

COMITETUL DE REDACȚIE

Redactor responsabil :

academician MIHAI BĂGESCU

Redactor responsabil adjuncț :

prof. dr. doc. NICOLAE SIMIONESCU

Membri :

dr. doc. PETRU BĂNĂRESCU; academician NICOLAE BOTNARIUC; academician OLGA NECRASOV; dr. GRI-GORE STRUNGARU; dr. NICOLAE TOMESCU; dr. RADU MEȘTER — *secretar de redacție*.

Prețul unui abonament anual în țară este de 60 de lei.

În țară, abonamentele se primesc la oficiile poștale. Comenzile de abonamente din străinătate se primesc la ROMPRESFILATELIA, sectorul export-import presă, P.O. Box 12—201, telex 10 376 prsfi r, Calea Griviței nr. 64—66, 78104 București, România, sau la reprezentanții săi din străinătate.

Manuscrisele se vor trimite pe adresa Comitetului de redacție — al revistei „Studii și cercetări de biologie, Seria biologie animală”, iar cărțile și revistele pentru schimb, pe adresa Institutului de științe biologice, 79651 București, Splaiul Independenței nr. 296.

EDITURA ACADEMIEI ROMÂNE
Calea Victoriei nr. 125
R—79717 București 22
telefon 50 76 80

ADRESA REDACȚIEI
Calea Victoriei nr. 125
R—79717 București 22
telefon 50 76 80

Studii și cercetări de BIOLOGIE

SERIA BIOLOGIE ANIMALĂ

TOMUL 42, NR. 1

ianuarie 1990

SUMAR

M. C. VOICU, Noi contribuții la cunoașterea unor prădători ai dăunătorilor culturilor agricole din Moldova	3
RODICA GIURGEA, EMESE TAMĂȘ și IOANA DUMITRU, Efectele polidinului asupra capacității imunologice la puul de găină	11
I. MADAR, NINA ȘILDAN și [C. WITTENBERGER], Efectul nifedipinei asupra unor parametri ai metabolismului glucidic în peretele aortei toracice la șobolanii Wistar cu hipertensiune arterială provocată cu DOCA și NaCl	15
VICTORIA-DOINA SANDU și A. D. ABRAHAM, Aspecte histoenzimaticale ale acțiunii PABA, DEAF, procainei, HCl, gerovitalului H ₃ și aslavitalului la nivelul creierului de șobolan	23
D. COPREAN, RODICA GIURGEA, MARIA BORȘA și M. A. RUSU, Efectul tratamentului cu apilarnil și silimacină în intoxicația experimentală cu CCl ₄ a ficatului de șobolan	29
V. TOMA și D. COPREAN, Reacții suprarenale-timice în efortul fizic stressant	35
M. RUSAN, MAGDA CĂLUGĂR, FELICIA BULIMAR, CRISTINA VIȚALARIU, MARINA HUȚU, G. DAVIDESCU și D. CATARGIU, Efectul asolamentului asupra microflorei și microartropodelor edafice	39
M. FALCĂ, LILIANA VASILIU-OROMULU, [VICTORIA CARACAS] și VIORICA HONCIUC, Influența tratamentului cu pitezin asupra faunei din cernoziomul cambic de la ICCPT-Fundulea	49
DORINA MIRANCEA și N. MIRANCEA, Biosinteza collagenului <i>in vivo</i> . Influența substratului de collagen asupra biosintezei collagenului <i>in vitro</i>	57
DIANA DINU, C. TESIO, DANA IORDĂCHESCU, I. F. DUMITRU și D. VIZITIU, Studii biochimice comparative asupra lactat dehidrogenazei de la <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> , <i>Aristichthys nobilis</i> și de la hibridul lor	61
LAURA TEODORESCU, V. ZINEVICI, M. OLTEAN și N. NICOLESCU, Eficiența ecologică a zooplanctonului în zone de golf ale lacului Porțile de Fier I	69

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 42, nr. 1, p. 1 — 72, București, 1990

care atacă ouăle de ortoptere, larvele și adulții de coleoptere și lepidoptere dăunătoare acestora. S-au colectat larve, pupe și adulți de insecte prădătoare și s-au efectuat observații asupra ecologiei acestor prădători. În laborator s-au făcut creșteri de insecte prădătoare și determinarea întregului material colectat.

REZULTATE OBTINUTE

1. *Forficula auricularia* L. Această specie are un regim de hrană mixt: fitofagă — hrănindu-se cu rădăcinile și lăstarii tineri ai plantelor, cu legume și fructe, fiind considerată un dușman principal, în special al grădinilor de legume — și carnivoră, când distruge unii dăunători ai agroecosistemelor.

Adulții au fost surprinși de noi în cursul lunilor iunie — iulie 1987, distrugând indivizi de *Sminthurus viridis* L., din lucernierele din județele Iași și Bacău, și de *Hypogastrura mandibularis* Tulb. din culturile de cartof (C.A.P. Strunga, jud. Iași), tomate și castraveți din județele Iași și Neamț. Într-o plantație de vie a C.A.P. Lungani, jud. Iași, mai mulți adulți de *Forficula auricularia* L. consumau la 10.VI.1986 larvele de generația a doua de *Clysia ambiguella* Hbn., iar la 12.VII.1986 larvele de generația a treia de *Polychrosis botrana* Schiff.

Literatura de specialitate din țară și străinătate arată că este o specie polifagă, hrănindu-se cu lepidoptere și colebole (4), (5), (6).

2. *Pseudophonus (Ophonus) pubescens* Müll. În culturile de sfeclă de zahăr din Moldova și Muntenia, adulții atacă pe *Bothynoderes punctiventris* Germ. La data de 22.VI.1986 în culturile de mazăre și lucernă de la C.A.P. Bălțați, jud. Iași, am semnalat adulți de *Pseudophonus pubescens* Müll. care distrugeau adulți de *Sitona lineatus* L., *Sitona crinitus* Hbst. și *Phytonomus variabilis* Hbst.

Literatura de specialitate arată că acest prădător distruge speciile: *Bothynoderes punctiventris* Germ., *Sitona crinitus* Hbst., *Sitona lineatus* L. (Col.: Curculionidae) și coccinelidul *Cryptolaemus monstrouzeri* Muls. (4).

3. *Harpalus distinguendus* Duft. Speciile genului *Harpalus* sînt, în general, dăunători ai agroecosistemelor, larvele și adulții lor hrănindu-se cu rădăcinile și semințele plantelor. Totuși, într-o anumită perioadă a vieții lor, unele specii de harpaline își schimbă regimul de hrană, adică din fitofage devin zoofage, hrănindu-se pe seama multor larve de coleoptere și diptere care se transformă în pupe în sol. Regimul mixt de viață al acestei specii este asemănător cu al dermapterului *Forficula auricularia* F.

În a doua jumătate a lunii aprilie și începutul lunii mai 1987, în zilele cu dimineți însorite și liniștite, adulții de *Harpalus distinguendus* Duft. prindeau, în momentul cînd se lăsau pe sol, adulți de tentredinide care zburau greoi la 1 m deasupra ogoarelor de toamnă încălzite (C.A.P. Podu-Iloaiei, jud. Iași). Această specie am găsit-o și în culturile de sfeclă de zahăr și furajeră ale C.A.P. Vinători, jud. Iași, atacînd pe *Bothynoderes punctiventris* Germ., în lucerniere pe *Sitona lineata* L., *Phytonomus varia-*

bilis Hrbst. și accidental pe *Tychius flavus* Beck. În cercetările asupra entomofaunei culturilor de muștar alb (*Sinapis alba* L.) din Moldova am surprins un adult al acestei specii, distrugînd o larvă de noctuid.

Cîndea menționează specia *Harpalus aeneus* F. (1) în culturile de tomate, ardei și vinete, în toată perioada de vegetație, unde terenul era infestat cu *Gryllotalpa gryllotalpa* Latr. și viermi sîrmă (*Agriotes*), iar Thompson și Simonds pe *Harpalus distinguendus* Duft. distrugînd pe *Bothynoderes punctiventris* Germ. (4).

4. *Cantharis rustica* Fall. Primăvara devreme, numeroși adulți de *Cantharis rustica* Fall. se găsesc mai întîi în lucerniere, unde se hrănesc cu ouă de ortoptere și cu *Acyrtosiphon pisum* Harr. Imediat după cosirea lucernierelor, *Cantharis rustica* Fall. migrează în culturile de orz atacate de dăunători. În perioada coacerii orzului, timp în care lucernierele au crescut, o parte din indivizii prădătorului revin în lucernierele infestate de afide și tripsi, alții migrează în culturile de grîu, iar alții rămîn în continuare în cele de orz. În culturile de cereale, prădătorul, la început, distruge ouă de ortoptere și lepidoptere din culturile de orz, precum și pe *Schizaphis graminum* Rond. și *Sitobion avenae* F. cu care se hrănesc. O mare parte din adulții de *Cantharis rustica* Fall. din culturile de grîu atacă și distrug ouăle și larvele de *Hadena basilinea* Schiff., dar mai ales coloniile de *Schizaphis graminum* Rond. Pe măsură ce lanurile de orz se maturează, devenind galben-aurii, ultimii indivizi ai zoofagului părăsesc orzul și se instalează pe grîu. Observațiile au fost făcute în lunile mai — iulie ale anilor 1986—1988 în culturile de orz și grîu de la C.A.P.: Podu-Iloaiei, Vinători, Popricani și Dumești, jud. Iași.

Cîndea arată că prădătorul se hrănește cu ouă de *Orthoptera* (1), iar după Thompson și Simonds cu *Porthetria dispar* L. (4).

5. *Cantharis* sp. Numeroși adulți i-am întîlnit de la începutul primăverii și pînă la sfîrșitul verii în culturile de lucernă, orz, ovăz, grîu și mai ales în cele de floarea-soarelui din Moldova, care erau atacate de dăunători și în mod special de afide.

6. *Malachius viridis* F. Numeroși adulți ai acestei specii au fost observați, între 15 și 23 iunie 1988, distrugînd indivizi de *Schizaphis graminum* Rond., dar în special adulți și larve de *Limothrips denticornis* Hall. de pe orz și de *Haplothrips tritici* Kurdj. de pe orz și grîu. Zoofagul se întîlnește la început în culturile de orz infestate puternic de tizantoptere, ulterior trece în cele de grîu, atacate în mod deosebit de *Haplothrips tritici* Kurdj. dar și de afide. El participă la reducerea populațiilor de tripsi în compania altor specii de malachiide (*Malachius aeneus* L., *Malachius rubidus* Er. (?) și *Anthocoridae* (*Orius minutus* L. și *Orius niger* Wolf.).

Literatura de specialitate consemnează că acest prădător distruge pe *Haplothrips tritici* Kurdj. (7) și *Orchesia micans* Panz. (Col.: Melandryidae) (4).

7. *Malachius rubidus* Er. (?). Numeroase exemplare adulte de *Malachius rubidus* Er. (?) și unele izolate de *Malachius aeneus* L. au fost observate la 21 și 28.V., și la 15, 18 și 22.VI.1988 pe spicele de orz dintr-o cultură din cîmpul Laboratorului de protecția plantelor de la S.C.A. Podu-

Iloaiei, jud. Iași. Stă agățată de ariste și sprijinită de spice și prinde cu repeziune tripsii cerealelor (*Haplothrips tritici* Kurdj., *Limothrips denticornis* Hall. etc), iar accidental atacă larvele de *Hadena basilinea* Schiff.

8. *Coccidula scutellata* Herbst. Un adult a fost găsit de noi la 28.VI.1987 într-o colonie de *Schizaphis graminum* Rond. dintr-un lan de grâu al S.C.A. Podu-Iloaiei, jud. Iași. Este o specie foarte rară în agroecosistemele din România. Ca urmare a acestor observații presupunem că această specie se poate hrăni uneori și cu afide (fig. 1).

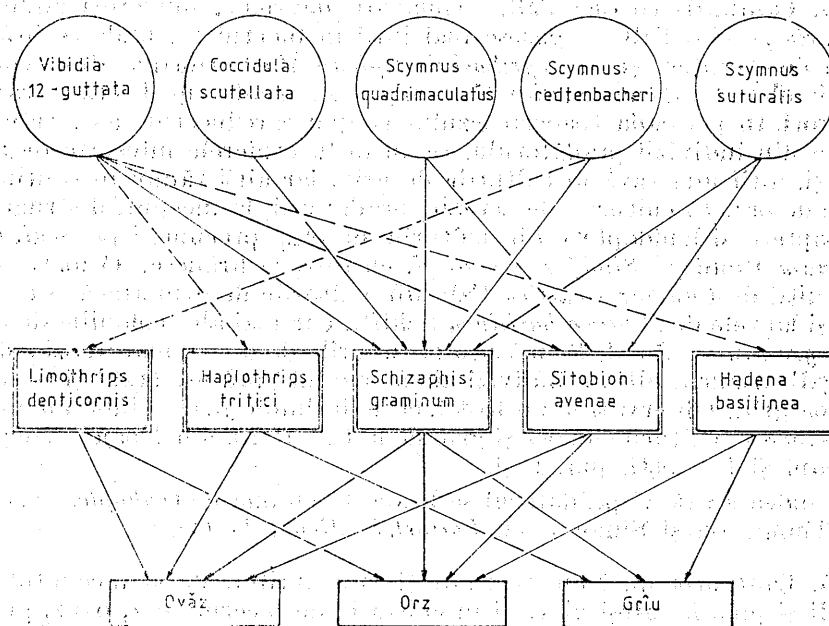


Fig. 1. — Relațiile trofice stabilite între coccinelidele prădătoare ale dăunătorilor cerealelor din Moldova

—→ prădător găsit consumind prada
- - - -> prădător găsit în apropierea dăunătorului

Baldus (1935) și Sasaji (1971) (citați de Hodeck (2)) arată că aproape toate speciile tribului *Coccidulini* (*Rhizobini*) se hrănesc cu coccide. Thompson și Simonds menționează că, *Coccidula scutellata* Herbst. distruge coccide și o specie de acarieni (4).

9. *Scymnus redtenbacheri* Muls. Un adult a fost colectat la 1.VI.1988 dintr-o colonie de *Schizaphis graminum* Rond. de pe un spic de orz Miraj de la C.A.P. Popricani, jud. Iași. Pe acest spic se aflau, în acel moment, și larve de *Limothrips denticornis* Hall., ceea ce ne face să presupunem că acest prădător poate consuma și acest dăunător.

10. *Scymnus suturalis* Thunb. (?). Un adult al acestei specii l-am găsit la 25.V.1987, iar doi adulți la 1.VI.1988 în colonii de *Schizaphis graminum* Rond. din culturile de grâu și orz, și de *Sitobion avenae* F. de pe orz ale I.A.S. Tîrgu-Frumos, jud. Iași.

În literatura de specialitate, *Scymnus suturalis* Lec. este menționat ca distrugând numai speciile: *Anuraphis amygdalii* Buckt. și *Hylopterus pruni* Geoffr. (4).

11. *Scymnus quadrimaculatus* Hrbst. Exemplare izolate ale acestui prădător le-am găsit în cursul lunilor mai — iunie 1987 și 1988 în coloniile de *Sitobion avenae* F. de pe orz și în cele de *Schizaphis graminum* Rond. de pe orz și grâu de la C.A.P. Popești și S.C.A. Podu-Iloaiei, jud. Iași.

A fost semnalat în Germania că distruge coccidul *Phenacoccus hystrix* Baer. (4).

12. *Vibidia 12-guttata* Poda. Un adult al acestei specii a fost colectat de noi la 1.VII.1983 dintr-o colonie de *Schizaphis graminum* Rond., de pe un spic de grâu pe care se găseau și ouă de *Hadena basilinea* Schiff., iar altul dintr-o colonie de *Sitobion avenae* F. de pe ovăz infestat și cu larve de *Haplothrips tritici* Kurdj. din culturile de la C.A.P. Podu-Iloaiei, jud. Iași.

Nu se cunosc gazdele pe care le atacă (4).

Insectele prădătoare prezentate în lucrare atacă 19 specii de dăunători care se dezvoltă pe 12 specii de plante de cultură din Moldova (tabelul nr. 1).

Tabelul nr. 1

Specii de insecte dăunătoare plantelor cultivate și prădătorii lor

Cultura	Dăunătorii	Prădătorii
1	2	3

I. CEREALE PĂIOASE

1. Grâu	— <i>Haplothrips tritici</i> Kurdj. — <i>Schizaphis graminum</i> Rond. — <i>Hadena basilinea</i> Schiff.	— <i>Malachius viridis</i> F. — <i>Cantharis rustica</i> Fall. — <i>Coccidula scutellata</i> Hrbst. — <i>Scymnus suturalis</i> Thunb. — <i>Scymnus quadrimaculatus</i> Hrbst. — <i>Vibidia 12-guttata</i> Poda — <i>Cantharis rustica</i> Fall. — <i>Vibidia 12-guttata</i> Poda
2. Orz	— Ouă de <i>Orthoptera</i> — <i>Limothrips denticornis</i> Hall. — <i>Haplothrips tritici</i> Kurdj. — <i>Schizaphis graminum</i> Rond. — <i>Sitobion avenae</i> F. — <i>Hadena basilinea</i> Schiff.	— <i>Cantharis rustica</i> Fall. — <i>Malachius viridis</i> F. — <i>Malachius rubidus</i> Er. (?) — <i>Malachius viridis</i> F. — <i>Malachius rubidus</i> Er. (?) — <i>Cantharis rustica</i> Fall. — <i>Malachius viridis</i> F. — <i>Scymnus suturalis</i> Thunb. — <i>Scymnus quadrimaculatus</i> Hrbst. — <i>Scymnus redtenbacheri</i> Muls. — <i>Cantharis rustica</i> Fall. — <i>Scymnus suturalis</i> Thunb. — <i>Scymnus quadrimaculatus</i> Hrbst. — <i>Cantharis rustica</i> Fall. — <i>Malachius rubidus</i> Er. (?) — <i>Vibidia 12-guttata</i> Poda
3. Ovăz	— <i>Sitobion avenae</i> F.	— <i>Vibidia 12-guttata</i> Poda

Tabloul nr. 1 (continuare)

1	2	3
II. LEGUMINOASE		
4. Mazăre	— <i>Sitona lineatus</i> L. — <i>Sitona crinitus</i> Hrbst. — <i>Phytonomus variabilis</i> Hrbst.	— <i>Pseudophonus pubescens</i> Müll. — <i>Pseudophonus pubescens</i> Müll. — <i>Pseudophonus pubescens</i> Müll.
5. Lucernă	— <i>Sminthurus viridis</i> L. — Ouă de Orthoptera — <i>Acyrtosiphon pisum</i> Harr. — <i>Sitona lineatus</i> L. — <i>Sitona crinitus</i> Hrbst. — <i>Phytonomus variabilis</i> Hrbst. — <i>Tychius flavus</i> Beck.	— <i>Forficula auricularia</i> L. — <i>Cantharis rustica</i> Fall. — <i>Cantharis rustica</i> Fall. — <i>Pseudophonus pubescens</i> Müll. — <i>Harpalus distinguendus</i> Duft. — <i>Pseudophonus pubescens</i> Müll. — <i>Pseudophonus pubescens</i> Müll. — <i>Harpalus distinguendus</i> Duft. — <i>Harpalus distinguendus</i> Duft.
III. PLANTE TEHNICE		
6. Cartof	— <i>Hypogastrura mandibularis</i> Tulb.	— <i>Forficula auricularia</i> L.
7. Floarea soarelui	— Afide	— <i>Cantharis</i> sp.
8. Muștar	— Larve de Noctuidae	— <i>Harpalus distinguendus</i> Duft.
9. Sfeclă de zahăr	— <i>Bothynoderes punctiventris</i> Germ.	— <i>Pseudophonus pubescens</i> Müll. — <i>Harpalus distinguendus</i> Duft.
10. Sfeclă furajeră	— <i>Bothynoderes punctiventris</i> Germ.	— <i>Harpalus distinguendus</i> Duft.
IV. LEGUME		
11. Tomate	— <i>Hypogastrura mandibularis</i> Tulb.	— <i>Forficula auricularia</i> L.
12. Castraveți	— <i>Hypogastrura mandibularis</i> Tulb.	— <i>Forficula auricularia</i> L.
V. VITICULTURĂ		
13. Vie	— <i>Clysis ambiguella</i> Hb. — <i>Polychrosis lotrana</i> Schiff.	— <i>Forficula auricularia</i> L. — <i>Forficula auricularia</i> L.
VI. OGOR		
14. Ogor de toamnă	— Tenthredinidae	— <i>Harpalus distinguendus</i> Duft.

CONCLUZII

1. În lucrare sînt prezentate 11 specii de insecte prădătoare din familiile : *Forficulidae*, *Carabidae*, *Cantharidae*, *Malachiidae* și *Coccinellidae*, care distrug populațiile de insecte dăunătoare cerealelor păioase, leguminoaselor, plantelor tehnice, legumelor și viței de vie.

2. *Forficula auricularia* L., *Cantharis rustica* Fall., *Malachius viridis* F., *Malachius rubidus* Er. (?), *Harpalus distinguendus* Duft. și *Pseudophonus pubescens* Mull. sînt cele mai frecvente specii de prădători în-

tîlnite în majoritatea culturilor în toată perioada de vegetație, în timp ce *Coccidula scutellata* Hrbst., *Vibidia 12-guttata* Poda, *Scymnus quadrimaculatus* Hrbst., *Sc. redtenbacheri* Muls. și *Sc. suturalis* Thunb. (?) apar sporadic în aceste culturi.

3. Semnalăm cu această ocazie, pentru prima dată, că specia *Coccidula scutellata* Hrbst. consumă afide dăunătoare culturilor de grâu și orz. Pînă în prezent această specie era cunoscută ca prădător numai al coccidelor.

4. *Malachius viridis* Hrbst. și *Malachius rubidus* Er. (?) (Col. : *Malachiidae*) au fost găsite în culturile de cereale păioase hrănindu-se în primul rînd cu tripsi și apoi cu afide.

Insectele prădătoare contribuie an de an la reducerea pierderilor provocate de dăunători culturilor agricole.

BIBLIOGRAFIE

1. CÎNDEA E., *Combaterea nechimică a dăunătorilor la legume*, Edit. Ceres, București, 1986, p. 1—291.
2. HODEK IVO, *Biology of Coccinellidae with keys for identification of larvae by co-authors*, Academy of Sciences, Praga, 1973, p. 1—260.
3. REITTER E., *Fauna Germanica. Die Käfer des Deutschen Reiches*, vol. III, Verlag, Stuttgart, 1911.
4. THOMPSON W. R., SIMONDS F. J., *A Catalogue of the parasites and predators of insects pests, Section 4, Host predator Catalogue*, Commonwealth Institute of Biological Control, Ottawa, 1965.
5. VOICU C. M., *Principalele insecte dăunătoare fructelor din rezervațiile naturale Ponoar și Frumoasa, jud. Suceava și dușmanii lor naturali*, Teză de doctorat, Univ. „Al. I. Cuza”, Iași, 1982, p. 1—200.
6. VOICU C. M., SERAFIM RODICA, *St. cerc. biol., Seria biol. anim., 40, (2): 80—89* 1988.
7. * * * *Annual Index*, in : *Review of applied entomology*, Seria A. Agr., Commonwealth Institute of Entomology, London, 1975, vol. 63, p. 1849.

