

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:

Pr I. MORARIU

Membres:

N. CEAPOIU, membre de l'Académie de la République
Socialiste de Roumanie; Pr. ȘT. CSÜRÖS; GH. DIHORU;
Pr. TR. I. ȘTEFUREAC; Pr. I. T. TARNAVSCI;
Pr. G. ZARNEA

Secrétaires de rédaction:

GEORGETA FABIAN-GĂLAN; L. ATANASIU

La « Revue roumaine de biologie — Série de biologie végétale »
paraît deux fois par an. Toute commande de l'étranger (fascicules
ou abonnements) sera adressée à ROMPRESFILATELIA, Dépar-
tement d'exportation-importation (Presse), P.O. Box 12—201,
téléx 10376 prsfi r, București, Calea Griviței 64—66, România, ou
à ses représentants à l'étranger; le prix d'un abonnement est
de \$ 38 par an.

Les manuscrits ainsi que toute corres-
pondance seront envoyés à la rédaction
et les livres et publications proposés en
échange à INSTITUTUL DE ȘTIINȚE
BIOLOGICE, 79651 București, Spla-
iul 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 32

1987

N° 1

janvier—juin 1987

S O M M A I R E

N. HALLENBERG, M. TOMA, Species of <i>Corticaceae</i> (Basidiomycetes) new to the mycoflora of Romania	3
G. DIHORU, Areal limits in the Romanian territory: <i>Alyssum minutum</i> Schlecht. ex DC. 1821	11
ANGHEL RICHÎTEANU, VERA BONTEA, On <i>Protoventuria</i> Berl. et Sacc. (<i>Venturiaceae-Ascomycetes</i>) on <i>Ericales</i> in Romania	15
MIHAELA PAUCĂ-COMĂNESCU, AURICA TĂGINĂ, M. EREMIA, A. POPESCU, V. SANDA, Diversity of primary producers in the mixed deciduous "șleau" forests of Northern Moldavia (S. R. Romania)	23
ANCA LIDIA ANTOHE, La croissance des bourgeons au cours de la période de végétation de l'espèce <i>Aligoté</i> . La relation entre la croissance des drageons, la surface des feuilles et la croissance des bourgeons.	31
CONSTANȚA SPĂRCHIEZ, V. SORAN, C. CRĂCIUN, A. POLIZU and VERONICA CRĂCIUN, Trifluralin influence on the ultrastructure of root meristem cells in wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) and sunflower (<i>Helianthus annuus</i> L.)	39
MARGARETA DUMITRESCU, N. ROMAN, M. FALCA, R. GORENFIOT, Le rôle des effecteurs lectiniques de la peroxydase dans l'adaptabilité des plantes. Étude par électrophorèse d'affinité.	43
GR. MIHĂESCU, GH. MENCINICOPSCHEL, GAVRIILĂ and IOANA TRANDABURU, Division and sporulation mutants in a <i>Bacillus subtilis</i> strain (I. C. A.—1.65). Cytological aspects.	49
IOANA GOMOIU, Mutagenesis programme to obtain some highly producing amylases of <i>Aspergillus niger</i>	57
GR. MIHĂESCU, IOANA TRANDABURU, Endogenous cycle of nitrogen in a bacterial association forming mucilaginous masses <i>In memoriam</i> : TR. I. ȘTEFUREAC	63 69

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. VÉGÉT., TOME 32, N° 1, P. 1 — 72, BUCAREST, 1987

SPECIES OF *CORTICIACEAE* (BASIDIOMYCETES) NEW TO THE MYCOFLORA OF ROMANIA

N. HALLENBERG and M. TOMA

In this paper 35 species of *Corticiaceae* (s.l.) from Romania are reported for the first time. Hitherto there have been rather few records from this country. Consequently, some species which are regarded as common in other parts of Europe are also mentioned in this paper.

A significant number of species was collected in the natural scientific reservations. Such localities are of great importance as they display a richer wood-fungus flora than the cultured forest in the same area.

For each species there are presented the locality, district, substratum on which it was found and sometimes other data concerning the ecology of the respective species. The nomenclature follows "Corticiaceae of North Europe" (Eriksson et al., 1973 — 1984). The herbarium material which constitutes the subject of this paper is available in the Herbarium of the Institute of Biology "Traian Săvulescu" in București (BUCM), Romania, and the Herbarium of the University in Göteborg (GB), Sweden.

Asterostroma luxum Bres.

Fruitbody effused, adnate, membranaceous-pellicular, cream-colored to brownish. Hyphae without clamps; numerous branched astero-setae present in all parts of the fruitbody. Gloeocystidia present; basidia with 4 sterigmata; spores subglobose, 6—8 μ m in diam., smooth, amyloid. Widely distributed but a very rare species (Fig. 1).

On rotten stems of *Picea abies*, east of Bistrița, Bistrița-Năsăud district.

Athelia epiphylla Pers.

On rotten stems of *Picea abies*, in the natural reservation Tinovul Mare, Poiana Stampei village, Suceava district and 15 km east of Dr. Petru Groza town, Bihor district.

Athelia fibulata M.P. Christ.

On rotten stems of *Picea abies* in the natural reservation Tinovul Mare, Poiana Stampei village, Suceava district.

Boidinia furfuracea (Bres.) Hjortst. et Stalp.

On rotten stems of *Abies alba* in Codrul Secular reservation, Slătioara village, Suceava district.



Fig. 1.— *Asterostroma laxum*. Section through fruitbody (Drawings by John Eriksson).

Botryobasidium botryosum (Bres.) John Erikss.

On rotten stems of *Picea abies* in Gura Humorului and Tinovul Mare reservation, Poiana Stampei village, Suceava district.

Botryobasidium subcoronatum (Hohn et Lisch.) Donk

On rotten stems of *Picea abies*, 30 km west of Cîmpeni village, Alba district.

Brevicellicium olivascens (Bres.) Lars. et Hjortst.

On rotten wood in Codrii Pașcanilor forest, Moțca village, Iași district, close to Toplița village, Harghita district.

Byssocorticium atrovirens (Fr.) Bond. et Sing.

On rotten stems of *Fagus sylvatica* in Codrul Secular reservation, Slătioara village, Suceava district.

Byssomerulius hirtellus (Burt) Parm.

On rotten stems of *Robinia pseudacacia*, 7 km west of Bistrița town, Bistrița-Năsăud district.

Little is known about the occurrence in Europe of this species but it is probably a S.E. element.

Ceratobasidium cornigerum (Bourd.) Rogers

On dead branches of *Robinia pseudacacia*, 7 km west of Bistrița town, Bistrița-Năsăud district, on dead branches of *Tamarix ramosissima* in Gura Humorului, close to Arini inn, Suceava district and on branches of *Picea abies* in Tinovul Mare reservation, Poiana Stampei village, Suceava district.

Chaetoporellus curvisporus (Erikss. et Hjortst.) Erikss. et Hjortst.

Fruitbody effused, odontoid (aculei up to 2 mm long), cream-coloured to pale ochraceous. Hyphae with clamps; cystidia cylindrical but usually widened towards the base; spores distinctly curved, $4-5 \times 1-1.5 \mu\text{m}$.

A very rare species, until now found only a few times in Northern Europe (Fig. 2)

On fallen branches of coniferae in the precincts of Voroneț Monastery, Suceava district.

Cristinia helvetica (Pers.) Parm.

Fruitbody effused, loosely attached, porulosae, floccose to granulinoid, whitish to ochraceous. Hyphae rather wide and short-celled, with clamps, some basal hyphae running parallel in strands. Basidia subcylindrical with 4 sterigmata; spores obovate-subglobose, $3.5-4.5 \times 3-4 \mu\text{m}$, cyanophilous. Widely distributed species but not very frequent.

On rotten branches of *Quercus robur* in Repedea forest, close to Iași town and in Mîrzești forest, Rediu village, Iași district.

Dacryobolus sudans (Fr.) Fr.

On rotten stems of *Picea abies* in natural reservation Tinovul Mare, Poiana Stampei village, Suceava district.

Hyphoderma albocreteum (Höhn. et Litsch.) Erikss. et Strid.

On stems of coniferae in the natural reservation Codrul Secular, Slătioara village, Suceava district.

Hyphoderma argillaceum (Bres.) Donk

On rotten stems of *Picea abies*, 26 km west of Suceava town, Suceava district and 30 km west of Cîmpeni village, Bihor district.

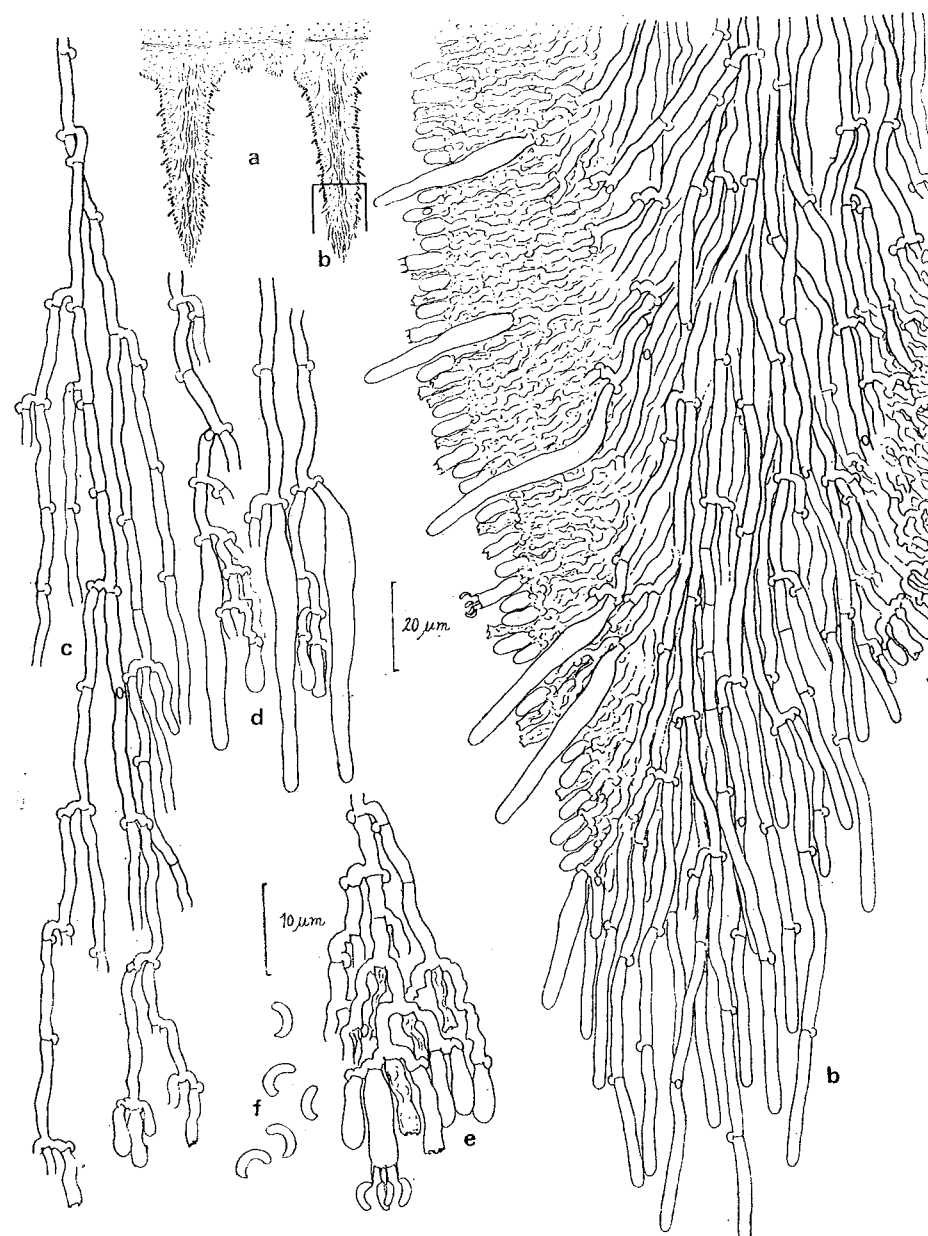


Fig. 2.—*Chaetoporellus curvisporus*. a) schematic section through fruitbody (length of aculei ca 0.5 μm), b) section through distal part of an aculeus, c) central and hymenial hyphae, d) cystidia and hymenial hyphae, e) basidia, f) spores (Drawings by John Eriksson).

Hyphoderma capitatum Erikss. et Strid.

Fruitbody effused, adnate, whitish-greyish, very thin. Hyphae without clamps. Capitulate cystidia present; basidia normally with 4 sterigmata; spores subglobose, $8-11 \times 7-9 \mu\text{m}$, smooth. Even if it is locally common in some parts of Sweden, this is obviously the first record outside northern Europe (Fig. 3).

On rotten stems of *Abies alba* in the natural reservation Codrul Secular, Slătioara village, Suceava district.

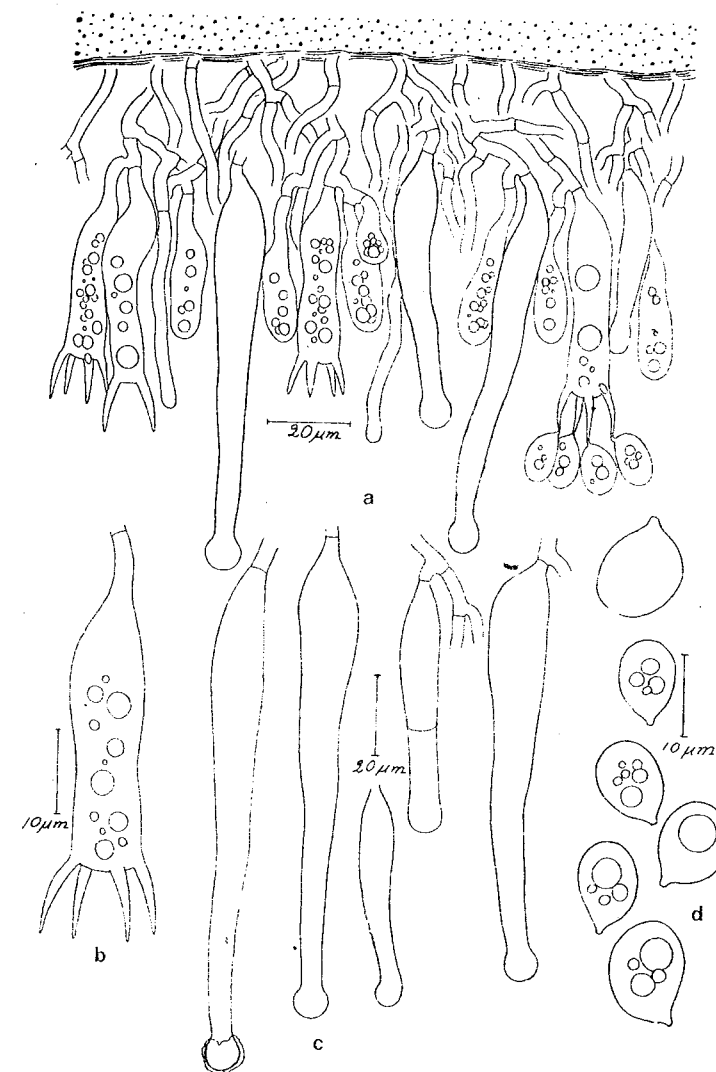


Fig. 3 — *Hyphoderma capitatum*. a) section through fruitbody, b) basidium, c) cystidia, d) spores (Drawings by John Eriksson).

Hyphoderma definitum (Jacks.) Donk

On rotten stems of *Picea abies* in the natural reservation Tinovul Mare, Poiana Stampei village, Suceava district.

Hyphoderma medioburiense (Burt) Donk

On dead branches of *Fagus sylvatica*, in Repedea forest, close to Iași town, Iași district.

Hyphoderma praetermissum (Karst.) Erikss. et Strid.

On rotten stems, 7 km west of Bistrița town, Bistrița-Năsăud district and in Repedea forest close to Iași, Iași district.

Hyphodontia alienata (Lund.) John Erikss.

Fruitbody effused, adnate, smooth, thin, yellowish. Hyphae with thickened walls, clamped. Cystidia numerous, with thickened walls except for the thin-walled apex, encrusted in the middle part; basidia with 4 sterigmata; spores ellipsoid, $4.5 - 5.5 \times 3 - 3.5 \mu\text{m}$. A rare species which seems to have an eastern distribution in Europe.

On rotten branches of *Abies alba* in the natural reservation Codrul Secular, Slătioara village, Suceava district and on rotten branches of *Picea abies* in the natural reservation Tinovul Mare, Poiana Stampei village, Suceava district.

Hyphodontia alutaria (Burt) John Erikss.

On rotten stems of coniferae, close to Arini inn, near Gura Humorului town, Suceava district.

Hyphodontia breviseta (Karst.) John Erikss.

On rotten branches of *Picea abies* in Tinovul Mare reservation, Poiana Stampei village, Suceava district.

Hyphodontia nespori (Bres.) Erikss. et Hjortst.

On rotten branches of leaf-bearing forest Codrii Pașcanilor, Moțca village, Iași district and on branches of coniferae in the precincts of Voroneț Monastery, Suceava district.

Hyphodontia pallidula (Bres.) John Erikss.

On rotten stems of *Abies alba* in the natural reservation Codrul Secular, Slătioara village, Suceava district.

Hyphodontia spathulata (Fr.) Parm.

On rotten stems of *Abies alba* in the precincts of Voroneț Monastery, Suceava district.

Hyphochnium eichleri (Bres.) Erikss. et Ryv.

On rotten stems of *Betula verrucosa* in the natural reservation Tinovul Mare, Poiana Stampei village, Suceava district.

Hyphochnium polonense (Bres.) Strid.

On rotten stems of leaf-bearing forest, Toplița village, Harghita district.

Hyphochnium sphaerosporum (Höhn. et Litsch.) John Erikss.

On rotten stems of *Betula verrucosa*, 15 km west of Dr. Petru Groza town, Bihor district.

Laeticorticium lundellii John Erikss.

On dead stems of *Berberis vulgaris* in dendrological park in Simeria town, Hunedoara district.

Peniophora lycii (Pers.) Höhn et Litsch.

On rotten branches of leaf-bearing in Babadag town, Tulcea district.

Phanerochaete sordida (Karst.) Erikss. et Ryv.

On rotten stems of *Abies alba* in the precincts of Voroneț Monastery, Neamț district.

Piloderma croceum Erikss. et Hjortst.

On rotten stems of *Picea abies*, 26 km west of Suceava town and in the natural reservation Codrul Secular, Slătioara village, Suceava district.

Radulodon erikssonii Ryv.

Fruitbody effused, adnate, yellowish-ochraceous, hydroid, teeth thin, up to 3 mm long. Hyphae with clamps. Gloeocystidia clavate to fusiform; basidia with 4 sterigmata; subglobose, $6-5 \times 5-6 \mu\text{m}$, smooth, with thickened walls. *R. erikssonii* seems to be restricted to *Populus tremula*. A very rare species with a mainly eastern distribution in Europe.

On rotten stems of *Populus tremula* in the natural reservation Humosu, close to Hirău town, Iași district.

Sistotrema brinkmanii (Bres.) John Erikss.

On rotten stems of *Pinus sylvestris* in Tinovul Mare reservation Poiana Stampei village, Suceava district, on rotten stems of *Picea abies*, 30 km west of Cîmpeni village, Alba district and on stems of leaf-bearing forest, 15 km west of Dr. Petru Groza town, Bihor district.

Vesiculomyces citrinus (Pers.) Hagstr.

On rotten stems of *Picea abies* in Oituz pass, Covasna district.

REFERENCES

1. Bontea Vera, *Ciuperci parazite și saprofite din România*, vols I—II, Ed. Academiei, București, 1985—1986.
2. Eriksson J., Hjortstam K., Ryvarden L., *The Corticiaceae of North Europe*, vols. II—VII, *Fungiflora*, Oslo, 1973—1984.
3. Jülich W., *Die Nichtblätterpilze, Gallertpilze und Bauchpilze*, in Gams H., *Kleine Kryptogamenflora*, Bd. II b/1, Gustav Fischer, Stuttgart—New York, 1984.
4. Jülich W., Stalpers J. A., *The resupinate non-poroid Aphyllophorales of the temperate northern hemisphere*, North-Holland Publishing Company, Amsterdam—Oxford—New York, 1980.

Received 23 October, 1986

University of Göteborg, Department of
Plant Taxonomy S—413 19 Göteborg Sweden
and

Institute of Agronomy Department of
Botany R—6600- Iasy — Romania

AREAL LIMITS IN THE ROMANIAN TERRITORY : *ALYSSUM MINUTUM* Schlecht. ex DC. 1821

G. DIHORU

The mapping of some rare species whose areal limits are in the South and East of Romania is initiated.

The information was placed on the map according to the system UTM.

We open a cycle of brief articles which are meant to point out the areal of some species on the Romanian territory, mainly in the South and East of it. The information is based on some synthesis papers (15), on other newer sources as well as on the original material from some collections.

Alyssum minutum is an annual Mediterranean species, described in Crimea, which grows in the South-Eastern Europe, Caucasus, Asia Minor and North-Western Africa. A small part of its areal covers the eastern territory of our country, mainly Dobruja (fig. 1), but we do not exclude the possibility of its existence in other places in south of Romania, because it was noticed in Bulgaria and Yugoslavia (1).

The data were placed on the map according to the system UTM, but the map was not divided into the usual squares to facilitate a better reading.

In our country it grows on meadows on rocky xerical and eroded plains mainly within the association of *Dichanthium ischaemum* (L.) Roberty.

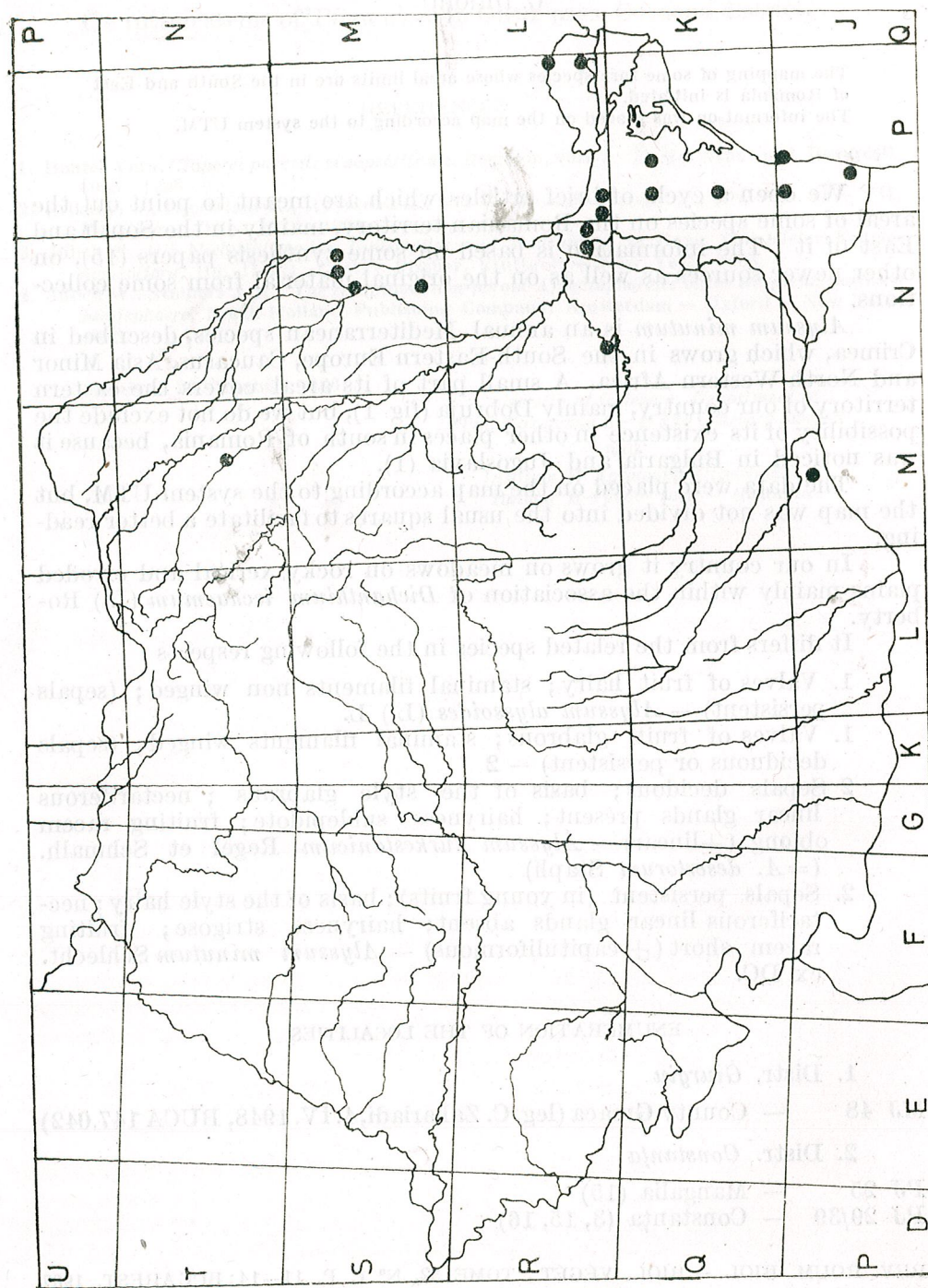
It differs from the related species in the following respects :

1. Valves of fruit hairy; staminal filaments non winged; (sepals persistent) — *Alyssum alyssoides* (L.) L.
1. Valves of fruit glabrous; staminal filaments winged; (sepals deciduous or persistent) — 2
- 2 Sepals deciduous; basis of the style glabrous; nectariferous linear glands present; hairyness sublepidote; fruiting racem oblong ($\pm$ linear) — *Alyssum turkestanicum* Regel et Schmalh. (= *A. desertorum* Stapf)
2. Sepals persistent (in young fruits); basis of the style hairy; nectariferous linear glands absent; hairyness strigose; fruiting racem short ($\pm$ capituliformous) — *Alyssum minutum* Schlecht. ex DC.

