui seul et en collaboration, de nombreux ouvrages basés sur les expériences au laboratoire, vérifiées dans la pratique, dont nous citons: la destruction des mauvaises herbes dans les cultures des céréales et légumineuses (avec le chlorophénoxyacétate de natrium), la destruction de l'espèce *Sinapis arvensis* dans les cultures, de l'espèce *Trapa natans* par des méthodes chimiques et autres, en étudiant la sensibilité et la résistance du maïs à l'action des herbicides, afin de détruire les mauvaises herbes (à l'aide de la symazine) etc.

C. Zahariadi a créé une méthode de délintération des grains de lin par flambement, en construisant un appareil, ce qui lui a valu la médaille d'inventeur et, sur la base des succès remportés en utilisant les herbicides dans le combat contre les mauvaises herbes, on lui a conféré le Prix d'Etat de Roumanie (1954) avec médaille d'argent.

Parmi d'autres travaux, C. Zahariadi collabore avec le professeur Tr. Săvulescu à l'« Etat phytosanitaire », écrit des articles, et des brochures concernant le cancer des arbres fruitiers, l'ensilage des fourrages verts etc.

Dans l'action de protection de la nature, et de la connaissance éco- et du génofonds de quelques réserves naturelles, il publie un méritoire ouvrage sur la réserve de Fintinița de Dobroudja et insiste, en même temps, dans d'autres ouvrages, sur la protection des plantes rares et en voie de disparition. Il collabore à l'étude ayant trait à certaines problèmes écologiques sur la protection chimique des plantes en Roumanie.

Du fait de sa solide formation de botaniste et d'agronome, C. Zahariadi a abordé une large thématique dans les domaines fondamentaux et pratiques de la biologie, déployant une activité particulièrement prolifique et prestigieuse, grâce à laquelle il occupe une place importante parmi les grandes personnalités de la botanique roumaine et universelle. Il a le mérite d'avoir pensé et introduit dans ses études, surtout dans celles de phytotaxonomie, les méthodes modernes approfondies de manière suggestive et originale, reflétées dans ses ouvrages remarquables monographiques sur les genres *Ornithogalum* et *Allium*, comme sur d'autres genres des Liliacées.

Connaisseur de plusieurs langues étrangères de large circulation, bon et attentif observateur, accumulant à travers le temps une vaste information scientifique, C. Zahariadi réussit à acquérir une riche culture biologique encyclopédique, enrichissant, substantiellement l'arsenal des connaissances botaniques de biologie végétale. Il entretient une vaste correspondance scientifique avec les botanistes roumains et avec de nombreuses personnalités botaniques de l'étranger.

C. Zahariadi a contribué à la formation, de quelques jeunes botanistes roumains.

Ses ouvrages, lui ont valu en 1975 sa nomination comme membre titulaire de la Société botanique de France.

Il participe activement à de nombreux congrès et symposiums internationaux, tels le Congrès botanique de Leningrad (1957), le Symposium Flora Europaea de Roumanie (1963) et de Suisse (1970), le Symposium international sur la flore et végétation des Balkans à Varna (1973), le XII^e Congrès international de botanique de Leningrad (1975), ainsi que celui d'Edinbourg et autres.

A l'occasion de son anniversaire, nous le prions de recevoir nos meilleurs vœux de santé et de nouvelles réalisations dans le domaine des sciences botaniques.