Primit în redacție
la 15 martie 1989

Laboratorul de protecția plantelor,
Stațiunea de cercetări agricole
Podu-Iloaiei, jud. Iași

EFECTELE POLIDINULUI ASUPRA CAPACITĂȚII IMUNOLOGICE LA PUIUL DE GĂINĂ

RODICA GIURGEA, EMESE TAMĂȘ și IOANA DUMITRU

Administration of Polidin in 15 weeks old Cornish-Rock chickens induces a stimulation of immunobiological processes, expressed through the blood antibody titre. The increased antibody synthesis is paralleled by an increase in blood total protein and gammaglobulin contents.

Numeroase cercetări urmăresc efectele polidinului asupra organismului mamiferelor, sub diferite aspecte. Astfel, a fost evidențiat efectul acestui produs asupra procesului de constituire a metastazelor, în cazul unor tumori experimentale (1), (2), faptul că produce o creștere a numărului de celule polinucleare în singele periferic (8) și că are capacitatea de a atenua modificările distructive din timus și din organele implicate în mecanismele imunitare (3), (4). A fost constatat, de asemenea, că acest produs polimicrobian mărește capacitatea de migrare a celulelor splenice după iradiere (5). Polidinul este considerat că având o acțiune nespecifică asupra răspunsului imun (9), fiind un adjuvant imunologic (11), prin acțiunea sa asupra macrofagelor peritoneale pe care le activează (10).

Pornind de la aceste date, cât și de la cercetări anterioare ale noastre (6), în această lucrare am urmărit efectele pe care polidinul le are asupra reacțiilor imunologice la pui de găină.

MATERIAL ȘI METODE

Experiențele au fost efectuate pe pui de găină Cornish-Rock, în vîrstă de 15 săptămîni. Animalele au fost grupate în două loturi, a cîte 8 indivizi fiecare : un lot martor și un lot tratat. Puii au fost crescuți în condiții zooigienice corespunzătoare, hrana și apa fiind administrate *ad libitum*. Administrarea de polidin (preparat polimicrobian, produs al Institutului Cantacuzino, București) s-a făcut în trei zile consecutiv, în doză zilnică de 1 ml/animal. În ziua a 4-a a fost injectat antigenul *Escherichia coli* (este vorba de serotipul 08, obținut într-o cultură în bulion de 24 de ore, la 37° C). Concentrația antigenului a fost de 1 miliard de germeni pe cm³. Atît antigenul, cît și polidinul s-au administrat în mușchiul coapsei. Doza de antigen a fost de 0,5 ml/animal. Puii aparținînd lotului martor au fost injectați cu același antigen și în aceeași doză ca și lotul tratat. Recoltarea singelui s-a făcut din vena axilară la 7, 14, 21 și 28 de zile de la administrarea antigenului, după o inaniție prealabilă de 16 ore.

Din serul sanguin s-au dozat : anticorpii, prin reacția de aglutinare lentă (RAL), proteinele totale (7), conținutul de gamaglobuline (7), (12) și albuminele (7), (12).

Rezultatele obținute au fost prelucrate statistic prin testul „t” al lui Student. Valorile aberante au fost eliminate după criteriul Chauvenet. A fost calculată și diferența procentuală față de lotul martor.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Dinamica anticorpilor este diferită la lotul tratat, comparativ cu lotul martor (fig. 1). Se constată că titrul de anticorpi crește mai rapid după administrarea polidinelui, la 14 zile de la administrarea antigenului acesta fiind de 1/80, în timp ce la lotul martor, titrul de anticorpi maxim este atins la 21 de zile de la administrarea antigenului și este de 1/91. La ambele loturi, după aceste maxime, titrul de anticorpi scade până în a 28-a zi. Proteinele totale înregistrează o creștere în ziua a 7-a de la administrarea antigenului, căreia la 21 și la 28 de zile îi urmează scăderi semnificative. În privința conținutului de gamaglobuline, datele noastre evidențiază că acestea cresc semnificativ în a 14-a zi de la administrarea antigenului *E. coli*, creștere care corespunde titrului maxim de anticorpi. În ziua a 21-a se înregistrează o scădere semnificativă a acestui parametru sanguin, urmată, în ziua a 28-a, de o creștere semnificativă. Albuminele

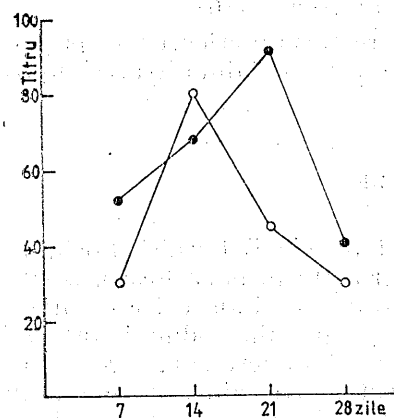


Fig. 1. — Dinamica titrului de anticorpi la puii de găină tratați cu polidin și injectați cu antigenul *E. coli*.

Lotul martor = linia continuă cu cerculețul plin;

Lotul tratat = linia continuă cu cerculețul alb.

În concluzie, polidinelul grăbește formarea anticorpilor în organismul aviar, titrul maxim de anticorpi fiind însoțit de o creștere a conținutului de gamaglobuline.

sanguine, scăzute pe tot parcursul perioadei de observație, sînt scăzute semnificativ, comparativ cu lotul martor, numai la 21 de zile (tabelul nr. 1).

Din aceste date reiese că polidinelul activează funcțiile sistemului reticulohistocitar, prin proprietățile lui imunostimulatoare nespecifice (1), (2). Cercetări anterioare ale noastre (6) au evidențiat că acest preparat polimicrobian are efect stimulator asupra timusului, organ limfatic implicat în imunitatea celulară. Datele noastre vin în completarea celor existente în literatura de specialitate privitoare la efectele polidinelului asupra organismului animal. Aceste date evidențiază că efectele stimulatorie ale polidinelului asupra reacțiilor imunobiologice se înregistrează nu numai la mamifere, ci și la păsări și că, probabil, mecanismele de acționare sînt asemănătoare.

Tabelul nr. 1

Conținutul de proteine totale (PT), gamaglobuline (GG) și albumine (Al.) din serul sanguin al puiilor tratați cu polidin (T) și martor (M)

Recoltări (zile)	7		14		21		28	
	M	T	M	T	M	T	M	T
PT (mg/g)	$\bar{x}$ 52,6 $\pm$ ES 3,0 D % — p —	61,2 3,3 +16,15 <0,05	56,4 4,8 —	57,2 3,6 +1,43 NS	74,2 7,0 —	50,1 4,9 -32,43 <0,02	58,2 9,3 —	33,5 4,9 -42,40 <0,02
GG (mg/g)	20,0 2,9 —	16,8 1,6 -15,8 NS	19,0 1,3 —	36,1 5,8 +89,9 <0,02	19,3 1,6 —	15,4 0,5 -20,3 <0,02	15,4 1,5 —	19,5 1,4 +23,6 <0,02
Al. (mg/g)	3,5 0,9 —	2,5 0,6 -27,0 NS	9,7 1,9 —	7,6 1,0 -20,6 NS	5,0 1,0 —	2,3 0,7 -53,8 <0,05	5,3 0,6 —	4,7 0,4 -10,7 NS

Notă. $\bar{x}$ = media lotului; $\pm$ ES = eroarea standard; D % = diferența procentuală față de martor; p = semnificația statistică; NS = valori ne semnificative. Alte explicații în text.

BIBLIOGRAFIE

- CHIRICUȚĂ I., TODORUȚIU C., MUREȘAN T., RIȘCA R., *Cancer*, 31 : 1392—1396, 1973.
- CHIRICUȚĂ I., *Cancerul. Chimioterapie, documentare, îndrumare, metodologie*. nr. 3, Inst. Oncologic, Cluj-Napoca, p. 74—79, 1978.
- CHIRICUȚĂ I., TODORUȚIU C., RIȘCA R., *Physiol. Chem. Physic.*, 10 : 243—253, 1978.
- CHIRICUȚĂ I., FRENKEL L., URAY Z., SIMU G., *Agressologie*, 22 : 105—108, 1981.
- GRIVII S. M., URAY Z., CHIRICUȚĂ I., *Rev. Roum. Biol., Biol. Anim.*, 28 : 43—48, 1983.
- GIURGEA R., COPREAN D., *St. cerc. biol., seria biol. anim.*, 37 : 121—123, 1985.
- GORNALL A. G., BARDWILL G. J., DAVID M. M., *J. Biol. Chem.*, 78 : 751—766, 1949.
- IONESCU V., SEROPIAN E., ANDONE C., FILIP V., *Prevenirea infecțiilor căilor respiratorii prin influențarea răspunsului imun cu produse microbiene*. Simpozion, Piatra-Neamț, 1978, p. 14—20.
- PENCEA I., HOISE S., POPESCU C., *Influențarea nespecifică a răspunsului imun*. ASM Inst. „Dr. I. Cantacuzino”, p. 27—47, 1977.
- TODORUȚIU C., MULEA R., DAICOVICIU D., RIȘCA R., *Rev. Roum. Morphol. Embryol.*, 28 : 265—269, 1981.
- TODORUȚIU C., RIȘCA R., DAICOVICIU D., MULEA R., *Rev. Roum. Morphol. Embryol., Physiol. Morphol. Embryol.*, 29 : 77—83, 1982.
- WOLFSON W. Q., COHN C., CALVARY E., ICHIBA F., *Amer. J. Clin. Pathol.*, 18 : 723—725, 1948.

Primit în redacție
la 3 noiembrie 1989

Centrul de cercetări biologice
Cluj-Napoca, str. Clinicilor nr. 5—7

EFFECTUL NIFEDIPINEI ASUPRA UNOR PARAMETRI AI METABOLISMULUI GLUCIDIC ÎN PERETELE AORTEI TORACICE LA ȘOBOLANII WISTAR CU HIPERTENSIUNE ARTERIALĂ PROVOCATĂ CU DOCA ȘI NaCl

I. MADAR, NINA ȘILDAN și C. WITTENBERGER

The initial and the postincubation aortic glycogen contents as well as the in vitro glucose uptake and the rate of glucose incorporation into the glycogen of isolated thoracic aorta wall were determined in male Wistar rats under normal conditions, under DOCA-salt-induced hypertension and under the influence of small or large doses of nifedipine, administered on the background of DOCA-Salt evoked arterial hypertension. It is concluded that during DOCA-NaCl induced hypertensive state in the enhanced aortic glycogen and glucose utilisation the Ca^{2+} -mediated influences are appreciably involved.

Este bine precizat faptul că la șobolanul alb excesul de mineralocorticoid și de NaCl induce hipertensiune arterială (20), (24), (25), (26), iar hipertensiunea sistemică afectează apreciabil metabolizarea glucozei și a glicogenului în peretele aortei toracice de șobolan (6), (14), (16), (22), (28). Pe de altă parte, se cunoaște că antagoniștii de calciu, prin blocarea influxului de Ca^{2+} în miocite, reduc tonusul vascular, producând astfel vasodilatație, cu reducerea hipertensiunii, îmbunătățirea circulației; creșterea aportului de oxigen și reducerea energogenezei vasculare (7), (8).

Pornind de la aceste considerente și de la rolul major al glucozei și al glicogenului în energogeneza cardiovasculară (1), (2), (3), (4), (6), (9), (14), (15), (16), (21), (22), (28), în studiul prezent am urmărit cantitatea glicogenului aortic, consumul glucozei de către peretele aortei izolate și conversia $^{14}C(U)$ -glucozei în glicogen aortic la șobolanii hipertensivi, tratați cu doză mică sau mare de nifedipină, un antagonist de calciu, larg utilizat în terapeutila hipertensiunii umane.

MATERIAL ȘI METODĂ

a) **Loturi de animale și tratamente.** Pentru experiențe am utilizat șobolani albi Wistar masculi (160–180 g); repartizați în două serii, cu câte 3 loturi: lot martor (M); lot cu hipertensiune provocată (H) și lot cu hipertensiune provocată și tratat cu nifedipină (NH), utilizând doză mică (seria I), respectiv doză mare (seria II). Tensiunea arterială (în artera femurală) a fost măsurată indirect, cu ajutorul unui dispozitiv construit în laboratorul nostru (D. Coprean) și etalonat prin comparare cu un tensiometru standard.

Hipertensiunea a fost provocată prin administrarea — prin gavaj gastric, zilnic — a unei soluții concentrate de NaCl. Animalele loturilor

H și NH, din ambele serii, au primit, pe toată durata experimentului, injecții periodice de acetat de dezoxicorticosteronă (DOCA, „Mincortid”, Terapie Cluj-Napoca). Dozele finale de tratament pentru hipertensiune, în urma tatonărilor preliminare, au fost stabilite astfel:

— pentru provocarea hipertensiunii: 3 g NaCl pe kg de animal și pe zi, sub formă de soluție 30% (la seria I), respectiv 2 g NaCl pe kg de animal și pe zi, sub formă de soluție 20% (la seria II); 14 mg DOCA pe kg de animal și pe zi, sub formă de două injecții intraperitoneale pe săptămână;

— pentru menținerea stării de hipertensiune în timpul experimentului propriu-zis: apa de băut (*ad libitum*) conținând 0,9% NaCl; DOCA, în același regim ca mai sus.

Pe fondul hipertensiunii, nifedipina a fost administrată timp de 60 de zile, în doză de 0,5 mg pe kg șobolan și pe zi (la seria I), respectiv în doză de 1,5 mg pe kg animal și pe zi (la seria II).

Nifedipina (esterul dimetilic al acidului 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-0-nitrofenil-piridin-3, 5-dicarbonic) a fost furnizată de beneficiar (Centrala Industrială de Medicamente și Cosmetice, Laboratorul de Farmacologie, București), sub formă de drajeuri conținând 10 mg substanță activă fiecare. După mojarare, drajeurile au fost amestecate cu praf de lapte, astfel ca 10 g amestec să conțină 50, respectiv 150 mg substanță activă; din acest amestec li s-a administrat șobolanilor, zilnic, câte 100 mg (= 0,5 mg nifedipină pentru seria I, respectiv 1,5 mg nifedipină la seria II) pe kg de greutate corporală. Administrarea amestecului s-a făcut dimineața, înainte de a se da animalelor hrana standard de laborator. Tratamentele — de menținere a hipertensiunii și de administrare a nifedipinei — au durat până în preziua sacrificării.

Luind în considerare fotosensibilitatea crescută a nifedipinei, manipularea și administrarea acesteia, inclusiv consumarea ei de către șobolani s-au făcut la o lumină foarte slabă: aproximativ 1,3 lueși; în restul zilei, în camera șobolanilor erau în jur de 35 lueși. În preziua sacrificării, hrana a fost luată din cuști la orele 15,30, apa de băut rămânând la dispoziția șobolanilor. După o înaniție de 16–18 ore, animalele au fost sacrificate prin decapitare și exsanguinare.

b) **Izolarea și tratamentul aortei toracice.** După sacrificare, aortele toracice (cu intima, media și adventicea intacte) au fost izolate rapid și imersate pentru 20 minute în soluție Krebs-Henseleit-bicarbonat (pH = 7,4), răcită la gheață, fără glucoză. Din fiecare aortă a fost izolat câte un inel de 30–40 mg pentru testarea cantității inițiale a glicogenului aortic, iar pe inelul restant (60–80 mg) au fost testate consumul de glucoză *in vitro*, conținutul de glicogen aortic după incubare și viteza de incorporare a $^{14}\text{C}(\text{U})$ -glucozei în glicogenul aortic în cursul incubării.

Incubarea inelelor aortice s-a făcut timp de două ore, într-o baie termostată (37,6°C) cu agitare (90 oscilații/min, cu amplitudinea de 5 cm). Mediul de incubare a fost o soluție Krebs-Henseleit glucozată (16,7 mM glucoză „Merck” p.a.), conținând 2 mg gelatină („Merck” p.a.) pe ml; fiecare flacon conținea, la 60–80 mg țesut, 0,5 ml mediu și $^{14}\text{C}(\text{U})$ -glucoză (I.F.I.N.-București) într-o concentrație finală de aproximativ 400 000 DPM/ml, activitatea specifică a glucozei marcate fiind de $4,5 \text{ mM} \pm 5\%$.

Faza gazoasă a sistemului de incubare a fost de $95\% \text{ O}_2 + 5\% \text{ CO}_2$, gazele fiind asigurate cu ajutorul unui dispozitiv original (13).

Cantitatea inițială și cea finală a glucozei din mediul de incubare au fost determinate enzimatic, după metoda lui Werner și colab. (27), folosindu-se Test-Combination-Glucose Kit („Boehringer”, Mannheim, GmbH, R. F. Germania), citirea extincțiilor făcându-se la un aparat Spekol-10 (Zeiss, Jena, R.D.G.), la 610 nm.

Viteza de pătrundere a glucozei din mediul de incubare în peretele aortei a fost exprimată în micrograme/100 mg țesut proaspăt, pe două ore.

După incubare, fiecare inel de aortă a fost spălat în soluție Krebs-Henseleit, fără glucoză, apoi macerat timp de 30 minute, în câte 2 ml soluție KOH 30%, la baie de apă în fierbere. Glicogenul a fost precipitat din macerat cu etanol 92%, izolat prin centrifugare (o oră) la 4 500 r.p.m., în centrifugă tip 23 T Janetzki (R.D.G.), și spălat de două ori cu etanol 60%. În final, glicogenul din fiecare probă a fost dizolvat în câte 1,5 ml apă bidistilată. Pe 0,5 ml din această soluție s-a determinat concentrația glicogenului (19), restul fiind completat cu 5 ml lichid de scintilație Bray și utilizat pentru determinarea radioactivității. Radioactivitatea glicogenului marcat a fost citită cu ajutorul unui spectrometru în lichid de scintilație (tip „Betasint” BF-5003, R.F.G., eficacitatea aparatului pentru ^{14}C fiind 95%).

Cantitatea inițială și de postincubare a glicogenului aortic a fost calculată în micrograme/100 mg țesut proaspăt, iar activitatea specifică a glicogenului marcat cu ^{14}C *in vitro* a fost exprimată în DPM/2 ore per 100 micrograme de glicogen.

Rezultatele obținute au fost exprimate ca medii $\pm$ ES. Diferențele dintre medii au fost comparate prin testul *t* al lui Student, modificările la $P < 0,05$ fiind considerate statistic semnificative.

REZULTATE

a) **Cantitatea glicogenului aortic înainte și după incubare.** Din datele trecute în tabelul nr. 1 rezultă că nivelul inițial al glicogenului aortic la lotul martor din seria I este $127 \pm 4,6$, iar la martorii din seria II este $95 \pm 11,5$ micrograme/100 țesut. Față de aceste valori de referință, la loturile cu hipertensiune provocată, netratate sau tratate cu doze mari sau mici de nifedipină, glicogenul aortic inițial nu se modifică apreciabil. De asemenea, la loturile normotensive după o incubare de două ore a peretelui aortic în soluție Krebs-Henseleit glucozată, nivelul glicogenului aortic rămâne la limita valorilor de preincubare. În schimb, în cazul loturilor cu hipertensiune provocată la ambele serii experimentate, cantitatea glicogenului aortic de postincubare scade cu 36,44% ($P < 0,01$), respectiv cu 56,81% ($P < 0,001$). Este de remarcă faptul că la ambele serii de șobolani, în cazul hipertensiunii provocate asociată cu administrarea dozei mici sau mari de nifedipină, glicogenul aortic de postincubare rămâne la nivelul corespunzător de preincubare ($-9,18\%$; $P > 0,25$, respectiv $-14,28\%$; $P > 0,50$).

Tabelul nr. 1

Cantitatea glicogenului în peretele aortei de șobolan, înainte (A) și după două ore de incubare în soluție Krebs-Henseleit glucozată (B), în diferite condiții experimentale (M = lot normal; H = lot cu hipertensiune provocată; NH = lot cu hipertensiune provocată și tratat cu doză mică de nifedipină (seria I), respectiv cu doză mare de nifedipină (seria II))

Micrograme de glicogen/100 mg aortă			Diferențe % între A și B
Lot	A	B	
Seria I			
M	127 ± 4,6 (8)	118 ± 3,8 (8)	-7,08 P > 0,50
H	107 ± 5,8 (8) D ₁ = -15,74 % P ₁ > 0,10	68 ± 4,2 (8) D ₁ = -42,37 % P ₁ < 0,001	-36,44 P < 0,01
NH	98 ± 8,7 (8) D ₁ = -22,23 % P ₁ > 0,05 D ₂ = -8,41 P ₂ > 0,25	89 ± 4,7 (8) D ₁ = -24,57 % P ₁ < 0,001 D ₂ = +30,88 P ₂ < 0,01	-9,18 P > 0,25
Seria II			
M	95 ± 11,5 (8)	80 ± 7,7 (8)	-15,78 P > 0,10
H	88 ± 9,3 (6) D ₁ = -7,36 % P ₁ > 0,25	38 ± 9,7 (6) D ₁ = -52,51 % P ₁ < 0,01	-56,81 P < 0,001
NH	86 ± 4,30 (8) D = -7,36 P ₁ > 0,25 D ₂ = 2,27 % P ₂ > 0,50	77 ± 20,4 (8) D ₁ = -3,75 P ₁ > 0,25 D ₂ = +102,63 % P ₂ < 0,05	-14,28 % P > 0,50

Notă: Valorile reprezintă media ± ES.; cifrele în paranteze arată numărul experiențelor; D₁ și P₁ comparat cu lotul M; D₂ și P₂ comparat cu lotul H.

Din compararea cantității glicogenului aortic de postincubare reiese că acest parametru scade semnificativ la ambele serii experimentale, față de martor (-42,37%, P < 0,001 și -52,5%, P < 0,01). Asocierea hipertensiunii provocate cu administrarea dozei mici de nifedipină reduce valoarea glicogenului aortic de postincubare cu 24,57% (P < 0,001) față de normal, atenuind efectul hipertensiunii asupra acestui parametru cu 30,88% (P < 0,01). În cazul tratamentului cu doză mare de nifedipină a șobolanilor hipertensivi, glicogenul aortic de postincubare atinge nivelul înregistrat la martori (-3,75%, P > 0,25), depășind cantitatea acestui parametru cu 102,63% (P < 0,05) în comparație cu cea înregistrată la lotul hipertensiv fără tratament cu nifedipină.

b) Consumul glucozei in vitro de către peretele aortei toracice. Rezultatele din tabelul nr. 2 arată că viteza de penetrare a glucozei din mediul de incubare în peretele aortei în condiții normale, la cele două serii de experiență, este de 773 ± 24, respectiv 1066 ± 153 micrograme/100 mg țesut pe două ore.