ENUMERATION OF THE LOCALITIES

1. Distr. Giurgiu
MJ 48 — County Greaca (leg. C. Zahariadi, 4.IV.1948, BUC 147.042)
2. Distr. Constanța
PJ 25 — Mangalia (15)
PJ 29/39 — Constanța (3, 15, 16)

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. VÉGÉT., TOME 32, N° 1, P. 11—14; BUCAREST, 1987

Fig. 1. — Area of *Alyssum minutum* Schlecht. ex DC. in Romania

- PJ 19 — Murfatlar (Basarabi) (leg. D. Grecescu, 12. VII. 1892, BUCA 50.038) (10, 15)
 PK 13 — County Tirgușor, village Cheia (12, 13)
 3. Distr. *Tulcea*
 NL 81 — Măcin (leg. I. Prodan, 11. IV. 1911, BUCA 49.928) (10, 15, 16)
 NL 81/91 — County Jijila at Piatra Roșie (11, 15, 16)
 PK 18 — Atmagea (15, 16)
 PK 37 — Babadag, hill Iancila (leg. G. Dihoru, 13. IV. 1965, BUCA 106.380) (6)
 PL 00 — County Hamcearca, village Nifon (Țiganca) (leg. I. Prodan, 11. IV. 1911, BUCA 49.368, BUC 312.205; leg. 12. IV. 1911, BUCA, 49.367; Mănăstirea Cocos (15, 16)
 PL 10 — Niculițel (leg. G. Dihoru, 12. IV. 1965, BUCA 106.381)
 PL 91 — County C.A. Rosetti, in Letea (3, 7, 15, 16)
 PL 93 — County C.A. Rosetti, village Periprava (5, 7)
 4. Distr. *Buzău*
 NL 02 — County Topliceni (18, 19)
 5. Distr. *Vaslui*
 NM 56/66 — County Muntenii de Jos, village Minjești (9)
 NM 61 — County Vinderei near railway station Tălășman (leg. T. Săvulescu, 3. IV. 1914, BUCA 146.998)
 NM 77 — County Tătărăni, village Stroiști (9)
 NM 78 — County Bunești-Averești, village Averești (2, 8)
 6. Distr. *Iasi*
 MN63 — County Cristești (2, 4, 15, 17).

REFERENCES

1. Ball P., Dudley T., *Alyssum* in T. Tutin et al. (Eds.), *Flora Europaea*, 1, University Press, Cambridge, 1964.
2. Beldie A., *Flora României. Determinator ilustrat*, 1. Ed. Academiei, București, 1977.
3. Brandza D., *Flora Dobrogei*. Ed. Academiei, București, 1898.
4. Burduja, C., Ann. Sci. Univ. Jassy, 25 (2): 429—438, 1939.
5. Cristescu A., Bul. Soc. Stud. St. Nat. București, 2: 46—56, 1931.
6. Dihoru G., Donită N., *Flora și vegetația Podișului Babadag*. Ed. Academiei, București, 1970.
7. Dihoru G., Negrean G., Peuce-Bot. (Tulcea), 5: 217—251, 1976.
8. Dudley T., *Alyssum* L. in P. Davis (Ed.), *Flora of Turkey*, 1. University Press, Edinburgh, 1965.
9. Ghișa E., Vițalariu G., Contr. Bot. (Cluj): 127—136, 1969.
10. Grecescu D., *Conspectul Florei României*. Tipografia Dreptatea, București, 1898.
11. Grecescu D., *Supliment la Conspectul Florei României*. Inst. Arte Grafice Carol Göbl, București 1909.
12. Horeanu C., Peuce-Bot. (Tulcea), 5: 335—346, 1976.
13. Horeanu C., *Ocrotirea naturii dobrogene*: 142—157. Cluj-Napoca, 1976 (litogr.).
14. Kotov M., *Brassicaceae* Burnett in A. Fedorov (Edit.), *Flora evropeiskoi ceasti SSSR*. "Nauk", Leningrad, 1979.
15. Nyárády E., *Cruciferae* B. Juss. in T. Săvulescu (Ed.), *Flora Republicii Populare Române* 3. Ed. Academiei, București, 1955.
16. Prodan I., Bul. Acad. Înalte Studii Agron. (Cluj), 5 (1): 175—342, 1935.

17. Răvăruf M., Ann. Sci. Univ. Jassy, 27 (1): 141—388, 1941.
18. Ștefan N., Cercetarea florei și vegetației din bazinul superior și mijlociu al râului Rîmnicu Sărat. Doctoral paper Iași, 1980 (litogr.).
19. Ștefan N., Mititelu D., Anal. St. Univ. "Al. I. Cuza" Iași — Biol., 26 : 14—15, 1980.
20. Stoianov N., Alyssum L. in D. Jordanov (Ed.), Flora na narodna republika Bălgariia, 4. Izd. Bălg. Akad. Nauk., Sofia, 1970.
21. Vițalariu G., Flora și vegetația din bazinul Crasnei (Podișul Central Moldovenesc). Doctoral paper, Cluj-Napoca, 1976 (litogr.).

Received 15 November, 1986

Institute of Biological Sciences, Bucharest
Splaiul Independenței, 296

ON PROTOVENTURIA BERL. ET SACC. (VENTURIACEAE-ASCOMYCETES) ON ERICALES IN ROMANIA

ANGHEL RICHÎTEANU and VERA BONTEA

Protoventuria major (Barr) B. Erikss. on *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., and *P. variisetosa* (Barr) Barr on *Empetrum nigrum* L. are described as new in Romania. *Coleroa rhododendri* (Tengw.) O. Săvulescu et Eliade on *Rhododendron myrtifolium* Schott et Kotschy is discussed and referred to *Protoventuria rhododendri* (v. Höhnelt) Barr.

Protoventuria belongs to the *Venturiaceae*. The major characteristics of this family seem to be the colour, shape and the septation of ascospores; at first hyaline, yellowish, greenish or brownish, at last olivaceous brown, rarely dark brown or remaining hyaline, ellipsoidal or clavate, 2-celled, cells often unequal, wall smooth or finely roughened (von Arx and Müller, 1975, p. 95; Barr, 1968, p. 800; B. Eriksson, 1974, p. 204).

Other characteristic features of many *Venturiaceae* are found in the vegetative stroma, in formation of hairs or setae on the ascocarp, and in the presence of a superficial mycelium. The relationships between the genera of this family are extremely complex.

Protoventuria is characterized by "hypostroma within host tissue, often penetrating deeply, erumpent, producing on surface hyphae or stromatic tissue on which ascostromata develop; ascostromata gregarious or scattered on vegetative mycelium" (Barr, 1968, p. 845).

This genus was erected by Berlese and Saccardo (in Atti Sci. Veneto Trentino, 10 (1886), p. 174, 1887) for *Venturia rosae* de Not., non Sacc. E. Müller and Menon (1955) redescribed *Venturia rosae* de Not. and included it in the genus *Gibbera* Fr. Later, the former author (in E. Müller and von Arx, 1962) transferred it to *Antennularia* Reichenbach, typified by *A. ericophila* (Link ex Pers.) Reichenb. on *Erica*. But *Antennularia* Reichenb. was proposed to replace the pre-Friesian *Antennaria* Gartner, a genus of the *Compositae* (Hughes, 1958). Hughes (1970) reviewed the history of *Antennaria* Link, its nomenclatural variants and type species, *A. ericophila* (Link ex Pers.) Höhnelt. He stated that there is confusion and uncertainty in the name *Antennaria*, which has been used in a number of senses, e.g. as a name for a pycnidial fungus, for synnematosous conidia and also for two genera of *Pyrenomyces*. Moreover, the relevant type material of *A. ericophila* is lacking and the original diagnosis is ambiguous. In view of these anomalies, *A. ericophila* is regarded by him as a *nomen dubium* and its synonym, *Antennularia* Reichenb., which has been used for a genus of animals, as a *nomen ambiguum*. For this reason, in accordance with the International Code of Botanical Nomenclature, Barr (1971) rejected the name *Antennularia* in the sense of Müller and von Arx (1962) and Barr (1968), replaced it by *Protoventuria* Berl. et Sacc. apud Berlese (1886) with *P. rosae* (de Not.) Berl. et Sacc. as the type species, and she formally transferred 14 of the North American species of *Antennularia* to *Protoventuria*. B. Eriksson (1974) conserves too the generic name *Proto-*

venturia for three Fennoscandian species, and Sivanesan (1974) makes new combinations for eight of *Antennularia* species which have so far not been transferred to *Protoventuria* together with the description of a new species. Nevertheless von Arx and Müller (1975) prefer to maintain the name *Antennularia* "because the type species *A. ericophila* is a well defined fungus".

In this paper we follow Barr's interpretation which agrees with current practice, regarding *Protoventuria* as a good choice.

Species of *Protoventuria* can be easily mistaken for *Gibbera* and *Herpotrichiella*. A correct generic identification requires a detailed microscopic examination.

Protoventuria major (Barr) B. Erikss., Svensk. Bot. Tidskr. 68: 222, 1974.

Syn.: *Antennularia alpina* (Sacc.) Müller var. *major* Barr, Canad. J. Bot. 46: 850, 1968; *Protoventuria alpina* (Sacc.) Barr var. *major* Barr, Canad. J. Bot. 49: 1960, 1971.

Hypostroma as brown hyphae in leaf tissues and as subiculum over surface: Ascocarps 70–155 µm in diameter, superficial, epiphyllous, globose to conical, apex short papillate; wall thin, 8–13 µm wide, composed of two or three layers of brown, polygonal cells, blackened towards ostium, setose over upper part of wall; setae 22–55 µm long, 4–5 µm thick near base, blackish brown, pointed, straight to curved, simple or septate. Asci 42–53 × 9–12 µm, oblong to saccate, apex rounded, base short stipitate; pseudoparaphyses few (Fig. 1A). Ascospores 13–18 × 3.5–5 µm, greenish, yellowish, to olivaceous, fusoid, rounded above lower end often pointed, septate about in middle, slightly constricted at the septum, upper cell broader than lower, wall finely roughened at maturity (Fig. 1B).

On living and dead leaves, dead branches, and bud scales of *Arctostaphylos* spp. (Europe, North America).

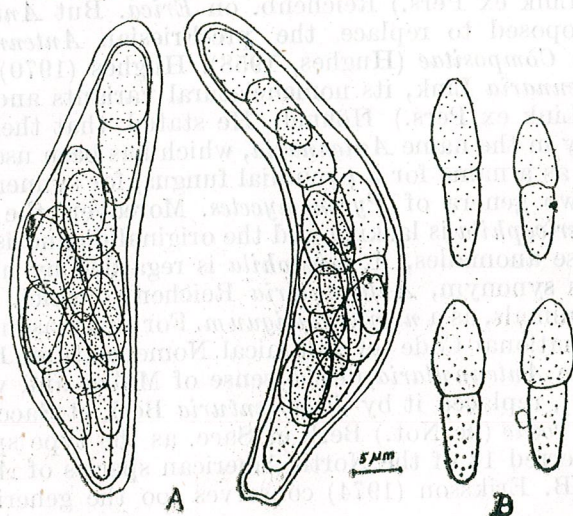


Fig. 1. — *Protoventuria major* (Barr) B. Erikss. A — asci; B — ascospores

SPECIMENS EXAMINED

Arctostaphylos uva-ursi (L.) Spreng., Distr. Suceava, "Breaza in monte Glodu", alt. cca. 1200 m.s.m., 9. IX. 1964, leg. E. Topa, in "Flora Moldaviae et Dobrogeae Exsiccata" no. 54 (BUCM 94315).

Protoventuria rhododendri (v. Höhnelt) Barr, Canad. J. Bot. 49: 1959, 1971.

Syn.: *Antennularia rhododendri* v. Höhnelt, Sitz. ber. K. Akad. Wiss. Wien, Math. — nat. Kl. 118 (1): 1493, 1909 (Fig. 91).

Hypostroma within leaf and branch tissues, erumpent, producing on surface hyphae or stromatic tissue (subiculum) on which ascocarps develop. Ascocarps scattered, 110–225 µm in diameter, 60–160 µm high, depressed-globose, apex rounded, setose over upper wall; setae 20–100 µm long, blackish-brown, pointed, stiff one-celled or septate; wall thin, composed of several layers of blackish brown polygonal cells. Asci 45–70 × 10–16 µm, saccate, oblong or cylindrical, straight or curved, eight-spored, pseudoparaphyses numerous, filiform (Fig. 2A). Ascospores 12 (15–20) × 5–8 µm, light green or yellowish, ultimately becoming olivaceous, fusoid to broadly elliptical, ends rounded or pointed, straight to inequilateral, septate in or below middle, constricted at the septum, wall smooth (Fig. 2B).

On leaves, capsules and branches of *Rhododendron* spp. (Europe North America).

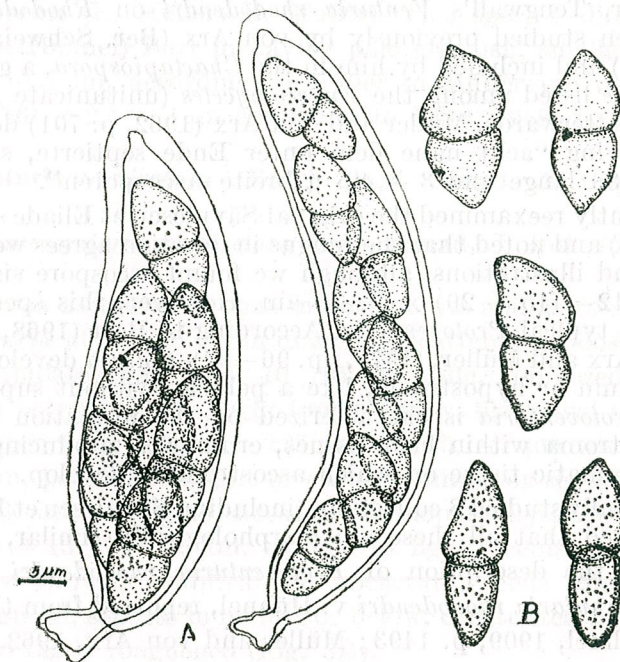


Fig. 2. — *Protoventuria rhododendri* (v. Höhnelt) Barr A — asci; B — ascospores

SPECIMENS EXAMINED

Rhododendron myrtifolium Schott et Kotschy (= *Rh. ferrugineum* L. *Rh. kotschyi* Simk.), Distr. Prahova, Mt. Ciucas, 26.VI.1956, leg. Eugenia Eliade, BUCM 23 728 (as *Coleroa rhododendri* (Tengw.) O. Săvulescu et Eliade); Distr. Argeş, Mt. Iezer-Păpuşa, Iezerul Mic, alt. cca. 2100 m.s.m., 6.VII.1967, leg. A. Richiţeanu, BUCM 63856; Vf. Otic, alt. cca. 2040 m.s.m., 8.VIII.1982, leg. A. Richiţeanu, BUCM 94304; Saua Mezea, alt. cca. 1850 m.s.m., 17.VI.1976, leg. A. Richiţeanu, BUCM 94301; Mt. Piatra Craiului, Coama Lungă, alt. cca. 1950 m.s.m., 2.IX.1973, leg. A. Richiţeanu, BUCM 94716; Saua Funduri, alt. cca. 1880 m.s.m., 29.V.1975, leg. B. Drăghici, BUCM 94302; Virful Pietrii, alt. cca. 2010 m.s.m., 29.V.1975, leg. A. Richiţeanu, BUCM 94303; Vf. "La Arsura", alt. cca. 1850 m.s.m., 15.VI.1975, leg. B. Drăghici, BUCM 94316.

In their paper on Romanian microfungi (in *Omagiul lui Traian Săvulescu cu prilejul împlinirii a 70 de ani*, Ed. Academiei R.P.R., Bucureşti, 1959, pp. 683–698), Olga Săvulescu and Eugenia Eliade described and illustrated a species of *Venturiaceae* new for Romania found on leaves of *Rhododendron kotschyi* Simk., and collected by Eugenia Eliade in the Ciucas Mountains, 26 June 1956.

This fungus, determined as *Venturia rhododendri* Tengwall was transferred by them to the genus *Coleroa*, making a new combination, *C. rhododendri* (Tengw.) O. Săvulescu et Eliade (l. c. p. 684).

However, Tengwall's *Venturia rhododendri* on *Rhododendron ponticum* had been studied previously by von Arx (Ber. Schweiz. Bot. Ges. 62: 359, 1952) and included by him in the *Chaetapiozpora*, a genus of *Amphisphaeriaceae* listed among the *Euscomycetes* (unitunicate *Ascomycetes*) (Barr, 1976). Afterwards, Müller and von Arx (1962, p. 701) described this species as having "acht nahe dem unter Ende septierte, schwach gelbliche 12–18 µ lange und 3–4,5 µ breite Ascosporen".

We recently reexamined the original Săvulescu et Eliade specimens (in BUCM 23 728) and noted that the fungus in question agrees well with their description and illustrations, although we found ascospore sizes as somewhat larger, 12–(15–20) × 5–8 µm. However, this species is not a *Coleroa*, but a typical *Protoventuria*. According to Barr (1968, pp. 803 and 829 and von Arx and Müller, (1975, pp. 96–97), *Coleroa* develops a subcuticular mycelium or hypostroma, like a pellicle, without superficial hyphae, while *Protoventuria* is characterized by the formation of variously shaped hypostroma within host tissues, erumpent, producing on surface hyphae or stromatic tissue on which ascostromata develop.

We carefully studied 8 collections (including Săvulescu et Eliade's samples) and stated that all these are morphologically similar, agree in all respects with the description of *Protoventuria rhododendri* (v. Höhnelt) Barr (= *Antennularia rhododendri* v. Höhnelt, reported from the European Alps (von Höhnelt, 1909, p. 1493; Müller and von Arx, 1962, p. 436) and from North America (Barr, 1968, p. 852), and do not appear to be separable.

Protoventuria rhododendri seems to be of common occurrence on *Rhododendron myrtifolium* Schott et Kotschy (= *Rh. ferrugineum* L., *Rh. kotschyi* Simk.) in all subalpine Carpathian zones (viz. Vera Bontea, 1985, p. 483).

Thus, it is reasonable to assume that all collections reported in our mycological literature to *Coleroa rhododendri* (Tengw.) O. Săvulescu et Eliade on *Rhododendron myrtifolium* Schott et Kotschy belong to *Protoventuria rhododendri* (v. Höhnelt) Barr.

On the other hand, *Coleroa rhododendri* (Tengw.) O. Săvulescu et Eliade has been wrongly placed in synonymy with *Gibbera myrthilli* (Cke) Petr., a species widely different, restricted to *Vaccinium* spp. (Bontea, 1985, pp. 484–485).

Consequently, the name *Coleroa rhododendri* (Tengw.) O. Săvulescu et Eliade, based on a confusion over the identity of the species, must be rejected because it is taxonomically superfluous and has become a long-persistent source of error (Art. 69, International Code of Botanical Nomenclature).

On overwintered leaves, branches and capsules of *Rhododendron* spp., both in the European Alps (on *Rh. ferrugineum* L., and *Rh. hirsutum* L.), and in the northeastern part of North America (on *Rh. canadense* (L.) BSP., and *Rh. lapponicum* (L.) Wahlenb.) there was reported another species of *Protoventuria*, *P. arxii* (E. Müller) Barr (= *Gibbera arxii* E. Müller, *Antennularia arxii* (E. Müller) E. Müller). This species differs from *P. rhododendri* (v. Höhnelt) Barr in having pale greenish, smaller ascospores (11–14 × 4–5 µm, according to Müller in Müller and von Arx, 1962, p. 436; 13(–16) × 2.5–4 µm according to Barr, 1968, p. 849).

Protoventuria variisetosa (Barr) Barr, Canad. J. Bot. 49: 1960, 1971.

Syn.: *Antennularia variisetosa* Barr, Canad. J. Bot. 46: 850, 1968.

Hypostroma as brown hyphae in host tissues and as subiculum over surface. Ascocarps 80–200 µm in diameter, scattered, globose to conical, apex short papillate, wall thin, 10–15 µm wide, composed of two to three layers of polygonal cells, light brown below, blackened toward apex, setose over upper wall; setae 25–125 µm long, 5–7 µm wide near base, blackish brown, pointed, straight or curved, simple or septate. Asci 33–35 × 9–13 µm, oblong to saccate, pseudoparaphyses few (Fig. 3A). Ascospores 10–13 × 4–5 µm, hyaline to light greenish young, becoming olivaceous brown, elliptical to obclavate, ends rounded, straight to inequilateral, septate in middle or below, constricted at the septum, wall smooth to finely roughened (Fig. 3B).

On dead leaves, twigs, and fruits of *Cassiope* sp., *Empetrum nigrum* L., and *Ledum* sp. (Europe, North America).

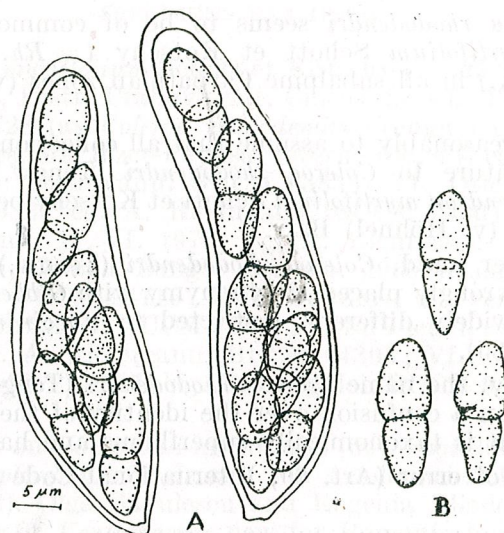


Fig. 3. — *Protoventuria variisetosa* (Barr) Barr
A — asci; B — ascospores

SPECIMENS EXAMINED

Empetrum nigrum L., Distr. Vilcea, "In silvis montium Paring ad lacum Cilcescu", alt. cca. 2000 m.s.m., 20. IX. 1960, leg.: Al. Buia, C. Maloș and M. Păun, in "Floram Olteaniae Exsiccatam" no. 57, BUCM 94314; Distr. Bihor, the peat bog Molhașul Mare near Cabana Padiș, 28. VII. 1971, leg. St. Săraru, BUCM 94317.

As far as we know, this species is for the first time reported from Europe. The fungus was described originally from North America by Barr (1968, p. 850) on *Ledum groenlandicum* Oeder (type), *Cassiope mertensiana* (Bong.) D. Don., *C. stellariana* D. C., and *Empetrum nigrum* L. var. *hermaphroditum* (Lange) Sorensen. Our collections agree with Barr's description and figure, although the sizes of ascospores are in the lower part of the range. Barr gives $9 - 16.5 \times (2 -) 3 - 5.5 (-6.5) \mu\text{m}$ for measurements of the American Collections, while we found our specimens to measure $10 - 13 \times 4 - 5 \mu\text{m}$. Consequently, it is reasonable to consider the North American and our entities as conspecific. Probably *P. variisetosa* has wider distribution, but it is readily overlooked owing to its occurrence on dead parts of plants.

REFERENCES

1. Arx, J. A. von, *Studies on Venturia and related genera*. Tidskr. Plantenziekten, 58: 260—266, 1952.
2. Arx, J. A. von, E. Müller, *A re-evaluation of the bitunicate Ascomycetes with keys to families and genera*. Stud. Mycol. Baarn, 9, 1—159, 1975.
3. Barr, M., *The Venturiaceae in North America*. Canad. J. Bot. 46: 799—864, 1968.