Traian I. Ștefureac

N. SĂLĂGEANU, L. ATANASIU, *Fotosinteza* (La photosynthèse), Ed. Academiei, Bucarest, 1981, 190 p.

Bien que la photosynthèse a représenté le domaine des préoccupations de certains chercheurs remarquables, comme suite à sa complexité, l'ensemble des connaissances acquises longtemps après sa découverte mena seulement à l'établissement, en traits généraux, de ses conditions de déploiement, ainsi que des aspects énergétiques généraux du processus. Le domaine gagna en importance à peine dans les dernières 4—5 décennies de notre siècle, quand les progrès des différents embranchements de la science et de la technique ont permis l'obtention de certaines données extrêmement importantes dans l'éclaircissement, partiel pour l'instant, de certains aspects du mécanisme de ce processus. Actuellement, dans le contexte de l'aggravation de la crise énergétique et dans la perspective d'une éventuelle crise alimentaire, comme suite à l'explosion démographique, les recherches sur la photosynthèse ont gagné une importance insupposable antérieurement, étant donné que les plantes vertes sont les seuls organismes de notre planète, capables de néo-former d'immenses quantités de substances organiques, renfermant dans celles-ci une partie d'une énergie pratiquement inépuisable — l'énergie des rayonnements solaires. Dans ces circonstances quand l'humanité est confrontée avec la solution de certains problèmes dont dépend sa prochaine existence, il s'impose, nécessairement, la synthèse périodique de l'ensemble des connaissances acquises au monde, comme suite à la recherche scientifique, une évaluation réaliste des données, de leur valeur d'application et des perspectives qu'elles ouvrent.

L'ouvrage, paru aux Editions de l'Académie de la République Socialiste de Roumanie et signé par deux spécialistes très réputés — avec une longue activité de recherche dans ce domaine —, bien que de dimensions réduites (190 pages avec 155 figures et 7 tableaux dans le texte), tâche de répondre à ce but, en présentant sous forme synthétique, accessible, les étapes principales de l'évolution des connaissances sur la photosynthèse, les résultats obtenus, les problèmes sans solution ou insuffisamment fondés, ainsi que les perspectives des recherches.

Cet ensemble de problèmes est présenté dans 14 chapitres, notamment: 1. La découverte de la photosynthèse; 2. L'évolution des connaissances sur la photosynthèse jusqu'à présent; 3. L'influence du milieu sur l'intensité de la photosynthèse; 4. L'appareil photosynthétique; 5. Les pigments des chloroplastes; 6. L'absorption de la lumière et les changements d'énergie; 7. Le dégagement de l'oxygène; 8. Les voies d'assimilation photosynthétique du carbone; 9. La photorespiration; 10. La photosynthèse des lichens et des bryophytes; 11. La photosynthèse des plantes aquatiques; 12. La photosynthèse des arbres de la forêt; 13. La photosynthèse et la récolte des plantes de culture et 14. Perspectives.

Les auteurs développent surtout les problèmes concernant l'influence des facteurs externes (physiques et chimiques) sur l'intensité de la photosynthèse, dont la connaissance offre la perspective de la direction, entre certaines limites, de ce processus dans l'intérêt de l'activité humaine. On accorde également une importance particulière à l'exposé du niveau actuel des connaissances acquises comme suite à l'étude des différents aspects structuraux sur l'appareil photosynthétique et aux recherches effectuées sur le mécanisme de la photosynthèse, en insistant sur les particularités de la phase-lumière du processus, ainsi que sur les voies C_3 , C_4 et CAM de fixation photosynthétique du carbone. Dans les derniers chapitres sont présentés les aspects écologiques de la photosynthèse mettant en valeur leur importance pratique, surtout dans l'agriculture et la sylviculture; finalement, quelques directions possibles de développement sont esquissées dans la perspective des recherches pour ce domaine d'une si grande importance.

Dans cet ouvrage sont présentés, partie intégrante dans l'ensemble des connaissances acquises au monde, les principaux résultats des recherches faites en Roumanie et dirigées notamment vers l'étude des aspects phénoménologiques de la photosynthèse (l'influence des facteurs externes sur le processus chez les plantes de différentes espèces, l'évolution journalière et saisonnière du processus) et dans une mesure réduite vers les aspects énergétiques et les mécanismes qui se trouvent à la base de son développement.

Par l'ensemble des problèmes posés, par la conception unitaire qui caractérise la manière de présentation de l'état actuel de connaissances sur la photosynthèse, l'ouvrage constitue une bonne source de renseignements. Il est utile non seulement aux biologistes, mais aussi aux spécialistes des domaines différents, qui par leur activité restent tributaires aux succès remportés comme suite à l'étude de ce processus avec de grandes perspectives concernant les solutions pour de nouvelles sources d'énergie.