În cazul lotului cu hipertensiune provocată, captarea aortică a glucozei la seria I crește cu 31,56% (P < 0,02), iar la seria II se intensifică cu 45,78% (P ≈ 0,02) față de normalul corespunzător.

Tabelul nr. 2

Consumul de glucoză in vitro de către peretele aortei toracice la șobolani albi în diferite condiții experimentale (M = lot normal; H = lot cu hipertensiune provocată; NH = lot cu hipertensiune provocată și tratat cu doză mică de nifedipină (seria I), respectiv cu doză mare de nifedipină (seria II))

Lot	Micrograme de glucoză consumată/100 mg aortă, pe două ore	
	Seria I	Seria II
M	773 ± 24 (8)	1066 ± 153 (8)
H	1017 ± 80 (8) D ₁ = +31,56 % P ₁ < 0,02	1554 ± 127 (6) D ₁ = +45,78 % P ₁ ≈ 0,02
NH	864 ± 39 (8) D ₁ = +11,77 % P ₁ ≈ 0,05 D ₂ = -15,04 % P ₂ < 0,01	1086 ± 16 (7) D ₁ = +1,87 % P ₁ > 0,50 D ₂ = -30,11 % P ₂ < 0,001

Notă: Valorile reprezintă media ± ES.; numărul experiențelor este redat în paranteză; D₁ și P₁ reprezintă diferențele față de lotul M, iar D₂ și P₂ față de lotul H corespunzător.

Tratamentul cu doză mică sau cu cea mare de nifedipină, pe fondul hipertensiunii provocate, normalizează viteza consumului aortic al glucozei (+11,77%, P ≈ 0,05; și +1,87%, P > 0,50), reducând viteza acestui fenomen cu 15,04% (P < 0,01), respectiv cu 30,11% (P < 0,001) față de cea găsită la loturile hipertensive fără tratament.

c) Viteza de conversie a glucozei in vitro la glicogen aortic. Din datele referitoare la viteza de captare a ¹⁴C(U)-glucozei în glicogenul aortic (tabelul nr. 3) rezultă că acest proces în condiții normotensive este echivalent cu 940 ± 81, respectiv 1531 ± 291 DPM/100 micrograme glicogen aortic, în două ore. Față de aceste valori, la loturile cu hipertensiune provocată are loc o creștere de 125,74% (P < 0,001) a fenomenului în cazul tratamentului cu doză mică de nifedipină pe fondul hipertensiunii provocate și o creștere de 234,10% (P ≈ 0,02) în condițiile tratamentului cu doză mare de nifedipină pe fondul hipertensiunii arteriale induse de excesul de DOCA+NaCl.

Tabelul nr. 3

Viteza de incorporare *in vitro* a $^{14}\text{C}(\text{U})$ -glucozei în glicogen aortic la șobolani albi, în diferite condiții experimentale (M = lot normal; H = lot cu hipertensiune provocată; NH = lot cu hipertensiune provocată și tratat cu doză mică (seria I), respectiv cu doză mare de nifedipină (seria II))

Lot	Viteza de conversie a $^{14}\text{C}(\text{U})$ -glucozei în glicogen aortic (DPM/100 micrograme glicogen două ore)	
	Seria I	Seria II
M	940 ± 81 (8)	1531 ± 291 (8)
H	2122 ± 164 (8) $D_1 = +125,74\%$ $P_1 < 0,001$	5116 ± 643 (6) $D_1 = +234,10\%$ $P_1 \approx 0,02$
NH	1231 ± 104 (8) $D_1 = +30,95\%$ $P_1 < 0,05$ $D_2 = -41,98$ $P_2 < 0,001$	2217 ± 325 (8) $D_1 = +44,80\%$ $P_1 > 0,05$ $D_2 = -56,60\%$ $P_2 > 0,05$

Notă: Valorile reprezintă media ± ES; cifrele în paranteze arată numărul experiențelor; D_1 și P_1 reprezintă modificarea procentuală față de lotul M, iar D_2 și P_2 față de lotul H corespunzător.

DISCUȚII

Datele din literatura de specialitate pledează pentru faptul că glucoza este un substrat energetic major al peretelui aortei de șobolan (5), (6), (14), (15), (16), (17), (18), (21), (22). De asemenea, a fost semnalat că la șobolanul alb starea endocrinometaabolică (5), (15), (17), (18) și de hipertensiune arterială (6), (14), (16), (22), (28) influențează caracteristic viteza consumului glucozei în peretele aortei.

După cum reiese din ansamblul datelor prezentului studiu, hipertensiunea provocată prin exces de mineralocorticoid (DOCA) și de NaCl determină o creștere puternică a consumului de glicogen aortic, o creștere masivă a captării de glucoză și mai ales o intensificare a conversiei glucozei în glicogen aortic în cursul incubării peretelui aortei în soluție Krebs-Henleit glucozată în condiții aerobe. Pe de altă parte, rezultă că la șobolanii hipertensivi tratamentul zilnic (timp de 60 de zile) cu doze mici sau mari de nifedipină reduce semnificativ atât viteza consumului de glicogen și de glucoză, cât și conversia glucozei în glicogen aortic. În contextul acestor modificări este bine precizat faptul că hipertensiunea arterială se asociază cu creșterea concentrației de Ca^{2+} în citosolul miocitelor mușchiului neted vascular, ceea ce duce la intensificarea tonusului vascular (10), (12), (23), și la intensificarea catabolismului glucidic în peretele aortei (21), (22). După cunoștințele actuale, nifedipina este un antagonist de calciu, fiind un blocant al canalelor sarcolemale pentru Ca^{2+} (7), (8), având astfel ac-

țiuni antihipertensive, vasodilatatoare. După Fleckenstein (7), nifedipina, prin reducerea transferului de Ca^{2+} prin sarcolemă, atenuează eliberarea Ca-dependentă de energie din ATP la nivelul aparatului contractil cardiovascular, ceea ce implică reducerea nevoii de oxigen a fibrei miocardice și netede, ducând astfel la diminuarea hipertensiunii prin reducerea activității cardiace și a tonusului peretelui aortic și arterial. Pe de altă parte, se știe că blocarea canalelor de calciu la nivelul musculaturii netede vasculare duce la diminuarea catabolismului glucozei și glicogenului (22), crunându-se astfel rezerva energetică a fibrei musculaturii netede. Pare verosimil, că în condițiile noastre experimentale pe fondul hipertensiunii provocate nifedipina a intervenit prin astfel de mecanisme. Cu toate acestea sînt și alte modalități posibile, intrucit a fost semnalat recent că nifedipina și BAY K pot inhiba contracția cardiovasculară independent de acțiunea lor directă asupra canalelor sarcoplasmice de calciu (11). Conform datelor lui Takata și colab. (26), starea sistemului nervos simpatic influențează apreciabil efectul nifedipinei la șobolani hipertensivi, indus prin clorură de sodiu și acetat de dezoxicorticosteron.

În concluzie, utilizînd modelele noastre experimentale, tratamentul cu nifedipină pe fondul hipertensiunii arteriale induse prin exces de DOCA și NaCl la șobolanii Wistar duce la normalizarea vitezei de captare a glucozei *in vitro* în peretele aortei toracice, reducînd concomitent catabolizarea glicogenului aortic și conversia glucozei în glicogen aortic, economisind glicogenul ca substrat energetic vascular.

BIBLIOGRAFIE

- AKSOY M. O., MARASH S., KAMM K. E., MURPHY R. A., Amer. J. Physiol., 245: C255 - C270, 1983.
- AKSOY M. O., MURPHY R. A., KAMM K. E., Amer. J. Physiol., 242: C109 - C116, 1982.
- BOHR D. F., BRUNER C. A., LAMB F. S., WEBB R. C., Acta Physiol. Scand., 133, Suppl. 571: 15-25, 1988.
- CORNWELL T. L., LINCOLN T. M., J. Pharmacol., Exp. Therap., 247: 524-531, 1988.
- DAHLKVIST H. K., ARNQVIST H. J., NORBY K., Diabete et Metabolisme, 7: 275-281, 1981.
- DALY M. M., Amer. J. Physiol., 230: 30-33, 1976.
- FLECKENSTEIN A., Ann. Rev. Pharmacol., Toxicol., 17: 149-166, 1977.
- GOLDFRAIND T., in: *Advances in pharmacological research and practice* (sub red. J. Knoll și K. Kelemen), Pergamon Press and Akadémiai Kiadó, Budapesta, 1986, p. 61-66.
- HAASLIP R. J., SICKELS B. D., Eur. J. Pharmacol., 150 (1-2): 189-192, 1988.
- HOFMANN F., J. Hypertension, 3, Suppl. 3: 3-8, 1985.
- JACQUEMOND V., ROUGIER O., Biochem. Biophys. Res. Commun., 152 (3): 1002-1008, 1988.
- KHALIL R., LODGE N., SAIDA C., BREEM C., J. Hypertension, 5, Suppl. 4: 5-15, 1987.
- MADAR J., *Contribuțiuni la studiul rolului corticosuprarenalelor în metabolismul glucidic al șobolanilor albi*, Teză de doctorat, Cluj, 1966, p. 35-49.
- MADAR J., COPREAN D., ȘILDAN N., Bul. Soc. Naț. Biol. Cel., 17: 82, 1989.
- MADAR J., ȘILDAN N., COPREAN D., Rev. roum. biol., Sér. biol. anim., 33: 117-123, 1989.
- MADAR J., ȘILDAN N., ABRAHAM A. D., Rev. roum. biol., Ser. biol. anim., 32: 43-47, 1987.

17. MADAR J., ȘILDAN N., ILONCA A., în: *Cercetări de ontogeneză funcțională*, Centrul de cercetări biologice, Cluj-Napoca, 1977, p. 72-84.
18. MADAR J., ȘILDAN N., ILONCA A., *Rev. roum. biol., Ser. biol. anim.*, 33: 21-23, 1988.
19. MONTGOMERY R., *Arch. Biochem. Biophys.*, 67: 378, 1957.
20. NICKERSON P. A., YANG F., *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 20 (2): 317-325, 1988.
21. PAUL R. J., BAUER M., PEASE W., *Science*, 206: 1414-1416, 1979.
22. PAUL R. J., KRISANDA J. M., LYNCH R. M., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 6: 320-327, 1984.
23. SCHAU B. C., KUNZ B., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 8 (Suppl. 8): 117-123, 1986.
24. SHIMAMURA T., *Jap. J. Exp. Med.*, 58: 225-228, 1988.
25. SMITH C. D., PEARLMUTTER F., SZKRYBALO M., KATOWICH M. J., *Clin. Exp. Hypertens.*, 10: 629-648, 1988.
26. TAKATA Y., YAMASHITA S., FUJISHIMA M., *Clin. Sci.*, 73: 247-252, 1987.
27. WERNER W., REY H. G., WIELINGER H. Z., *analyt. Chem.*, 252: 224, 1970.
28. WITTENBERGER C., MADAR J., HALLER J., ROȘIORU C., GIURGEA R., COPREAN D., în: *Simpozionul „Influențe xenobiotice asupra sistemelor biologice*, Centrul de cercetări biologice, Cluj-Napoca, 1988, p. 99.

Primit în redacție
la 19 septembrie 1989

Centrul de cercetări biologice
Cluj-Napoca, str. Clinicilor nr. 5-7

ASPECTE HISTOENZIMATICE ALE ACȚIUNII PABA, DEAE, PROCAINEI, HCl, GEROVITALULUI H₃ ȘI ASLAVITALULUI LA NIVELUL CREIERULUI DE ȘOBOLAN

VICTORIA-DOINA SANDU și A. D. ABRAHAM

Our histoenzymatical study concerning the effect of Procaine. HCl, Gerovital H₃, Aslavital and that of both Procaine byproducts (PABA and DEAE) on brain enzymes revealed the following changes: Procaine. HCl, Gerovital H₃ and Aslavital effects are more complex in comparison with PABA or DEAE ones. Meanwhile, PABA exerted stimulatory action especially on mitochondrial enzymes (CyOx, SDH), DEAE influenced membrane bound enzyme activities. However, Procaine. HCl and procaine based drugs stimulated both oxidative-energetic processes and membrane bound enzymes involved in membrane transport of ions at the level of some brain regions.

Procaina și medicamentele preparate pe baza acesteia — Gerovitalul și Aslavitalul — au numeroase aplicații terapeutice în gerontologie, anesteziologie, reumatologie, neurologie, cardiologie etc.

O acțiune primară a procainei și a medicamentelor procainice vizează biomembranele (1), (4), (8), (12), (13), efectele lor biotrofice fiind legate de unele interacțiuni cu procesele de transport membranar, cu enzimele implicate în metabolismul oxidativ și energetic mitocondrial.

Asupra sistemului nervos au efecte trofice, de ameliorare a circulației cerebrale și a metabolismului celulei nervoase (5), (6), (9), de activare a unor regiuni ale sistemului nervos central, ca de exemplu sistemul limbic (2).

Întrucât nu se cunoaște cu certitudine dacă procaina acționează direct sau prin intermediul metaboliților săi: acidul paraaminobenzoic (PABA) și dietilaminoetanol (DEAE), formați în urma hidrolizei acesteia sub acțiunea procainazei, am studiat efectele acestor metaboliți comparativ cu efectele procainei, Gerovitalului și Aslavitalului asupra unor activități enzimatiche cerebrale.

MATERIAL ȘI METODE

Cercetările s-au efectuat pe 6 loturi, a 20 de șobolani adulți Wistar, masculi (120-150 g), întreținuți în condiții standard, cu acces liber la hrană și apă: 1 lot martor (M) și 5 loturi tratate intraperitoneal cu o doză unică de 300 micromoli/kg corp de: PABA, DEAE, Procaină HCl (PROC), respectiv Gerovital H₃(GH₃), Aslavital (ASL)—conținând o concentrație egală cu doza calculată pe bază de procaină. HCl.

La sacrificarea animalelor, care s-a făcut după 24 de ore de la administrarea substanțelor, s-a prelevat creierul, care a fost înghețat rapid în azot lichid și sectionat la un criotom tip SLEE. Pe secțiuni frontale (10 μ) realizate la nivelul diencefalului în planul stereotaxic $A_{5,2} - A_{5,6}$ (3) am efectuat, prin tehnicile uzuale descrise de Mureșan și colab. (10), reacțiile pentru evidențierea activității următoarelor enzime: fosfataza acidă, fosfataza alcalină, adenozintrifosfataza Mg^{2+} -activată (ATP-aza), citocrom-oxidaza (CyOx), succinatdehidrogenaza (SDH), lactatdehidrogenaza (LDH), monoaminoxidaza (MAO), acetilcolinesteraza (AcE). Aprecierea activității enzimatică s-a făcut în funcție de intensitatea reacțiilor și a fost exprimată, conform uzanței (7), în valori convenționale (tabelul nr. 1).

Tabelul nr. 1

Efectele PABA, DEAE, PROC- GH_3 , ASL asupra unor activități enzimatică cerebrale

Enzime	Lot	Structuri ale creierului						
		Sc	Hc	Pt	Am	T	H	Pc
1	2							
CyOx	M	4	4	4	4	4	3	3
	PABA	5	6	4	5	6	4	3
	DEAE	4	4	4	4	4	3	3
	PROC	5	5	5	5	5	4	3
	GH_3	5	5	5	6	5	4	3
	ASL	5	5	5,5	5	6,5	4	3
SDH	M	2	2	3	1	3	2	3
	PABA	3	3	4	2,5	5	3	3
	DEAE	2,5	2	3	1	3	2	3
	PROC	4	4	5	3	4	4	3,5
	GH_3	4	3	5	3	4	4	3
	ASL	4,5	3,5	5,5	3	5,5	4,5	3,5
GDH	M	2	2	2	2	3	2	2
	PABA	3	2,5	2	2	3,5	3	2
	DEAE	2,5	2	2	2	3	2	2
	PROC	3	3	2,5	2,5	3	3	2
	GH_3	3	2,5	2,5	2,5	3,5	3,5	2,5
	ASL	3	2,5	2,5	3	3,5	3	2,5
MAO	M	2	3	3	5	3	5	4
	PABA	2	3	3	5	3	5	4
	DEAE	3	4	3	5	3	5	4
	PROC	3	4	3	6	3	6	5
	GH_3	3	5	3	6	3	6	5
	ASL	3,5	4	3	6	3	6	5
LDH	M	2	2	2	2	2,5	2	2
	PABA	2	2	2	2	2,5	2	2
	DEAE	2	2	2	2	2,5	2	2
	PROC	1	1	1	1	1,5	1	1
	GH_3	0,5	1	1	1	1,5	1	1
	ASL	0,5	1	1	1	1	0,5	1
AcE	M	2	3	4	4	2	4	0
	PABA	2	3	4	4	2	4	0
	DEAE	2	3	4	4	2	4	0
	PROC	1	2	3	3	1	2	0
	GH_3	1	2	2	2	1	2	0
	ASL	1	2	2	3	1,5	1	0

Tabelul nr. 1 (continuare)

1	2	3						
ATP-aza	M	1	1	1	3	2	1,5	3
	PABA	1	1	1	3	2	1,5	3
	DEAE	2	1	2	4	3	3	4,5
	PROC	2	1	2	4	3	2,5	4,5
	GH_3	2	1	2	4	3	2,5	4
	ASL	2,5	1	2	4	3,5	2,5	5,5
FOSFA-TAZA ALCA-LINĂ	M	1	0	1	1	1	1	3
	PABA	1	0	1	1	1	1	3
	DEAE	1	0	1	1	1	1,5	3,5
	PROC	2	0	1	1	1	1	4
	GH_3	2	0	1	1	1	1,5	4,5
	ASL	2	0	1	1	1	1,5	5
FOSFA-TAZA ACIDĂ	M	1	2,5	2	1	1	1	3
	PABA	1	2,5	2	1	1	1	3
	DEAE	1	2,5	2	1	1	1	3
	PROC	2	3,5	2	1	2	1	3
	GH_3	2	3,5	2	1	2	1	3
	ASL	2	3,5	2	1	2	1	3

S-au notat cu: 0 = activitate nedetectabilă histochimică; 1-2 = activitate slabă; 2,5-3 = activitate moderată; 3,5-4,5 = activitate intensă; 5-6,5 = activitate foarte puternică; Sc = scoartă; Hc = hipocamp; Pt = nucleul putamen; Am = nucleul amigdalian; T = talamus; H = hipotalamus; Pc = plex coroidian.

REZULTATE

Conform datelor din tabelul nr. 1, principalele modificări ale activității enzimatică cerebrale, față de martori, induse de tratamentele aplicate, sînt următoarele:

— La lotul tratat cu PABA: crește marcat intensitatea reacțiilor CyOx și SDH în toate formațiunile structurale cercetate, mai evident în talamus.

— La lotul tratat cu DEAE: crește puternic reacția ATP-azei în endoteliul vascular și în special în plexul coroidian; o creștere mai puțin vizibilă are loc și în cazul fosfatazei alcaline.

— La lotul tratat cu PROC: este exacerbată activitatea CyOx și SDH, cu deosebire în talamus, hipotalamus, scoartă, complexul amigdalian; crește moderat și activitățile fosfatazei alcaline în scoartă și în plexul coroidian, ATP-aza în scoartă, talamus, putamen, plexul coroidian, MAO în scoartă, corpii striati, nucleul amigdalian, talamus, hipotalamus, plexul coroidian; activitățile AcE și LDH scad evident la toate nivelurile.

— La loturile tratate cu GH_3 și respectiv cu ASL: modificările sînt similare ca sens celor înregistrate la lotul tratat cu PROC. Amplitudinea lor în cazul activității CyOx, SDH și LDH este însă mai mare, în special la lotul tratat cu ASL.

DISCUȚII

Rezultatele noastre relevă faptul că Procaina, Gerovitalul. H₃ și Aslavitalul exercită la nivelul creierului efecte complexe, în timp ce metabolii Procainei influențează doar anumite procese celulare. Se știe că, metabolii Procainei sînt substanțe biologice active: PABA intră în compoziția unor enzime de oxidoreducere, a căror coenzimă este acidul folic, iar DEAE este un analog structural al colinei cu proprietăți membranoactive (11).

De altfel, datele noastre evidențiază faptul că PABA stimulează metabolismul oxidativ-energetic al creierului, prin intensificarea activității enzimelor mitocondriale CyOx și SDH, în timp ce DEAE acționează asupra proceselor biochimice membranare, stimulînd transportul activ de substanță, fapt atestat de creșterea activității ATP-azei și fosfatazei alcaline; stimulează, de asemenea, activitatea MAO și inhibă activitatea AcE, interacționînd deci și cu membranele sinaptice.

Procaina și medicamentele pe bază de procaină — Gerovitalul. H₃ și Aslavitalul — influențează toată gama de enzime studiate, exercitînd, în general, efecte stimulative mai pronunțate la nivelul scoarței cerebrale și al sistemului limbic. Aceste efecte sugerează o influență directă a medicamentelor procainice asupra proceselor oxidative aerobe mitocondriale (CyOx, SDH) și transportului activ prin membrane (fosfataza alcalină, ATP-aza), inclusiv prin bariera hematoencefalică și membranele sinaptice.

În schimb, inhibarea activității LDH în ariile cerebrale studiate este mai degrabă datorată unei acțiuni indirecte a medicamentelor procainice, probabil prin influențarea metabolismului glucidic în etapa glicolitică, antrenînd substratul spre oxidări aerobe și spre degradări anaerobe, decît acțiunii directe a procainei asupra moleculelor de enzime. În acest sens, datele noastre biochimice publicate anterior arată clar că Procaina, Gerovitalul și Aslavitalul nu au nici un efect asupra activității LDH în cazul contactului direct (studii *in vitro*) cu celulele de creier izolate (1).

În concluzie, considerăm că efectele procainei și ale medicamentelor procainice sînt mult mai complexe decît ale metabilizilor săi de hidroliză; unele efecte ale procainei și metabilizilor săi sînt sinergice, ceea ce sugerează însumarea acestora, ca, de exemplu, stimularea proceselor oxidative-energizant și acțiunea reglatoare asupra unor enzime marker de membrană.

BIBLIOGRAFIE

1. ABRAHAM A. D., SANDU V. D., BORȘA M., MADARIL, CICOȘ V., ȘILDAN N., PUICA-DAT C., *Seminars in biophysics* (P. T. Frangopol, V. V. Morariu eds.), CIP Press, București, 4: 55-63, 1986.
2. ADAMEC R. E., STARK-ADAMEC C., *Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.*, 9: 109-119, 1985.
3. ALBE-FESSARD D., STUTINSKY F., LIBOUBAN S., *Atlas stereotaxique du diencéphale du rat blanc*, Ed. Centr. Nat. Rech. Sci., Paris, 1966.
4. ANDERSEN N. B., AMARANTH L., *Anesthesiology*, 1 (2): 126-152, 1973.
5. ASLAN A., RUSU C., COFARU S., BRAZDEȘ E., CONSTANTINESCU E., *Rom. J. Gerontol. Geriatrics*, 1 (1): 47-53, 1980.