4. Barr, M., *Protoventuria for venturiaceous Antennularia species*. Canad. J. Bot. 49: 1959—1960, 1971.
5. Barr, M., *Perspectives in the Ascomycotina*. Mem. New York Bot. Gard. 28: 1—8, 1976.
6. Barr, M., *A classification of Loculoascomycetes*. Mycologia, 71: 935—957, 1979.
7. Bontea Vera, *Ciuperci parazite și saprofite din România*. Ed. Academiei, București 1985.
8. Eriksson, B., *On Ascomycetes on Diapensiales and Ericales in Fennoscandia. 2. Pyrenomyces*. Svensk. Bot. Tidskr. 68: 192—234, 1974.
9. Hughes, S. J., *Revisiones hyphomycetum aliquot cum appendice de nominibus rejicientis*. Canad. J. Bot. 36: 727—836, 1958.
10. Hughes, S. J., *New Zealand fungi 14*. New Zeal. Journ. Bot. 8: 153—209, 1970.
11. Müller, E., J. A. von Arx, *Die Gattungen der didymosporen Pyrenomyces*. Beitr. Kryptogamenfl. Schweiz 11(2): 1—922, 1962.
12. Müller, E., R. Menon, *Über Venturia rosae de Not. und die Nomenklatur der Gattung Venturia de Not.* Phytopathol. Z. 25: 190—195, 1955.
13. Săvulescu Olga, Eugenia Eliade, *Contribuție la cunoașterea micromicetelor din Republica Populară Română. În Omagiul lui Traian Săvulescu cu prilejul împlinirii a 70 de ani*. Ed. Acad. 1959, București, pp. 683—698.
14. Sivanesan, A., *A new species of Protoventuria and some further combinations of Protoventuria for Antennularia species*. Trans. Br. mycol. Soc. 63 (3): 590—593, 1974.
15. Stafleu, F. A. et al. (eds.), *International Code of Botanical Nomenclature*. Regnum vegetabile 82: 1—426, 1972.

Received 26 February, 1986

Plant Protection Division, Tree Fruit Research
Institute, Mărăcineni — Pitești, 0300 Pitești
and
Blvd Miciurin 48, Sect. 1, Bucharest

DIVERSITY OF PRIMARY PRODUCERS IN THE MIXED DECIDUOUS "ȘLEAU" FORESTS OF NORTHERN MOLDAVIA (S. R. ROMANIA)

MIHAELA PAUCĂ-COMĂNESCU, AURICA TĂCINĂ, M. EREMI, A. POPESCU and V. SANDA*

The paper presents analytically and synthetically the diversity of primary producers in two "șleau" (mixed deciduous forest always including a species of *Quercus*). The species are well represented in both forests (71—75 species) and the values of the Simpson/Pielou index of diversity are higher than 0.5 at the level of each layer of both forests in case of analysing the effective.

The diversity of primary producers analysed as regards the biomass is lower at the tree level (0.47—0.38) mainly in oak "șleau" because of a disproportion among populations. The diversity of herbs biomass is just as great as the one of the effective (0.90 — 0.97).

In the investigated forests the species characteristic of the associations have the main role in carrying out the ecosystemic function of production.

The forests made of several deciduous species among which a species of *Quercus* is always present are generally known under the name of "șleau". They are present in the hilly and plain region, all over the country. In general, all mixed forests have a more complex structure than the others of the temperate area, both as regards the vegetal cover and the fauna, as well as the component microfauna. That is the reason why the forest is regarded from an ecosystemic point of view. The diversity treated analytically and as a synthetical index at the level of primary producers represents a main characteristic reflecting the way in which they perform their functions in the ecosystem to preserve its stability.

MATERIAL AND METHOD

Diversity is analysed in two hilly areas, in one of them the relevant being common oak (*Quercus petraea*) in the other oak (*Quercus robur*). From a phytocenotical point of view the two "șleau" are similar to *Querco-petraeae-Tilio-Carpinetum* Dobrescu et Kóvács 73 and *Querco-robori-Tilio-Carpinetum* Dobrescu et Kóvács 73 respectively. Both of them are typical of the region in the Miletin basin on the northern limit of the Moldavian plateau. The inventory of higher plants species, the evaluation of density and biomass were performed on total areas of one ha within which the sample areas of 500 m² were chosen (in 6 repetitions) for trees and bushes and of 0.25 m² (in 100 repetitions) for herbs, according to the methodology IBP (Newbould 1967). The biomass was analysed as dry matter (at 85°C).

* Thanks are due to Elena Macarie for her technical assistance

The index of diversity was calculated according to the formula worked out by Simpson and modified by Pielou $D = 1 - \frac{\sum n_i (n_i - 1)}{i = 1 N(N - 1)}$ where n = number of individuals of a species and N = total number of individuals of all species.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The inventory of higher plants species in the investigated forests (table 1 a, b) showed that there is a large number of species, namely 71 in the forest with common oak and 75 in the one with oak. Therefore the composition of both forest ecosystems is rich in species; it contains 15 and respectively 11 wooden species and 3 and 2 bush species, an altogether large number for Romanian forests. Herbs are the most numerous (53 and 62, respectively, showing most clearly the microstational differentiation in the ecosystem).

From a cenotical point of view the plants in these forests belong mostly to species characteristic of their higher associations and cenotaxa (table 1 a, b), only 7–8 species are accompanying ones, being characteristic of other forest associations with thermophile character or those characteristic of pasture.

The distribution of all species is performed in the whole area of both phytocenoses better covering the oak "șleau" than the common one. The common oak "șleau" has a more complex structure. The plants are dis-

Table 1 a

List of the species present in the common oak "șleau" (As. *Quercus petraea*-*Tilio-Carpinetum* Dobrescu et Kovács 73)

- As. *Quercus petraea*-*Tilio-Carpinetum*: *Quercus petraea*, *Tilia tomentosa*, *Carpinus betulus*
 subal. *Tilio-Fagion*: *Fraxinus coriariifolia*, *Tilia cordata*, *Quercus robur*, *Corydalis cava* ssp. *marshalliana*, *Lathyrus venetus*
 al. *Symphyto-Fagion*: *Fagus sylvatica*, *Cardamine glanduligera*, *Dactylis glomerata*, *Scutellaria altissima*, *Atropa belladonna*, *Hordelymus europaeus*
 ord. *Fagetalia sylvaticae*: *Acer platanoides*, *Hedera helix*, *Lathyrus vernus*, *Allium ursinum*, *Anemone ranunculoides*, *Cardamine bulbifera*, *Campanula rapunculoides*, *Viola reichenbachiana*, *Carex pilosa*, *Stachys sylvatica*, *Polygonatum multiflorum*, *Galium odoratum*, *Euphorbia amygdaloides*, *Lamium galeobdolon*, *Asarum europaeum*, *Ajuga reptans*, *Carex sylvatica*, *Salvia glutinosa*, *Pulmonaria officinalis*, *Circaea lutetiana*, *Carex di-vulsa*, *Geranium robertianum*, *Epipactis helleborine*
 cl. *Quercus-Fagetea*: *Acer campestre*, *Fraxinus excelsior*, *Ulmus minor*, *Acer pseudoplatanus*, *Prunus cerasus*, *Cornus mas*, *Cornus sanguinea*, *Crataegus monogyna*, *Scilla bifolia*, *Convallaria majalis*, *Alliaria petiolata*, *Viola mirabilis*, *Asparagus tenuifolius*, *Fragaria vesca*, *Polygonatum latifolium*, *Glechoma hirsuta*, *Campanula rapunculoides*, *Stellaria holostea*, *Melica uniflora*, *Brachypodium sylvaticum*, *Galium schultesii*, *Poa nemoralis*, *Geum urbanum*, *Moehringia trinervia*, *Ranunculus auricomus*
 accompanying: *Sorbus torminalis*, *Sorbus domestica*, *Bilderdykia dumetorum*, *Bromus ramosus*, *Listera ovata*, *Viola canina*, *Galium aparine*, *Agrimonia eupatoria*

Table 1 b

List of species present in the oak "șleau" (As. *Quercus robur*-*Tilio-Carpinetum* Dobrescu et Kovács 73)

- As. *Quercus robur*-*Tilio-Carpinetum*: *Quercus robur*, *Tilia tomentosa*, *Carpinus betulus*
 subal. *Tilio-Fagion*: *Fraxinus coriariifolia*, *Tilia cordata*, *Arum orientale*, *Corydalis cava* ssp. *marshalliana*, *Lathyrus venetus*
 al. *Symphyto-Fagion*: *Cardamine glanduligera*, *Isopyrum thalictroides*, *Dactylis glomerata*, *Scutellaria altissima*
 ord. *Fagetalia*: *Acer platanoides*, *Hedera helix*, *Anemone ranunculoides*, *Anemone nemorosa*, *Lathyrus vernus*, *Allium ursinum*, *Pulmonaria officinalis*, *Cardamine bulbifera*, *Viola reichenbachiana*, *Lamium galeobdolon*, *Galium odoratum*, *Sanicula europaea*, *Asarum europaeum*, *Carex pilosa*, *Mercurialis perennis*, *Geranium phaeum*, *Salvia glutinosa*, *Maianthemum bifolium*, *Geranium robertianum*, *Euphorbia amygdaloides*, *Aegopodium podagraria*, *Circaea lutetiana*, *Ajuga reptans*, *Stachys sylvatica*, *Neottia nidus-avis*, *Polygonatum multiflorum*
 cl. *Quercus-Fagetea*: *Quercus petraea*, *Acer campestre*, *Prunus cerasus*, *Ulmus minor*, *Fraxinus excelsior*, *Cornus mas*, *Crataegus monogyna*, *Clematis vitalba*, *Scilla bifolia*, *Hepatica nobilis*, *Alliaria petiolata*, *Convallaria majalis*, *Stellaria holostea*, *Viola mirabilis*, *Geum urbanum*, *Polygonatum latifolium*, *Glechoma hirsuta*, *G. hederacea*, *Melica uniflora*, *Mycelis muralis*, *Lapsana communis*, *Moehringia trinervia*, *Galium schultesii*, *Brachypodium sylvaticum*, *Ranunculus cassubicus*, *Campanula trachelium*, *Anthriscus sylvestris*, *Urtica dioica*, *Galeopsis speciosa*, *Lysimachia nummularia*
 accompanying: *Bromus ramosus*, *Symphytum officinale*, *Agrimonia eupatoria*, *Eupatorium cannabinum*, *Taraxacum officinale*, *Galium mollugo*, *Chelidonium majus*

played on three well-defined layers: trees, bushes, herbs while in the oak "șleau" two layers develop, the trees one and the herbs one; the bushes, although present, are rare, non continuously spread and cannot be considered a layer. Perhaps that is why herbs cover 95% of the oak "șleau" and less than 65–70% in the common oak "șleau"; the herbs layer is quite uniformly distributed as a whole even in case of poor cover.

The species participation in the vegetal cenosis only by the analysis of their presence proves to be better in case of the whole created structure; the index of maximum heterogeneity has very high values both at the trees level and the other layers (table 2 a, b). Of course the

Table 2

Variation of the Simpson/Pielou index of diversity for primary producers in the investigated forests

Level	Period	Index of diversity		Max. heterogeneity	
		common oak "șleau"	oak "șleau"	common oak "șleau"	oak "șleau"
Trees		0.7761	0.7723	0.8889	0.8889
Bushes		0.7048	0.6145	0.8572	0.8334
Herbs	vernal	0.6702	0.8928	0.9788	0.9792
	estival	0.9192	0.7816	0.9768	0.9800
Trees		0.4767	0.3878	0.8889	0.8889
Herbs	vernal	0.6456	0.9097	0.9788	0.9792
	estival	0.9548	0.7554	0.9768	0.9800



highest values are at the herbs level this reflecting one of the characteristics of this biocenotical component. Although there is a large number of species of plants the quantitative contribution is quite different, as revealed by the values of cenosis diversity.

The Simpson index of diversity whose values increase with the size of diversity, the maximum being 1, varies a lot in the investigated cases according to the vegetal layer and even the season but in general the variation recorded ranges within values higher than 0.5 (table 2 a, b). The diversity analysed under the aspect of the numeric participation of component species shows a well-balanced contribution both for trees and bushes or herbs all values being higher than 0.60; therefore a larger number of species are well represented by all layers and in both types of "șleau". We noticed a quite important differentiation of the winter phenaspect in comparison with the summer one in case of the herbs layer mainly in the common oak forest after the numerical dominance of only one species in comparison with the others.

The species participation in the biomass is not even, mainly in the case of trees; the index of diversity depends on the biomass in case of trees amounting to 0.40 reflecting the gravimetrical dominance of a species (table 2 a, b). If we investigate the *Quercus* species dominance in both forests we notice that numerically it accounts for almost 50% of the total of trees and gravimetrically it represents more than 70% of the biomass of the layer.

Table 3

Contribution of wooden species in the mixed deciduous forests

Trees	Relative abundance %		Participation in biomass %	
	common oak "șleau"	oak "șleau"	common oak "șleau"	oak "șleau"
<i>Quercus petraea</i>	42	1	71	0.5
<i>Quercus robur</i>	3	30	8	76
<i>Fraxinus excelsior</i> + <i>F. coriariifolia</i>	7	15	8	7
<i>Acer campestre</i>	12	1	2	1
<i>Tilia tomentosa</i> + <i>T. cordata</i>	12	20	9	9
<i>Carpinus betulus</i>	14	27	1	5
<i>Acer platanoides</i>	7	3	1	1
<i>Ulmus minor</i>	2	—	—	—
<i>Prunus cerasus</i>	1	3	—	0.5

As regards the productivity of the ecosystemic function herbs do not play a significant role knowing their poor contribution to biomass in comparison with the wooden species. Among the herbaceous species there is the same productive differentiation as among the species of trees (table 4 a, b).

Biomass accumulation differs with the two layers, namely in most herbaceous species the increased number takes priority or may compensate the differences of individual biomass.

Table 4

Species with a contribution higher than 1% in the structure of the herbaceous layer in the investigated forest

Species	Relative abundance %		Participation in biomass	
	common oak "șleau"	oak "șleau"	common oak "șleau"	oak "șleau"
<i>Vernal period</i>				
<i>Cardamine glanduligera</i>	—	40.23	—	41.35
<i>Cardamine bulbifera</i>	55.74	16.00	38.66	24.31
<i>Anemone ranunculoides</i>	—	16.48	—	8.21
<i>Isopyrum thalictroides</i>	—	4.20	—	1.87
<i>Galium aparine</i>	—	4.20	—	1.96
<i>Stellaria holostea</i>	—	2.86	—	1.53
<i>Asarum europaeum</i>	—	2.84	—	4.06
<i>Carex pilosa</i>	4.04	1.62	7.32	1.59
<i>Galium odoratum</i>	3.09	2.94	2.14	2.29
<i>Campanula rapunculoides</i>	6.19	—	4.95	—
<i>Allium ursinum</i>	8.32	—	10.21	—
<i>Convallaria majalis</i>	1.70	—	4.99	—
<i>Melica uniflora</i>	6.00	—	7.16	—
<i>Brachypodium sylvaticum</i>	1.39	—	0.52	—
<i>Stachys sylvatica</i>	1.39	—	3.75	—
<i>Polygonatum multiflorum</i>	1.54	—	3.63	—
<i>Estival period</i>				
<i>Viola reichenbachiana</i>	8.59	9.16	5.61	10.64
<i>Galium odoratum</i>	16.53	9.42	5.89	21.14
<i>Lamium galeobdolon</i>	—	9.40	—	13.77
<i>Stellaria holostea</i>	6.06	14.84	5.04	16.13
<i>Carex pilosa</i>	9.37	14.15	5.84	10.59
<i>Sanicula europaea</i>	—	11.59	—	2.93
<i>Glechoma hirsuta</i>	3.52	3.31	4.18	2.60
<i>Melica uniflora</i>	13.78	1.45	3.68	5.47
<i>Asarum europaeum</i>	5.18	3.43	4.46	2.40
<i>Polygonatum multiflorum</i>	4.18	2.73	5.47	1.05
<i>Viola mirabilis</i>	2.09	6.11	8.00	2.47
<i>Geum urbanum</i>	—	3.47	—	0.91
<i>Mercurialis perennis</i>	—	0.49	—	1.39
<i>Campanula rapunculoides</i>	4.85	—	7.92	—

The higher number of species with increased effective and biomass is decisive in increasing diversity; it is not the result of season influence but shows the quantitative relation among species that may be different at various moments. Therefore the conditions in these types of forests are favorable for the development of several species whose competition capabilities are almost equal and which develop by well-represented populations. These conditions are maintained in spring as well as in summer. In trees, the differences among populations are more evident; the dominant position of species *Quercus* among trees, as well as the large number of these trees more numerous than the other species creates unequal relations among the populations of the layer and a decisive role in the production of the ecosystem as well. The genetical characteristics of the dominant species are important in this layer. The characteristic species for the association (table 1 a and b) are represented in these two cases only by wooden species: their indicative specific value overlaps their ecosystemic value in creating the vegetal effective mainly as regards the role of the main primary

producers. In the oak "șleau" the 3 characteristic species make for 90% of the vegetal biomass and common oak only 68%.

The species characteristic of the suballiance and alliance, therefore of higher cenotaxa, preserve the indicative value; from a productive point of view only *Cardamine glanduligera* is representative of the herbaceous layer of the oak "șleau" and to a certain extent *Scutellaria altissima*.

The diversity of these forests is larger if we make a comparison mainly at the trees level and if we consider the number of individuals and not the accumulation of biomass. The diversity is different from the beech forests where the diversity indexes at the tree level are of 0.0 or 0.2 — 0.3 (M. Paucă et al. 1983, 1984). At the same time in the forests of North America Whittaker calculated indexes of dominance-diversity of 0.3 for fir tree forests, of 0.44—0.53 for mixed forests of fir and spruce, between 0.35—0.79 for beech forests and in mixed deciduous forests it reaches almost 0.82. Whittaker appreciated that the biomass diversity is more expressive than the diversity of the effective (l.c. E. Symonides 1985).

At the level of the herbaceous layer the investigations performed in the country in other mixed forests (coniferous and deciduous) (M. Paucă 1982) indexes of high diversity are noticed (0.60—0.85) but not as high as in the investigated forests. The maximum heterogeneity is comparable in all these forests (0.97) being higher in "șleauri"; the high diversity of the herbs in the forests is accounted for by the fact that several species are well represented (table 4 a, b).

The analysis of diversity as a dimension of ecosystems stability indicates at present a balance between the present species that assures its continuity as a mixed forest. The clear dominance of the *Quercus* species is the premise of changing this mixed forest into another combination with prevalence of the hornbeam or lime in case the common oak and oak were artificially extracted or if severe defoliators attacks on this species could not be stopped.

The herbaceous layer would have the same composition and probably in similar proportion to the present ones; therefore the diversity assures the continuity of a forest ecosystem namely an ecosystem made of mixed deciduous forests but having a different structure over the first 20—30 years.

The return to the present structure representing the natural optimum between the requirements of wooden species and the availabilities of the environment would occur after longer periods of time because the oak populations as well as the common oak ones are made of several mature and old individuals and very few young ones. Not even the reserve of seeds developed at the level of the herbaceous layer is large. At the same time, the replacement of the existing species of *Quercus* with another one seems most unlikely since no young species of *Quercus* is available. The bushes layer would maintain and enlarge. The dynamics of the herbaceous layer being generally active it could assure the presence of the existing species perhaps be even enriched by other accompanying species but would result mainly in modified proportions of the various species involved.

The two types of forest have the same characteristics of diversity, the index of diversity being close to the heterogeneity one. Their differences are qualitatively manifested by means of the species with decisive importance in achieving the mixed forest structure.

CONCLUSIONS

The diversity of common oak and oak "șleau" in Northern Moldavia is large both as regards the phytocenosis and the layers. It is due to the large number of species present (more than 70) and to their well-balanced participation in both the numeric and the gravimetric structure.

REFERENCES

1. Papp M., *Phytomass and production of herbs in: Jakucs P. (ed.), Ecology of an oak forest in Hungary: Results of "Sikfőkút Project", Acad. Kiadó, Budapest, 1985.*
2. Paucă-Comănescu Mihaela, Vasiliu-Oromulu Liliana, Tăcină Aurica, Simionescu Victoria, Falcă M., Honciuc Viorica, Arion C., Almășan H., Andronescu C., *Rev. Roum. Biol. Veget.*, 29 (2): 91—101, 1984.
3. Paucă-Comănescu Mihaela, Vasiliu-Oromulu Liliana, Colțea N., Alexievici Zoe, Tăcină Aurica, Simionescu Viorica, Honciuc Viorica, Falcă M., Arion C., Popescu A., Sanda V., *Rev. Păd.*, 98(3): 128—135, 1983.
4. Symonides Ewa, *Ekologia Polska*, 33(1): 61—79, 1985
5. Whittaker R. H., *Science*, 147 (3655): 250—261, 1965.

Received 16 October, 1986

Institute of biological sciences
Bucharest, Splaiul Independenței 296

LA CROISSANCE DES BOURGEONS AU COURS DE LA PÉRIODE DE VÉGÉTATION DE L'ESPÈCE ALIGOTÉ. LA RELATION ENTRE LA CROISSANCE DES DRAGEONS, LA SURFACE DES FEUILLES ET LA CROISSANCE DES BOURGEONS

ANCA LIDIA ANTOHE

The researches represent the continuation of some previous studies (1-4) carried out in the North-East of Moldavia on two types of *Vitis vinifera*—Aligoté, a type originating from France.

The growth and development of the buds in the vegetation period take place in parallel with the growth of the leaves and offshoots.

The growing peculiarities of the buds show the fact that the formation of the buds on offshoots do not develop concurrently and therefore the buds have different ages and biological potentials.

Du point de vue biologique, on comprend par bourgeon l'organe de base où est inclus et d'où commence le cycle annuel de croissance et de développement. Le bourgeon représente l'unique organe de la vigne qui, sous forme potentielle, inclut la croissance et le développement de même que tous les potentiels héréditaires de toute la plante.

R. Bessis (7) montre que les bourgeons de la vigne possèdent des caractères particuliers, intrinsèques, qui varient plus ou moins, d'un bourgeon à l'autre. Selon Champagnon (cité par Bessis), il s'agirait des propriétés fixées, de nature physiologique connue, qui présentent des caractères morphologiques corrélatives à leurs qualités, comme par exemple le nombre des internoeuds préformés, la fertilité et d'autres encore.

Les recherches effectuées dans ce domaine (5, 9, 12) ont démontré que dans l'axile de chaque feuille se forment très tôt deux bourgeons — l'un principal et l'autre secondaire. Ces bourgeons se trouvent sous une couverture commune, formant l'ainsi nommé « œil primaire ». L'un des deux bourgeons se met à croître immédiatement après sa formation et donne naissance à un drageon appelé « l'enfant ». Ce bourgeon s'appelle bourgeon d'enfant (9, 11, 14, 15), bourgeon d'été (5, 12), ou bourgeon secondaire (9, 15, 16).

L'autre bourgeon évolue lentement et c'est à peine dans le cycle suivant qu'il produira un nouveau drageon. Il s'appelle bourgeon latent (7, 19), bourgeon primaire (9, 12, 14) ou bourgeon d'hiver (11, 14, 18).

Le bourgeon d'enfant se forme à partir des tissus intérieurs du drageon principal. Le bourgeon latent (d'hiver) se forme à partir des tissus extérieurs de l'enfant et pour cette raison il est considéré le bourgeon le plus bas de l'enfant.

Ces deux sortes des bourgeons (le bourgeon principal et le bourgeon d'enfant), en dehors de quelques particularités anatomo-physiologiques, se distinguent aussi par un comportement différent de la physiologie de la croissance. Tandis que le bourgeon d'été (l'enfant) commence à éclore peu de temps après sa formation, donc dans la même période de végétation, le bourgeon d'hiver commence à éclore seulement après avoir parcouru un

repos de croissance, l'année suivante (6). Ce bourgeon passe l'hiver sous la forme d'un bourgeon couvert d'écailles et d'une poussière abondante, étant donc un bourgeon latent. L'année suivante il donnera naissance à un autre drageon, strictement identique au drageon initial.

R. Bessis montre que les facteurs qui exercent leur action sur les corrélations de croissance chez les plantes ligneuses sont :

a) des facteurs fixes — facteurs existants au cours du cycle végétatif ou au cours du repos hivernal précédent, donc des tendances déjà fixées dans les bourgeons ;

b) des corrélations actuelles de nature trophique et hormonale qui ont comme substrat les propriétés fixées des bourgeons ;

c) la vigueur — Bessis emploie ce terme pour la coupe de la vigne.

Tout cela donne la particularité principale des plantes ligneuses, celle de posséder dans leurs bourgeons des facteurs qui ont été actuels au cours du cycle végétatif précédent et qui servent de point de départ dans le cycle suivant.

Sur un drageon d'un an, la formation des bourgeons n'aura pas lieu simultanément et c'est pour cela que les bourgeons ont un âge différent de différenciation. Une preuve en est le fait que les drageons issus de ces bourgeons diffèrent entre eux non seulement en longueur, mais aussi dans les rythmes de croissance et de développement. L'hétérogénéité des bourgeons est aussi démontrée par l'intensité différente de leur croissance au cours d'un cycle végétatif.

Selon l'opinion des différents chercheurs (8, 9, 11) l'hétérogénéité des bourgeons qui se trouvent sur les drageons de l'année passée a un caractère ondulant, cyclique. A. Borisovski (1967) a constaté que les bourgeons de la partie inférieure des drageons (les bourgeons 1—5) de même que ceux de la partie supérieure (les bourgeons 12—15) sont moins développés que les bourgeons de la zone du milieu des drageons.

En dehors des bourgeons d'enfant et des bourgeons latents — qui représentent des types essentiels de bourgeons — on peut distinguer encore d'autres catégories. Ce sont les bourgeons accessoires. Ainsi, chaque bourgeon principal porte à sa base deux bourgeons à l'aisselle des deux pré-feuilles aux écailles. Ce sont les bourgeons secondaires (7, 9, 11, 14, 16). Il y a aussi des bourgeons dormants (7, 9, 14), qui peuvent refaire le système des drageons de la vigne à la suite de certaines calamités, lorsque les bourgeons principaux sont détruits (gel, attaques diverses, maladies).