O. Boldor

R. HELLER, *Abrégé de physiologie végétale*, Tome I, *Nutrition*, Tome II, *Development*, Masson, Paris, 1981

Die von R. Heller im Rahmen eines „Abrégé de physiologie végétale“ ausgearbeiteten Bände bilden ein ausgezeichnetes Beispiel wie die komplexen und verschiedenen Phänomene und Prozesse der Pflanzenwelt in ihren wesentlichen Aspekten behandelt werden können.

Die Probleme, in den 14 Abschnitten des ersten Bandes, die der Ernährung gewidmet sind, haben ihren Schwerpunkt innerhalb der theoretischen und praktischen Bedeutung der dort beschriebenen Begriffe.

Im ersten Abschnitte, nach einer kurzen Darstellung einiger Begriffe der Zellbiologie mit einer speziellen Betrachtung der Pflanzenzelle, macht der Verfasser einen sehr nützlichen Einfall in die Verhältnisse der Pflanze mit dem Wasser, in welchen er die Absorption und die Ausscheidung desselben, sowie deren Transport und das hydrische Gleichgewicht mit all ihren Einflüssen auf die Pflanze, betrachtet. Andere drei Abschnitte sind der Mineral-Ernährung, zwei der Stickstoff-Ernährung, drei der Photosynthese, einer dem Katabolismus und schließlich der letzte Abschnitt ist der Rolle der Pflanzen im Kreislauf der Materie und der Energie, gewidmet.

Der zweite Band behandelt die „Entwicklung“ und enthält ebenfalls 14 Abschnitte, welche die Entwicklung der Spermatophyten bearbeiten, in den nächsten vier Abschnitten wird das Verhalten der Pflanzen, die Aspekte des kinetischen Wachstums, die Tropismen und andere Bewegungen, sowie die Kontrolle der Morphogenesis, analysiert. Fünf Abschnitte behandeln die Phytohormone, welche eine Hauptrolle im Wachstum und in der Entwicklung der Pflanze haben. In den nachfolgenden drei Abschnitten wird das latente Leben und der Ruhestand, die Entfaltung der Blüte und der Photoperiodismus, als auch die Phytochromie und andere Photorezeptoren, behandelt.

Wir haben vor uns eine synthetische Behandlung von Aspekten und Mechanismen der Pflanzenphysiologie die überaus kompliziert sind. Der Verfasser hat das Problem der Einführung von neu erworbenen Kenntnissen, die in den letzten zehn Jahren in der Pflanzenphysiologie gemacht wurden, erwähnt, indem er auf einige frühere Angaben verzichtet hat. Dieses Verfahren wurde durch den Charakter dieser Kurzfassung der Arbeit bestimmt, aber diese Ausarbeitung bildet nicht einen Verlust für den Leser, sondern einen Gewinn, in welcher Hinsicht der Verfasser einen guten Erfolg erzielt hat.

Die Tatsache, daß die Vorlegung der Begriffe gut und suggestiv illustriert ist, sowie eine klare Darstellungsweise gebraucht wird, erleichtert erheblich die Erfassung der Angaben und macht aus diesen Bänden ein sehr nützliches Instrument für die Hörer und die Lehrer aus dem Mittelschul- und Hochschulunterrichte, sowie für jederman der sich mit dem Pflanzenleben beschäftigt.

Durch das Erscheinen dieses gelungenen Abrégé's, haben sowohl der Verfasser als auch der Herausgeber der Wissenschaft des Pflanzenlebens einen guten Dienst geleistet; diese Tatsache bestimmt und die Abfassung mit voller Überzeugung zu empfehlen.

Ion T. Tarnavski
Lucian Atanasiu

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 seront 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, 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, en anglais. 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.

PRINTED IN ROMANIA