6. ASLAN A., CONSTANTINESCU E., *Rom. J. Gerontol. Geriatrics*, 4: 175-187, 1983.
7. BARKA T., SCHAFER F., POPPER H., *Lab. Invest.*, 10: 590-607, 1961.
8. DODSON B. A., MOSS J., *Mol. Cell. Biochem.*, 64 (2): 97-103, 1984.
9. JARBE T. U. C., *Neuropharmacol.*, 23 (8): 899-907, 1984.
10. MUREȘAN E., BOGDAN A. T., GABOREANU M., BABA A. I., *Tehnici de histochimie normală și patologică*, Edit. Ceres, București, 1976.
11. NEACȘU I., OIȚĂ N., *Rev. roum. biol., Biol. anim.*, 29 (1): 31-38, 1984.
12. PREMACHANDRA B. R., KABA V. K., BAKER R. F., *Biochim. Biophys. Acta*, 350: 245-258, 1979.
13. SANDU V. D., ABRAHAM A. D., PUICA-DAT C., *Seminars in biophysics* (P. T. Frangopol, V. V. Morariu eds.), CIP Press, București, 17: 161-175, 1986.
14. SEEMAN F., RICH S., *Biochim. Biophys. Acta*, 233: 171-177, 1972.

Primit în redacție
la 13 iunie 1989

Centrul de cercetări biologice
Cluj-Napoca, str. Republicii nr. 48

EFECTUL TRATAMENTULUI CU APILARNIL ȘI SILIMARINĂ ÎN INTOXICAȚIA EXPERIMENTALĂ CU CCl_4 A FICATULUI DE ȘOBOLAN

D. COPREAN, RODICA GIURGEA, MARIA BORȘA ȘI M. A. RUSU

Male Wistar rats weighing 200 ± 5 g were intoxicated with a single dose of CCl_4 (400 $\mu\text{l/kg}$ b.w.) and treated with Apilarnil (1215 mg/kg b.w.) or/and Silimarin (150 mg/kg b.w.). CCl_4 intoxication caused a decrease in the liver glycogen content as well an increase in serum GOT, GTP and liver ARN. Some of the effects of CCl_4 were attenuated in the rats receiving Apilarnil or Apilarnil + Silimarin.

În intoxicația experimentală cu diverse substanțe nocive, ficatul de șobolan manifestă profunde modificări de natură atât morfologică, cât și funcțională. Astfel, au fost constatate o încălcare grasă a hepatocitelor, necroza acestora și scăderea activității unor enzime implicate în diferite procese metabolice (1), (6), (7), (19). Cercetările au dovedit că propolisul brut are acțiune hepatoprotectoare (5). În experiențele noastre anterioare am constatat că extractul de propolis standardizat (EPS) are unele efecte hepatoprotectoare în cazul intoxicației cu diverse substanțe nocive (6), (8).

În lucrarea de față ne-am propus să urmărim în ce măsură Apilarnilul și Silimarina pot contracara efectele nocive ale intoxicației cu CCl_4 .

MATERIAL ȘI METODE

Experiențele au fost efectuate pe șobolani Wistar, masculi, în greutate de 200 ± 5 g. Animalele au fost întreținute în condiții zooigienice corespunzătoare, conform normativelor Ministerului Sănătății.

Experimentul a durat 4 zile și modelul experimental utilizat a fost următorul:

— Lotul martor (M): animalele au primit, prin gavaj, în prima, a doua și a treia zi câte 0,5 ml ulei de floarea soarelui.

— Lotul tratat cu Apilarnil (Ap): animalele au primit în prima, a doua și a treia zi câte 1,5 ml (24,3 mg) suspensie Apilarnil la o administrare.

— Lotul intoxicat cu CCl_4 (C): animalele au primit în ziua a doua a experimentului câte 0,082 ml CCl_4 în 0,5 ml ulei de floarea soarelui.

— Lotul intoxicat cu CCl_4 și tratat cu Apilarnil (CAP): animalele au primit în prima zi câte 1,5 ml suspensie de Apilarnil, în a doua zi aceeași cantitate de Apilarnil plus 0,082 ml CCl_4 (în 0,5 ml ulei de floarea soarelui); în a treia zi aceeași cantitate de Apilarnil ca în primele două zile.

— Lotul intoxicat cu CCl_4 și tratat cu Apilarnil și Silimarină (CăpS): animalele au primit în prima zi 1,5 ml (24,3 mg) suspensie Apilarnil și 2 ml (30 mg) suspensie Silimarină. În a doua zi au primit aceeași cantitate de suspensie de Apilarnil și Silimarină, plus 0,082 ml CCl_4 (în 0,5 ml ulei de floarea soarelui). În ziua a treia au primit numai suspensie de Apilarnil și Silimarină în aceeași doză ca în primele două zile.

Sacrificarea s-a făcut în ziua a patra a experimentului, determinându-se următorii parametri metabolici: glicemia (17); GOT și GPT din ser (18); conținutul de glicogen hepatic (16); proteinele totale hepatice (9); ADN și ARN din țesutul hepatic (20); capacitatea țesutului hepatic de a sintetiza de lipide și proteine din acetatul marcat (3); activitatea fosforilazei totale (Ft) (11) și a glucozo-6-fosfatazei (G6Paza) (10) hepatice.

Noi am determinat activitatea fosforilazică totală (Ft) prin activarea cu Ca^{++} și Mg^{++} . Atât în cazul determinării activității Ft, cât și a G6P-azei, fosfatul anorganic din mediul de reacție a fost dozat după metoda lui Taussky și Shorr (21).

Calculul statistic a fost cel uzual, omogenitatea mediilor a fost testată după criteriul lui Chauvenet, valorile aberante fiind eliminate. Diferențele comparative cu martorul au fost considerate semnificative pentru un $p < 0,05$.

REZULTATE

Rezultatele experiențelor noastre sunt redată în tabelul nr. 1. Intoxicarea cu CCl_4 determină o creștere a ARN hepatic, a GOT și GTP în ser, precum și o scădere a glicogenului în ficat. În cazul loturilor Căp și CăpS, modificările care apar pot fi împărțite în două grupe: a) modificări de același sens cu cele ale lotului C (glicogen, GTP); b) modificări care sunt proprii acestor loturi (glicemia, sinteza de lipide, Ft și G6P-aza).

Tabelul nr. 1

Glicemia (mg%), glicogenul (mg/g), proteinele totale (mg%), ADN (mg/g), ARN (mg/g), sinteza de lipide (DPM/100 mg lipide) și sinteza de proteine (DPM/100 mg proteine) în ficat; activitatea Ft și G6P-azei hepatice (micromoli Pa elib./minut/g țesut), precum și GOT și GPT (micrograme acid piruvic consumat/ml ser) la loturile de șobolani M, Ap, C, Căp, și CăpS

Lotul experimental	Glicemia	Glicogenul	Proteinele totale	ADN
M	144,95 ± 4,67 (8)	1,91 ± 0,21 (8)	301,1 ± 23,4 (8)	3,30 ± 0,26 (8)
Ap ± M %	137,43 ± 6,27 (7) -5,18 (NS)	1,43 ± 0,16 (8) -25,13 (NS)	280,9 ± 6,10 (7) -6,68 (NS)	4,20 ± 0,31 (8) +27,27 (×)
C ± M %	152,68 ± 7,02 (8) +5,33 (NS)	1,28 ± 0,16 (8) -32,98 (×)	291,1 ± 14,0 (8) -3,30 (NS)	3,72 ± 0,29 (8) +12,73 (NS)
Căp ± M %	200,97 ± 17,88 (8) +38,64 (×)	0,96 ± 0,06 (7) -49,74 (×)	256,6 ± 8,5 (8) -14,77 (NS)	3,64 ± 0,17 (8) +10,30 (NS)
CăpS ± M %	207,63 ± 9,90 (8) +43,24 (×)	1,18 ± 0,14 (7) -38,22 (×)	257,2 ± 12,2 (8) -14,57 (NS)	3,34 ± 0,12 (8) +1,21 (NS)

Tabelul nr. 1 (continuare)

Lotul experimental	ARN	Sinteza de lipide	Sinteza de proteine	Ft
M	1,61 ± 0,18 (8)	839,8 ± 93,5 (6)	230,0 ± 38,3 (6)	16,1 ± 0,7 (8)
Ap ± M %	2,85 ± 0,27 (8) +77,02 (×)	676,0 ± 57,6 (5) -19,50 (NS)	211,0 ± 25,2 (6) -8,26 (NS)	13,5 ± 0,7 (8) -16,15 (NS)
C ± M %	2,38 ± 0,24 (8) +66,46 (×)	637,0 ± 41,6 (6) -24,15 (NS)	286,0 ± 16,2 (6) +2,48 (NS)	16,5 ± 0,7 (8) -12,24 (NS)
Căp ± M %	3,25 ± 0,31 (8) +101,86 (×)	463,5 ± 85,5 (6) -44,81 (×)	223,0 ± 6,9 (6) -3,04 (NS)	22,1 ± 0,1 (8) +37,27 (×)
CăpS ± M %	2,63 ± 0,18 (8) +63,35 (×)	517,5 ± 46,9 (6) -36,38 (×)	227,0 ± 8,8 (5) -1,30 (NS)	22,0 ± 0,5 (8) +36,65 (×)
Lotul experimental	G6P-aza	GOT	GTP	
M	4,9 ± 0,3 (8)	1197,5 ± 150,7 (8)	178,75 ± 41,2 (8)	
Ap ± M %	4,7 ± 0,2 (8) -4,08 (NS)	1165,0 ± 66,3 (6) -2,71 (NS)	200,00 ± 31,8 (7) +11,89 (NS)	
C ± M %	4,3 ± 0,3 (8) -12,24 (NS)	2283,8 ± 56,7 (3) +90,71 (×)	475,1 ± 109,1 (7) +166,13 (×)	
Căp ± M %	3,2 ± 0,4 (8) -34,69 (×)	282,5 ± 216,3 (8) +7,10 (NS)	442,5 ± 66,0 (8) +147,55 (×)	
CăpS ± M %	3,7 ± 0,3 (8) -24,49 (×)	1081,3 ± 128,5 (8) -9,71 (NS)	585,00 ± 96,4 (8) +227,27 (×)	

Notă: În tabel sunt date medii ± eroarea standard corespunzătoare. În paranteză este dat numărul de valori individuale pe baza cărora s-a calculat media. În cazul loturilor Ap, C, Căp și CăpS au fost calculate diferențele procentuale față de M. „NS” înseamnă că diferența este nesemnificativă din punct de vedere statistic. Acolo unde diferența este semnificativă ($p < 0,05$) s-a trecut în paranteză un „×”.

DISCUȚII

Prin metabolizarea în organism a CCl_4 rezultă radicalul liber CCl_3 (13), (14), foarte reactiv, care produce peroxidarea lipidelor și se poate lega covalent cu macromoleculele esențiale din celule (4). Efectul nociv al CCl_3 de a peroxida lipidele poate avea repercusiuni negative asupra menținerii integrității funcționale a membranelor hepatocitelor. Este posibil ca nivelul crescut al GOT și GPT în ser să fie o consecință a eliberării anormale a acestor transaminaze din ficat, ca urmare a alterării funcției de permeabilitate a membranei hepatocitului. De remarcat este faptul că tratamentul cu Apilarnil sau cu Apilarnil plus Silimarină menține în limite normale GOT seric în cazul intoxicației cu CCl_4 . Probabil că modificările la nivelul membranei hepatocitului induse de CCl_4 sunt ceva mai atenuate când s-a administrat Apilarnil sau Apilarnil plus Silimarină.

Conținutul de glicogen hepatic scade la lotul intoxicat cu CCl_4 (vezi tabelul nr. 1). Cercetări anterioare semnalază, de asemenea, o scădere a glicogenului hepatic la șobolan după 36 de ore de la administrarea unei singure doze de CCl_4 (100 microlitri/kg greutate corporală) (2), (15). Doza de intoxicare utilizată de noi a fost de aproximativ patru ori mai mare

decît doza utilizată de autorii citați. Cu toate acestea, scăderea conținutului de glicogen hepatic obținută de noi, la două zile după intoxicația cu CCl_4 (—32,98), a fost destul de apropiată de cea obținută de Bell și Mehendale (2), după 36 de ore de la intoxicația de același fel (—27%). Literatura semnalează că depleția glicogenului hepatic ca răspuns la intoxicația cu CCl_4 s-ar datora afectării glicogensintetazei și unei posibile activări a fosforilazei (12). Noi nu am obținut modificarea activității sistemului fosforilazic după intoxicația cu CCl_4 .

Intoxicația cu CCl_4 determină o creștere cu 66,46% a ARN în țesutul hepatic. O creștere a ARN ($\pm 20\%$) au obținut și Bell și Mehendale (2) cînd au utilizat o doză de intoxicație cu CCl_4 de 4 ori mai mică. Se consideră că creșterea ARN și ADN în cazul intoxicației cu CCl_4 ar fi legată de intensificarea procesului regenerativ care încearcă să contracareze efectele agentului toxic (2). Modificările unora dintre parametrii metabolici urmăriți de noi ca : glicemia, sinteza de lipide, Ft și G6P-aza, care apar la loturile CAP și CAPS, comparativ cu lotul martor (M), pot fi consecințele unei reactivități crescute a organismului la unii factori medicamentoși cum sînt Apilarnilul și Silimarina, pe fondul suferinței induse de agentul toxic.

Scăderea conținutului de glicogen indusă de CCl_4 nu poate fi contracarată de Apilarnil sau Silimarina.

Glicemia crescută, în cazul loturilor CAP și CAPS, poate fi efectul alterării înglobării glucozei în glicogen la nivelul ficatului și/ori activării sistemului fosforilazic responsabil de degradarea glicogenului (noi am obținut o activare a Ft la loturile CAP și CAPS, vezi tabelul nr. 1). De altfel, literatura de specialitate semnalează, așa cum am arătat, o modificare a sistemului fosforilazic în urma intoxicației cu CCl_4 (12). Administrarea Apilarnilului și Silimarinei organismului intoxicat cu CCl_4 permite acestuia o mai bună mobilizare a rezervelor glucidice din organism, spre a fi puse la dispoziția unor țesuturi (cum ar fi creierul) care reclamă un aport sporit de glucoză în condiții de stress.

CONCLUZII

1. Intoxicația șobolanilor cu o singură doză de CCl_4 modifică glicogenul și ARN-ul hepatic, precum și GOT și GPT serie.
2. Tratamentul cu Apilarnil și Silimarina poate contracara unele efecte toxice ale CCl_4 .
3. Administrarea Apilarnilului și a Silimarinei facilitează o mai bună mobilizare a rezervelor glucidice către țesuturile periferice.

BIBLIOGRAFIE

1. ADAMS E. I., THORPE E., Br. J. exp. Pathol., 51 : 394—403, 1970.
2. BELL A. N., MEHENDALE H. M., Toxicol. Lett., 35 : 191—200, 1987.
3. BORȘA M., SANDU V., ROȘCA D. I., ABRAHAM A., Studia Univ. Babeș-Bolyai, Seria Biol., 26 : 63—67, 1981.

4. BOYD M. R., Crit. Rev. Toxicol., 1 : 103—125, 1980.
5. CIPLEA A., DRĂGULESCU N., TÂNASE-MOGOȘ L., în : *Cercetări noi în Apimondia*, Edit. Apimondia, București, 1976, p. 61.
6. COPREAN D., GIURGEA R., RUSU M., POPESCU H., POLINICENCU C., St. cerc. biol., Ser. biol. anim., 38 : 97—100, 1986.
7. DEKKER M., în : *Toxic injury of the liver* (E. Farber, M. M. Fisher eds.), New York, Basel, 1980, p. 549—552.
8. GIURGEA R., COPREAN D., POPESCU H., POLINICENCU C., Clujul Med., 54 : 235—238, 1981.
9. GORNALL A. C., BARDAWILL F. J., DAVID M. M., J. Biol. Chem., 177 : 751, 1949.
10. HARPER A. E., în : *Methoden der enzymatischen Analyse* (H. U. Bergmeyer ed.), Verlag Chemie, Weinheim, 1962, p. 788—792.
11. HEDRICK J. L., FISCHER E. H., Biochemistry, 4 : 1337, 1965.
12. HICKENBOTTOM R. S., HORN BROOK K. R., J. Pharmacol. Exp. Ther., 178 : 383—394, 1971.
13. KLINGENSMITH J. S., MEHENDALE H. M., Pharmacologist, 24 : 136, 1982.
14. KLINGENSMITH R. S., MEHENDALE H. M., Drug. Metab. Dispos., 11 : 329—334, 1983.
15. LOCKARD V. G., MEHENDALE H. M., O'NEAL R. H., Exp. Mol. Pathol., 39 : 246—255, 1983.
16. MONTGOMERY R., Arch. Biochem. Biophys., 67 : 378, 1957.
17. NELSON N., J. Biol. Chem., 153 : 375, 1944.
18. REITMAN S., FRANKEL S., Am. J. Clin. Pathol., 28 : 56—63, 1957.
19. SKLADINSKI J., BESKIND M., Pol. Histochem. Cytochem., 16 : 13—18, 1978.
20. SPIRIN A. S., Biochimia, 23 : 656, 1958.
21. TAUSKY H. H., SHORR E., J. Biochem., 202 : 675, 1953.

Primit în redacție
la 24 martie 1989

Centrul de cercetări biologice
Cluj-Napoca, str. Clinicilor nr. 5—7

REAȚII SUPRARENO-TIMICE ÎN EFORTUL FIZIC STRESSANT

V. TOMA și D. COPREAN

Three groups of male Wistar rats weighing 100 ± 10 g were exposed to a swimming effort for 2, 4 or 6 hours. Another group which was trained by swimming, 15 minutes daily, for 2 weeks was then exposed to a swimming effort for 2 hours. The animals were killed 24 hours later by ethyl ether narcosis and the thymus and adrenals were rapidly weighed. The thymus weight decreased in all groups, but the weight increased only in the groups exposed to effort for 2 or 6 hours, comparatively with the control group.

Randamentul unei mașini poate fi fixat pentru un anumit timp, ca apoi să scadă treptat prin uzură. În domeniul organismelor vii, acest randament poate să crească în anumite limite, prin antrenamente, ca apoi să scadă prin uzură organopsihică, dar și prin inactivitate sau stări patologice. În acest context, solicitările stressante fac parte integrantă din viața organismului, în anumite limite fără repercusiuni nocive, dar peste ele cu tulburări grave de intensitate și durată. În realitate, oboseala musculară este un fenomen complex, care interesează tot organismul, cunoscut prin activarea releului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal și inerent cu repercusiuni asupra timusului (1), (2), (3), (6). În acest context am socotit că stressul de efort fizic necesită să fie urmărit prin prisma acestor două glande, desigur în funcție de durata, particularitățile de solicitare și antrenament — adaptare față de stressor (8).

MATERIAL ȘI METODE

Investigațiile au fost executate pe loturi de câte 10 șobolani masculi Wistar de 100 ± 10 g, întreținuți în condiții standard de laborator. Un lot a fost supus unui efort fizic de înot, în condiții de confort termic, de 2, 4 și 6 ore. Un alt lot a fost antrenat la efort (înot), câte 15 minute zilnic, timp de două săptămâni, după care a fost supus două ore unui efort de durată, tot prin înot. Experimentul nostru a inclus și un lot martor ne-supus efortului. După intervenție, animalele au fost uscate și amplasate într-o cușcă încălzită electric, pentru evitarea hipotermiei. După 24 de ore, animalele au fost sacrificate prin narcoză cu eter etilic, timusul și glandele suprarenale fiind rapid recoltate, spălate în ser fiziologic și tamponate cu hirtie de filtru, după care au fost cântărite la balanța de torsionare.

Prelucrarea statistică a datelor experimentale obținute a inclus: calcularea mediilor aritmetice pe loturi; verificarea omogenității mediilor cu ajutorul criteriului lui Chauvenet, fiind eliminate valorile individuale

aberrante; calcularea erorilor standard pentru fiecare medie. Când s-au comparat mediile loturilor supuse antrenamentului și/ori efortului cu lotul martor, diferențele au fost exprimate în procente și apoi testate cu testul „t” al lui Student, pentru stabilirea gradului de semnificație statistică al acestora.

RĂZULTATE ȘI DISCUȚII

În condițiile noastre, la lotul martor am obținut următoarele valori ponderale, medii $\pm$ eroarea standard, pentru timus: $206,5 \pm 3,9$ mg și pentru suprarenale: $14,6 \pm 0,3$ mg. Pe această bază de referință constatăm (tabelul nr. 1 și fig. 1): o scădere, statistic semnificativă, a greutateii timice la toate loturile supuse efortului fizic de înot, cu epicentrul de $-56,2\%$ ($p < 0,001$) la lotul stressat 6 ore. Desigur, reacția (scăderea greutateii timusului) este în legătură cauzală cu hipersecreția de glucocorticoizi, respectiv cu hipertrofia glandelor suprarenale (1), (3), (6). De fapt, acest fenomen este evident și în modelul nostru experimental, dar statistic semnificativ numai la loturile supuse stressului de efort de două și 6 ore. Cauzele acestor oscilații statistice sînt greu de explicat; posibil, ele s-ar datora variabilității individuale neuroendocrine a animalelor, respectiv a reactivității diferite față de efort (5).

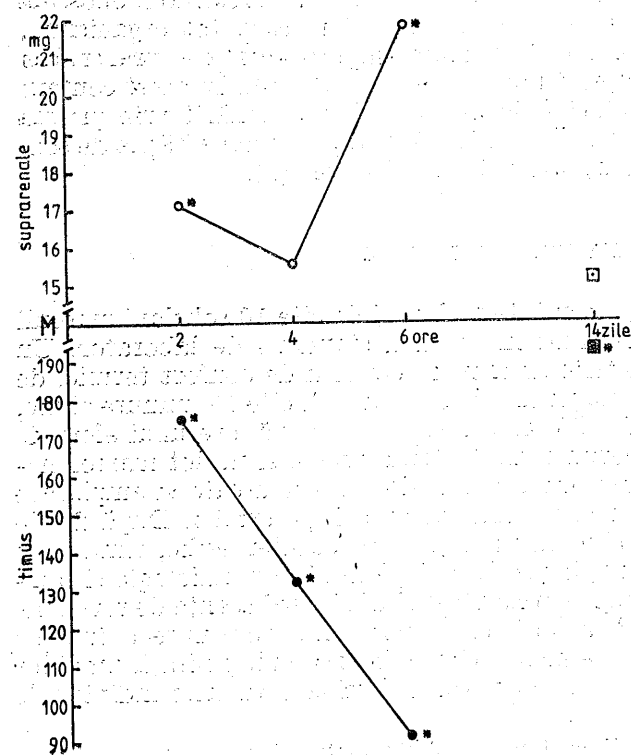


Fig. 1. — Greutatea (mg) timusului și a suprarenalelor la șobolani supuși efortului de înot: două, 4 și 6 ore, respectiv două ore după 14 zile de antrenament (15 minute zilnic). Asteriscul înseamnă că valoarea mediei respective este semnificativ diferită față de valoarea mediei martorului.