MATÉRIEL ET MÉTHODE

L'étude a été effectuée dans le cadre de la Station Expérimentale Horti-Viticole Iași, dans des conditions d'expérimentation identique à celles rappelées dans les travaux antérieurs (1—4).

La croissance des bourgeons au cours de la période de végétation des drageons a été observée sur les trois catégories de drageons (de base, de milieu et de bout) chez l'espèce Aligoté. On a utilisé la méthode des mesurages à la loupe binoculaire, à l'aide d'un oculaire micromètre, en établissant ainsi la croissance en largeur des bourgeons à un intervalle de 15 jours.

Les mesurages ont été effectués aux dates suivantes : 5 V ; 25 V ; 5 VI ; 18 VI ; 1 VII ; 15 VII ; 1 VIII ; 15 VII ; 1 IX ; 15 IX ; 1 X ; 15 X. Les résultats ont été exprimés en unités conventionnelles (u.c.)

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

On a suivi la croissance des bourgeons de l'espèce Aligoté chez les drageons situés à la base du sarment (fig. 1). Les bourgeons 1—5 ont une grande période de croissance (5 V — 25 V). Ils continuent à augmenter leurs dimensions jusqu'au premier juillet, au moment où la croissance se manifeste notamment en longueur. Il s'en suit l'arrêt de la croissance, ensuite la reprise du phénomène à une intensité diminuée. Les internoeuds correspondants aux bourgeons analysés (3) grandissent peu en longueur, la grande période de leur croissance étant entre le 9 V et le 23 V. Ces internoeuds croissent plus intensément en épaisseur par rapport aux internoeuds du milieu et surtout du bout des drageons — la grande période de leur croissance étant toujours au mois de mai (9 IV — 2 V)

Les feuilles des bourgeons analysés (1) passent par la grande période de leur croissance toujours au mois de mai ; les surfaces foliées réalisés sont assez petites.

Les bourgeons qui apparaissent dans la première partie du mois de juin passent par la grande période de croissance entre le 25 V et le 5 VI. Elle coïncide avec la grande période de croissance en longueur des internoeuds respectifs. Ceux-ci sont les plus longs internoeuds des drageons de la base du sarment. La grande période de la croissance en épaisseur des internoeuds analysés est déplacée en temps (25 V — 25 VI). Les feuilles de ces bourgeons croissent beaucoup, en réalisant les plus grandes surfaces foliées. Leur grande période de croissance est au mois de juin.

Les bourgeons qui apparaissent dans la seconde moitié du mois de juin passent par la grande période de croissance entre le 18 VI et le 1 VII. Ils croissent dans un rythme accéléré jusqu'au début du mois d'août, ensuite leur croissance continue plus lentement jusqu'au mois d'octobre. Les internoeuds correspondants à ces bourgeons ont la grande période de leur croissance en longueur entre le 25 VI et le 25 VII, et la grande période de croissance en épaisseur entre le 5 VI et le 25 VI. Les feuilles ont la grande période de croissance au mois de juillet et réalisent de petites surfaces foliées.

Les bourgeons du mois de juillet, en fonction du moment de leur apparition sur les drageons, ont la grande période de croissance dans la première ou la seconde période des mois respectifs. Ils croissent plus rapidement jusqu'au mois d'août, mais ils continuent les croissances en longueur et en épaisseur jusqu'au mois d'octobre. Les internoeuds respectifs ont la grande période de croissance en longueur antérieure à la grande période de croissance des bourgeons (5 VI — 25 VI), et la grande période de croissance en épaisseur en même temps que la grande période de croissance des bourgeons. Les feuilles qui correspondent aux bourgeons analysés passent par la grande période de croissance au mois de juillet, en même temps que leurs bourgeons, mais réalisent de petites surfaces foliées.

Les bourgeons qui apparaissent sur les drageons au mois d'août se développent très peu. Les internoeuds qui leur correspondent ont la grande période de croissance en longueur et en épaisseur toujours au mois d'août.

Les autres bourgeons qui apparaissent plus tard vers le bout des drageons sont surpris par les températures basses, flétrissent et tombent.

Chez les drageons situés au milieu du sarment (fig. 2), les bourgeons de la base des drageons (bourgeons 1 — 4) ont la grande période de croissance le 5 mai, à la différence des mêmes bourgeons des drageons de la base du sarment, qui, ayant un rythme plus lent de croissance, passent par la grande période de croissance le 25 mai. Ils se développent jusqu'au mois de juin, ensuite le phénomène continue d'une manière plus lente.

Les internoeuds respectifs (3) ont la grande période de croissance en longueur et en épaisseur en même temps que les bourgeons analysés.

Les feuilles (1) qui correspondent à ces bourgeons passent par la grande période de croissance au mois de juin, leurs surfaces foliées étant plus réduites.

A partir de la seconde moitié du mois de mai, les bourgeons qui apparaissent passent par la grande période de croissance le 25 mai, ou le 5 juin. Ils ont un rythme accéléré de croissance jusqu'au premier août, ensuite le phénomène continue avec des croissances en longueur ou en épaisseur jusqu'au mois de septembre. La grande période de la croissance en longueur des internoeuds respectifs coïncide avec la grande croissance des bourgeons. La grande période de la croissance des internoeuds en épaisseur a lieu entre le 25 V et le 25 VI. Au mois de juin, les feuilles de ces bourgeons passent aussi par la grande période de croissance. Leurs surfaces foliées sont les plus grandes sur tout le drageon.

Les bourgeons qui se forment au mois de juin sont plus jeunes du point de vue de leur âge et se caractérisent par les croissances les plus prégnantes en longueur et en épaisseur. Ces bourgeons passent par la grande période de la croissance au mois de juin (le 18 juin) et croissent en rythme accéléré jusqu'au mois de juillet. Ils continuent quand même à augmenter leurs dimensions soit en longueur soit en épaisseur et même plus tard.

Nos résultats coïncident avec les résultats des recherches effectuées par d'autres auteurs (Bessis (7)) qui conduisent à l'idée que les bourgeons d'un drageon n'ont pas tous les mêmes propriétés au début de leur végétation, les plus favorisés étant ceux de la partie médiane des drageons.

Les internoeuds des bourgeons du mois de juin ont la grande période de croissance en longueur antérieure à la grande période de croissance des bourgeons (le 25 mai et le 5 juin), et la grande période de croissance en épaisseur après la grande période de croissance des bourgeons (le 25 juin et le 25 juillet). Les feuilles de ces bourgeons ont des surfaces foliées réduites et la grande période de leur croissance est postérieure à la grande période de la croissance des bourgeons et notamment au mois de juillet. Les bourgeons qui apparaissent sur les drageons au mois de juillet, en fonction de leur apparition, passent par la grande période de croissance dans la première ou la seconde moitié du mois de juillet. Ils croissent dans un rythme plus rapide jusqu'à la fin du mois de septembre, mais les croissances en longueur et en épaisseur continuent pendant toute la période de végétation.

Les internoeuds passent par la grande période de croissance en longueur en même temps que leurs bourgeons et plus tard par la grande période de croissance en épaisseur (25 VII — 25 VIII). Une partie des feuilles de ces bourgeons (approximativement 6—7 feuilles du rang 23—27) passent par la grande période de leur croissance en même temps que leurs bourgeons. Le reste des feuilles passent plus tard par la grande période de croissance et leurs surfaces foliées sont réduites.

Les bourgeons du mois d'août croissent plus lentement. La grande période de la croissance en longueur des internoeuds de ces bourgeons coïncide avec celle des bourgeons (le mois d'août) tandis que la grande période de la croissance en épaisseur des internoeuds est plus tardive (le 25 juillet jusqu'au 25 septembre).

La croissance des bourgeons sur les drageons situés au bout du sarment (fig. 3) gardent généralement les mêmes caractères rencontrés jusqu'à présent. Les bourgeons qui se trouvent à la base des drageons ont une intensité maxima de croissance le 5 mai, en même temps que les internoeuds respectifs (3). L'intensité maxima de la croissance en épaisseur des internoeuds est le 25 juin.

C'est toujours au mois de juin que passent par la grande période de croissance les feuilles des bourgeons respectifs (1) qui réalisent des surfaces foliées petites. La croissance des bourgeons a un rythme accéléré jusqu'au mois de juin, ensuite le phénomène continue d'une manière plus lente.

Les bourgeons qui apparaissent le 25 mai passent par la grande période de croissance en longueur le 25 mai et la grande période de croissance en épaisseur le 25 juin. Les feuilles qui correspondent à ces bourgeons passent par la grande période de croissance au mois de juillet et se caractérisent par les plus grandes surfaces foliées réalisées sur les drageons.

Les bourgeons formés au mois de juin ont un rythme accéléré de croissance jusqu'au mois d'août.

Leur croissance continue jusqu'à la fin du mois de septembre. Ces bourgeons passent par la grande période de croissance le 18 juin ce qui coïncide avec la période de la croissance en longueur de leurs internoeuds.

La grande période de la croissance en épaisseur des internoeuds (le 25 juillet) coïncide avec la grande période de la croissance des feuilles correspondant à ces bourgeons. Les feuilles ont de grandes surfaces foliées.

Les bourgeons qui apparaissent sur les drageons au mois de juillet ont la grande période de croissance en fonction de leur apparition, dans la première ou la seconde moitié du mois de juillet. La grande période de croissance en longueur des internoeuds respectifs coïncide avec celle des bourgeons, mais elle est différente de la grande période de croissance en épaisseur (le 25 août). Les feuilles correspondant à ces bourgeons passent par la grande période de croissance soit au mois de juillet (pour les bourgeons qui apparaissent sur les drageons dans la première moitié du mois de juillet) soit au mois d'août (pour les bourgeons qui apparaissent sur les drageons dans la seconde moitié du mois de juillet). Leurs surfaces foliées sont réduites.

Les bourgeons qui se forment sur les drageons au mois d'août, croissent plus lentement et passent par la grande période de croissance en même temps que leurs internoeuds (pour la croissance en longueur). La grande

période de la croissance en épaisseur est vers l'automne (le mois de septembre).

La courbe de la croissance des bourgeons indifféremment de la position des drageons sur le sarment est une courbe ondulante, cyclique (fig. 1—3). Donc, il s'agit d'une hétérogénie bien marquée des bourgeons. A l'appui de l'hétérogénéité biologique des bourgeons vient aussi le fait que les drageons issus de ces bourgeons diffèrent entre eux par le rythme de croissance et de développement.

On a représenté la croissance en longueur et en épaisseur de quelques bourgeons sur les drageons de l'espèce *Aligoté* (fig. 4). On observe que le phénomène de la croissance en longueur s'arrête avant l'arrêt de la croissance en épaisseur, d'une manière d'autant plus prégnante que les bourgeons sont situés vers la base des drageons.

La formation et la croissance des bourgeons sur un drageon ne se déroule pas simultanément, à cause de cela les bourgeons n'ont pas tous les mêmes propriétés à leur début de croissance, ils sont d'âge différent et ont des potentiels biologiques différents.

CONCLUSIONS

Dans les recherches que nous avons effectuées, sans tenir compte de la position des drageons sur le sarment nous avons remarqué :

1. Les bourgeons formés sur les drageons au mois de mai croissent dans un rythme plus rapide jusqu'au mois de juillet (les bourgeons de la base du sarment) ou jusqu'au mois d'août (les bourgeons du milieu ou du bout du sarment).

La croissance en longueur des internoeuds s'arrête avant la croissance des bourgeons. La grande période de croissance en épaisseur des internoeuds est plus tardive (surtout pour les drageons du milieu et du bout du sarment) et coïncide avec la grande période de croissance des feuilles.

2. Les bourgeons qui apparaissent sur les drageons au mois de juin sont les bourgeons aux plus grandes dimensions. Leur rythme de croissance est en fonction de la position des drageons sur le sarment.

Les bourgeons des drageons situés au milieu et au bout du sarment, croissent plus rapidement jusqu'au mois de juillet, tandis que ceux qui se trouvent sur les drageons situés à la base du sarment croissent jusqu'au mois d'août. Les bourgeons des drageons de la base et du bout du sarment, passent par la grande période de croissance en même temps que la grande période de croissance en longueur et en épaisseur de leurs internoeuds.

Les bourgeons des drageons du milieu du sarment passent par la grande période de croissance à la suite de la grande période de croissance des internoeuds respectifs. La grande période de croissance en épaisseur des internoeuds est plus tardive. Les feuilles des bourgeons analysés passent par la grande période de croissance au mois de juin et réalisent de grandes surfaces foliées.

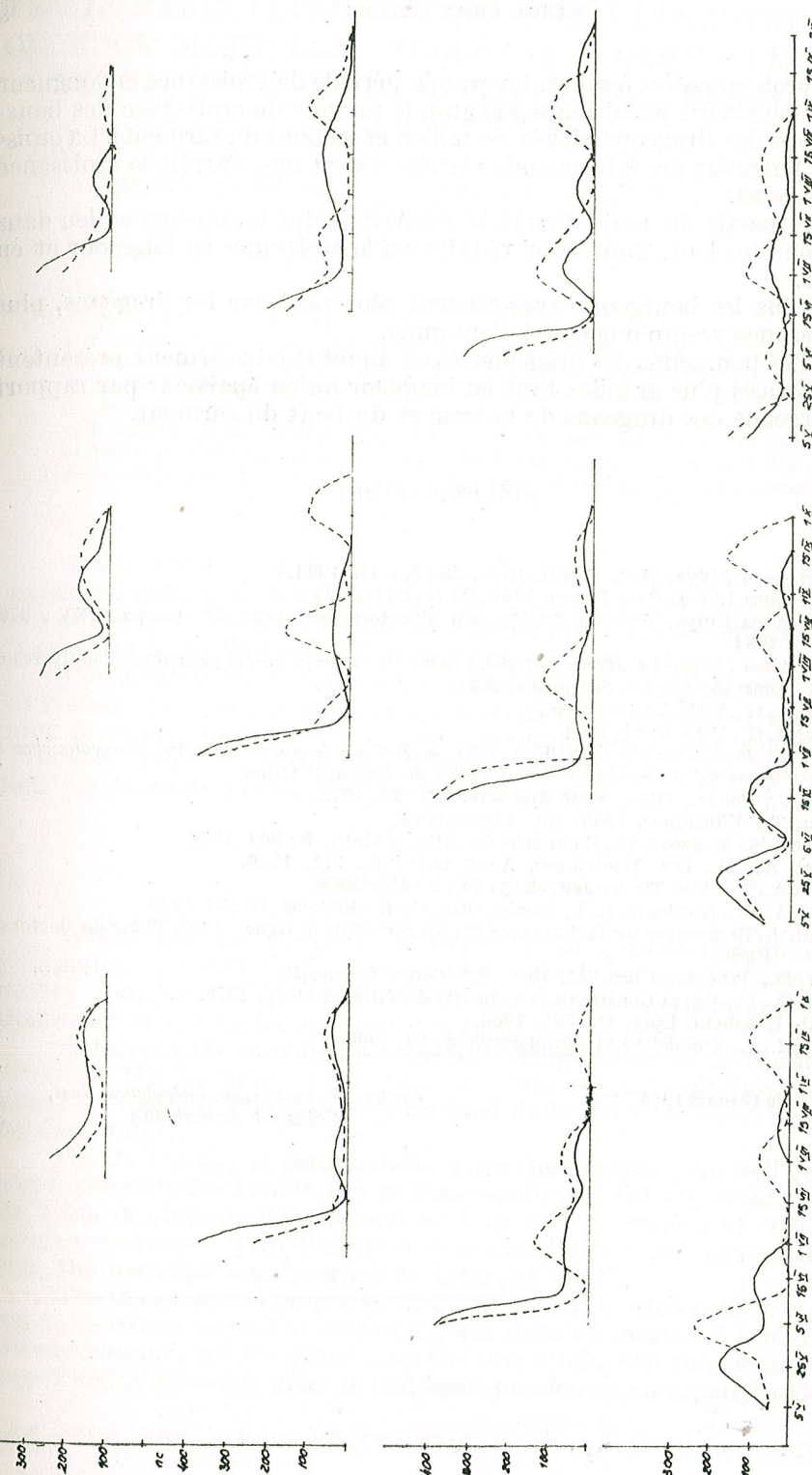
3. Les bourgeons qui apparaissent sur les drageons au mois de juillet sont de dimensions réduites et croissent plus lentement. Ils passent par la grande période de croissance au mois de juillet, concomitamment à la grande période de croissance en longueur des internoeuds et la grande pé-

DRAGON DU BOUT DU SARMENT.

DRAGON DU MILIEU DU SARMENT

DRAGON DE LA BASE DU SARMENT

CROISSANCE EN LONGUEUR - ET EN ÉPAISSEUR u.c / jour



DATES DES DÉTERMINATIONS

Fig. 4.— La croissance en longueur et en épaisseur de certains bourgeons de la l'espèce *Aligoté* au cours de la période de végétation.
— Croissance en épaisseur
— Croissance en longueur

riode de croissance des feuilles. La grande période de croissance en longueur des internoeuds est postérieure à la grande période de croissance des bourgeons (pour les drageons situés au milieu et au bout du sarment). La croissance en longueur des internoeuds s'arrête avant que s'arrête la croissance des bourgeons.

4. A partir du mois d'août la formation des bourgeons a lieu dans un rythme plus lent. Tout aussi réduite est la croissance en longueur et en épaisseur.

5. Plus les bourgeons apparaissent plus tard sur les drageons, plus leur croissance se prolonge vers l'automne.

6. Les bourgeons des drageons situés au milieu du sarment présentent des croissances plus grandes tant en longueur qu'en épaisseur par rapport aux bourgeons des drageons de la base et du bout du sarment.

BIBLIOGRAPHIE

1. Antohe Anca Lidya, Rev. Roum. Biol., 28 (2): 77, 1983.
2. Antohe Anca Lidya, Rev. Roum. Biol., 29 (2): 118, 1984.
3. Antohe Anca Lidya, Travaux du Muséum d'Histoire Naturelle Gr. Antipa, XXV: 379, 1984.
4. Antohe Anca Lidya, *Le Musée d'Histoire naturelle*, volume publié pour fêter l'anniversaire des 150 années du musée, 201.
5. Alleweldt, G., Vitis, 2: 134, 1960.
6. Alleweldt, G., Vitis 4: 11, 1964.
7. Bessis, R., *Recherches sur la fertilité et les corrélations de croissance entre bourgeons chez la vigne (Vitis vinifera)*, 1965, Thèse de doctorat, Dijon.
8. Ceban, V., Pomic., vitic., vinif. Moldovei, 10: 25, 1972.
9. Martin, T., *Viticultura*, 1965, Ed. Agro-Silvică.
10. Nedelcev, N., Todorov, H., Calet selectiv vitic. și vinif., 9: 564, 1966.
11. Negrul, A., M., Izv. Timiriozev, Acad. U.R.S.S., 111, 1966.
12. Negrul, A., M., Izv. Timiriazov, sh. Acad., 5: 151, 1969.
13. Negrul, A., M., Gordeeva, L. I., Pomic. vitic. vinif. Moldovei, 10: 24, 1970.
14. Nigond, J., *Recherches sur la dormance des bourgeons de la vigne*, 1967, Thèse de doctorat, Paris.
15. Oprea, D., *Viticultură practică*, 1976, Ed. Ceres, București.
16. Oprea, D., D., Oprea Constanța, An. Institut. de Vitic. și vinif., 1975.
17. Panait, Elisabeta, Lucr. șt., 595, 1966.
18. Zotkin, I., I., Vinodelie i vinogradarstvo, 5: 24, 1966.

Reçu le 12 mars 1986

Centre de recherches biologiques Iași,
Calea 23 August 20A

TRIFLURALIN INFLUENCE ON THE ULTRASTRUCTURE OF ROOT MERISTEM CELLS IN WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) AND SUNFLOWER (*HELIANTHUS ANNUUS* L.)

CONSTANȚA SPÂRCEZ, V. SORAN, C. CRĂCIUN, A. POLIZU,
and VERONICA CRĂCIUN

The herbicide Triflurom 24 EC (24% trifluralin α, α, α -trifluoro-2,6-dinitro-N,N-dipropyl-toluidin), applied continually for 5 days to germinating wheat and sunflower seeds brought about important ultrastructural modification in the meristematic cells of primary roots. The modifications depended on species. In wheat, trifluralin influenced mostly the structure of the nuclear apparatus. As trifluralin inhibited the formation of new cellular walls after division, the cells became gigantic and polynucleate. The nuclei were smaller in size and some of them probably lacked nucleolus. In sunflower, trifluralin modified the lipid metabolism and induced a decrease in the amount of nucleus heterochromatin.

It is relatively well known that macroscopically trifluralin has an important influence on weeds (5), (6), (9), (11), (12), (14), (15). Its influence at cell level has been studied on a single plant species only, brood bean (*Vicia faba* L.) by M. Bobak (2) (3), (4) in Czechoslovakia.

Considering that herbicides are phytotoxic substances both for cultivated plants and weeds, we have studied the effects of small trifluralin doses on the ultrastructure of meristem cells in the wheat rootlets (*Triticum aestivum* L.) the Transylvania variety, and the sunflower radicle (*Helianthus annuus* L.), the Record variety.

MATERIAL AND METHOD

Wheat and sunflower seeds were set for germination in Linhardt germinators, on filter paper previously soaked with a Triflurom 24 EC watery solution (24% trifluralin) in concentrations corresponding to a treatment of 0.1 kg/ha a.s. and 0.5 kg/ha a.s.

A thermostat provided a constant temperature of 24°C during germination. The humidity of the filter paper varied gradually from one moistening to another, which were performed daily with the same quantity of distilled water.

On the 5th day of germination, when the rootlets were well developed (approximately 2–4 cm in the control seedlings), the upper part was fixed for 2 hrs in glutaraldehyde and for 1 hr in 1% osmic acid. The control radicles untreated with Triflurom were also fixed. After acetone dehydration, the material was inserted in Vestopal W.

The material was prepared for division so that each section was achieved at meristem level. The sectioning was done by means of L.K. B. — III ultramicrotome and the plant material was studied in the electron microscope TESLA BS—500 after it had been previously contrasted twice.

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. VÉGÉT., TOME 32, N° 1, P. 39–41, BUCAREST, 1987

RESULTS AND DISCUSSION

Plate I, figs 1, 2 present the ultrastructure of rootmeristem cells in control wheat seedlings. It is the normal ultrastructure described in electromicroscopical atlases (1), (16) and cytology treatises (7), (13).

0.1 and 0.5 kg/ha bring about cell enlargement and the thickening of cellular walls, especially for the 0.5 kg/ha concentration (Plate I, fig. 5). The organelle with the most obvious ultrastructural modifications is the nucleus. It seems that the cell division is not followed by the formation of new cellular walls, so that the newly-synthesized cellulose fibres thicken the already existing walls. Plate I, fig. 4 presents metaphase chromosomes and phragmoplast vesicles not linked together and not generating a cellular wall. In this situation the "gigantic" cell leads to the enlargement of the nucleus, to the formation of lobes and finally to nucleus division into several nuclei, some containing nucleoli and others lacking them. We get thus, a polynucleate "gigantic" cell, rich in chromatin and having amoeba-like nuclei (figs 3, 5, 6) because of the wavy and strongly lobated membrane. This abnormal gigantic development of the cells was also noticed by G. G. Nayar and A. N. Sparow (10) and recorded by G. D. Kirillova, I. A. Tihonovici and T. S. Fadeeva (8). They all consider that this "gigantism" is due to the inability of the cells to complete their division under the influence of pesticides. These modifications reveal an intensified metabolic nuclear activity. In both concentrations trifluralin also induces senescence. It manifests itself by the early appearance of vacuoles containing different substances which form precipitates of different solidity (figs 3, 5, 6).

Plate II, figs 7 and 8, presents the ultrastructure of root meristem cells in control sunflower seedlings. The nucleus has large nucleoli, generally containing vacuoles. The cytoplasm, besides provacuoles (small vacuoles of the meristematic cells), mitochondria and proplastids, also contains spherical or longish oil droplets. As they are loaded with unsaturated fat acids, the oil drops are strongly osmiophile and consequently their optical density is very high. The endoplasmic reticulum is also very well developed.

Plate II, figs 9–12, shows the effect of trifluralin in 0.1 and 0.5 kg/ha concentrations on the ultrastructure of meristematic cells in sunflower rootlets. It can be noticed that trifluralin influences sunflower less than wheat a fact which explains the differentiated reaction depending on species. Our results prove that grasses and probably all monocotyle weeds are more sensitive to trifluralin influence than dicotyle plants. However, the modifications noticed in the ultrastructure of meristematic cells of sunflower rootlets show that the influence of trifluralin on dicotyle plants — even in small doses — is not at all negligible. At nucleus level, larger doses bring about an increase in nucleolus size (plate II, figs 9–12) together with the disappearance of nucleolar vacuole. The heterochromatine in each nucleus decreases, and some nuclei (plate II, fig. 12) tend to become irregular. For the 0.5kg/ha concentration the presence of starch leucoplasts can be noticed, also loaded with osmiophile substances; the excessive development of the endoplasmic reticulum and of the Golgi apparatus is also noted.