Tabelul nr. 1

Valorile ponderale ale timusului (T) și suprarenalelor (SR) la șobolani supuși unui efort de înot timp de două, 4 și 6 ore, respectiv două ore după un antrenament de 14 zile (15 minute zilnic).

Lotul experimental	T (mg)	SR (mg)
M	$206 \pm 3,9$ (10)	$14,6 \pm 0,3$ (10)
2 ore $\pm M\%$	$175 \pm 2,8$ (10) $-15,3$ (× ×)	$17,3 \pm 0,2$ (9) $+18,3$ (× ×)
4 ore $\pm M\%$	$132 \pm 3,0$ (10) $-36,1$ (× ×)	$15,5 \pm 1,1$ (10) $+6,2$ (NS)
6 ore $\pm M\%$	$91 \pm 3,6$ (10) $-56,2$ (× ×)	$21,8 \pm 0,5$ (10) $+49,3$ (× ×)
14 zile $\pm M\%$	$191 \pm 2,8$ (10) $-7,3$ (×)	$15,1 \pm 1,0$ (10) $+3,4$ (NS)

Notă: În tabel sînt date medii $\pm$ eroarea standard corespunzătoare. În paranteză este dat numărul de valori individuale pe baza cărora s-a calculat media. În cazul loturilor supuse efortului (2 ore, 4 ore, 6 ore) sau antrenate și supuse efortului (14 zile) au fost calculate diferențele procentuale față de lotul martor (M). „NS” înseamnă că diferența este nesemnificativă din punct de vedere statistic. Acolo unde diferența este semnificativă s-au trecut în paranteză „×” ($p < 0,01$) sau „× ×” ($p < 0,001$).

Este interesantă reacția acestor două glande endocrine după un antrenament de două săptămîni: diminuarea greutateii timice este de numai $7,3\%$ ($p < 0,01$); glandele suprarenale, deși hipertrofiat cu $3,4\%$, nu se diferențiază statistic semnificativ față de valorile martorului. După Ulmeanu (9), antrenamentul zilnic induce hipertrofia și hiperfuncția suprarenalelor, cu un randament crescut al secreției normale pînă la epuizarea ei. Ca urmare, autorul recomandă, ca palcativ, corticoterapia substitutivă în solicitările fizice mari. Ținînd cont de faptul că timusul dispune de receptori față de acești hormoni, fenomenul involutiv este mai mult decît de înțeles (10).

De fapt, în această experiență am aplicat o variantă a așa-numitului „antrenament cu intervale”, în care organismul este supus unui efort intens, care-l obligă la reacții de adaptare corespunzătoare, de dezvoltare a forței, a rezistenței și a calităților motoare (9).

Corelațiile dintre timus și activitatea musculaturii somatice sînt mai complexe decît ale S.G.A. Astfel, timectomiile la șobolani au dus la alterări morfofuncționale musculare. În funcție de dozele utilizate, extractele polipeptidice de timus stimulează, ca apoi să inhibe, probabil prin intermediul plăcii motoare, contracția musculară (3), (7). Pe plan clinic, inhibiția timică a musculaturii voluntare se traduce prin sindromul miasteniei grave (4), (7).

CONCLUZII

La șobolanii Wistar de 100 ± 10 g, efortul de înot de două, 4 și 6 ore scade statistic semnificativ greutatea timică, inclusiv în urma unui antrenament de 14 zile. Reacția stressantă se reflectă relativ și prin hipertrofia suprarenaliană, statistic semnificativă la două și 6 ore de la suprasolicitară fizică.

BIBLIOGRAFIE

1. BACQ Z. M., BARAC G., *Principes des physiopathologie et de therapeutique*, Sciences et Lettres, Liège, 1962.
2. COMȘA I., *Physiologie et physiopathologie du thymus*, Doin, Paris, 1959.
3. DEREVENCO P., *Efortul și sistemul endocrin*, Edit. Dacia, Cluj-Napoca, 1976.
4. GOLDSTEIN G., *Triangle*, 11: 7-14, 1972.
5. IONESCU A., *Forme și teste de oboseală*, Edit. Inst. politehnic, București, 1940.
6. SELYE H., *Stress without distress*, Lippincot J. B., Philadelphia - New York, 1974.
7. TOMA V., *Relația dintre timus și musculatura striată*, Teză de doctorat, Univ. din Cluj, 1961.
8. TOMA V., *Timusul*, în: *Probleme actuale de biologie*, vol. I (sub red. Pora A. E.), Edit. St. Ped. București, 1975.
9. ULMEANU Fl. C., *Noțiuni de fiziologie cu aplicații la exercițiile fizice*, Edit. Un. Cult. fizică și Sport, București, 1966.
10. WOKAER R., *Mécanisme d'action intercellulaire des hormones*, Masson, Paris, 1970.

Primit în redacție
la 7 aprilie 1989

Universitatea din Cluj-Napoca
Cluj-Napoca, str. Clinicilor nr. 5-7

EFECTUL ASOLAMENTULUI ASUPRA MICROFLOREI
ȘI MICROARTROPODELOR EDAFICE

M. RUSAN, MAGDA CĂLUGĂR, FELICIA BULIMAR, CRISTINA VIȚALARIU,
MARINA HUȚU, G. DAVIDESCU și D. CATARGIU *

This paper analyses the effects of the crop rotation, of fertilisation and of moderate amendment practice on the soil microflora activity and on the soil microarthropods. The different answer of the two components in the soil decomposer subsystem suggest that the numerical stimulation of the soil mycophagous microarthropods has contributed to a great extent to the diminishing of the microflora activity.

Dintre numeroasele probleme ridicate de practicarea monoculturii și asolamentului, cele referitoare la implicațiile acestor procedee asupra cenzelor edafice cuprind încă multe laturi necunoscute. Deși puținele rezultate acumulate conduc la ideea că alternanța culturilor se soldează cu mărirea activității biologice a solului, este riscant să se treacă la generalizări (1), (2), (7), (11), (12), (15).

În această optică, lucrarea prezintă analizează, pentru o perioadă de trei ani (1986, 1987 și 1988), răspunsul microflorei și al microartropodelor edafice la rotația culturilor de pe lotul experimental Ilișești (S.C.A. Suceava).

CARACTERISTICI STAȚIONALE

Lotul experimental investigat este amplasat pe un luvisol albic, moderat pseudogleizat ($pH = 5,11 \pm 0,26$; $C_{\text{organic}} (\%) = 1,09 \pm 0,04$; $N_{\text{total}} (\%) = 0,99 \pm 0,05$; $C/N = 11,00 \pm 0,38$).

Acesta a fost organizat în 1985, în sistem de parcele subdivizate, cultivate cu secară, ovăz, în fuior, bob, hrișcă și cartof. Pentru un an, 1986, cultura de bob a fost înlocuită cu borceag.

Din 1986 s-au introdus amendarea și fertilizarea solului cu 100 kg s.a./ha nitrocalcar, 75 kg s.a./ha P_2O și 50 kg s.a./ha K_2O (D. Catargiu).

Regimul principalelor elemente climatice a prezentat în 1986 mari abateri de la valorile medii multianuale, caracterizându-se printr-un potențial termic ridicat și un deficit pluviometric asociat cu o repartizare neuniformă în timp a precipitațiilor atmosferice (fig. 1). Perioadele de uscăciune și de secetă au fost mai evidente la sfârșitul primăverii și verii.

Anul 1987 a fost deficitar termic cu $280^\circ C$ și pluviometric cu 200 mm. Precipitațiile atmosferice nu au recuperat deficitul de umezeală a solului. Seceta s-a accentuat la începutul toamnei, fiind urmată de o perioadă cu umiditate suficientă.

Anul 1988 a avut un potențial termic mai ridicat în sezonul rece și în a doua jumătate a verii, dar mai scăzut în timpul primăverii. Precipitațiile atmosferice au fost mai bogate decât în mod normal, 9 luni fiind excedentare pluviometric și 3 luni deficitare (G. Davidescu).

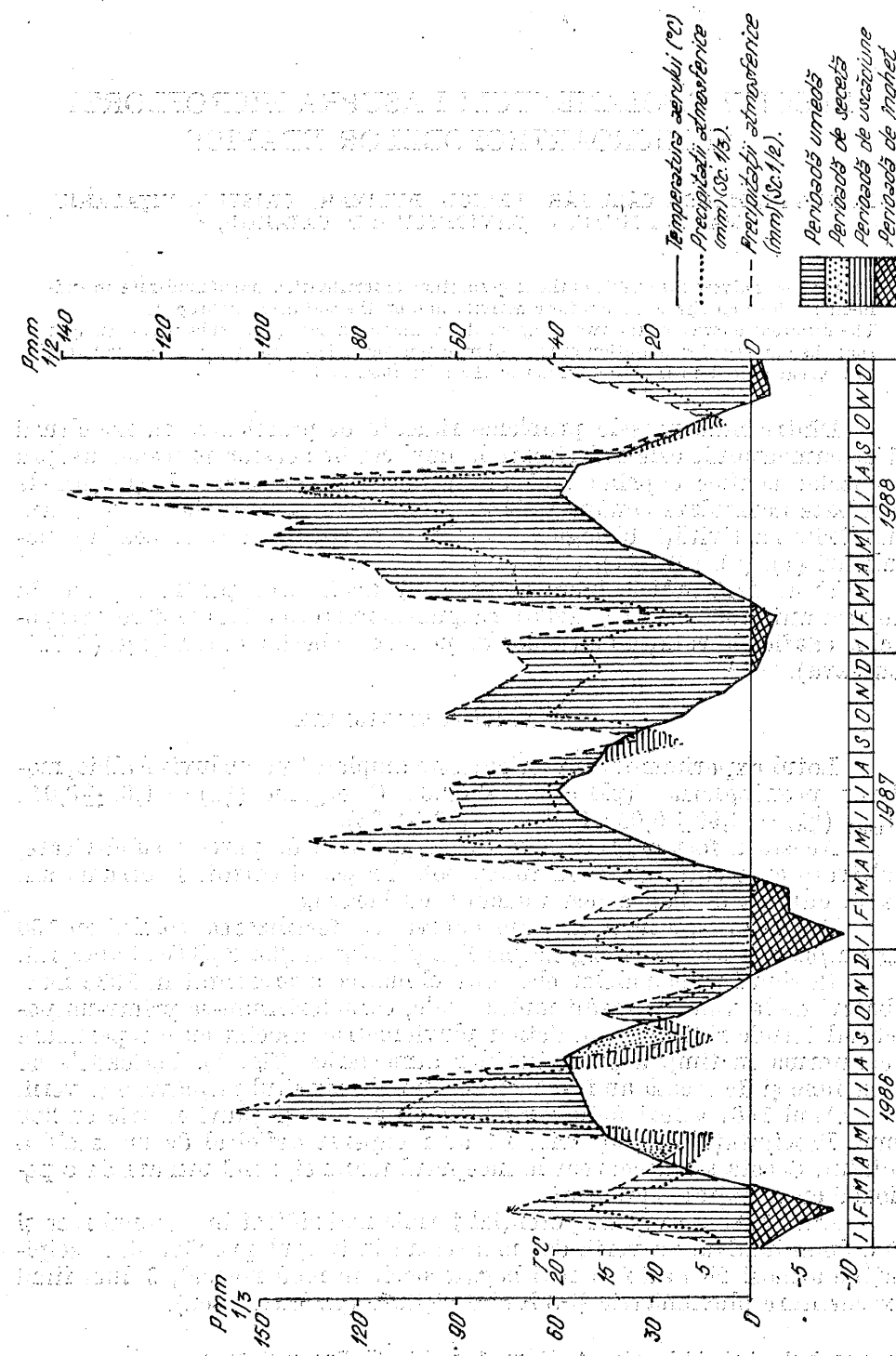


Fig. 1. — Regimul principalelor elemente climatice pentru localitatea Bălăceanca — Ilășești, jud. Suceava, în intervalul 1986—1988.

MATERIAL ȘI METODE

În intervalul mai — septembrie al anilor 1985—1988 s-au prelevat, concomitent, probe de sol ($S_{\text{proba}} = 100 \text{ cm}^2$) din cele 36 de sole ale lotului experimental. În total s-au analizat 1396 de probe.

Aspectele de microbiologia solului s-au bazat pe determinarea activității dehidrogenazice (metoda spectrofotometrică) și a respirației globale a solului (3), (4), (6), (14).

Microartropodele edafice au fost izolate din probele de sol prin metoda Berlese-Tullgren. Identificările taxonomice s-au oprit la nivel de familie (8), (13).

Calculul statistic a utilizat testul t-Student și densitatea relativă (5).

REZULTATE

Microflora solului (M. Rusan, Cristina Vițalariu). În ansamblu, activitatea dehidrogenazică a microflorei și respirația globală a solului au scăzut treptat, în decursul celor trei ani de studiu, așa încât între valorile determinate în 1986 și cele din 1988 au apărut diferențe foarte semnificative (fig. 2 a).

De precizat că măsurile ameliorative ale însușirilor solului aplicate în 1986, precum și creșterea umidității solului produsă în 1988 nu au concurat cu succes la optimizarea activității microflorei solului.

Influența culturilor în curs s-a manifestat mai pregnant în anii secetoși, 1986 și 1987. În această perioadă, activitatea dehidrogenazică a microflorei și implicit respirația globală a solului au fost mai accentuate în parcelele cultivate cu secară, ovăz, bob și hrișcă, decât în cele cu in sau cartof (în special, 1986). O activitate a microflorei destul de slabă s-a observat în cultura de borceag (1987). Din contră, rezultatele anului 1988 sînt mai puțin concludente, ele indicînd tendința de omogenizare a activității microbiene a solului pe suprafața lotului.

Influența culturilor premurgătoare asupra acestor doi parametri a fost redusă și a avut un caracter pasager (tabelul nr. 1 și fig. 2 a). Se constată că singurele variații semnificative au apărut, mai ales, după culturi premurgătoare de cereale și hrișcă. În general, se cunoaște că monocultura are un efect negativ asupra activității microflorei (2), (7), dar în cazul lotului discutat, cultivarea repetată a secarei, a hriștei și chiar a cartofului a dus, uneori, la activarea proceselor microbiene din sol.

Microartropodele edafice (Magda Călugăr, Felicia Bulimar, Marina Huțu). Global, pe suprafața lotului experimental, numărul de indivizi a crescut în intervalul cercetat de aproximativ trei ori, efectul stimulator al alternanței culturilor fiind amplificat de fertilizarea moderată a solului (fig. 2 b). Acest fapt este atestat de saltul cantitativ înregistrat de microartropode în anul 1987, odată cu administrarea de amendamente și îngrășăminte chimice.

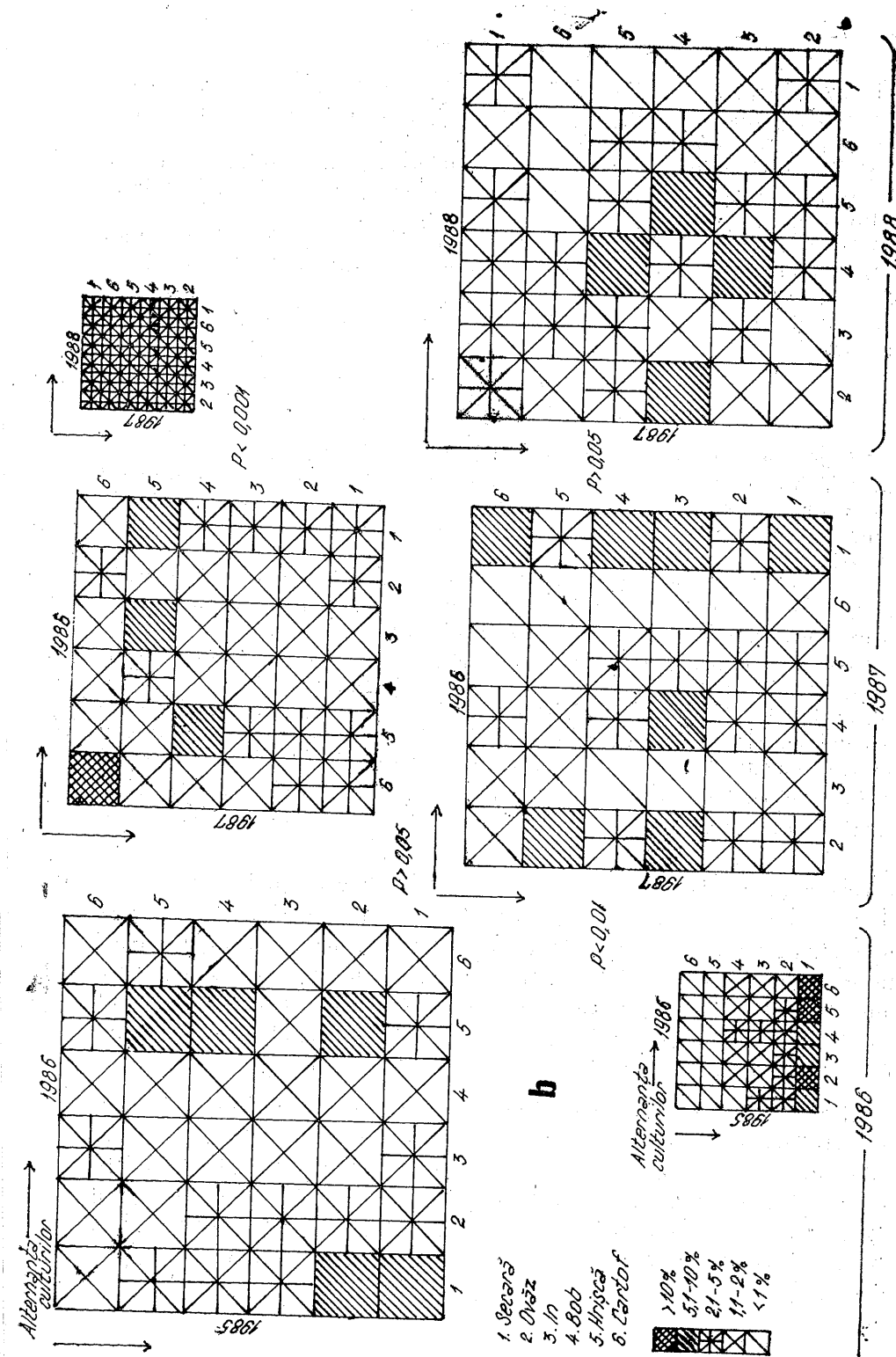


Fig. 2 — Influența asolamentului asupra unor aspecte ale activității biologice a solului din lotul experimental lișești: a. Activitatea dehidrogenazăică a microflorei solului (%). b. Densitatea indivizilor de microartropode edafice (%).

Tabelul nr. 1

Efectul plantei premergătoare asupra activității dehidrogenazăice și respirației globale a solului (exprimat în % față de monocultură) *

Alternanța		1986		1987		1988	
1986	1985	AD	CO ₂	AD	CO ₂	AD	CO ₂
Secară	Secară	100 (2,62)	100 (350)	100 (1,07)	100 (198)	100 (0,80)	100 (70)
	Ovăz	94	72	79	96	140	180
	In fuior	69	94	65	88	127	143
	Bob	28	63	75	81	137	186
	Hrișcă	68	91	291	131	120	143
	Cartof	20	93	53	53	100	100
Ovăz	Secară	403	164	148	132	66	56
	Ovăz	100 (1,05)	100 (262)	100 (0,61)	100 (152)	100 (0,47)	100 (125)
	In fuior	55	82	105	123	70	72
	Bob	59	92	84	100	85	84
	Hrișcă	331	153	82	66	64	56
	Cartof	54	53	85	79	64	56
In fuior	Secară	153	158	77	77	109	133
	Ovăz	126	113	105	135	126	113
	In fuior	100 (0,60)	100 (166)	100 (0,60)	100 (130)	100 (0,34)	100 (75)
	Bob	113	134	112	135	97	100
	Hrișcă	135	180	305	215	95	123
	Cartof	102	96	92	81	126	180
Bob	Secară	165	164	61	57	147	190
	Ovăz	160	185	74	86	88	70
	In fuior	98	105	74	88	100	80
	Bob	100 (0,53)	100 (166)	100 (0,95)	100 (210)	100 (0,34)	100 (100)
	Hrișcă	540	214	54	45	124	120
	Cartof	304	163	58	50	109	90
Hrișcă	Secară	22	49	116	122	98	109
	Ovăz	10	36	128	132	67	46
	In fuior	13	46	57	149	83	57
	Bob	10	38	690	250	83	63
	Hrișcă	100 (4,48)	100 (472)	100 (0,67)	100 (152)	100 (0,48)	100 (175)
	Cartof	24	50	72	69	90	74
Cartof	Secară	59	71	21	66	106	110
	Ovăz	65	83	21	71	97	80
	In fuior	182	129	16	64	120	130
	Bob	110	89	16	63	100	90
	Hrișcă	54	76	13	47	134	165
	Cartof	100 (0,82)	100 (210)	100 (4,10)	100 (295)	100 (0,35)	100 (100)

* Pentru monoculturi (în paranteze): activitatea dehidrogenazăică (AD) s-a exprimat în mg formazan (TPF), iar respirația globală a solului (CO₂) în mg CO₂/m²/oră.

Influența culturii în curs s-a resimțit puternic în 1986, când au apărut diferențe foarte semnificative între densitățile indivizilor din solele cultivate cu cereale și cele cultivate cu plante prășitoare (cartof), unde valorile au fost extrem de scăzute. În anul 1987, dar în special în 1988, decalajele dintre densități s-au atenuat, rămânând cu valori nesemnificative. De asemenea, în 1988, influența plantei premergătoare asupra efectivelor de microartropode a fost mult mai mică comparativ cu anii precedenți (tabelul nr. 2 și fig. 2 b). Constatarea reflectă, și în cazul faunei edafice,

Tabelul nr. 2

Efectul plantei premergătoare asupra densității indivizilor de microartropode (exprimat % față de monocultură) (valori medii/100 cm² ± intervalul de confidență pentru $\alpha = 95\%$)

Alternanța		1986	1987	1988
1986	1985			
Secară	Secară	100 (68,50 ± 20,48)	100 (113,00 ± 66,32)	100 (54,00 ± 79,98)
	Ovăz	147	79	101
	În fuioar	71	83	136
	Bob	96	162	93
	Hrișcă	127	64	150
Ovăz	Cartof	121	97	42
	Secară	134	100	150
	Ovăz	100 (21,67 ± 25,76)	100 (64,50 ± 50,08)	100 (30,62 ± 66,72)
	În fuioar	173	172	40
	Bob	79	103	140
În fuioar	Hrișcă	98	162	140
	Cartof	59	61	134
	Secară	172	238	53
	Ovăz	74	190	46
	În fuioar	100 (11,33 ± 9,13)	100 (10,50 ± 15,76)	100 (62,00 ± 116,12)
Bob	Bob	184	210	284
	Hrișcă	103	330	104
	Cartof	77	246	68
Hrișcă	Secară	31	177	19
	Ovăz	50	119	151
	În fuioar	49	167	53
	Bob	100 (20,83 ± 11,74)	100 (56,00 ± 41,97)	100 (78,33 ± 23,27)
	Cartof	43	70	151
Cartof	Hrișcă	38	85	98
	Secară	40	211	20
	Ovăz	37	255	82
	În fuioar	91	234	20
	Bob	103	362	125
	Hrișcă	100 (5,83 ± 8,09)	100 (23,83 ± 17,51)	100 (101,6 ± 185,58)
	Cartof	111	66	46
	Secară	129	157	69
	Ovăz	72	84	182
	În fuioar	100	75	224
	Bob	272	83	240
	Hrișcă	143	65	75
	Cartof	100 (2,33 ± 2,49)	100 (15,6 ± 8,42)	100 (22,35 ± 37,87)

tendința de uniformizare a condițiilor bioedafice prin practicarea parcelelor subdivizate. Este indiscutabil că, la această situație, au contribuit, pe lângă factorii de producție aplicați, și particularitățile climatice ale anului 1988 (precipitații mai bogate). De altfel, condițiile climatice au influențat în mare măsură efectul culturii premergătoare asupra acestor animale edafice. În multe cazuri, răspunsul micrartropodelor față de particularitățile bioedafice induse de cultura premergătoare diferă de la un an la altul, neputându-se stabili, pentru moment, o regulă. Totuși, frecvent, culturile premergătoare de bob sau borceag au stimulat densitatea indivizilor.

Datele obținute nu indică preferințe clare ale unui grup pentru o anumită cultură. Se pare că unele oribatide (*Scheloribates laevigatus*) au prezentat cu predilecție efective mai mari în solele cultivate cu cartofi (tabelul nr. 3). Această observație concordă cu rezultatele obținute anterior (2). Este cert că umiditatea solului a avut un rol important în privința raportului dintre diferiții taxoni. Acest factor a determinat, în principal, raportul numeric dintre oribatide și colembolae, precum și raportul numeric dintre oribatide și ceilalți acarieni, reprezentați în cea mai mare parte prin actinedide. Astfel, umiditatea solului deosebit de scăzută din intervalul 1986—1987 se reflectă în valorile mai mari ale primului raport, dar mai mici ale celui de-al doilea. Seceta prelungită a afectat evoluția colembolaelor și a favorizat creșterea numerică a actinedidelor — acarieni rezistenți la scăderi ale umidității și la dezgolirea solului de vegetație (2), (10). În schimb, precipitațiile bogate din anul 1988 au permis refacerea populațiilor de colembolae și, deci, modificarea raportului numeric amintit în favoarea acestor insecte apterigote. Totodată, este posibil ca nitrocalcarul acumulat cu P₂O să fi atras și dezvoltarea numerică a colembolaelor (2).

Tabelul nr. 3

Raportul numeric dintre principalii taxoni de microartropode edafice

Alternanța		1986		1987		1988	
1986	1985	O/C	O/A	O/C	O/A	O/C	O/A
Secară	Secară	7,99	0,63	0,40	0,29	0,10	0,22
	Ovăz	0,60	0,15	0,36	0,60	0,58	0,25
	În fuioar	2,12	0,42	0,56	0,63	0,04	0,22
	Bob	2,54	0,20	0,55	0,23	0,36	1,55
	Hrișcă	1,93	0,47	0,64	0,39	0,16	0,27
Ovăz	Cartof	0,65	0,15	0,19	0,12	0,15	0,39
	Secară	2,33	0,64	0,69	0,97	0,02	0,06
	Ovăz	6,63	0,39	1,38	0,99	0,68	0,44
	În fuioar	12,00	0,21	0,20	0,26	0,23	0,30
	Bob	3,30	1,05	1,11	0,53	0,26	0,35
În fuioar	Hrișcă	24,34	1,55	1,32	0,68	0,13	0,86
	Cartof	0,95	0,51	4,04	1,01	0,03	0,19
	Secară	22,00	1,53	6,70	0,93	0,58	0,24
	Ovăz	9,34	1,56	4,45	0,83	0,63	5,83
	În fuioar	6,67	2,00	9,34	1,04	0,50	0,48
Bob	Bob	0,56	0,56	4,13	1,53	0,15	0,77
	Hrișcă	3,19	1,52	2,40	0,77	0,22	1,42
	Cartof	0,23	0,54	1,72	0,30	0,89	0,67

Tabelul nr. 3 (continuare)

1	2	3	4	5	6	7	8
Bob	Secară	0,67	0,46	5,97	0,48	0,71	3,76
	Ovăz	0,83	1,67	5,53	1,08	0,25	0,82
	În fuior	1,73	3,07	5,62	0,64	0,15	0,94
	Bob	1,30	2,48	6,43	0,78	0,13	1,10
	Hrișcă	1,67	0,44	2,67	0,66	0,08	1,28
Hrișcă	Cartof	7,06	0,45	3,39	0,32	0,43	0,25
	Secară	0,75	0,66	5,90	2,42	0,58	0,85
	Ovăz	0,62	0,62	3,33	0,94	0,09	0,24
	În fuior	21,59	4,42	1,46	1,05	0,10	0,36
	Bob	11,61	4,61	3,98	0,96	0,16	0,33
Cartof	Hrișcă	—	2,41	0,94	0,49	0,14	0,21
	Cartof	3,01	1,71	0,86	1,19	0,57	0,10
	Secară	11,76	2,38	8,61	2,95	0,27	9,09
	Ovăz	3,94	0,67	1,44	0,65	1,28	1,19
	În fuior	12,76	—	5,50	2,10	1,43	2,10
	Bob	16,15	6,35	2,78	0,58	1,06	1,55
	Hrișcă	17,65	—	0,59	0,26	1,13	2,42
	Cartof	9,82	2,49	0,95	0,34	0,19	0,09

C — colebole; O — oribatide; A — a'ți acarieni (actinide, tarsonemide, gamaside)

DISCUȚII ȘI CONCLUZII

Rezultatele prezentate demonstrează că asolamentul în sistem de parcele subdivizate, întreținute printr-o amendare și fertilizare moderată, nu a dus la intensificarea de lungă durată a activității globale a microflorei dintr-un sol cu o capacitate biogenă redusă. Dar, aceste procedee s-au dovedit deosebit de eficiente pentru ameliorarea structurii cenzelor de microartropode edafice, chiar și în condițiile unei perioade caracterizate printr-un deficit de umiditate.

În general, diferențierile dintre sole arată că atât efectul culturii în curs, cât și al culturii premergătoare au depins mult de particularitățile climatice ale anului. Perioadele secetoase au accentuat deosebirile structurale și funcționale dintre efectivele populaționale ale seletor cultivate cu cereale și cele cu plante prășitoare. Desigur că lucrările mecanice repetate au contribuit la reducerea și mai pronunțată a umidității solului (16). Dimpotrivă, în perioadele cu precipitații bogate a existat o tendință de uniformizare a activității biologice a solului acestui teren.

Comportamentul surprinzător al microflorei devine plauzibil dacă se are în vedere rolul de reglator jucat de microartropode în subsistemul descompunătorilor edafici (9), (17). Este cunoscut că, prin consumul de microfloră, aceste animale asigură nu numai revitalizarea și diseminarea coloniilor, ci și limitarea înmulțirii lor exagerate. După expresia lui MacFadyen (1964), microartropodele reprezintă veritabili catalizatori ai activității microbiene a solului (17). De reținut că, pentru îndeplinirea acestei funcții, trebuie să existe un raport de forțe între cele două categorii de organisme edafice (9). Un salt cantitativ deosebit al animalelor edafice micofage, așa cum s-a petrecut în cazul lotului experimental analizat, a dus la un supraconsum de microfloră și, în consecință, la diminuarea activității enzimelor din sol.

BIBLIOGRAFIE

1. ALEINICOVA M. M., UTROBINA N. M., *Progress in Soil Zoology*, Vaněk, Praga, II : 429—435, 1975.
2. CĂLUGĂR MAGDA, RUSAN M., HUȚU MARINA, BULIMAR FELICIA, VIȚALARIU CRISTINA, DAVIDESCU G., CATARGIU D., *Analele șt. Univ. „Al. I. Cuza”*, Iași, 33, seria II-a Biol. : 73—76, 1987.
3. DOMMERQUES Y., MANGENOT F., *Écologie microbienne du sol*. Masson et Cie, Paris, 1970.
4. ELIADE GH., GHINEA L., ȘTEFANIC GH., *Bazele biologice ale fertilității solului*, Edit. Ceres, București, 1984.
5. GRIMM H., RECKNAGEL R. D., *Grundkurs Biostatistik*. VEB G.V.F., Jena, 1985.
6. KISS ȘT., DRĂGAN-BULARDA M., RĂDULESCU D., *Contribuții botanice*, Grădina Botanică, Cluj, 377—397, 1971.
7. KÖNNECKE G., *Fruchtfolgen*. VEB Deutschen Landwirtschafts Verlag, Berlin, 1967.
8. KRANTZ G. W., *A Manual of Acarology*. Oregon State University Book Stores, Inc. Corvallis, 1978.
9. LEBRUN PH., *Rev. Écol. Biol. Sol.*, 24 (4) : 495—502, 1987.
10. LOOTS G. C., RYKE P. A. J., *Pedobiol.*, 7 : 121—124, 1967.
11. NAGLITSCH F., STEINBRENNER K., *Pedobiol.*, 2 : 252—264, 1963.
12. NAGLITSCH F., *Pedobiol.*, 6 : 178—193, 1966.
13. PALISSA A., *Insecten. I. Teil Apterygota*, Tierwelt Mitteleuropas. Von Quelle und Mayer. Leipzig, 4 (1) : 1—300, 1964.
14. PARKINSON D. et al., *Methods for studying the Ecology of soil microorganisms*. Blackwell Sci. Publ., Oxford, I.B.P. Handbook, 19 : 1971.
15. ȘERBĂNESCU N., CATARGIU D., *Wiss. Z. Univ. Halle Math. Nat.*, 10 (2/3) : 311—314, 1961.
16. WALLWORK J. A., *The Distribution and Diversity of Soil Fauna*. Academic Press, London, LTD, 1976.
17. WALLWORK J. A., *New Trends in Soil Biology*, VIII. Intern. Soil. Zool. Colloquium. Ph Lebrun et al., Louvain-la-Neuve, p. 29—34, 1983.

Primit în redacție
la 3 iulie 1989

Centrul de cercetări biologice
Iași, Calea 23 August nr. 20 A

* Stațiunea de cercetări agricole Suceava,
Suceava, B-dul 1 Mai nr. 15

INFLUENȚA TRATAMENTULUI CU PITEZIN ASUPRA FAUNEI DIN CERNOZIOMUL CAMBIC DE LA ICCPT-FUNDULEA

M. FALCĂ, LILIANA VASILIU-OROMULU, VICTORIA CARACAS
și VIORICA HONCIUC

The influence of Pitezin on Lumbricidae, Nematoda, Acarina, Collembola, Myriapoda, Coleoptera, Lepidoptera, Heteroptera and Araneida is shown in maize fields, at ICCPT-Fundulea

Ierbicidele pot afecta populațiile de animale nevertebrate din sol, direct sau indirect, modificând compoziția specifică a fiecărui grup de organisme în parte.

Având în vedere importanța numărului de indivizi ca test major pentru evidențierea influenței pitezinului asupra faunei din sol, am abordat acest aspect în 4 suprafețe cultivate cu porumb, fiind luate în studiu toate grupele de organisme nevertebrate.

Cercetări similare au fost efectuate atât în străinătate, cât și la noi în țară. Astfel, Edwards, în 1970 (2), arată că dintr-un număr de 13 ierbicide, unele nu au nici un efect asupra faunei din sol, altele determină creșterea numărului de indivizi sau altele, între care și atrazinul (substanța de bază din compoziția pitezinului), determină reducerea numărului de indivizi.

Eijsackers și Drift, în 1977 (3), relevă că influența atrazinului asupra nematodelor, în experimente în câmp, a constat atât în creșterea ușoară a numărului de indivizi, cât și în lipsa oricărui efect. Asupra acarienilor, colembolilor, larvelor de coleoptere și lumbricidelor, atrazinul a determinat o reducere a numărului de indivizi.

Fratello și colaboratori, în 1985 (8), au pus în evidență scăderea numărului de indivizi sub influența atrazinului, la unele grupe de faună de sol: acarieni, colemboli și miriapode.

Mola și colaboratori, în 1987 (9), au relevat reducerea numerică a miriapodelor din stratul superficial al solului, în cazul suprafețelor tratate cu atrazin (6 kg/ha).

Popovici și colaboratori, în 1988 (11), au pus în evidență efectul atrazinului, în suprafețe însămânțate cu porumb, asupra protozoarelor, enchitreidelor, acarienilor, colembolilor, larvelor de diptere și insectelor adulte, care au scăzut numeric. Nematodele nu au fost influențate de atrazin.

Paralel cu cercetările efectuate în câmp a fost studiat efectul direct al atrazinului în condiții de laborator asupra faunei de nevertebrate din sol (1).

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 42, nr. 1, p. 49—56, București, 1990

Astfel, Caseley și Eno, în 1966 (1), au demonstrat că atrazinul în doză de 64 ppm nu a influențat populațiile de lumbricide aparținând speciilor *Lumbricus terrestris* și *Eudrilus eugeniae*.

La speciile de colebole *Onychiurus aquanicus* și *O. armatus*, Mola și colaboratori, în 1987 (9), au indicat o rată a mortalității de 18,7—46,7% după 30—60 de zile de la aplicarea unei doze de 2,5 ppm atrazin.

Sensibilitatea diferită a două specii de nevertebrate din sol față de atrazin poate fi explicată și prin selecția genetică a populațiilor rezistente.

MATERIAL ȘI METODĂ

Cercetările au fost efectuate în 4 suprafețe însămînțate cu porumb, una martor și 3 tratate cu pitezin, în doze de 5,10 și 20 kg/ha. Au fost recoltate câte 10 probe de sol, pe 3 nivele de adâncime ($S_1 = 0-3$ cm, $S_2 = 3-6$ cm, $S_3 = 6-9$ cm) pentru nematode, acarieni, colebole și pe un singur nivel (0-9 cm) pentru enchitreide, cu ajutorul sondei de tip MacFadyen modificată. Extragerea organismelor din probe a fost efectuată prin tehnici specifice fiecărui taxon. Celelalte grupe de faună au fost colectate prin efectuarea de relevee de 25/25 cm, de pe 4 nivele de adâncime ($S_1 = 0-10$ cm, $S_2 = 10-20$ cm, $S_3 = 20-30$ cm, $S_4 = 30-40$ cm).

În vederea evidențierii influenței pitezinului asupra faunei de nevertebrate din sol a fost testată ipoteza de nul (12). Dacă media numărului de organisme din suprafața martor, comparativ cu mediile din suprafețele tratate, prezintă diferențe semnificative, la un anumit nivel de confidență se respinge ipoteza de nul, ceea ce înseamnă că pitezinul are influență asupra faunei din sol, determinând o reducere a numărului de indivizi. Aceste diferențe sînt cu atît mai mari, cu cît doza de pitezin la unitatea de suprafață a fost mai mare. Procedul comparării mediei numărului de organisme din suprafețe diferite trebuie să țină cont de tipul de distribuție a organismelor respective. Pentru aceasta, s-a utilizat indicele de supradispersie Bliss și Fischer reprezentat prin raportul varianței și mediei. Dată fiind valoarea supraunitară a acestui raport se consideră că indivizii aparținînd speciilor edafice corespund tipului grupat de distribuție, în acest caz modul de lucru fiind cel neparametric ce utilizează testul sumei rangurilor, la un nivel de confidență de 95%.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Cercetările întreprinse în suprafețele însămînțate cu porumb au pus în evidență aspecte caracteristice privind influența pitezinului asupra fiecărui grup de organisme în parte. Menționăm de la început faptul că densitatea numerică a faunei edafice este foarte scăzută pentru toate grupele de organisme.

Fauna de nematode (tabelul nr. 1) prezintă valori extrem de mici ale densității numerice atît în suprafața martor, cît și în suprafețele tratate cu pitezin.

Tabelul nr. 1
Densitatea faunei de nevertebrate în solul cultivat cu porumb de la ICCPT-Fundulea (media numărului de exemplare la m²)
Nivel de confidență 95%

Grupul faunistic	Data colectării (luna)	Nivelul	Suprafață netratată (control)		Suprafețe tratate cu atrazin					
					5 kg/ha		10 kg/ha		20 kg/ha	
					+	S $\pm$	+	S $\pm$	+	S $\pm$
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nematoda	IV	S_1	152,0	20,69	105,6	22,90	132,8	31,56	148,8	38,31
		S_2	60,8	14,86	75,2	22,63	222,4	65,73	238,4	58,40
		S_3	25,6	10,72	16,0	7,20	182,4	47,20	536,0	257,50
		Total	238,4	155,5	196,8	121,10	537,6	281,80	923,2	558,81
Enchytraeidae	IX	S_1	80,0	12,16	60,8	20,67	40,0	12,68	240,0	80,78
		S_2	107,2	21,02	104,0	33,33	51,2	18,90	214,4	32,37
		S_3	121,6	39,58	67,2	22,48	84,8	22,76	268,8	68,33
		Total	308,8	160,36	232,0	123,13	176,0	96,12	723,2	370,46
Lumbricidae	IV		4,8	2,44	—	—	1,6	1,6	—	—
			8,0	6,42	—	—	—	—	—	—
		S_1	9,6	3,54	4,8	2,44	3,2	3,20	4,8	2,44
		Total	11,2	2,44	11,2	4,80	9,6	4,27	—	—
Oribatida	IX	S_1	30,4	15,54	28,8	15,96	24,10	13,75	4,8	2,44
		S_2	1,6	1,6	—	—	—	—	—	—
		S_3	—	—	—	—	—	—	—	—
		Total	1,6	1,6	—	—	—	—	—	—
	IV	S_1	28,8	25,44	17,6	14,2	11,2	6,8	—	—
		S_2	14,4	12,72	—	—	11,2	6,3	3,2	1,6
		S_3	—	—	—	—	—	—	1,6	3,4
		Total	43,2	26,78	17,6	14,2	22,4	7,6	4,8	7,9
	IX	S_1	32,0	16,2	20,8	6,3	19,2	41,1	16,0	6,4
		S_2	3,2	3,2	19,2	7,5	8,9	4,9	8,0	6,4
		S_3	3,2	3,2	1,6	1,6	16,0	12,8	3,2	2,1
		Total	38,4	31,6	41,6	26,5	43,2	23,6	27,2	16,9

Tabelul nr. 1. (continuare)

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Gamasidae	IV	S ₁ S ₂ S ₃ Total	— — — —	— — — —	6,4 1,6 — 8,0	2,6 1,6 — 2,7	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
	IX	S ₁ S ₂ S ₃ Total	32,0 — — 32,0	16,2 — — 16,2	12,8 — 1,6 14,4	3,9 — 1,6 12,8	— 1,6 4,8 6,4	— 1,6 2,4 10,6	20,8 8,0 3,2 32,0	15,6 4,3 3,2 21,2
	IV	S ₂ S ₁	1,6 —	1,6 —	— —	— —	— —	— —	— 1,6	— 1,6
	IV	S ₁ S ₂ S ₃ Total	28,8 16,0 — 44,8	25,44 14,31 — 31,35	24,0 1,6 — 25,6	18,0 1,6 — 22,88	11,2 11,2 — 22,4	6,8 6,3 — 7,6	1,6 3,2 1,6 6,4	1,6 3,2 1,6 3,5
	IX	S ₁ S ₂ S ₃ Total	64,0 3,2 3,2 70,4	42,67 3,20 3,20 63,43	33,6 19,2 3,2 56,0	23,18 7,5 2,1 36,43	14,1 9,6 20,8 49,6	14,1 7,9 16,2 26,8	36,8 16,0 6,4 59,2	24,8 10,7 4,3 38,0
	IV	S ₁ S ₂ S ₃ Total	33,6 8,0 — 41,6	5,03 2,67 — 33,66	30,4 9,6 3,2 43,2	4,43 2,61 2,10 30,55	24,0 — — 24,0	3,58 — — 3,58	27,2 4,8 — 32,0	5,9 2,4 — 27,1
	IX	S ₁ S ₂ S ₃ Total	92,8 24,0 14,4 131,2	14,07 4,30 2,87 92,34	65,6 19,2 11,2 96,0	8,42 4,65 2,44 65,62	78,4 28,8 9,6 116,8	9,37 3,99 2,61 79,61	54,4 20,8 8,0 83,2	5,4 5,9 2,7 55,4
	IV	S ₁ S ₂ S ₃ Total	1,6 — — 1,6	1,6 — — 1,6	— 1,6 3,2 —	— 1,6 2,1 —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
	IX	S ₁ S ₂ S ₃ Total	4,8 — — 4,8	3,4 — — 3,4	— 3,2 3,2 —	— 3,2 3,2 —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
Collembola										
Myriapoda	IV	S ₁ S ₂ S ₃ Total	1,6 — — 1,6	1,6 — — 1,6	— 1,6 3,2 —	— 1,6 2,1 —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
	IX	S ₁ S ₂ S ₃ Total	4,8 — — 4,8	3,4 — — 3,4	— 3,2 3,2 —	— 3,2 3,2 —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —

Tabellul nr. 1 (continuare)

[illegible]

În lunile aprilie și septembrie, la datele colectării probelor, umiditatea solului a fost foarte mică, în unele cazuri sub punctul de ofilire (tabelul nr. 2), ceea ce a reprezentat una din cauzele care au determinat o reducere considerabilă a numărului de indivizi. Tratatamentul cu pitezin a influențat în mod diferențiat densitatea numerică a nematodelor.

În aprilie, în suprafața martor și în cea tratată cu 5 kg/ha, densitățile numerice sînt apropiate, atît pe nivele de adîncime, cît și pe total. În schimb, în aceeași perioadă, densitatea numerică a crescut în suprafețele tratate cu doze de 10 și respectiv 20 kg pitezin/ha, în special în ultima variantă, în care densitatea numerică a crescut aproximativ de 4 ori, comparativ cu suprafața martor.