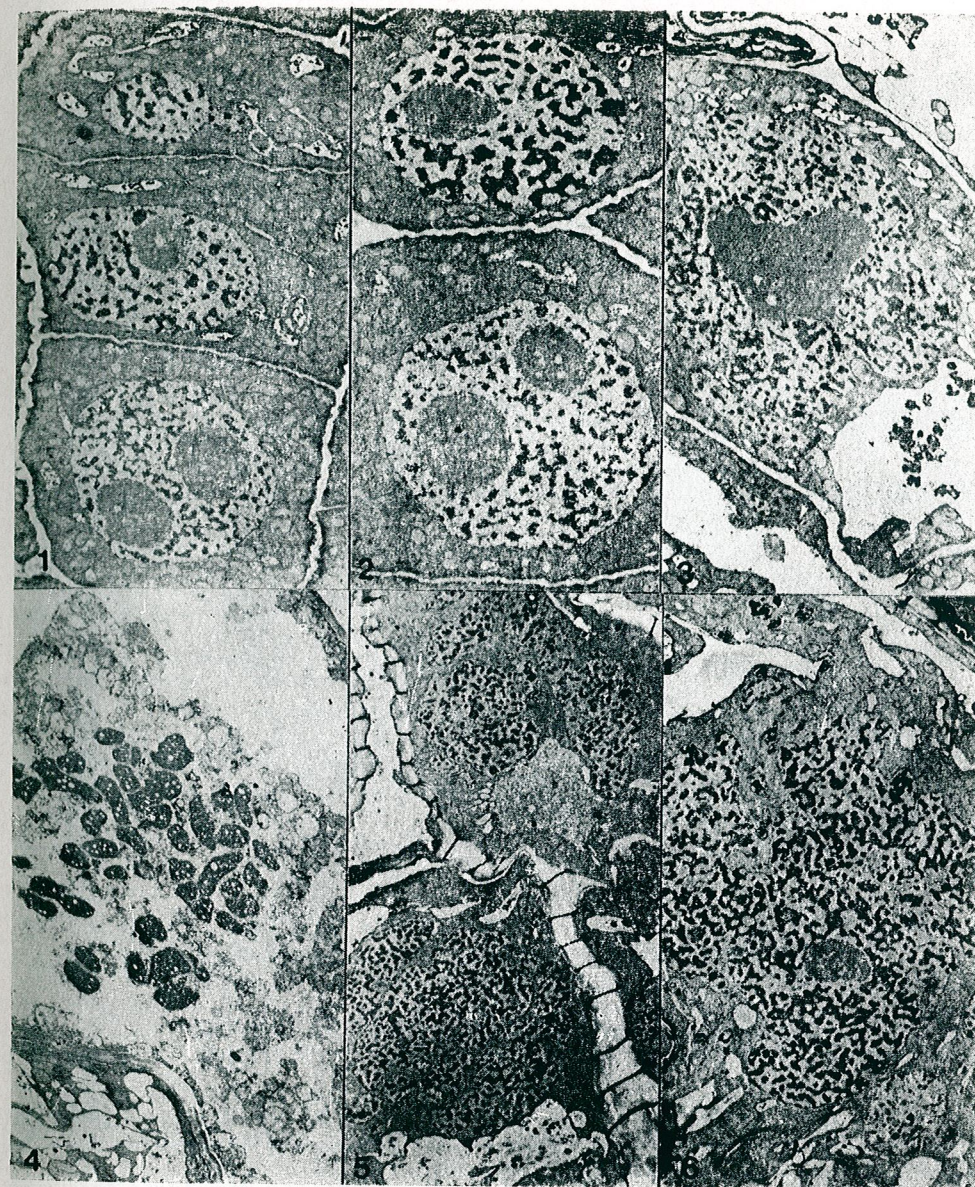


Plate I (see detailed explanation in the text)

Figs 1, 2. — The ultrastructure of meristematic cells in the root meristem of control wheat plantlets (*Triticum aestivum* L.) $\times 3000$; $\times 4000$.

Fig. 3. — The ultrastructure of a "gigantic" cell in wheat root meristem (*Triticum aestivum* L.) following Triflurom 24 EC treatment in a concentration of 0.1 kg/ha active substance ($\times 2700$).

Fig. 4. — Metaphase chromosomes and phragmoplast vesicles unbound together within a meristematic wheat cell (*Triticum aestivum* L.) following Triflurom 24 EC treatment in a concentration of 0.1 kg/ha active substance ($\times 2700$).

Figs 5, 6. — Ultrastructural modifications (amoeba-like nuclei, thickened cellular walls) in meristematic wheat cells following Triflurom 24 EC treatment in a concentration of 0.5 kg/ha active substance ($\times 2,000$; $\times 2,600$).



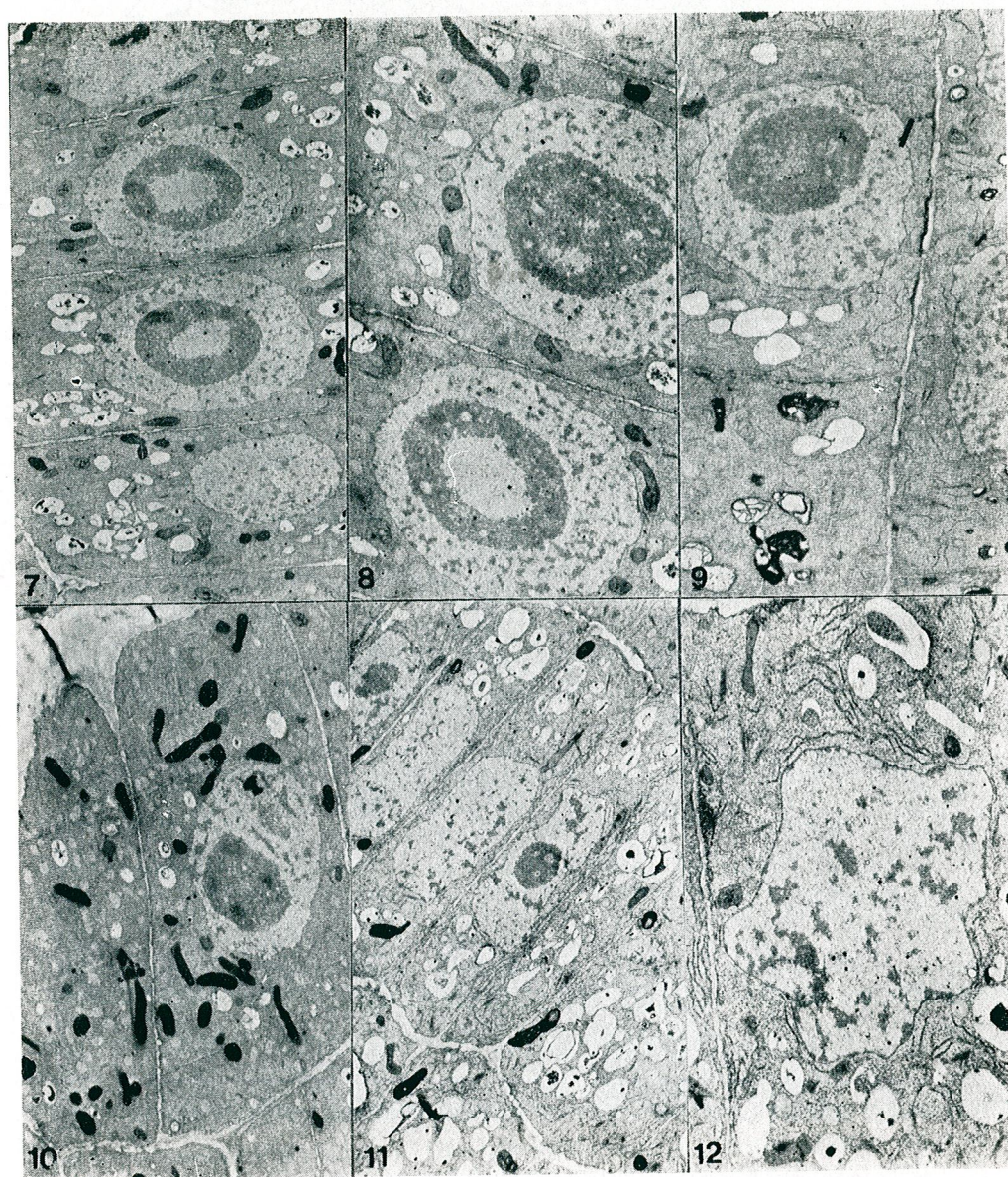


Plate II (see detailed explanation in the text)

Figs 7, 8. — The ultrastructure of meristematic cells in the root meristem of control sunflower (*Helianthus annuus* L.) ($\times 3000$; $\times 4000$).

Figs 9, 10. — The ultrastructure of sunflower root meristem cells (*Helianthus annuus* L.) following Trifluralin 24 EC treatment in a concentration of 0.1 kg/ha active substance ($\times 4000$; $\times 3000$).

Figs 11, 12. — Ultrastructural modifications in sunflower root meristem cells (*Helianthus annuus* L.) following Trifluralin 24 EC treatment in a concentration of 0.5 kg/ha active substance ($\times 3000$; $\times 6200$).

Trifluralin also leads to a high increase in the number of oil drops (plate II, fig. 10), a fact which suggests an augmentation of lipid synthesis. This supposition is also supported by the intense development of the endoplasmic reticulum, which is known to be made up of membranes rich in lipids.

CONCLUSIONS

1. Even in small doses, trifluralin modifies the ultrastructure of root meristem cells in wheat and sunflower.
2. The modifications induced by trifluralin differ according to species.
3. The essential modification noticed in wheat is the formation of "gigantic" and polynucleate cells.
4. In sunflower this influence manifests itself in the modification of lipid metabolism, and at nucleus level, in the reduction of nucleolus size and the decrease in heterochromatin.

REFERENCES

1. Angel I., Brezeanu A., Toma N., *Ultrastructura celulei vegetale*. Ed. Academiei, 1981.
2. Bobak M., *Studium vplyvherbicidu trifluralinu na ultrastrukturálne zmeny bunkových organel, proces karyokinézy, cytokineazy a cytomixis*, Habilit. práca, Bratislava, 1975.
3. Bobak M., *Physiol. Plant.*, 13 (9) 1977.
4. Bobak M., *Biologia*, 35 (1): 3, 1980.
5. Caramete A., in *Folosirea rațională a erbicidelor*. Al 3-lea Simp. Naț. de Herbologie, Craiova, 1982, 283.
6. Ceaușescu I., in *Folosirea rațională a erbicidelor*. Al 2-lea Simp. Naț. de Herbologie, Pitești, 1980, 11.
7. Frey-Wyssling, Mühlethaler K., *Ultrastructura rastitelinoi kletki*, Izd. Mir, Moskva, 1968.
8. Kirillova, G. A., Tihonovici I. A., Fadeeva T. S., *Usp. sovr. genet.* 10: 161, 1968.
9. Matei I., Pop L., Giugioveanu I., Chichea I., Nedelcu N., *Folosirea rațională a erbicidelor*. Al 3-lea Simp. Naț. de Herbologie, Craiova, 1982, 61.
10. Nayar G. G., Sparrow A. H., *Radiat. Bot.* 7: 257, 1967.
11. Pintilie C., Berca M., Ciobănescu Gh., Lăzăroiu A., Schiopu D., Roman T., Oprea N., *Folosirea rațională a erbicidelor*. Al 4-lea Simp. Naț. de Herbologie, București, 1984, 113.
12. Polizu A., Caramete A., Diasconi E., in *Folosirea rațională a erbicidelor*. Al 2-lea Simp. Naț. de Herbologie, Pitești, 1980, 245.
13. Smith H., *The molecular biology of plant cells*. Black. Scient. Public. Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, 1977.
14. Sarpe N., Apostol V., Popescu Alexandru, in *Folosirea rațională a erbicidelor*. Al 3-lea, Simp. Naț. de Herbologie, Craiova, 1982, 105.
15. Sarpe N., Costea Gh., in *Folosirea rațională a erbicidelor*. Al 4-lea Simp. Naț. de Herbologie, București, 1984.
16. Ude J., Koch M., *Die Zelle, Atlas der Ultrastruktur*, VEB, Gustav Fischer Verlag, Jena, 1982.

Received 25 June, 1986

Centre for Biological Researches
18, Republicii Str. 3400 Cluj-Napoca

LE RÔLE DES EFFECTEURS LECTINIQUES DE LA PEROXYDASE DANS L'ADAPTABILITÉ DES PLANTES. ÉTUDE PAR ÉLECTROPHORÈSE D'AFFINITÉ

MARGARETA DUMITRESCU*, N. ROMAN **, M. FALCA **, R. GORENFIOT***

On présente une série de résultats obtenus par l'électrophorèse d'affinité utilisant un effecteur lectinique de la peroxydase (PO) isolé à partir de la gousse des petits pois. L'analyse des extractions obtenues à partir des plantes sensibles ou résistantes envers les conditions extérieures relève une grande et, respectivement, une petite réactivité des zymogrammes PO envers l'effecteur. Ce fait soutient l'hypothèse sur l'implication adaptative du réglage de l'activité de la PO par les lectines endogènes. La réactivation de certaines isoenzymes inactivées par les radiations UV est une autre preuve pour le rôle des lectines dans le processus d'adaptation des plantes.

L'électrophorèse d'affinité (1) est une variante de la méthode électrophorétique utilisée pour l'analyse des liquides biologiques contenant des glycoprotéines. Il s'agit de l'électrophorèse des solutions glycoprotéiques dans la présence des lectines. Ces dernières sont des substances naturelles hétérogènes du point de vue structure, capables d'interactions spécifiques avec différents oligosaccharides caractérisés par leurs composition monosaccharidique et par leurs structures spatiales.

L'électrophorèse d'affinité peut être effectuée en deux variantes. Dans l'une, la lectine est incorporée dans le gel de l'électrophorèse, dans l'autre elle est mise en contact préalable avec la solution glycoprotéique. En conséquence de l'interaction de la lectine ayant deux structures convenables il résulte des complexes précipités ou à migration électrophorétique différente, et dans le cas des glycoprotéines enzymatiques (par exemple, la PO), celles-ci peuvent subir des modifications d'activité enzymatique. Dans un travail antérieur (2) nous avons signalé l'interaction différente de l'effecteur de la PO avec de différentes isoenzymes PO et l'importance de cette interaction pour la taxinomie. La nature lectinique de ces effecteurs de la PO révélée ultérieurement (3) permet l'explication de cette interaction différenciée par la variation des structures oligosaccharidiques des différentes isoenzymes de la PO. Dans le présent travail on s'est proposé d'utiliser l'électrophorèse d'affinité pour prouver le rôle adaptatif des lectines.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Comme matériel biologique on a utilisé des feuilles de roseau et d'*Anthyllis vulneraria* et les aiguilles de quelques conifères (*Pinus mugo*, *P. cembra*, *Picea abies*). Les feuilles de roseau provenaient du lac de Mogoșoaia et des terrains à haute salinité. Les plantules de l'*Anthyllis vulneraria* de différentes sous-espèces ont été élevées dans le laboratoire à partir des grains de la collection du laboratoire de biologie végétale D, de la Faculté des Sciences du Centre d'Orsay. Les aiguilles de conifères ont été récol-

R EV. ROUM. BIOL.—BIOL. VÉGÉT., TOME 32, N° 1, P. 43—48, BUCAREST, 1987

Trifluralin also leads to a high increase in the number of oil drops (plate II, fig. 10), a fact which suggests an augmentation of lipid synthesis. This supposition is also supported by the intense development of the endoplasmic reticulum, which is known to be made up of membranes rich in lipids.

CONCLUSIONS

1. Even in small doses, trifluralin modifies the ultrastructure of root meristem cells in wheat and sorghum.
2. The modifications induced by trifluralin differ according to species.
3. The essential modification noticed in wheat is the formation of "giantic" and polyribosomic cells.
4. In sorghum this influence manifests itself in the modification of lipid metabolism, and at nucleus level, in the reduction of nucleolus size and the decrease in heterochromatin.

REFERENCES

1. Angel E. Trifluralin A. Todor N. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
2. Bodek M. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
3. Bodek M. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
4. Bodek M. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
5. Gorenfiot R. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
6. Gorenfiot R. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
7. Pocz-Wassilak M. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
8. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
9. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
10. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
11. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
12. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
13. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
14. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
15. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
16. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
17. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
18. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
19. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.
20. Kirilova E. A. (L'effecteur lectinique de la peroxydase), 1981.

Received 22 June 1987

tées sur des arbres élevés à petite altitude et à grande altitude (à la limite supérieure de l'aréa de croissance des conifères) (4, 5).

Les extractions enzymatiques des feuilles et des aiguilles ont été soumises à l'électrophorèse en présence de l'effecteur lectinique isolé de la gousse de *Pisum sativum* par la chromatographie d'affinité.

Les extractions enzymatiques ainsi que celles des effecteurs ont été obtenues par le broyage des feuilles, des aiguilles et des gousses dans le tampon acide acétique-acétate de Na 0,02 M, pH = 4,8. Les extractions enzymatiques ont été analysées telles quelles ou après le contact préalable pendant 24 hs. à 4°C avec l'effecteur lectinique. L'irradiation à rayons UV a été effectuée avec une lampe Camag à 254 nm pendant 5'. L'électrophorèse a été effectuée dans un système vertical, dans un gel d'acrylamide 10%, dans le tampon Tris-borate, pH = 8,2. Le sens de migration a été du pôle négatif vers le pôle positif. Le développement des zymogrammes a été effectué dans une solution de tampon acide acétique-acétate qui contenait de la benzydine et de l'eau oxygénée.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Il résulte des figures et des tableaux présentés, que les modifications les plus importantes apparaissent sur les zymogrammes sous l'action de l'effecteur impliquent une ou deux fractions de mobilité intermédiaire qui souffrent une diminution de leurs mobilité électrophorétique et une fraction proche du start (pôle négatif) qui souffre la stimulation ou l'inhibition de son activité, apparaissant ou bien disparaissant sur les zymogrammes en présence de l'effecteur. Ces modifications sont dépendantes des conditions du milieu et de la nature du matériel biologique dont l'analyse fut entreprise comme suit.

A. L'action de l'effecteur chez les différentes races géographiques de roseau.

L'action de l'effecteur est différente sur les races géographiques du roseau, ainsi, dans le cas du roseau qui croît sur le lac de Mogoșoaia l'effecteur produit l'accroissement de la mobilité électrophorétique de la fraction située chez le témoin sur la ligne du start. Dans le cas des différentes variétés de roseau qui croissent sur des terrains à grande salinité il y a un accroissement encore plus marqué de la mobilité de cette fraction (Fig. 1).

B. L'action de l'effecteur chez différentes sousespèces de *A. vulneraria*

On a démontré antérieurement une action différente pour les différentes sousespèces lorsque les extractions étaient obtenues à partir de plantes adultes.

Dans le cas des extractions obtenues des feuilles des plantules de 5 jours élevées dans le laboratoire, les différences de réactivité entre les sousespèces n'apparaissent plus. Cette réactivité se manifeste soit par la modification de l'activité de certaines fractions, soit par la modification de la mobilité des autres fractions (Fig. 2). L'uniformité de la réactivité est également visible sur la figure qui présente l'action de l'effecteur sur les extractions PO non-irradiées et, respectivement, irradiées à rayons UV (Fig. 3). On constate que tant pour la sousespèce «maritima» que pour celles «vulnerarioïdes», l'effecteur peut produire l'intensification de cer-

taines fractions ainsi que l'apparition ou la disparition d'une fraction proche du start, et ceci, tant pour les extractions non-irradiées que pour celles irradiées à UV. La présence des différences de réactivité entre les

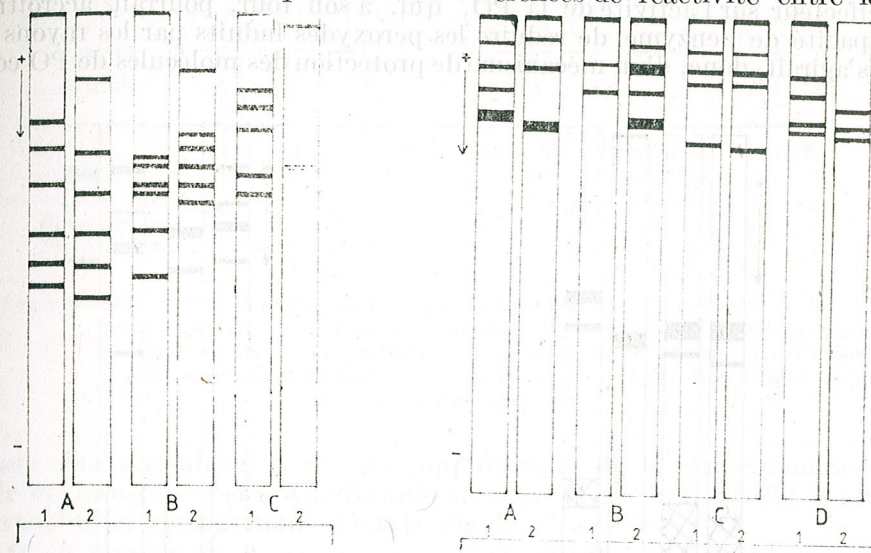


Fig. 1. — L'action de l'effecteur sur les isoenzymes PO des feuilles de roseau. A et B: feuilles récoltées sur des terrains à grande salinité; C — du lac Mogoșoaia; 1 — Témoin; 2 — Traitement avec l'effecteur.

Fig. 2. — L'action de l'effecteur sur les isoenzymes PO des feuilles des plantules d'*Anthyllis vulneraria*; A et B — *A. v.*, ssp. *vulnerarioïdes*; C et D — *A. v.*, ssp. *maritima*. 1 — Témoin; 2 — Traitement avec l'effecteur.

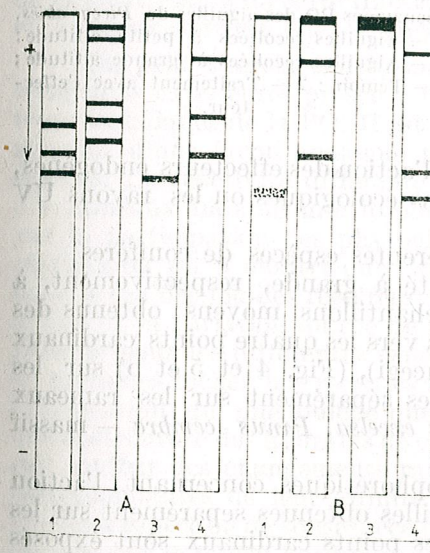


Fig. 3. — L'action de l'effecteur sur les isoenzymes PO des feuilles de plantules d'*Anthyllis vulneraria* non irradiées et irradiées avec des radiations UV. 1 — Extrait PO; 2 — Extrait PO traité avec l'effecteur; 3 — Extrait PO irradié; 4 — Extrait PO irradié et traité avec l'effecteur: A — ssp. *vulnerarioïdes*; B — ssp. *maritima*.

sousespèces dans les cas des plantes adultes (2) et leur absence chez les plantules indiquent que l'apparition de la sensibilité de la PO envers l'effecteur lectinique a lieu dans des périodes ontogéniques plus avancées.

La réactivation par l'effecteur lectinique des fractions de PO inactivée par les rayons UV est un phénomène spécialement intéressant du point de vue adaptatif. Il pourrait être expliqué par la stimulation exercée par l'effecteur sur l'activité de la PO, qui, à son tour, pourrait accroître la capacité de l'enzyme de réduire les peroxydes induits par les rayons UV. Il s'agirait, donc, d'un mécanisme de protection des molécules de PO contre

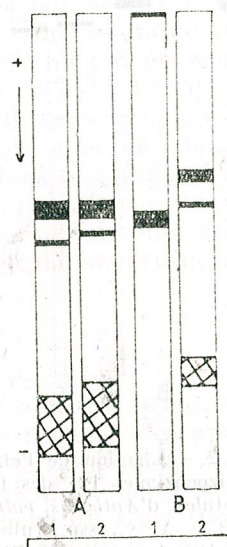


Fig. 4. — L'action de l'effecteur sur les isoenzymes PO des aiguilles de *Pinus mugo*; A — Aiguilles récoltées à petite altitude; B — Aiguilles récoltées à grande altitude; 1 — Témoin; 2 — Traitement avec l'effecteur.

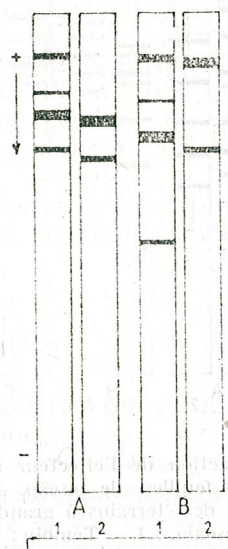


Fig. 5. — L'action de l'effecteur sur les isoenzymes PO des aiguilles de *Picea abies*; A — Aiguilles récoltées à petite altitude; B — Aiguilles récoltées à grande altitude; 1 — Témoin; 2 — Traitement avec l'effecteur.

les rayons UV qui pourrait contribuer par l'action des effecteurs endogènes, à l'adaptation des plantes à des conditions écologiques où les rayons UV ont une grande intensité.

C. L'action de l'effecteur chez différentes espèces de conifères

Le matériel biologique a été récolté à grande, respectivement, à petite altitude comme suit: a) sur des échantillons moyens obtenus des aiguilles récoltées sur les rameaux orientés vers les quatre points cardinaux (*Pinus mugo* et *Picea abies* — massif Bucegi), (Fig. 4 et 5 et b) sur les échantillons obtenus des aiguilles récoltées séparément sur les rameaux orientés vers un point ou l'autre (*Picea excelsa*, *Pinus cembra* — massif Călimani) (Tab. 1).

Les résultats des recherches électrophorétiques concernant l'action de l'effecteur sur les extractions des aiguilles obtenues séparément sur les branches orientées vers l'un ou l'autre des points cardinaux sont exposés dans le tableau 1. On peut observer une différence de réactivité envers l'effecteur lectinique entre les zymogrammes correspondant à l'espèce sensible (*Picea excelsa*) ou à l'espèce résistante (*Pinus cembra*). Ainsi on

Tableau 1

L'action différenciée de l'effecteur de la PO en fonction de l'orientation des rameaux

L'espèce	Est			Ouest			Sud			Nord		
	alt	ALT	1 2 3	alt	ALT	1 2 3	alt	ALT	1 2 3	alt	ALT	1 2 3
<i>Pinus cembra</i>	+	—		+	—		+	—		+	—	
<i>Picea excelsa</i>	+ a	i + s		+	i — s		i + s	i + s		+ a	i + s	

Légende: alt = petite altitude, ALT = grande altitude, 1 = L'effet sur la fraction proche du start, i = disparition (inhibition) 2 = l'effet sur la fraction majeure: + (positivation); — (inégativisation); 3 = l'effet sur le nombre des fractions; a croissance (amplification de la zymogramme) s diminution (simplification de la zymogramme).

constate une simplification ou une amplification de la zymogramme à grande et, respectivement, à petite altitude dans le cas de *P. excelsa* et une constance de la zymogramme dans le cas de *P. cembra*.

Il est intéressant de mentionner que la fraction impliquée dans la simplification ou l'amplification de la zymogramme est située dans la proximité du pôle négatif, analogue de la fraction A₁, riche en manose, de la PO du raifort. Une autre fraction PO qui subit l'action de l'effecteur est une fraction majeure de mobilité intermédiaire. Il s'agit généralement de la positivation de cette fraction mais une négativisation est aussi possible et apparaît surtout chez l'espèce résistante.

On peut tirer la conclusion que l'espèce la plus sensible envers les conditions extérieures présente une réactivité augmentée envers les effecteurs lectiniques de la PO. Il est possible que les effecteurs endogènes en agissant d'une façon analogue puissent contribuer à l'adaptation de ces espèces. La réactivité différente des isoenzymes fonction de l'orientation des rameaux indique une implication des processus des photooxydation par la participation des phytochromes. Dans ce contexte, rappelons nos travaux où on a montré que l'activité PO est affectée de façon différente dans le cas des feuilles récoltées à certaines heures du jour et que la dynamique de la variation diurne de la réactivité envers l'effecteur est caractéristique pour les différentes espèces de *A. vulneraria* (2). À la lumière de certaines recherches récentes effectuées sur les enzymes lysosomales (6) l'explication du phénomène que nous avons signalé consisterait en le fait que la structure des hydrates de carbone des enzymes glycoprotéiques pourrait souffrir des changements rapides. Ils détermineraient des variations correspondantes de leur affinité envers les lectines. D'autre part la spécificité d'espèce ou de sous-espèce du phénomène signalé pourrait être conditionnée par le milieu extérieur différent où se déroule ce phénomène dans le cas étudié.

En ce qui concerne la modification de l'activité de la fraction proche du start elle pourrait plaider pour les différences structurales marquées entre cette fraction et celles des autres formes moléculaires de la PO,

ainsi que pour la ressemblance des fractions homologues à petite mobilité électrophorétique chez de différentes espèces des plantes étudiées, pourtant éloignées phylogénétiquement (roseau, *Anthyllis vulneraria*, conifères). D'autre part, les différences de réactivité de la PO avec l'effecteur de type lectinique, in vitro, peuvent servir, comme on l'a démontré antérieurement, à la classification de différentes espèces végétales (7, 8).

Il est également intéressant de montrer dans ce contexte que même l'interaction de la PO avec les effecteurs lectiniques pose le problème d'évolution moléculaire du réglage de l'activité PO par les effecteurs (9).

BIBLIOGRAPHIE

1. J. Hau, B. Taisner, T. C. Bog-Hansen, en « Lectins, biology biochemistry, clinical biochemistry », H. Walter de Gruyter, Berlin, New York, p. 468, 1982.
2. M. Dumitrescu R., Gorenflot, H. Condere, « Evoluție și adaptare », I, Cluj-Napoca, 1982.
3. M. Dumitrescu, C. Stroila, S. Dima, M. Laky, E. Moldoveanu, X. A. Olinescu, « Imunologie XIII » Tg. Mureș, 1984.
4. M. Dumitrescu, H. D. Schell, M. A. Mateescu, T. Bentia, Rev. Biochim., 19 (2): 121, 1982.
5. M. Dumitrescu, H. D. Schell, L. Buzila, T. Bentia, St. cerc. biochim., 27: 33, 1984.
6. L. Kint., en « Lectins, biology, biochemistry, clinical biochemistry » II, Walter de Gruyter, Berlin, New York, 163, 1982.
7. M. Dumitrescu, M. Gorenflot, H. Condere, Rev. biochim., 12, 15, 1975.
8. M. Dumitrescu, R. Gorenflot, H. Condere, Ten. Gen. Bot., Paris, 1061—1062, 1063, 337, 1982.
9. M. Dumitrescu, « Evoluție și adaptare » II, Cluj-Napoca, 1985 (en cours d'apparition).

Reçu le 7 novembre 1985

* Institut Victor Babeș, Spl. Independenței 99—101, Bucarest

** Institut des Sciences Biologiques — Bucarest, Spl. Independenței 296, Bucarest

*** Faculté des Sciences, Centre d'Orsay, Lab. Biologie Végétale, C, Paris-Sud

DIVISION AND SPORULATION MUTANTS IN A *BACILLUS SUBTILIS* STRAIN (I.C.A. — 1.65). CYTOLOGICAL ASPECTS

GR. MIHĂESCU, GH. MENCINICOPSCI, L. GAVRILĂ and IOANA TRANDABURU

Industrial line I.C.A. — 1.65 of *Bacillus subtilis* is a double mutant: of division and sporulation. Division mutants are distinctly expressed from the phenotypic point of view. Some of the supernumerary division septa polarly localized are forming and minicells result. In others the process of division septum formation is blocked and filamentous bacilli result which can later divide, normally lengthened bacilli and minicells forming subsequently. Polar division sites activation in normally lengthened bacilli interfere with the sporogenesis process in stage O. Filamentous mutants are also asporogenous. In normally lengthened bacilli which do not divide polarly, sporogenesis is abortive in stage II.

The sporulation mutants in *Bacillus subtilis* Marburg strain have been described (15 — 17). They have been cytologically classified, criterion being the stage in which the sporogenesis process is affected, they have been utilized in physiological studies (11), in order to correlate the step of mutational event with the enzymes (protease, amylase) and antibiotics production.

The division mutants in *Bacillus subtilis* obtained after NTG treatment (12), grow as long filaments which divide polarly, minicell resulting. The cell division is a complex and genetically controlled process (13). The cell division and DNA replication are two intimately connected processes. In wild strains cells, the situs for the formation of division septum is centrally located. Through mutational processes, the cell strains are obtained in which polar divisions take place, leading to the formation of atypical cells lacking DNA. In thermosensitive mutants, which at unsuited temperature grow as long filaments, these two closely connected processes have been separated. The DNA replication is not followed by cell division, when they grow at unsuited temperature, while if they are brought back at optimal temperature, the filamentous forms divide without DNA replication (9, 10).

In *Bacillus subtilis* I. C. A. — 1.65 strain, which has been obtained in our laboratory, we point out, at ultrastructural level, the occurrence of numerous division septa, with abnormal, usually polar, location, despite the fact that they exhibit an apparent normal structure. The same cells are sporulation mutants.

MATERIALS AND METHODS

The strain I.C.A. — 1.65 of *Bacillus subtilis* was inoculated on the 1 medium (7) and incubated at 28°C temperature. After 10 and 24 hr respectively, from the time of inoculation, the bacterial cultures were processed according to the classical TEM technique. The fine sections were explored on a Phillips 201 EM.

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. VÉGÉT., TOME 32, N° 1, P. 49—55, BUCAREST, 1987

RESULTS

The cytological study of I.C.A. — 1.65 strain of *Bacillus subtilis* emphasized with high frequency abnormal divisions in bacterial cells which are defective regarding the division situs location on the length of the cell. The division anomalies appear both in logarithmic growth phase and in early stationary phase. The high frequency of the location changes of division situs supports our view that these are division mutants. At the same time, the cells of I.C.A. — 1.65 strain of *Bacillus subtilis* are sporulation mutants, because the sporogenesis process is blocked after prespore septum formation (stage II) or is not primed (stage 0).

The division mutants of *Bacillus subtilis*, I.C.A. — 1.65 strain are phenotypically expressed both by the occurrence of supernumerary division septa and by the lagging in the priming of division septum, and in this latter case, the cells grow in length, without division, filamentous cells resulting.

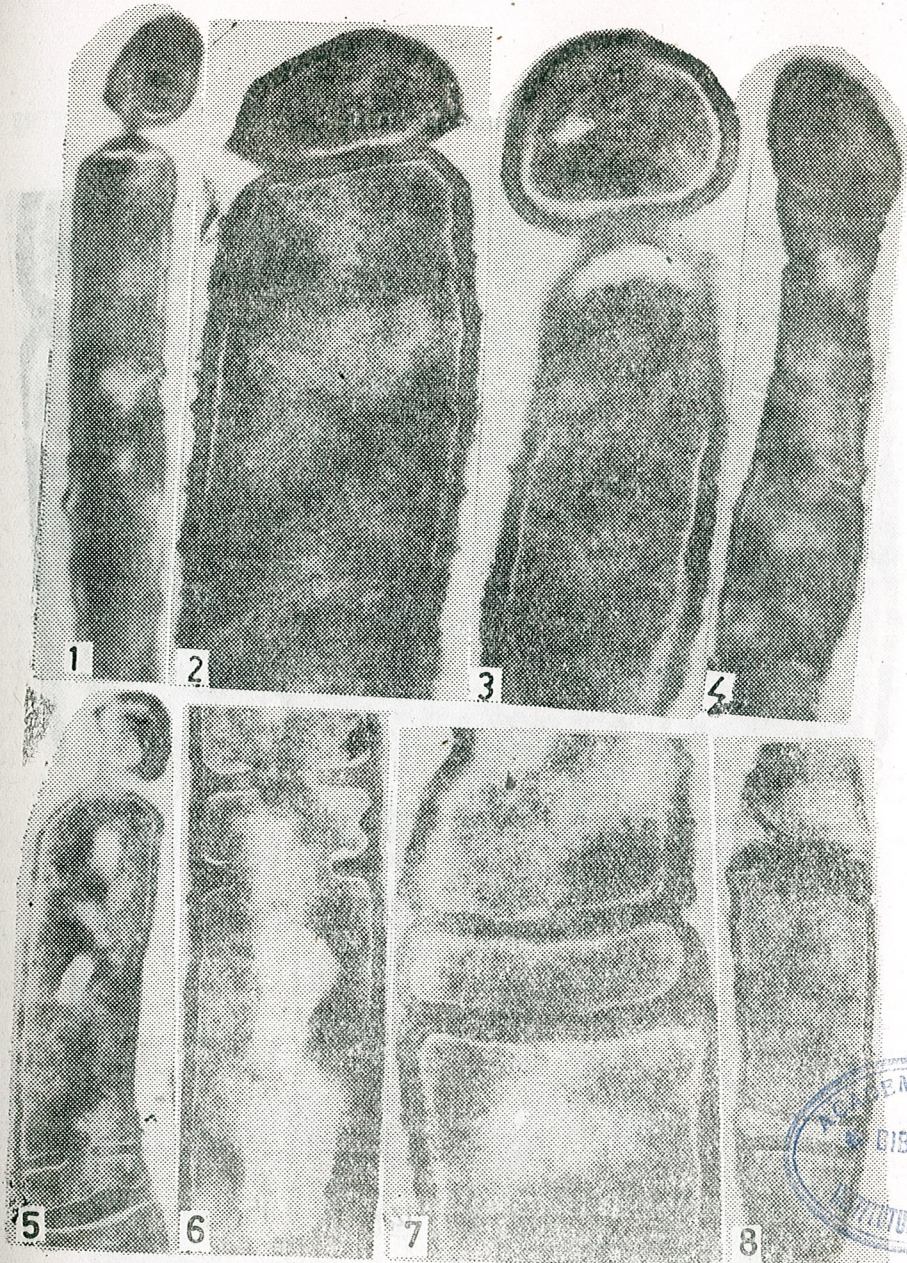
The supernumerary division septa activation, especially polarly located, leads to the separation from the parental cell of cytoplasmic fragments of various sizes delimited by the cell wall. When polar division takes place at the free, rounded extremity of a cell, an approximately spheric shaped minicell results (Figs. 1–5, 16, 21) exhibiting all the components of the parental cell, except for chromosomal DNA. In their cytoplasm membranous structures of mesosomal type (Fig. 1) can appear. Their dimensions in this case are relatively uniform.

The polar division septum can be activated at the flat extremity, in right angles cut, of a bacillus from a diplo group. In this case, the polar division product is also a minicell which does not exhibit the morphological peculiarities of the classical minicell (1, 2) because it is flat, (Figs. 5–7, 11, 14), has a laterally bounding wall, with a maximal length of 0.5–0.6 μm , but is as thick as the parental cell. The sizes of the minicells vary within a widerange. In Figs 4 and 21 the minicells located at the free ends of the cell are spherical, while the adjacent ones are flattened.

Sometimes the polar supernumerary septum is very close to the normal one and these two structures fusion almost totally (Figs. 8–11). The supernumerary septa are most frequently single in a cell, rarely are they double (Figs. 4, 11, 14). Very rarely are the sites of division septa activating in any zone alongside the cell (Fig. 12) and equally unfrequently do they cut up small cytoplasmic fragments (Figs. 14, 15).

Another division mutant is phenotypically expressed by the appearance of unusual filamentous long cells (Figs. 16, 17). These are "opposite sense" mutants with an impaired ability to initiate division septum formation. They are subsequently divided by multiple septa, resulting minicells or normal bacilli.

The third category of mutants are those of sporulation. In 24 hour old cultures, the sporulation is blocked in the second stage, after prespore septum formation by invagination of the cytoplasmic membrane (Figs. 18, 20). The polar septation and the sporulation are incompatible processes. Never is a cell which forms polar septa engaged in sporulation, while a cell being in second stage of sporulation, after prespore septum formation,



Abbreviations: M = mesosome; mc = minicell; sp = prespore septum; spd = polar division septum; sd = division septum.

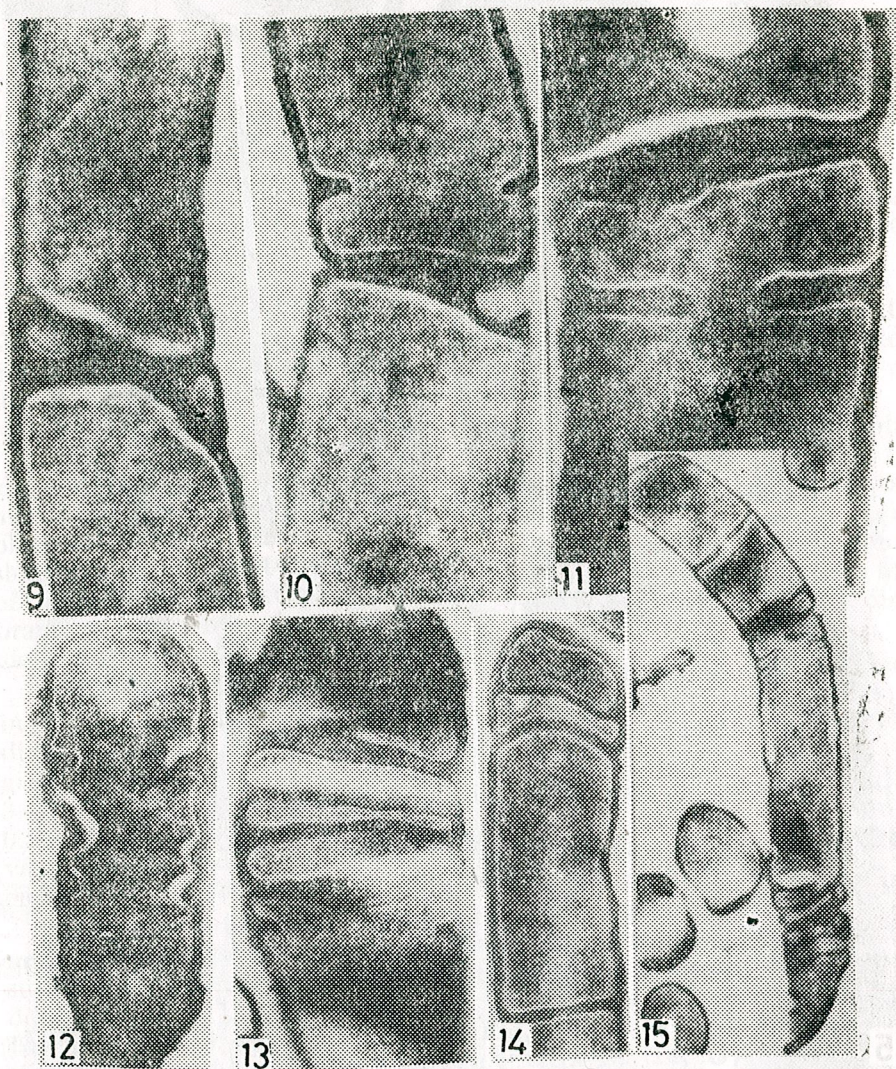
Figs 1–3. — The almost spherical minicells lacking nucleoids, resulting by an atypical division at the free polar extremity of normally lengthened bacilli. The minicell in Fig. 1 contains membranous structure of mesosomal type, $\times 48\,200$, respectively $66\,600$.

Figs 4, 21. — Two successive polar septa. The first (simple arrow) separates a minicell at the free extremity of the bacillus. The second septum separates a minicell with lateral walls (Fig. 21), $\times 44\,100$, respectively $66\,600$.

Fig. 5. — The abnormal bipolar division at the free extremity of the bacillus, a minicell results, while at the opposite end, from the diplogroup, a flattened minicell results, with lateral walls results, $\times 44\,100$.

Fig. 6. — The polar division minicells forming do not interfere with normal divisions. One of the two septa with synchronous evolution is normal, while the other is polar. The arrow indicates the start of a new septum with an abnormal location, $\times 66\,600$.

Figs 7, 8, 14. — Insertion minicells, laterally walled, $\times 104\,000$, respectively $44\,100$.



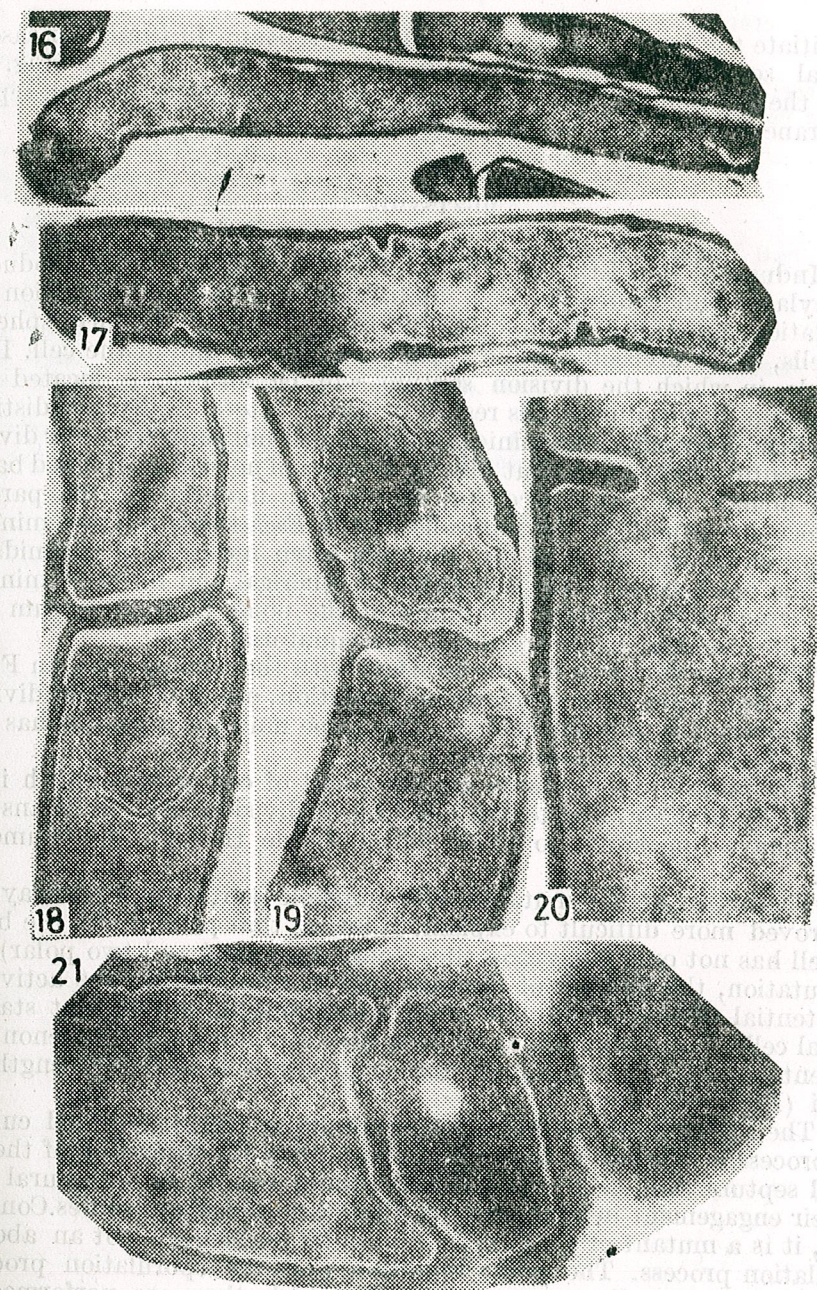
Figs 9, 10. — The normal division septum (double arrows) is fused with the normal septum (simple arrows) due to their situs proximity. The polar divisions separate small cytoplasmic fragments (arrowheads), $\times 66\ 600$.

Fig. 11. — A detail of the image in Fig. 5. The thick intercellular septum resulting from the fusion of a normally located septum (double arrow) with a polar septum (simple arrow). In its thickness the cytoplasmic remnants can be seen (arrowheads), $\times 104\ 400$.

Fig. 12. — The arrow indicates the start of the multiple abnormally located division septa lengthways of a normal bacillus, $\times 44\ 100$.

Fig. 13. — The final stage of abnormal divisions (arrows). The cell is broken up into small cytoplasmic compartments, $\times 66\ 600$.

Figs 15. — 17. — The filamentous mutants. Lengthways of filamentous cells, multiple division septa are starting (arrows), some of them minicells separating, $\times 29\ 000$, $22\ 100$ and respectively $44\ 100$.



Figs. 18, 19. — The presporal septum resulting through invagination of the cytoplasmic membrane is almost completed. The arrows indicate the starting points of a polar division septum. While the polar septum is growing progressively centripetal (Fig. 19), the presporal septum is disorganized in a fine network, $\times 66\ 600$.

Fig. 20. — The presporal septum is fading away (arrows), synchronous with definitization of the polar division septum, $\times 104\ 400$.

can initiate the formation of a polar division septum. In this latter case the resporal septum is disorganized in a membranous network (Fig. 19). While the division septum is growing centripetally, the presporal septum membrane is gradually resorbed, fading away (Fig. 20).

DISCUSSION

Industrial line I.C.A. — 1.65 of *Bacillus subtilis*, highly productive of amylases and proteases, is a double mutant, including division and sporulation processes. Most often division mutants produce spherical minicells, if the division septum appears at the free end of the cell. If the cell pole, in which the division septum will be formed, is located in a diplo-group, flattened minicells result, in which lateral walls are distinguished (Figs. 5—8, 21). The minicells are formed not only by polar division of filamentous cells (5, 6), but also by division of normal lengthened bacilli. In our images, one can notice that the nuclear material of the parental cell does not extend to the minicells, but in *Escherichia coli* the minicells can contain nuclear material (4). Minicells often incorporate plasmids (3).

The mechanism of the formation of spherical and flattened minicells is the same: the untimely activation of the polar division septum site, before its reaching, by cell growth, the equatorial zone.

The polar divisions do not interfere with the normal ones. In Fig. 6, from the two septa with synchronous evolution, one is of normal division, while the other is of polar division. The same multiple septation has been described in *Bacillus cereus* (14).