În septembrie, densitatea numerică a nematodelor a crescut numai în suprafața tratată cu 20 kg pitezin/ha comparativ cu suprafața martor. În celelalte suprafețe, față de martor, numărul nematodelor a scăzut. Testul sumei rangurilor respinge ipoteza de nul și evidențiază influența pitezinului asupra nematodelor, cu o probabilitate de $P < 0,01$.

Tabelul nr. 2

Umiditatea relativă a solului în suprafețele însămînțate cu porumb și tratate cu pitezin de la ICCPT — Fundulea

Suprafața	Nivelul (cm)	Aprilie	Septembrie
Martor	0—1	21,13	14,20
	10—20	19,39	13,58
	20—30	35,51	13,13
5 kg pitezin/ha	0—18	21,27	9,80
	10—20	23,23	13,50
	20—30	19,79	13,71
10 kg pitezin/ha	0—10	19,52	8,20
	10—20	22,38	11,24
	20—30	18,01	14,07
20 kg pitezin/ha	0—10	21,40	8,07
	10—20	19,43	13,70
	20—30	21,25	12,16

Fauna de enchitreide prezintă valori, de asemenea, extrem de mici ale densității numerice, comparativ cu solurile de pădure, de pajiști, chiar și cu alte soluri agricole.

Umiditatea solului foarte scăzută, asociată cu lipsa substanțelor organice în descompunere o lungă perioadă din an, reprezintă cauze care au determinat o reducere drastică a numărului de indivizi la metru pătrat.

Influența pitezinului asupra enchitreidelor (vezi tabelul nr. 1) în condițiile unei densități numerice extrem de mici este greu de apreciat. Testul sumei rangurilor respinge ipoteza de nul cu o probabilitate de $P < 0,01$.

Fauna de lumbricide, dintre grupele de animale edafice reprezentative, este foarte redusă din punct de vedere numeric. Avînd în vedere că

aciditatea solului, în cazul cernoziomului de la Fundulea, cu valori de pH în jur de 6 (tabelul nr. 3), nu reprezintă un factor limitativ pentru rîme, explicația valorilor extrem de mici ale densității numerice poate consta în umiditatea foarte mică a solului și în lipsa substanțelor organice în descompunere.

Tabelul nr. 3

pH-ul solului în suprafețele însămînțate cu porumb și tratate cu pitezin de la ICCPT — Fundulea în luna septembrie 1989

Suprafețe	Nivelul (cm)	pH
Martor	0—10	6,25
	10—20	6,15
	20—30	6,20
5 kg pitezin/ha	0—10	5,60
	10—20	5,80
	20—30	6,20
10 kg pitezin/ha	0—10	5,70
	10—20	5,60
	20—30	6,25
20 kg pitezin/ha	0—10	5,35
	10—20	5,65
	20—30	5,65

Oribatidele reprezintă un grup important de animale edafice. Și în cazul lor, umiditatea redusă a solului a reprezentat principala cauză a densității numerice foarte mici, cu valoare în jur de 20 de exemplare la metru pătrat în suprafața martor.

Și la oribatide a fost respinsă ipoteza de nul, cu $P < 0,01$ pentru toate suprafețele tratate cu pitezin, comparativ cu suprafața martor, ceea ce evidențiază influența pitezinului asupra acestor organisme.

Colembolele sînt insecte apterigote, detritivore, care, alături de lumbricide și acarieni, reprezintă verigi importante în activitatea de descompunere a substanței organice. Solul suprafețelor de la Fundulea, cu umiditate redusă și substanțe organice în descompunere de asemenea reduse, nu reprezintă un mediu de viață prielnic pentru aceste insecte inferioare și, ca o consecință, se înregistrează valori reduse ale densității numerice în jur de 100 de indivizi la metru pătrat în suprafața martor și mai puține în celelalte suprafețe (vezi tabelul nr. 1).

Testul sumei rangurilor respinge și în acest caz ipoteza de nul, cu $P < 0,01$, și prin urmare pitezinul influențează populațiile de colembol, micșorînd valoarea densității numerice.

Celelalte grupe de animale edafice evidențiate în tabelul nr. 1 prezintă aceleași caracteristici structurale numerice ca și grupele descrise anterior și anume, densitățile numerice sînt mici datorită umidității scăzute a solului și influenței substanțelor organice în descompunere. Și în cazul acestor grupe, prin utilizarea testului sumei rangurilor, a fost respinsă ipoteza de nul, cu $P < 0,01$.

CONCLUZII

Din cercetările efectuate în suprafețele însămânțate cu porumb și tratate cu pitezin, în condițiile unui cernoziom cambic cu umiditate redusă în jur de 25% primăvara și de 12% toamna, și un pH în jur de 6, se desprind următoarele concluzii:

— densitatea numerică a tuturor grupelor faunistice studiate prezintă valori extrem de mici, datorită, în special, uscăciunii puternice a solului;

— influența pitezinului asupra faunei edafice a fost relevată prin utilizarea procedurii neparametric al sumei rangurilor, cu $P < 0,01$, fiind respinsă ipoteza de nul;

— pitezinul a avut acțiuni diferențiată asupra diferitelor grupe de animale edafice: a determinat scăderea numărului de indivizi pe unitatea de suprafață la anumite grupe faunistice (enchitreide, lumbricide, oribatide) și creșterea acestuia la alte grupe (nematode);

— nu au fost puse în evidență diferențe semnificative numerice între probele din primăvară și cele din toamnă, ca rezultat al acțiunii permanente a pitezinului.

BIBLIOGRAFIE

1. CASELEY J. C., ENO C. F., Proc. Soil. Sci. Soc. Am., 1966, 30: 346—350.
2. EDWARDS C. A., Proc 10th Weed Control Conf., 1052—1057, 1970.
3. EIJSACKERS H., DRIFT van DER J., *Herbicides: Physiology, Biochemistry, Ecology*, Audus L. T., Holland, vol. 2, p. 149—181, 1977.
4. EIJSACKERS H., 5th Int. Col. on Soil Zool., Prague, 1973.
5. EIJSACKERS H., Z. ang. Ent., 85 (4): 341—360, 1978.
6. ELIADE GH., GIINEA L., ȘTEFANIC GH., *Bazele fiziologice ale fertilității solului*. Edit. Ceres, București, 1983.
7. FOX C. J. S., Canad. J. Pl. Sci., 44 (5): 405—409, 1964.
8. FRATELLO B., BERTOLANI R., SABATINI M. A., MOLA L., RASSU M. A., *Pedobiologia*, 28: 161—168, 1985.
9. MOLA L., SABATINI M. A., FRATELLO B., BERTOLANI R., *Pedobiologia*, 30: 145—149, 1987.
10. PIZL V., *Pedobiologia*, 82: 227—232, 1988.
11. POPOVICI J., STAN G., ȘTEFAN V., TOMESCU R., DUMEA A., TARTA A., DAN F., *Pedobiologia*, 17 (3): 209—215, 1977.
12. SNEDECOR G. W., *Metode statistice aplicate în cercetările de agricultură și biologie*. Edit. Didactică și Pedagogică, București, 1968.
13. SUBAGJA J., SNIDER R. J., *Pedobiologia*, 22: 141—152, 1981.

Primit în redacție
la 4 decembrie 1989

Institutul de științe biologice
București, Splaiul Independenței nr. 256

BIOSINTEZA COLAGENULUI *IN VIVO*. INFLUENȚA SUBSTRATULUI DE COLAGEN ASUPRA BIOSINTEZEI COLAGENULUI *IN VITRO*

DORINA MIRANCEA și N. MIRANCEA

The paper presents the results of an electronmicroscopical study on collagen biosynthesis in primordia of newly-born white mice molars "in vivo" and explants cultivated on collagen substratum. The process of fibrillogenesis is complex, being carried out with the participation of several compartments of peripheric cytoplasm and plasmalemma and the extracellular matrix. The cells derived from explants and cultivated on collagen substratum in comparison with those cultivated on glass show a higher proliferative rate with the prevalence of fibroblastic cells producing collagen.

În ultimii ani, interesul multor laboratoare pentru cunoașterea influenței collagenului asupra celulelor și țesuturilor a sporit. În literatura de specialitate au apărut numeroase lucrări care demonstrează convingător faptul că *in vitro*, collagenul potențează capacitatea de aderare a celulelor la substrat (3), mărește rata proliferării celulare (11), induce polarizarea bazală a celulelor epiteliale (4) etc. *In vivo*, collagenul facilitează repararea tisulară postlezională.

Collagenul este principalul component al matricei extracelulare. Acesta este prezent intercelular sub formă de precursori de collagen, de fibrile sau înalt organizat sub formă de fibre. Biosinteza collagenului este încă o problemă controversată. Există o teorie dualistă: 1) Fibrile de collagen sînt mai întii asamblate în ectoplasma fibroblastului și apoi eliberate în spațiul extracelular, unde cresc prin depozitarea secundară a unităților monomerice. 2) Alți autori susțin că fibroblaștii secretă numai unități monomerice solubile care agregă în spațiul extracelular pentru a forma fibre de collagen.

În lucrare prezentăm aspecte ale procesului de biosinteză a collagenului de tip fibrilar și influența unui substrat de collagen asupra acestui proces, utilizînd modele experimentale *in vitro*.

MATERIALE ȘI METODE

Explante din primordii de molari prelevați de la șoareci albi nou-născuți au fost cultivate *in vitro*, în mediul Eagle +10% SNV, pe membrane de collagen și prelucrate după tehnica uzuală de microscopie electronică. Metoda de preparare a membranelor de collagen a fost prezentată anterior (3). Alți muguri de molari au fost prefixați în glutaraldehidă 1,5% tamponată cu cacodilat de sodiu și postfixați în tetraoxid de osmiu 2%. Materialul biologic a fost inclus în Epon și secționat cu ultramicrotomul LKB. Vizionarea secțiunilor ultrafine s-a realizat la microscopul electronic în transmisie JEM 7 la 50 Kv.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Imaginile electronmicroscopice de ansamblu arată că în primordiile molarilor de șoarece alb, populația celulară majoritară implicată în procesul de fibrilogenază este reprezentată de celule conjunctive tinere (fig. 1). Acestea prezintă numeroase prelungiri celulare mari, precum și micro-extensii celulare; celulele epiteliale sînt rare. Nucleii sînt mari, cu cromatina fină și, adesea, prezintă 1—2 nucleoli, ceea ce sugerează caracterul de celule blastice (aspect „like-fibroblast”). Citoplasma este plină cu ribozomi liberi sau atașați de profilurile dilatate ale reticulului endoplasmic. De asemenea, în citoplasmă se văd mitocondrii de diferite dimensiuni și forme. În unele celule „like-fibroblast” se văd numeroase dilatații ale reticulului endoplasmic pline cu un material amorf (fig. 2). Spațiile intercelulare largi sînt ocupate de material celular amorf sau structurat sub formă de fibrile sau fibre de collagen cu periodicitate.

O caracteristică importantă a morfologiei celulei „like-fibroblast”, din mugurii dentari este aceea că, pe anumite porțiuni ale periferiei celulei limita dintre celule și matricea extracelulară (MEC) este imprecisă (fig. 2). Polimorfismul suprafeței celulare este în relație cu compartimentarea citoplasmei periferice, a plasmalemei și chiar a matricei extracelulare, ceea ce sugerează dinamica procesului de biosinteză și de structurare a unei componente a MEC, implicit a collagenului. Fibroblaștii formează compartimente la periferia lor, fiecare compartiment avînd funcții particulare. Primul compartiment este cel al veziculelor marginale ale suprafeței celulare în care are loc asamblarea monomerilor, cu formarea fibrelor de collagen. Prin fuziunea peretilor laterali ai acestor vezicule se formează niște cavități mai mari ale suprafeței celulare în care fibrele sînt aranjate în mănunchiuri mici. Acesta este cel de-al doilea compartiment extracelular al suprafeței celulare. Ulterior, mănunchiurile de fibre devin coalescente, formîndu-se fascicule mari. Rezultatele noastre sînt concordante cu rezultatele din literatura de specialitate (1), (2), (6—10), (12—14).

În scopul urmăririi influenței substratului de collagen asupra creșterii celulelor implicate în biosinteza collagenului, explante din muguri de molari prelevați de la șoareci albi au fost cultivate în mediul Eagle cu adaos de 10% SNV. Culturile celulare au fost realizate pe substraturi diferite: sticlă și collagen reconstituit sub formă de membrane.

Imaginile electronmicroscopice ale celulelor cultivate pe substratul de collagen au fost obținute pe secțiuni ultrafine tăiate după un plan sagital, care a trecut prin membrana de collagen și coloniile de celule care au proliferat din explant. Explantele cultivate pe sticlă aderă mai slab la substrat. Toate explantele pe substrat collagenic au aderat rapid și ferm la suport și au dezvoltat colonii celulare.

După 5 zile de cultivare a explantelor de molari pe substratul de collagen, la o temperatură de 37° C, la examinarea microscopică se constată că atât celulele fibroblastice, cît și celulele epiteliale au migrat radiar din explante și au proliferat intens, formîndu-se colonii mixte de celule la periferia explantului (fig. 3).

Analizînd comparativ creșterea celulelor pe cele două tipuri de substraturi am remarcat faptul că numărul coloniilor de celule proliferate din

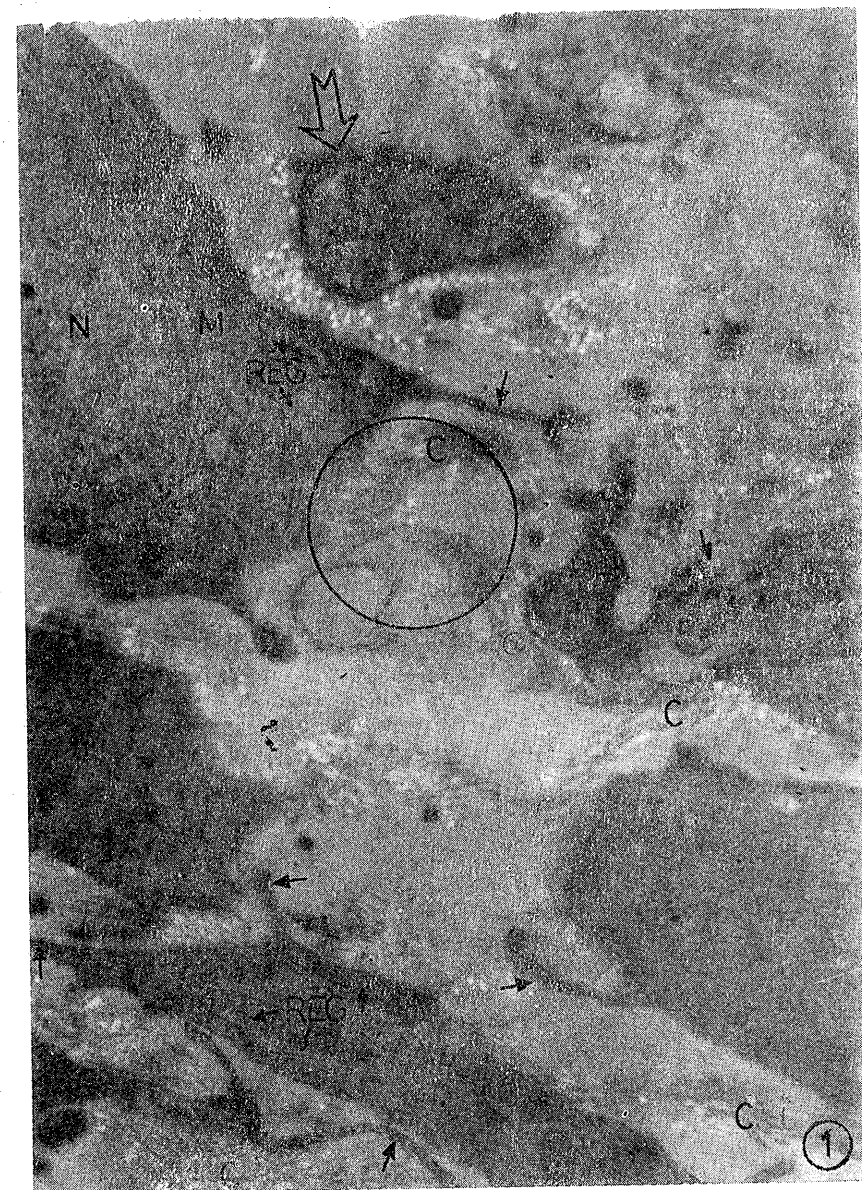


Fig. 1. — Aspectul ultrastructural al celulelor „like-fibroblast” din muguri dentari, implicate în biosinteza collagenului. Se văd prelungiri celulare filiforme (→). Reticulul endoplasmic (REG) este bine dezvoltat. În spațiile intercelulare se văd fibre de collagen (C), care par să iasă direct din fibroblaști (zona încercuită): N = nucleu; M = mitocondrie; ⇒ = sector de fibroblast (×20 000).



Fig. 2. — Sector de fibroblast în care se văd profiluri de REG, parțial dilatate, cu conținut amorf. La periferia celulei, atașat de aceasta, se vede un material fibrilar amorf (→), probabil precursor al fibrelor de collagen (6), bine reprezentat în spațiile intercelulare; * = vacuolă, probabil, cu precursori collagenici. ($\times 36\,000$).

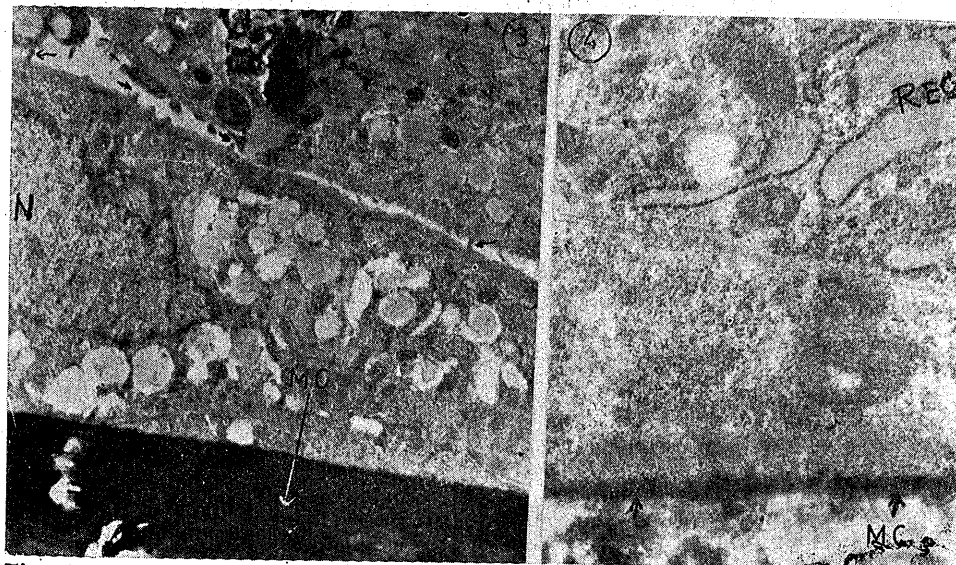


Fig. 3. — Detaliu ultrastructural dintr-o colonie celulară dezvoltată din explante de muguri dentari, cultivate pe un substrat de collagen. Se vede o celulă care a aderat strâns la membrana de collagen (MC). Celulele „like-fibroblast” vin în contact intercelular prin intermediul microvililor (→). În citoplasmă se văd numeroase incluziuni polimorfe, sub raportul conținutului ($\times 22\,000$).

Fig. 4. — La nivelul contactului celulă-substrat de collagen (MC) se vede un material electron opac (→) dispus linear. În sectorul de citoplasmă se văd filamente citoscheletice de stress și elemente ale reticulului endoplasmic granular (REG) dilatate și pline cu conținut amorf ($\times 46\,000$).

explante a fost mai mare în cazul cultivării pe membrane din collagen. De asemenea, suprafața coloniilor și densitatea celulelor proliferate pe substratul de collagen sint mai mari. Examinarea prin obiectivul cu imersie a celulelor din frontul de migrare a coloniilor nou formate arată că celulele sint eutrofice, au nuclee mari, cu 1—2 nucleoli. Celulele fibroblastice prezintă prelungiri celulare și numeroase microextensii celulare cu care se ancorează de substrat. Celulele epiteliale au aspect globular sau poligonal cu raportul N/C mare.

Populația celulară majoritară o reprezintă celulele fibroblastice. Fibroblaștii aderanți la membranele de collagen au forme alungite, iar cei din straturile superioare o formă mai puțin alungită sau tind spre cea globulară. Fibroblaștii care vin în contact direct cu mediul nutritiv se ancorează de celulele subiacente prin prelungiri celulare scurte sau prezintă extensii celulare bulboase.

Celulele care vin în relație directă cu substratul de collagen aderă strâns la acesta, între celule și membrana de collagen observându-se un strat amorf, subțire, electronodens (fig. 4). Citoplasma celulelor „like-fibroblast” este bogată în organite celulare.

Nucleii celulelor fibroblastice care au proliferat *in vitro* sint mari, cu cromatina fin structurată și au 1—2 nucleoli mari, adesea aderanți la membrana internă a anvelopei nucleare.

Uneori, în citoplasmă se văd profiluri dilatate de reticul endoplasmic pline cu material amorf, asemănător cu cel conținut în vacuolele abundente din citoplasmă. Aceste vacuole au dimensiuni variabile și par să fie implicate în geneza unor componente ale matricei extracelulare. Considerăm că ele provin din profilurile mult dilatate ale reticulului endoplasmic granular care pierd ribozomi. Ele își descarcă conținutul în spațiul extracelular prin fuziunea pereților lor cu suprafața membranei celulare (1), (2).

S-a constatat că moleculele de collagen nu agregă în fibrile în reticulul endoplasmic. Cisternele reticulului endoplasmic granular conțin precursori de collagen în concentrații similare cu cele din compartimentele extracelulare de formare a fibrelor. Se consideră că agregarea moleculelor de tropocollagen intracelular este împiedicată de mai mulți factori: a) existența unor molecule de tropocollagen incomplete (5); b) prezența unor inhibitori ai agregării (12) și c) secreția foarte rapidă în spațiul extracelular. În acest context, inițierea fibrei de collagen are loc la nivelul compartimentelor imediat adiacente suprafețelor celulare. În spațiul extracelular se găsește collagen solubil dar, într-o anumită cantitate, și alte proteine, și/sau mucopolizaharide.

Se consideră că eliberarea collagenului în afara celulei se realizează pe două căi: a) formarea unor comunicări directe ale reticulului endoplasmic cu plasmalema și matricea extracelulară și b) formarea unor vezicule de secreție, al căror conținut este eliberat extracelular.

Unii autori (1), (2) sugerează faptul că spațiile intercelulare înguste determină menținerea unei vîscozități crescute a soluțiilor extracelulare, ceea ce împiedică pierderea moleculelor de collagen prin difuzie. Astfel se menține o concentrație locală înaltă a collagenului și aceasta poate să favorizeze formarea fibrelor de collagen.