The filamentous mutants are the result of cell growth which is not followed by division, due to the blocking of division sites. It means that they behave oppositely to those which divide through supernumerary septa.

The origin of the mutants with multiple septation lengthways the cell proved more difficult to explain. It means that potentially, the bacterial cell has not only 3 division sites (one equatorial and two polar), and by mutation, the number of division sites is amplified by the activation of potential division sites which are maintained in a quiescent state in normal cells. The activation of division sites is a natural phenomenon with filamentous cells, but uncommon and surprising with normally lengthened bacilli (Figs. 12, 13).

The sporogenesis mutants are emphasized in 24 hour old culture. The process is blocked in the second stage, after the formation of the presporal septum. The cells which divide polarly exhibit no structural signs of their engagement in sporogenesis. There are no mature spores. Consequently, it is a mutant of sp⁻II type. The polar septation is not an abortive sporulation process. The polar septation and the sporulation processes interfere, but the cell structures through which they are performed are totally distinctive.

REFERENCES

1. H. J. Adler, W. D. Fischer, A. Cohen, A. A. Hardigree, Proc. Nat. Sci. (USA), 57, (2) 321—326, 1967.

2. H. J. Adler, W. D. Fischer, A. A. Hardigree, Trans. New York Acad. Sci., ser. II, 31 (8), 1969.
3. A. F. Cornish, R. Curtis III, Curr. Top. Micr. and Immun. 69: 1—84, 1975.
4. T. J. Hashimoto, S. F. Conti, J. Bact., 98 (1) 298—299, 1969.
5. Pi, Yu, Huang, R. N. Goodman, J. Bact., 102 (3) 862—866, 1970.
6. G. G. Khachatourians, D. J. Clarke, A. A. Hardigree, J. Bact., 116 (1) 226—229, 1973.
7. Gh. Mencinicopschi, 1982, *Tehnologii de obținere și utilizare a unor preparate enzimice microbiene de interes industrial*, Doctoral paper.
8. N. H. Mendelson, R. M. Cole, J. Bact., 112 (2): 994—1003, 1972.
9. N. H. Mendelson, J. Bact., 111 (1) 156—162, 1972.
10. N. H. Mendelson, J. Bact., 111 (1): 298—300, 1972.
11. F. Michel, Janine, J. Appl. Bact., 33: 220—227, 1970.
12. J. N. Reev, N. H. Mendelson, I. Coyne, Sheila, L. L. Hallock, R. M. Cole, J. Bact., 114 (2): 860—873, 1973.
13. J. N. Reev, J. Bact., 119 (2): 560—563, 1974.
14. C. C. Remsen, D. G. Lundgren, J. Bact., 90 (5): 1426—1431, 1965.
15. A. Ryter, H. Ionesco, P. Schaeffer, Compt. Rend., 252 (3675—3677), 1961.
16. A. Ryter, P. Schaeffer, H. Ionesco, Annal. Inst. Past., 110 3): 305—315, 1966.
17. P. Schaeffer, Folia Microbiol., 12 (3) 291—296, 1967.

Received 14 October, 1986

Institute of biological sciences
Bucharest, Splaiul Independenței 296

MUTAGENESIS PROGRAMME TO OBTAIN SOME HIGHLY PRODUCING AMYLASES OF *ASPERGILLUS NIGER*

IOANA GOMOIU

The improvement of wild strains producing extracellular enzymes is a field of great interest owing to its practical implications. The paper presents the investigations carried out with a view to a mutagenesis programme based on some mutagenic agents in two stages:

- stage I (UV irradiation, gamma irradiation, 5 BU treatment, NTG treatment)
- stage II (UV irradiation and NTG treatment).

By this programme of mutagenesis, mutants with amylolytic activities 5.6 — 9.2 times higher than in case of wild strains were recorded. The most efficient mutagenic agents were NTG (in the first stage,) UV irradiations (in the second stage) 5 BU, UV irradiation (in the first stage) and NTG (in the second stage).

Amylases play an important role among compounds useful in practice, potentially produced during the cellular metabolism of microorganisms. The wide application of amylases in the food and textile industry, in medicine and pharmacy determined an intensification of the investigations in this field both in the country and abroad.

To this purpose we carried out a programme for the isolation and selection of active wild strains as well as activities to increase the capacity of biosynthesis by techniques of mutagenesis (12). In this latter case, programmes of mutagenesis are carried out which can be developed in one or several stages, using physical, chemical or mixed mutagenic agents (1, 2, 3, 6, 15).

To obtain highly producing strains of amylases, various mutagenic agents were used, such as: gamma radiations (4) radiation X (11) ethyleneimine (EI) UV radiations (14) nitrosobiuretol (3), UV radiations (7).

The paper presents a programme of mutagenesis to obtain highly producing strains of amylases in comparison with the wild strain.

MATERIAL AND METHODS

In our investigations we used the wild strain of *Aspergillus niger* as well as the variants obtained after the application of mutagenic treatments with physical and chemical agents. The isolation and selection were performed on a selective medium (Czapek with starch) or on a complete medium (10). The cultures were maintained on the natural medium potato-glucose-agar.

The mutagenic treatments were carried out in two stages as follows:

— In the first stage, the spores of *Aspergillus niger* were exposed to UV rays (at 30 cm from sources, for successive periods of 15 min, 30 min, 45 min), gamma radiations (76.000 rem and 82.000 rem) for 3 min 15 sec, and 3 min 30 sec), to 5 bromo-uracil (= 5BU, 0.5 mg/ml and 1.0 mg/ml for 30 min) and to N-methyl-N nitro-N-nitrosoguanidine (NTG in 0.5 mg/ml, 1.0 mg/ml and 1.5 mg/ml for 15 min, 30 min and 45 min);

— In the second stage the spores from variants UV — 30 — 5 and UV — 45 — 10 were exposed to radiations UV (distance from source 30 cm,

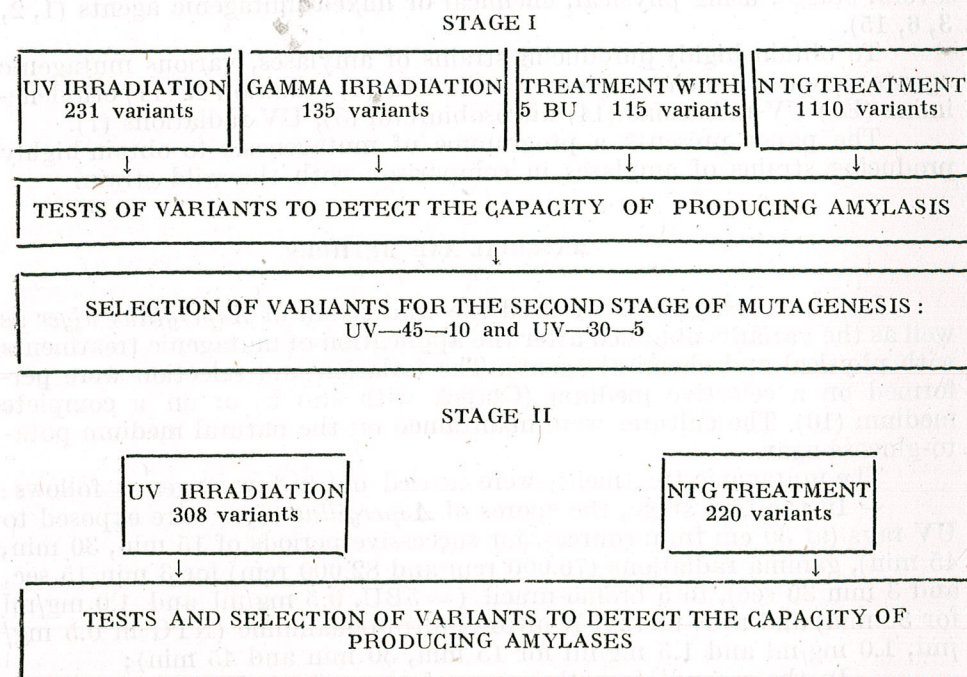
time of exposure 30 and 45 min) to NTG (0.5 mg/ml, 1.0 mg/ml and 1.5 mg/ml for 15 min, 30 min and 45 min).

The amylolytical activities were pointed out by a qualitative method (measurement of area of hydrolysis of starch round colony, after the reaction with iodine (5), semiquantitative (radial diffusion in starch gel and Noble agar at pH of 6.1 (8)) and quantitative (photometrical method = Wohlgemuth based on the determination of amylases activity by the correlations resulted from the reaction iodine-soluble nonhydrolysed starch (9)). The unity Wohlgemuth represents the quantity of amylase contained by 1 ml culture liquid that hydrolyses 1 mg starch in 30 min at 60°C.

RESULTS AND DISCUSSION

According to the procedure in the diagram the strain of *Aspergillus niger* Cv was selected for mutagenic treatment in the first stage of mutagenesis. From the total of 2119 variants isolated after the two stages of mutagenesis (1591 in the first stage and 528 in the second), 314 variants were selected by the qualitative method; out of them 102 were selected by the semiquantitative method and among them 95 by the quantitative one.

MUTAGENESIS METHOD TO OBTAIN STRAINS OF *ASPERGILLUS NIGER* WITH HIGH AMYLOLYTICAL ACTIVITY



The viability of the spores of *Aspergillus niger* Cv after mutagenic treatment with NTG in the first or second stage was considerably reduced

in comparison with the viability of the spores treated with physical and chemical agents or other chemical agents while the irradiation with UV for 15 min was not noxious.

The comparative values of viability resulting after mutagenic treatment with UV rays in the first and second stage demonstrate that in the second stage phenomenon of resistance of spores to this mutagenic agent occurred. This phenomenon is correlated with the presence of melanic pigments in the spores cover. In the second stage as well as after the treatment with NTG the spores viability was considerably reduced (1 — 0.03 %) if we relate it to the same stage with UV rays and to the first stage with the same mutagenic agent (NTG). We consider that in this stage the mutagenic treatment with UV rays applied in the first stage determined a sensitivity of the spores in the mutant strain UV-15-10 to NTG.

The good viability of the spores treated with gamma radiations and 5 BU may be due to the resistance of the spores from the strain *Aspergillus niger* Cv to the quantities and concentrations used above. In case of mutagenic treatment with NTG in the first stage, the viability reduced according to the concentration and time of action, being zero at a concentration of 1.5 mg/ml for 60 min.

By comparing of increase of amylolytical activity in case of wild strain of *Aspergillus niger* Cv (fig. 1) the mutagenic agents can be classified in four categories, according to their efficiency in obtaining some strains with amylolytical activity:

- 1) NTG in concentration of 0.5 mg/ml for 30 minutes in the first stage (induces an activity 9.2 times greater);
- 2) UV radiations in a second stage, at a distance of 30 cm for 45 minutes (induces an activity 8 times greater);
- 3) 5 BU in the first stage, in concentrations of 0.5 mg/ml for 30 minutes (induces an activity 7.8 and 7.6 times greater);
- 4) UV rays acting at a distance of 30 cm for 30 and 45 minutes (determine an increased activity, 5.6 times greater).

The results mentioned according to the data obtained by ESWARAN and NGA (4), for obtaining highly producing strains of amylasis demonstrate that UV rays are efficient in case of strains of *Aspergillus niger*.

The data in literature mention that UV rays have a low efficiency on the black spores of microfungi because of their melanine content. The microscopical observations carried out on the conidia of mutants obtained after the irradiation with UV rays made us notice a lower intensity of conidia colour. We consider that the reduced concentration of melanine from the spore covers induces a high penetrability of UV rays and an improved possibility to act at the level of operon responsible for the amylases synthesis.

Since the mutants manifest a tendency of reversion at low productivity, the UV rays and NTG in a second stage of mutagenesis can be periodically used to maintain their highly producing capacity (13).

The experimental data presented above demonstrate the necessity to individualise the mutagenic treatments in relation to the biological peculiarities of the microfungi.

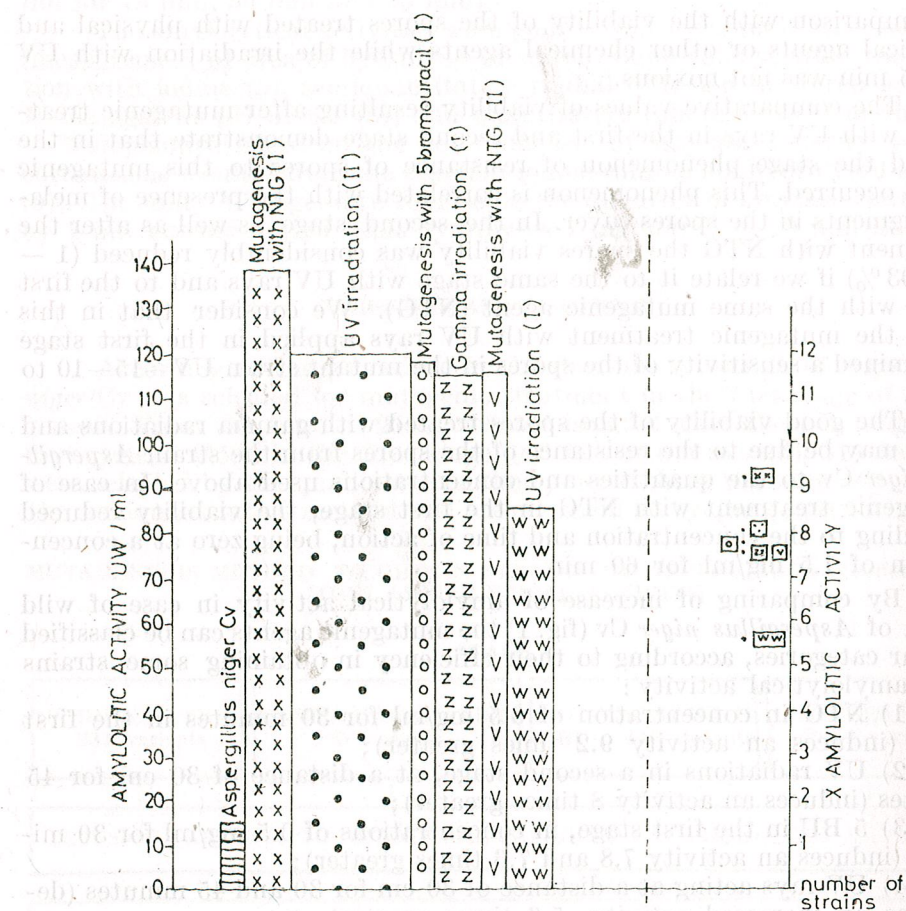


Fig. 1. — Influence of various mutagenic treatments on strains of *Aspergillus niger* Cv with a view to improving amylolytical activities.

CONCLUSIONS

1. For a serious selection of the most active strains producing amylases in a large number of isolated strains or variants obtained after various mutagenic treatments a successive selection is necessary by qualitative, partly quantitative and finally quantitative methods, using starch in the selection medium.
2. The mutagenesis programme suggested by us demonstrates that the most efficient mutagenic agents to obtain the best strains of *Aspergillus niger* producing amylases were NTG (in the first stage in a concentration of 0.5 mg/ml for 30 min) and UV rays (in the second stage acting at 30 cm for 30 and 45 min).
3. The mutagenesis programme may further investigations regarding the highly producing strains of extracellular enzymes or other investigations meant to improve the strains of industrial interest.

REFERENCES

1. Alikhanian S. I. Adv. appl. Microbiology, 1962, 4, 1—50.
2. Alikhanian S. I., *Grundlagen der Genetik und Zuchtung industrial genutzter Mikroorganismen* Jena, G. Fischer, 1972.
3. Barbesgaard P., in *Genetics and Physiology of Aspergillus*, eds. Smith J. E., Pateman, Academic Press, 1977.
4. Eswaran S., Nga B. H., *Experientia*, 33 (3): 401—402, 1977.
5. Hankin L., Anagnostakis S. L., *Mycologia*, 67 (3): 597—607, 1975.
6. Hostalek Z., *Advances in Biochemical Engineering* 3rd ed. Springer-Verlag, New York, 1974.
7. Loginova, O., *Microbiologhia* 49 (2), 1980.
8. Musolan C., Vasu S., St. și cercet. de biochimie, 20 (2): 209—222, 1977.
9. Nuta Gh., Busneag C., *Investigatii biochimice*, Ed. didactică și pedagogică, Bucharest, 1977.
10. Papa K. E., *Mycologia*, 68 (1): 159—165, 1976.
11. Pashev T., Kibarska T., *Izvest. mikrobiol. Inst.*, 5: 171, 1971.
12. Samejima H., *Biochimie*, 62 (5—6): 299—315, 1980.
13. Thoma R. W., *Folia Microbiol.*, 16 (3): 197—204, 1971.
14. Valinger R., Alacevik M., Vitale L., *Rev. Biol.*, 73 (2): 205—219, 1980.
15. Vanek J. et al. *Genetics of industrial microorganisms*. vol. II *Actinomyces and fungi*. Elsevier Publishing Company, 1973.

Received 16 September, 1986

Institute for Biological Sciences
Bucharest, Splaiul Independenței, 296

ENDOGENOUS CYCLE OF NITROGEN IN A BACTERIAL ASSOCIATION FORMING MUCILAGINOUS MASSES

GR. MIHĂESCU and IOANA TRANDABURU

"The ultimate aim of ecology is to understand the relationship of all organisms to their environment" — (Hugate, 1962).

In the cooling water basin of the OE installation, a complex bacterial association forming abundant mucilaginous mass develops. This association includes mainly the methylotrophic bacteria group. They have the capability for atmospheric N_2 fixation, because in the water basin there is no exogenous supply of combined nitrogen. The carbon and energy source is MEG (monoethyleneglycol) primarily, and DEG (diethyleneglycol), having an approx 2% concentration in the water basin. The mucilaginous masses of bacterial origin formed due to an imbalance between the concentrations of carbon and the nitrogen sources. In the cooling water association there are contaminating microorganisms belonging to the other physiological groups, which do not significantly contribute to the formation of mucilaginous masses, do not fix N_2 , but are dependent on the organic nitrogen resulting from the association selflysis. Thus an endogenous cycle of nitrogen is realised, which is responsible for the physiological diversification of the association.

Among the members of the bacterial association, belonging to various groups, nutritional relationships are established. The numerical level of the physiological groups in the association depends on such relationships.

The cooling water basin of ethylene-oxide (OE) installation could be considered an artificial ecosystem resulted by the chemical industry, in which, due to simplicity and uniformity of environmental conditions, a strong selective pressure is exerted.

The bacterial cell, through its large reactive contact surface with the natural medium, exhibits morphophysiological and structural modifications which tend to annul the action of limitative factors (5). Taking into account the above, the bacterial habitat is not the environment per se, but it is a microhabitat, represented by the adjacent surrounding space, chemically modified by the cell, in which the environmental adverse effects are cancelled.

Therefore, in the study of a bacterial association from the natural or artificial environment the, knowledge of the energy flow and relationships between community populations is necessary, because in natural associations there is often a larger number of bacteria than the amount which could be grown in lab. The growth and isolation of bacteria in pure culture simplifies up to cancellation the relationships between the members of a complex bacterial association.

PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS OF THE WATER FROM OE INSTALLATION

The affluent water in the basin of OE installation is demineralized and lacking nitrogen compounds, containing only traces of SiO_2 , P_2O_5 , HCO_3^- , CO_2 . The basin water contains 2% monoethyleneglycol (MEG),

0.2% diethyleneglycol (DEG) and small quantities of triethyleneglycol. The mean pH value is 8.5, by periodical adding of NaOH. The affluent water contains about 12 parts/million (ppm) OE too. As antifoaming agent, 50 ppm oleic alcohol is added. The basin water has seasonal variations (17–18°C in winter and 26–28° in summer).

AIM OF THE PAPER

The occurrence of mucilaginous bacterial masses raises problems in the mill processing of cellulose and paper as well as in the water recycling of cooling installations (4). Abundant mucilaginous masses of bacteria growing on the walls of the cooling water basin of OE installation hamper the water flow in the cooling tower. Taking into consideration the above, we have tried to change the physicochemical parameters of the water in the basin to prevent or diminish the growth of mucilaginous bacterial mass and to make easier the periodical cleaning, which imposes stopping of OE installation.

MUCILAGINOUS MASSES FORMATION

The artificial conditions of the water from the OE installation, having a high level of selectivity, maximally limit the diversity of the bacterial association, at least in the initial stage of its formation. The bacteria forming mucilaginous masses originate in the soil. They adhere to the basin walls and under conditions of good water aeration by recycling and of an excess of organic carbon source, they form mucilaginous masses.

The mucilaginous layer which usually accompanies bacterial adherence (1, 2) has a high adaptive role. It functions as a true protecting micro-environment, which is modified by the bacterial cells which induce in it parameters very close to optimality. The mucilaginous layer is an optimal environment for the degradative extracellular enzymes, which, in this way, are protected from the washing and are concentrated in the micro-environment closest to the cell. This layer represents a microenvironment of biological protection against the bacteriovore protozoa, as well as against toxins and toxic ions of heavy metals. At the same time, it maintains a low concentration of O_2 at the cell level, blocking its diffusion. Adherent bacteria through the mucilaginous layer take nutritive molecules from the recycling water (3, 7).

Due to the lack of combined nitrogen in the cooling water of the installation, the bacterial cells which initiate the formation of the association should be able to fix atmospheric N_2 . The enzyme which catalyses the N_2 fixation (nitrogenase) is sensitive to the O_2 atmospheric pressure, but the presence of the mucilaginous layer creates the conditions of microaerophily, which are optimal for N_2 fixation (6).

The bacteria which initiate this association belong to the physiological group of methylotrophic bacteria, which are potentially nitrogen fixing (8). Afterwards the heterogeneity of the bacterial association grows by multiplication of the cells which are dependent on the organic nitrogen resulting through autolysis of the cells which have initiated the association.

MATERIALS AND METHODS

For the cultivation of bacteria forming mucilaginous masses, we have used a medium which reproduced the chemical conditions of the cooling water basin:

— distilled water — 98 ml

— MEG — 2 ml

— OE — 10 ppm

— pH is adjusted to 8.5, using 5% NaOH solution. The medium is utilised liquid or agarized 2%. The inoculation is performed with bacterial cells in suspension in the cooling water. The incubation temperature: 16–17° C, respectively 28–30°C.

The medium with combined nitrogen: — bacto peptone — 0.5 g
— NH₄NO₃ — 1.0 g
— or respectively — 2.0 g/l

— tap water

— pH — 8.5. Utilization in li-

quid

or 2% agarized form.

The appreciation of the developmental level of bacterial cultures has been performed by the extinction reading (optical density) at a SPEKORD-UV-VIS, after homogeneous dispersion of the culture in the growth medium. The illumination source has a wavelength of 480 nm. The morphology of bacterial cells has been appreciated after usual or Gram coloration, while the motility has been appreciated on fresh preparations of the culture in liquid medium.

RESULTS

The lab cultivation has not reproduced with fidelity the physical conditions from the basin water. The recycling, as well as the continuous inflow of water and of its components has not been modelled in vitro.

Carbon source. MEG in a concentration of about 2% is found in the water; it constitutes the carbon and energy source for the mucilaginous masses forming bacteria, in the cooling water of OE installation. In natural conditions, MEG is not a common source of carbon for the bacteria. The methylotrophic bacteria, utilising methane methanol, CO, metabolize this compound. In the liquid medium with MEG, after an incubation of 28–30 days, at 28–30°C, a mucilaginous bacterial culture, adherent to the recipient walls, develops. Morphologically, a high level of similarity between the bacterial cells of the association from the recycling water of the basin (fig. 1) and those from the mucilaginous mass in vitro is encountered (fig. 2). The differences refer to the numerical proportion of the different morphological types: the natural association of the basin is almost exclusively formed from bacillary cells while in the in vitro association, the bacilli are predominant but the cocci are found in a significant

proportion. All are Gram negative cells, aerobic, asporogenous. In their cytoplasm poly-B-hydroxybutyrate inclusions are accumulated (fig. 3).

The mucilaginous material formed by the bacterial association in MEG liquid medium, in situ or in vitro, is not an organized structure, but rather a mass of gelatinous consistency in which the cells are incorporated. Graph 2 shows the optical density values of mucilaginous bacterial cultures in the presence of different concentrations of MEG.

On agarized MEG medium, after a similar incubation, with periodical adding of liquid medium, for moisture maintaining, a mucilaginous culture is developed, in which bacterial cells are surrounded by an individualised mucilaginous layer. The morphological similarity between the cells in vitro, grown from a basin water inoculum (fig. 4), and those from a soil inoculum (1/1000 dil., fig. 5) is obvious.

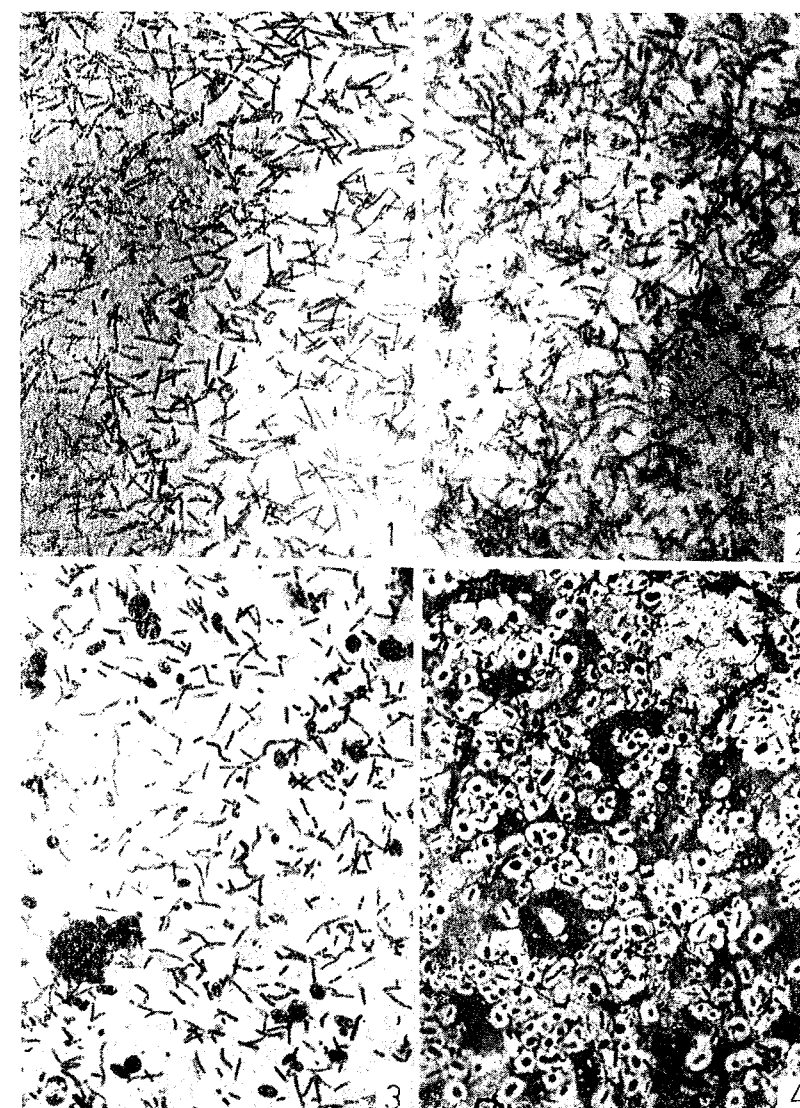
The nitrogen source. The bacteria of the cooling water association grow in the absence of the exogenous combined nitrogen source. As we have already mentioned, the bacteria initiating the basin water association are methylotrophic nitrogen fixing. The growth in a medium with combined nitrogen, as peptonated water, of cells from the basin natural association, reveals the high sensitivity of some cells to the presence of peptone in the growth medium. The cultures luxuriantly grow in 48 hours of incubation at 28–30°C. In liquid peptonized medium the morphological characters of the culture modify. The cell multiplication is not accompanied by mucilaginous mass or organized mucilaginous layer formation.

The optical density values of the cultures related to peptone concentration are given in graph 1. The 3‰ peptone concentration has an optimal effect on the cell density growth. NH_4NO_3 is not an optimal source of nitrogen. The obvious dependence of some members of the bacterial association on the organic nitrogen source suggests that there are bacterial cells, in water basin association other than the methylotropic ones, in a reduced amount which do not significantly contribute to the mucilaginous mass formation, as they depend on the combined organic nitrogen, released by the association autolysis. The images suggesting cell lysis are frequently encountered (fig. 6).

The cultivation on solidified media, supplying organic nitrogen (peptonated water, gelose) for the obtainment of isolated colonies, reveals a high diversity of their pigmentation and morphology. The absence of the pericellular slime layer in the nitrogen organic medium makes difficult a strictly established correspondence between the cells which are mucilage forming on the MEG medium, and those which produce pigmented colonies on the organic nitrogen medium. The transfer of the pigmented colonies, on the MEG medium, liquid or solid, has not initiated a mucilaginous culture growth. This is an argument in favour of the hypothesis that in the association in the basin water, beside the methylotrophic bacteria, there are numerous contaminants depending on the organic nitrogen which are maintained in a latent state.

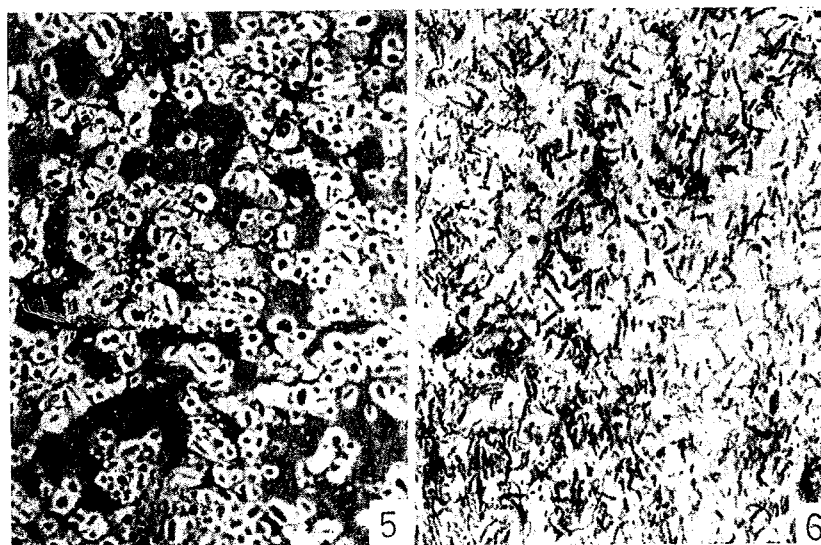
The thermic regime. The mucilaginous mass forming bacteria from the cooling water of the OE installation are mesophilic. The optimal temperature of growth is 28–30°C. Graph 3 illustrates the dependence of the optical density on the incubation temperature.

pH. The bacteria of this association develop optimally at an alkaline pH, with a medium value of 8.5. At $\text{pH} = 5$, the formation of mucilagi-

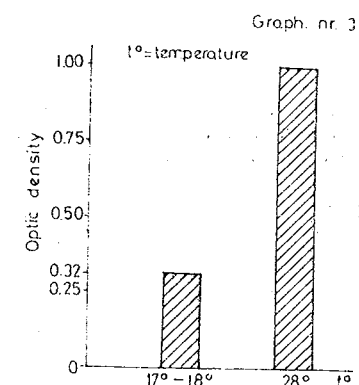
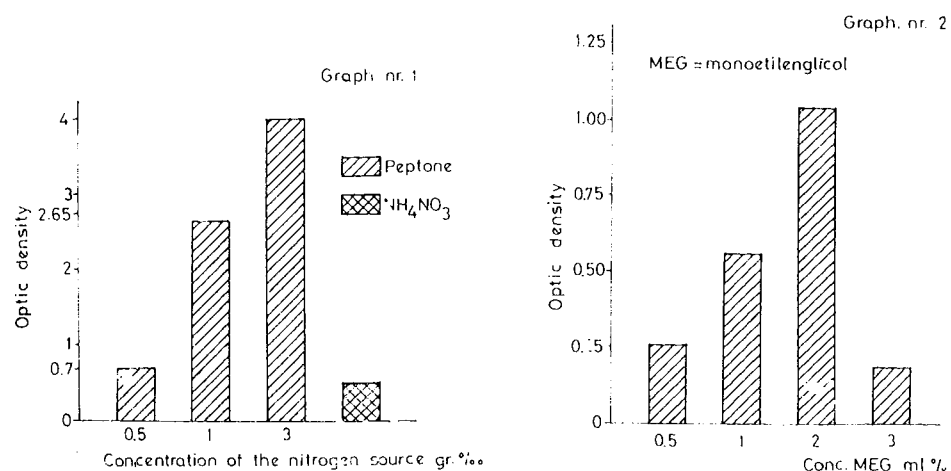


Figs. 1, 3, 6. — Bacilli are largely predominant (fig. 1) in the bacterial association in the cooling water of the OE installation. Poly-B-hydroxybutyrate granules are seen in the cells (fig. 3). Frequently, the cells of the association show signs of obvious lysis (fig. 6.)

Fig. 2. — Image of the bacterial association grown "in vitro", on 2% MEG in distilled water, using basin water suspension bacteria as inoculum. Bacilli of various dimensions are predominant, but cocci are well represented in the association. The mucilaginous material occurring in the liquid medium "in vitro" or in the cooling water basin of the OE installation is an amorphous material, unorganized in pericellular mucous layer.



Figs. 4, 5. — In "vitro" bacterial cultures, grown on agarized medium, with 2% MEG as carbon source, lacking combined nitrogen. The inoculum originates from the basin suspension water (fig. 4) and, respectively, from the soil 1/1000 dil. (fig. 5) The similarity of these two cultures is obvious. The abundant mucilaginous material which accompanies the bacterial culture growth is orderly and well-delimited as a mucous layer, around each bacterial cell.
Optic microscopy images (immersion objective, $\times 90$) of the bacterial cultures smears.



nous pelicle, in vitro, is retarded and the disparity in the rate development (compared to that at pH = 8.5) is obvious for the 35–40 days of incubation, but in long-term incubation (55–60 days) the degree of mucilaginous growth is the same in the two variants.

DISCUSSION

The bacterial association forming mucilaginous masses, is heterogeneous with respect to its physiology. In this association, the members of the methylotrophic group utilising MEG as a carbon and energy source and fixing atmospheric N_2 are predominant. They initiate the formation of the association. In such an association, there is a large spectrum of microorganisms which do not belong to the methylotrophic group, and which do not significantly contribute to mucilaginous mass formation, exhibiting a high degree of dependence on the combined nitrogen. Among them, there are sporulated bacilli, which in natural association utilise organic nitrogen resulting from cell selflysis. Here there is an endogenous nitrogen cycle, which mainly contributes to the physiological diversification of the bacterial association. The adaptive plasticity of the mucilaginous mass bacterial association, illustrated by the continuity of its development at different MEG concentrations and acid pH values, suggests that the modification of the physico-chemical parameters of the water basin leads only to a diminution in the growth rate of the association.

REFERENCES

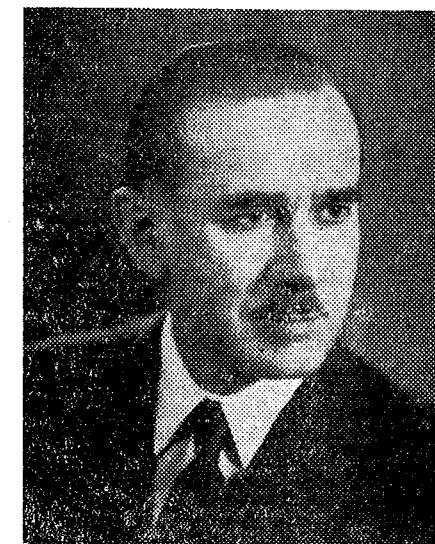
1. Beachey, E., H., *Bacterial adherence*, ser. B, vol. 6, London and New York, 1980.
2. Costerton, J. W., Geesey, G., G., Cheng, K., J., *Sci. Amer.* 238 (1): 86–95, 1978.
3. Lighthart, B., *Can. J. Micr.*, 21 (3): 392–394, 1975.
4. Mc Coy, W., F., Breyers, J., D., *Can. J. Micr.*, 27 (9): 910–916, 1981.
5. Mortimer, P. S., Robins, J., Costerton, W., J., 1981, *Prokaryote diversity*, p. 1–42, in vol. *The prokaryotes*, vol. I, Eds Starr, M. P., Stolp, H., Truper, H., C., Balows, A., Schlegel, H., G., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

6. Quispel, A., 1974, *The Biology of Nitrogen Fixation*, Amsterdam, Oxford, New York, 875 p.
7. Schlegel, H., G., Jannasch, H., W., 1981, *Prokaryotes and their habitats*, p. 43—82, in: *The Prokaryotes*, vol. I, Eds Starr, M. P., Stolp, H., Truper, H., G., Balows, A., Schlegel, H., G., Springer — Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
8. Whittenbury, R., Dalton, H., 1981, *Methylotrophic Bacteria*, p. 894—902, in: *The Prokaryotes*, vol. I, Eds Starr, M., P., Stolp, H., Truper, H., G., Balows, A., Schlegel H., G., Springer — Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Received 19 August, 1986

Institute of biological sciences
Bucharest, Splaiul Independenței 296

LE PROFESSEUR DOCTEUR TRAIAN I. ȘTEFUREAC* (18.IV.1908 — 4.X.1986)



Lorsque le beau temps se mélangeait avec le froid, lorsque les feuilles des arbres étaient leur jaune gardé en secret et les Briophytes commençaient se montrer plus « hardiment » après la sécheresse de cet été, l'homme infatigable qui avait été notre sensible professeur de Systématique des plantes, Traian I. Ștefureac, venait de disparaître soudainement.

Il était né le 18 avril 1908, à Cîmpulung Moldovenesc, dans la région de Suceava, dans une famille de six enfants et ses parents, Ion et Minodora Ștefureac, lui ont donné l'éducation choisie qu'il a gardée toute sa vie, dans toutes les circonstances. Son père, le renommé ethnographe et folkloriste a gravé dans le cœur du jeune Traian la passion pour la beauté, pour la nation, sentiments découverts par tous ceux qui l'ont connu.

Il a fait de brillantes études supérieures à la Faculté de Sciences de Cernautzi, sous la directe instruction des fameux savants M. Gușuleac, E. Botezat, C. Hurmuzachi, F. Netolytzky, P. Ionescu-Bujor, etc. A la fin de ces études, en 1934, il est nommé professeur de lycée mais sa passion irrésistible pour la recherche des Briophytes le mène à l'élaboration de la thèse de doctorat intitulée « Recherches synécologiques et sociologiques sur les Briophytes de la forêt séculaire de Slătioara (Bucovine) », soutenue en 1940 et publiée en 1941.

A partir de 1940, jusqu'à sa disparition, il développe son activité à la Faculté de Biologie de l'Université de Bucarest, la Chaire de Botanique dans l'enceinte du Jardin Botanique. C'est ici qu'il monte tous les degrés de la hiérarchie universitaire en détenant aussi pour une courte période la fonction de Chef de laboratoire à l'Institut des Recherches Biologiques de Bucarest.

C'était un cœur noble, émotif, sincère, respectueux. Dans les moments les plus délicats de ses communications chargées de sensibilité, sa voix s'étranglait souvent et les larmes lui remplissaient les yeux. Il ne passait jamais près d'une connaissance sans ôter son chapeau en signe de bienveillance, de respect, sans lui tendre la main, en ami.

Le professeur T. Ștefureac a été un patriote ardent, un combattant pour son peuple, pour la justice. Son plus grand désir était que la science roumaine progresse et s'affirme sur le plan mondial. C'est pourquoi il ne faisait jamais rien de superficiel, il prenait tout au sérieux, il se comportait en tant que soldat incorporé volontairement dans l'armée des botanistes. Il se documentait, en se procurant lui seul la littérature qui l'intéressait, demandait conseil même de ceux plus jeunes, auxquels il disait toujours « lutez mes frères » !

Son laboratoire était un lieu de travail continu, et le laborieux botaniste était toujours à son poste. Il n'a jamais connu le repos ou la fatigue, ainsi que nombreux de ses collaborateurs ont pu le constater. C'est de cette manière qu'il a compris de dédier son être tout entier à la

* Au sujet de la vie et l'activité du professeur T. I. Ștefureac voir: N. Toma, G. Mohan, Revue Bryol. Lichenol. 36(1—2): 299—303 (1968); Venera Ionescu, I. Cristurean, Revue Roum. Biol. Végét. 28(2): 157—159 (1984); Ocrotirea Naturii 28(2): 136 (1984).

lutte pour la lumière du grand chantier botanique et l'on pourrait dire sans se tromper que, en réalité, le professeur Ștefureac s'est éteint dans son laboratoire et non pas dans son lit de souffrance, à l'hôpital, parce que, sauf les déplacements, c'est seulement les dix derniers jours de sa vie qu'il a quitté sa table de travail. Nous respectons son travail et nous nous inclinons devant ce travailleur.

Sa contribution en tant que pédagogue et homme de science, ainsi que son activité de valorisation du patrimoine national dans le domaine de l'histoire de la botanique font la preuve d'un travail infatigable et ininterrompu.

En tant que professeur il a déployé une activité noble et compétente d'instruction des nombreuses générations d'étudiants, jusqu'en 1973 quand il est passé à la retraite, par le cours général de Systématique des plantes et celui spécial de la phylogénie des plantes. Il a dirigé des thèses de doctorat jusqu'à la fin de sa vie. Ses cours et les sorties sur le terrain avec les étudiants ou les candidats au doctorat en biologie constituaient toujours une occasion de troubles intenses pour notre maître. Sur le terrain, il savait « caresser » comme pas un et « dompter » avec tant d'habileté, les « rétives » et minuscules Briophytes et, curieusement, il y employait une simple loupe, pas plus grande qu'un grain de petit pois devenue proverbiale parce que lui seul savait l'utiliser, lui seul connaissait le point névralgique de chaque plantule.

Le professeur Ștefureac aimait les jeunes passionnés, leur offrait avec générosité des livres de spécialité de sa bibliothèque personnelle, les stimulait et respectait leur travail.

Son œuvre dans le domaine de la botanique et particulièrement dans celui de la briologie est inégalable. Sa passion pour les Briophytes était tellement forte que ces plantules cueillies au bord des tranchées ont été transportées même dans le sac du soldat T. Ștefureac qui avait connu les horreurs de la guerre.

Grâce à sa thèse de doctorat, plus haut mentionnée, T. Ștefureac devient le fondateur de l'écologie et de la cénologie briologique en Roumanie et l'un des plus renommés briologistes européens contemporains.

Il a débuté en 1936 par la flore briologique de la Vallée de Vijnicioara et puis, le long du temps il a étudié les divers genres et espèces de notre pays tout entier : *Buxbaumia aphylla* (1936, 1943, 1947, 1957⁺), *Anastrepta orcadensis* (1942), *Bucegia romanica* (1949, 1976, 1983), *Splachnaceae* (1949, 1955), *Moerckia hibernica* (1951), *Sphagnum* (1958, 1959⁺, 1978, 1985), *Entosthodon hungaricus* (1943), *Plagiobryum* (1946), *Riccia* (1947) *Hookeria lucens*, *Fontinalis antipyretica*, *Meesia longiseta*, *M. triquetra*, *Caloscopium nigratum*, (1948), *Aulacomnium palustre* s. l. (1952), *Cololejeunea rosettiana* (1956⁺), *Helodium blandowii* (1956, 1976—1977⁺), *Schistostega pennata* (1957, 1958), *Octodieras julianum*, *Pohlia*, *Philonotis* (1963), *Sphagnum wulfianum* (1976⁺, 1977), *Frullania jackii* (1954⁺), etc.

La synthèse de ses connaissances briologiques est faite dans la série des *Notes Briologiques* (1985), *Nomenclature des taxa* (1985, 1986), *Conspectus des Briophytes de Dobroudja* (1980⁺), *Moldavie* (1973⁺) et *Bucovine* (1981⁺).

Il fait l'analyse des spécimens anormaux des différents représentants : *Funariaceae* (1944), *Oncophorus virens* (1947), *Sphagnum* (1960) et de différentes autres espèces (1958).

Il étudie la brioflore des différentes régions du pays : Piatra Craiului (1951), le Défilé de l'Olt (1973⁺), la Vallée de la Jijia (1962), les Monts Bucegi (1956, 1963, 1972), le nord de la Dobroudja (1969⁺), Comana (1970⁺), Bucovine (1970⁺), la Vallée du Lotru (1955⁺, 1959⁺), Banat (1947, 1948, 1967⁺, 1968⁺, 1970, 1970⁺, 1972⁺), Slătioara (1941, 1978⁺, 1979), le Jardin Botanique de Bucarest (1961, 1982⁺), Pietrosul Rodnei (1983), l'entrée des grottes (1970, 1985), Slănic Moldova (1972⁺), Bistrița Năsăud (1973⁺), Drăgoiasa (1963⁺), le Bassin de l'Uzul (1982⁺), les Monts de Bodoc (1981⁺) et de tout le pays (1942, 1945).

Il collabore avec des espèces (*Mylia taylora*, 1945) à FRE et détermine les matériaux collectés par d'autres botanistes. Il ne manque aucune nouvelle orientation caryologique dans la taxonomie qu'il pratique à *Polytrichum* (1957), *Oligotrichum* (1962) ainsi que la sporologie (1971, 1971⁺, 1979⁺, 1983⁺, 1985⁺).

L'écologie et la cénologie des Briophytes sont une partie importante de son activité scientifique (1941), de même les synusies (1973) et la valeur des Briophytes en écosystèmes (1978, 1980).

Le dernier temps il a abordé aussi le problème de l'importance des Briophytes dans l'économie de la nature et de l'homme (1974 — 1975, 1976, 1982).

Il n'a négligé ni l'étude de certaines espèces de *Tracheophyta*, rares et intéressantes (du point de vue écologique, historique et économique) : *Cochlearia pyrenaica* (1972, 1973, 1978⁺), *Betula warnstorffii* (1961⁺), d'intéressantes espèces de *Carex* 1962⁺, 1963⁺), *Salix* (1962⁺), *Stipa aristella* (1970⁺), *Arctostaphylos uva-ursi* (1961⁺, 1964⁺), des Angiospermes des Carpates (1968), *Trientalis europaea* (1973), *Orobancha* (1985⁺), *Saxifraga bryoides* (1971⁺). A ce groupe de plantes il a fait l'embryologie pour *Juglans regia* (1982⁺), *Prunus cerasus* (1986⁺) ainsi que la germination de certains grains (1979⁺).

L'étude et la protection des éléments rares et périlés de la flore de notre pays ont traversé son entière activité scientifique et il est probable que pour certains d'entre eux il eût parcouru, chaque été, le nord du pays. Parmi ses créations dans ce domaine, nous rappelons : corologie des endémies (1978⁺), plantes rares (1953), Réserve de Piatra Craiului Mare (1951), plantes rares de la région de Suceava (1967⁺, 1974), *Cobresia*, *Aulacomnium palustre* s. l. (1977, 1986), *Sphagnum wulfianum* (1977), *Arctostaphylos uva-ursi* (1964⁺, 1965), Réserve de Cătureasa (1976⁺), *Cochlearia pyrenaica* (1978⁺). Pour l'éclaircissement de certains problèmes taxonomiques il a collaboré à l'étude caryologique des espèces rares, *Lychnis nivalis* (1985⁺) et *Hieracium pojoritense* (1979⁺).

D'autres préoccupations incluent : des aspects phylogénétiques de la littérature (1973), exsiccata concernant la flore de la Roumanie (1964), la connaissance des macromycètes (1956⁺, 1972⁺) et de certains groupes d'algues *Batrachospermum* (1956⁺, 1957⁺), *Characeae* (1961⁺, 1962⁺, 1963⁺), *Cyanophyceae* (1959), *Stigonemataceae* (1963), *Tolypella intricata* (1961⁺), etc.

Il a collaboré à certains travaux d'intérêt national (*Les pâturages alpins des Monts Bucegi*, 1956; *L'Atlas complexe « Porțile de Fier »*, 1973, et *La Flore de la R. S. de Roumanie*, 1972, 1976) et a publié les livres : *Études briologiques dans certaines formations de végétaux de Roumanie* (1969) et *L'Évolution des plantes reflétée dans de récents travaux de botanique phylogénétique* (1973).

Aucun autre botaniste roumain à l'exception de T. Săvulescu et E. Pop, peut-être, ne s'est penché comme lui avec tant de respect, d'émotion et même de religiosité sur l'activité botanique des précurseurs fameux ou plus modestes. Il a compris leur effort, leurs sacrifices, a apprécié leurs mérites et a mis au jour les résultats qu'il a offerts aux lecteurs. De ce cycle de travaux, il faut mentionner : D. Brandza (1965, 1967, 1984), S. Radian (1958), A. Borza (1967), I. Prodan (1971, 1975), E. Pop (1979), L. Alexandrescu (1980), V. Codoreanu (1980), Margit Drăcinschi (1981), C. Zahariadi (1982), Olga Mălinescu (1983), I. Todor (1983), Constanța Moruzi (1985), M. Gușuleac (1978), A. Alexi (1984), P. Enculescu (1984), A. Paucă (1965).

Tout d'abord comme étudiant, puis en tant que candidat au titre de docteur et collaborateur dans le Comité de rédaction des revues de botanique de l'Académie Roumaine, j'ai eu l'occasion d'admirer son activité jusqu'au moment où la maladie l'a abattu.

J'ai bénéficié toujours de son appui désintéressé, j'ai joui de son respect ainsi que des conseils paternels qu'il n'évitait pas de m'adresser à chaque occasion, d'une manière directe, sans détour mais aussi sans parti-pris.

Parti sur la voie des ténèbres, le professeur T. Ștefureac laisse une impression ineffaçable, une œuvre d'une grande valeur scientifique, de nombreux spécialistes qu'il a formés dans les domaines de la botanique et surtout un groupe de briologistes plus jeunes, dont il était le patriarche, qui continueront ses efforts dans le domaine respectif.

Nous déplorons tous la disparition subite de notre Maître.

G. Dihoru

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.