BIBLIOGRAFIE

1. BIRCK D. E., TRELSTAD R. L., J. Cell Biol., 99 (6): 2024-2034, 1984.
2. BIRCK D. E., TRELSTAD R. L., J. Cell Biol., 103: 231-240, 1986.
3. CALOIANU-IORDĂCHEL MARIA, MIRANCEA N., Rev. roum. Biochim., 19 (3): 193-198, 1982.
4. CHAMBARD M., GABRION J., MAUCHAMP J., J. Cell Biol., 88: 157-166, 1981.
5. CÎRSTEANU MIOARA, VLĂDESCU C., Colagenul - biochimie și fiziologie, Edit. Academiei, București, 1982.
6. GOLDBERG B., GREEN H., J. Cell Biol., 22 (1): 227-259, 1964.
7. GOULD B. S., Collagen biosynthesis. in: Treatise on collagen, vol. 2, Biology of collagen, General Editor Ramachandran G. N., Academic Press, New York, London, 1968.
8. IRWIN A. S., J. Cell Biol., 34 (1): 83-95, 1967.
9. LITWIN J., J. Cell Science, 40: 281-291, 1979.
10. MAJAMAA K., Biochem. J., 196: 203-206, 1981.
11. MIRANCEA N., MIRANCEA DORINA, CALOIANU-IORDĂCHEL MARIA, St. cerc. biol., seria biol. anim., 39 (1): 73-78, 1987.
12. NA G. C., BUTZ L. J., CARROLL R. J., J. Biol. Chem., 261 (26): 12290-12299, 1986.
13. PERLMAN M., BAUM J. L., KAYE G., J. Cell Biol., 63: 306-311, 1974.
14. TRELSTAD R. L., La Recherche, 12 (120): 312-321, 1981.

Primit în redacție
la 18 octombrie 1988

Institutul de științe biologice
București, Splaiul Independenței, nr. 296

STUDII BIOCHIMICE COMPARATIVE ASUPRA LACTAT DEHIDROGENAZEI DE LA *HYPOPHthalmichthys* *MOLITRIX*, *ARISTICHthys NOBILIS* ȘI DE LA HIBRIDUL LOR

DIANA DINU, C. TESIO, DANA IORDĂCHESCU, I. F. DUMITRU și D. VIZITIU

The lactate dehydrogenase activity from the white muscle of the fish species *Hypophthalmichthys molitrix*, *Aristichthys nobilis* and that of their hybrid was studied. The kinetics studies show that the hybrid presents more similitudes with the genitor *A. nobilis*, but has characteristic features. The chromatographic studies emphasize, in the three cases two proteic peaks with LDH activity, but eluted with different elution volumes.

Pe plan mondial, una dintre problemele majore ale pisciculturii este cea a recunoașterii raselor de pești cu importanță economică, în vederea selecționării pentru reproducerea artificială a genitorilor cu cele mai bune însușiri de rezistență, prolificitate și productivitate. Întrucât criteriile clasice bazate pe morfologie, biometrie și colorit nu oferă întotdeauna date sigure pentru identificarea și marcarea genitorilor se folosește din ce în ce mai multe metode bazate pe separarea biochimică a unor constituenți celulari, metode care pun în evidență markeri biochimici și genetici utili scopului propus.

În literatura de specialitate există multe studii privind separarea electroforetică a proteinelor serice și musculare care oferă informații prețioase taxonomice și filogenetice. Astfel de studii (3), (4), (12), (14) au urmărit elucidarea următoarelor probleme: separarea unor specii înrudite și clarificarea statutului lor taxonomic, caracterizarea unor specii și populații de pești și a hibridilor interspecifici, realizarea unor variații intrapopulaționale datorită hrănirii și dimorfismul sexual sezonier.

În această lucrare sunt prezentate studii biochimice comparative ale lactat dehidrogenazei (EC 1.1.1.27) musculare de la genitorii *Hypophthalmichthys molitrix* (♂), *Aristichthys nobilis* (♀) și de la hibridul lor.

La pești, lactat dehidrogenaza este o enzimă tetramerică, alcătuită din patru subunități cu o masă moleculară de 36 000 daltoni (6), între care există o acțiune cooperativă (7), (10). Izoenzimele LDH-1 (H₄) LDH-2 (H₃M) predomină în ser și în țesuturile cu un metabolism oxidativ intens (creier, rinichi), iar izoenzimele LDH-4 (HM₃) și LDH-5 (M₄) predomină în țesuturile cu o glicoliză anaerobă intensă (mușchii scheletici). Taylor (13) a determinat secvența de aminoacizi a izoenzimei LDH-5 izolată din țesutul muscular al rechinului *Squalus acanthias*, iar Adams (1) a realizat aceeași performanță pentru LDH-1 din miocard.

MATERIAL ȘI METODE

Experiențele au fost realizate pe 52 de exemplare de pești: *Hypophthalmichthys molitrix* (♂), *Aristichthys nobilis* (♀) și pe hibridul lor, obținute

de la Stațiunea de cercetări pentru piscicultură de la Nucet. S-au prelevat mușchii albi și s-a realizat un extract de 1 g țesut muscular cu 10 ml soluție de NaCl 0,9%. După mojarare, omogenatul a fost incubat o oră, la 4°C, și apoi centrifugat 10 minute la 7 000 r.p.m. Supernatantul reprezintă extractul proteic total.

Concentrația proteică din extractul proteic total a fost determinată conform metodei Lowry (9), folosind ca standard albumina serică bovină. Dozarea activității LDH s-a efectuat conform metodei lui Babson și Phillips (2), în care se urmărește la 340 nm scăderea densității optice ca urmare a oxidării NADH. Amestecul de reacție conține 1,7 ml soluție tampon Tris-HCl 0,2 M, pH 7,4, 0,1 ml soluție NADH 6,6 mM, 0,7 ml soluție piruvat de sodiu 30 mM și 0,2 ml preparat proteic diluat corespunzător. Pentru fiecare probă se efectuează și un martor care conține aceiași reactivi, cu excepția NADH. Activitatea enzimatică se calculează utilizând formula:

$$(\text{Unități/ml} =) \frac{D.O_{340\text{nm}}/\text{min.}}{6,2} \cdot 5.F$$

unde 6,2. 10⁶cm²/ml este coeficientul de extincție al NADH la 340 nm, iar F este factorul de diluție al extractului proteic total. Activitatea specifică a fost exprimată în unități/mg proteină/minut.

Studiile cromatografice au fost realizate pe o coloană de Sephadex G-200 (0,9 × 10 cm) echilibrată într-o soluție de NaCl 0,9%, eluția fiind realizată cu aceeași soluție salină, cu o viteză de 20 ml/oră. Au fost colectate fracții a câte 3 ml, care au fost analizate din punctul de vedere al concentrației proteice și al activității enzimaticice.

Electroforeza în gel de poliacrilamidă s-a realizat conform metodei descrise de Davis (5), aplicându-se probe de 250 μg proteine per gel. Migrarea electroforetică a fost realizată la 2 mA/gel, timp de 4–5 ore. La sfârșitul migrării electroforetice, benzile proteice au fost evidențiate prin incubarea gelurilor într-o soluție de AmidoBlack 10 B 1 % preparată în acid acetic 7%, timp de 20 minute și prin spălare cu o soluție 7% de acid acetic (11). Izoenzimele LDH au fost vizualizate prin incubarea gelurilor timp de 20 minute, la întuneric, într-o soluție conținând lactat de litiu 0,1 M, 50 mg NAD⁺, 5 mg Nitro Blue Tetrazoliu și 0,5 mg fenazin metosulfat în 100 ml soluție tampon KH₂PO₄ → K₂HPO₄ 0,05 M, pH 7,4.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Au fost realizate studii cinetico-moleculare asupra LDH musculare de la genitorii *H. molitrix*, *A. nobilis* și de la hibridul lor. Menținând constantă concentrația de piruvat din mediul de reacție la 18 μmoli, s-a efectuat un studiu al variației activității LDH cu concentrația de NADH. Enzima de la *A. nobilis* are o activitate medie de 1,44 U/mg proteină/minut și se saturează în NADH la 660 nmoli; cea de la *H. molitrix* are o activitate medie de 0,93 U/mg proteină/minut, saturația în NADH realizându-se la o concentrație de 200 nmoli NADH în mediu; enzima din țesutul muscular al hibridului lor are o activitate medie de 2,37 U/mg proteină/minut, saturându-se în NADH la 660 nmoli.

Reprezentările Lineweaver — Burk (fig. 1) permit calcularea următoarelor valori K_M pentru NADH: 2 × 10⁻⁴ M pentru enzima din *A. nobilis*; 6,8 × 10⁻⁵ M pentru enzima din *H. molitrix* și 2,6 × 10⁻⁴ M pentru LDH din hibrid. Se constată că LDH de la *H. molitrix* prezintă o afinitate de 32 ori mai mare pentru NADH decât enzima de la *A. nobilis*. K_M enzimei de la hibrid este valoric apropiat de valoarea constantei LDH de la *A. nobilis*.

Experiențe similare au fost realizate în vederea determinării concentrației de saturație în piruvat, celălalt substrat al enzimei LDH de la *A. nobilis* se saturează în piruvat la 18 μmoli, cea de la *H. molitrix* la 27 μmoli, în timp ce enzima de la hibrid se saturează la 6 μmoli cetoacid. În figura 2 prezentăm schițele Lineweaver-Burk pentru cele 3 cazuri, care permit calcularea constantelor Michaelis: 4,8 × 10⁻³ M la *A. nobilis*, 9,26 × 10⁻³ M la *H. molitrix* și 1,48 × 10⁻² M la hibrid. Rezultatele obținute indică o afinitate mai mare a LDH pentru NADH decât pentru piruvat. K_M enzimei de la hibrid este mult mai mare decât constantele cinetice determinate la genitori, ceea ce indică un metabolism mai anaerob la hibrid decât la genitori.

S-au realizat studii cinetice în vederea determinării duratei fazei staționare, rezultatele experimentale obținute fiind prezentate în figura 3. Faza staționară a procesului durează 60 secunde pentru LDH de la *A. nobilis*, 90 secunde pentru enzima de la *H. molitrix*, în timp ce la hibrid se evidențiază o cinetică rapidă, faza staționară durind 5–10 secunde.

Investigarea efectului pH asupra activității enzimaticice poate da informații asupra micromediului centrului catalitic activ al LDH în cele trei cazuri studiate. Experiențele au fost realizate cu soluții tampon Tris-HCl 0,2 M, la valori de pH cuprinse între 7,2 și 9,0. Enzima de la *A. nobilis* are o activitate maximă la valori de pH cuprinse între 7,6 și 8,0, în timp ce LDH musculară de la *H. molitrix* prezintă o curbă a variației activității cu pH de aspect total diferit, cu un singur maxim evident la pH 7,4. Comportamentul enzimei din țesutul muscular al hibridului este similar cu cel al genitorului *A. nobilis* (fig. 4). Toate studiile cinetice arată că hibridul prezintă multe similitudini cu *A. nobilis*, dar are și particularități proprii.

S-au realizat studii cromatografice pe coloane de Sephadex G-200 în vederea caracterizării heterogenității moleculare a LDH musculare de la cele trei specii de pești. În figura 5 prezentăm cromatograma obținută în cazul enzimei de la *A. nobilis*. Se evidențiază două picuri cu activitate LDH, valorile maxime fiind obținute în eluatele nr. 7 și nr. 21. Primul pic reprezintă enzima tetrameră, iar cel de-al doilea are o capacitate catalitică mult mai mică, putând fi datorat unor forme monomere rezultate prin depolimerizarea lactat dehidrogenazei.

În figura 6 prezentăm cromatograma obținută în urma unui studiu similar pe extractele musculare de la *H. molitrix*. Se evidențiază tot două picuri proteice cu activitate enzimatică corespunzătoare probelor nr. 7 și nr. 12.

Comportamentul cromatografic al LDH musculare de la hibrid (fig. 7) este total deosebit de cel al enzimelor omologe ale genitorilor; picul principal are un volum de eluție de 27 ml (proba nr. 9), iar cel secundar de 45 ml (proba nr. 15).

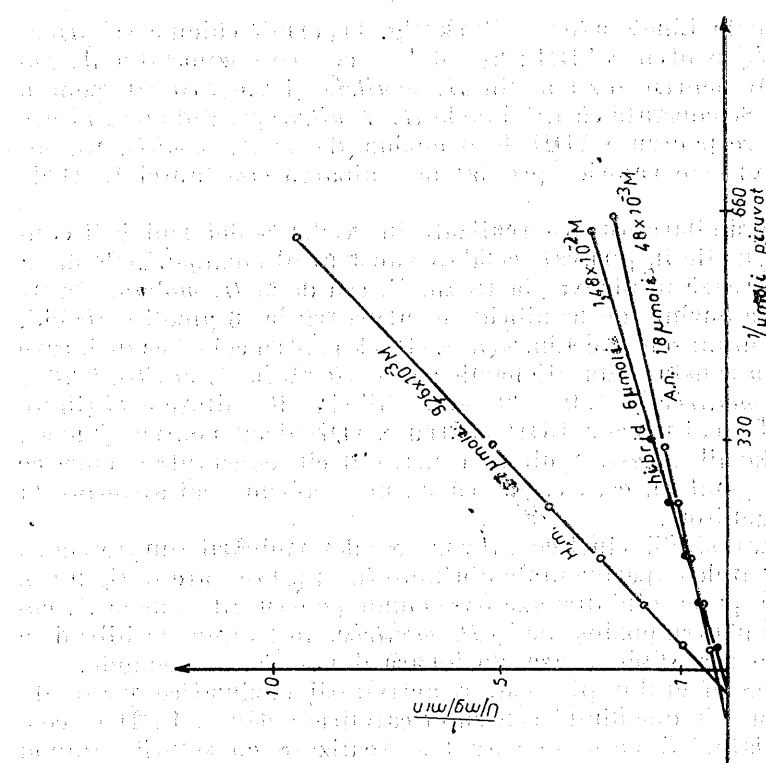


Fig. 2. — Schițele Lineweaver — Burk pentru piruvat în cazul LDH muscular de la cele trei loturi de pești : genitorii și hibridul lor.

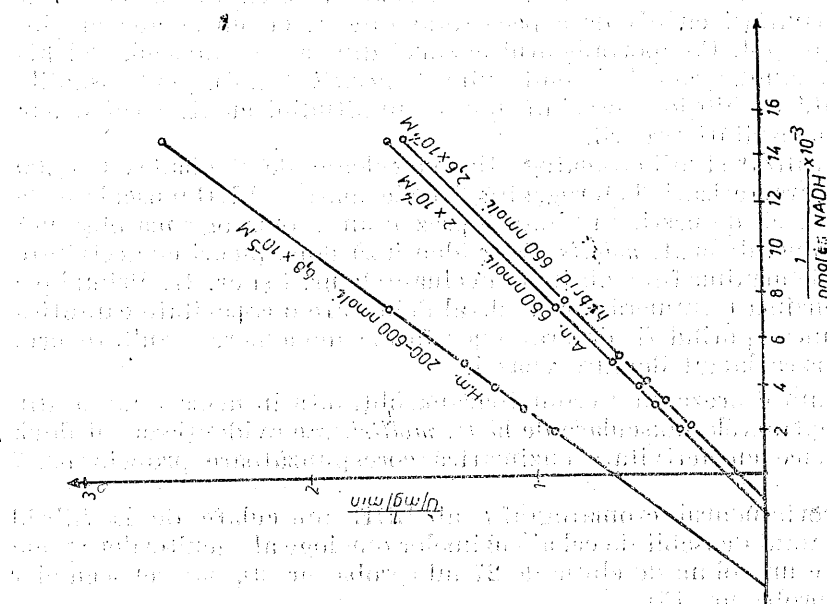


Fig. 1. — Schița Lineweaver — Burk a variației activității LDH musculare de la *A. nobilis*, *H. molitrix* și de la hibridul lor cu concentrația de NADH.

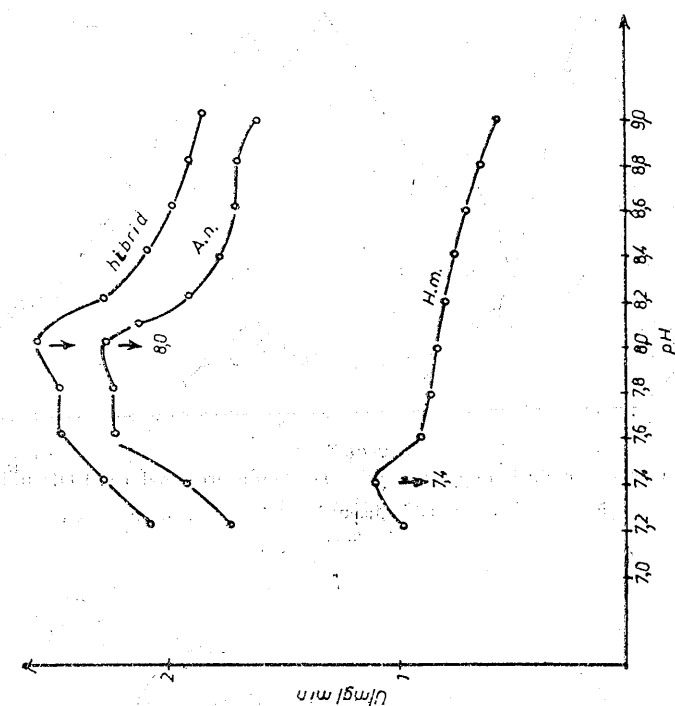


Fig. 4. — Variația activității LDH cu pH mediului de reacție.

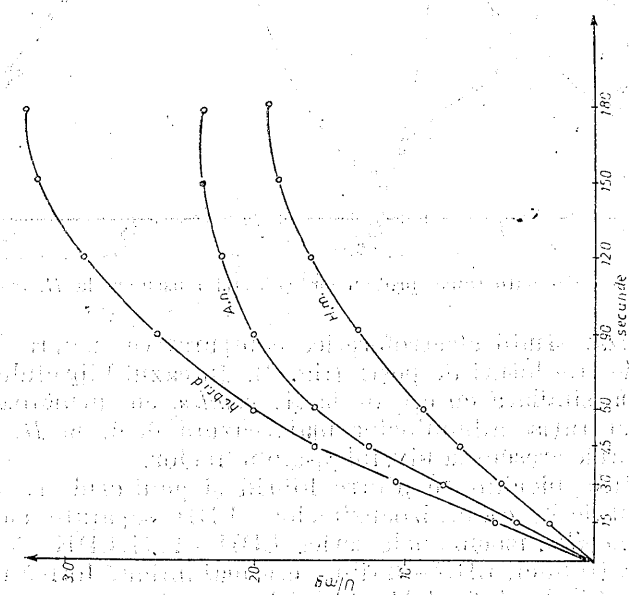


Fig. 3. — Cinetica preparatelor de LDH musculare.

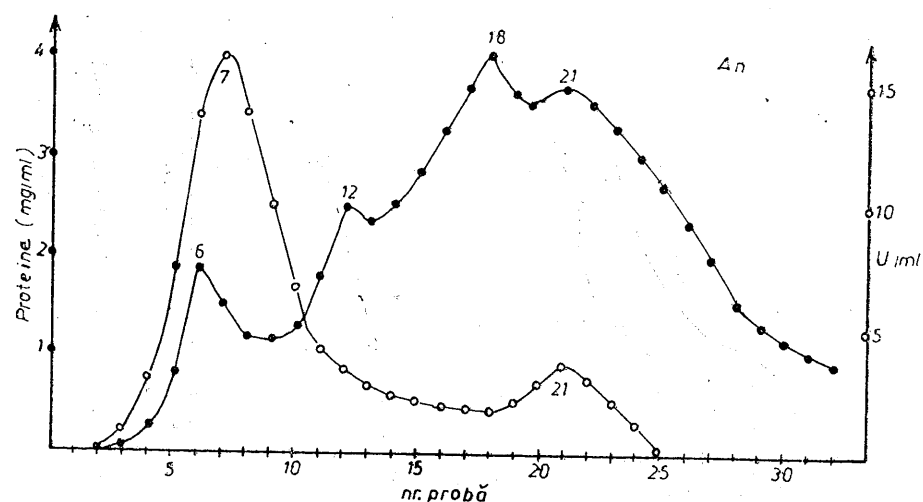


Fig. 5. — Carba de eluție pe de Sephadex G-200 a proteinelor și LDH musculare de la *A. nobilis*.

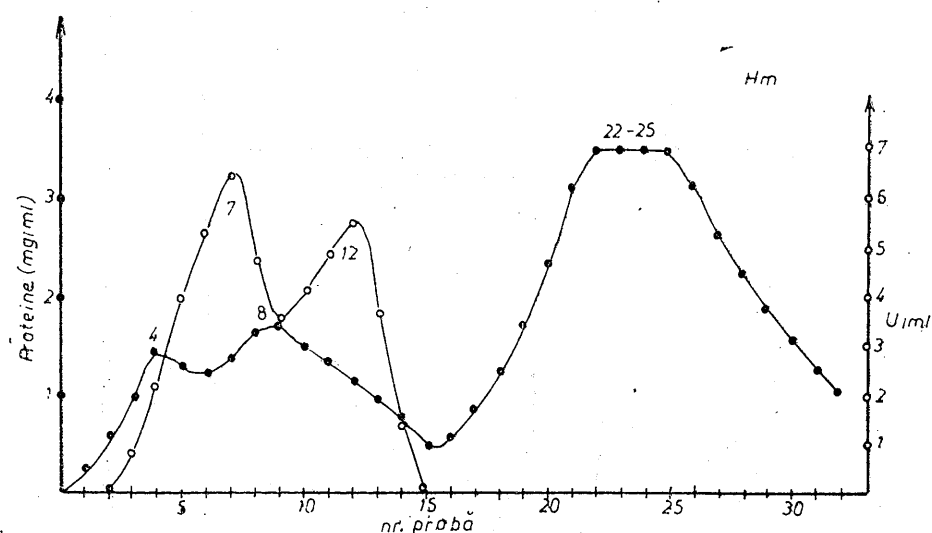


Fig. 6 — Cromatograma proteinelor și LDH musculare la *H. molitrix*.

S-au realizat studii electroforetice comparative asupra proteinelor serice de la cele trei loturi de pești (fig. 8). În cazul hibridului se obține o proteinogramă similară cu cea de la *A. nobilis*, cu următoarele caracteristici: concentrația albuminelor mai scăzută decât la *H. molitrix* și polimorfism proteic crescut la nivelul β_1 -globulinelor.

Similaritățile biochimice dintre hibrid și genitorul *A. nobilis* sînt mai bine reliefate în cazul izoenzimelor LDH separate electroforetic (fig. 9). La *A. nobilis*, izoenzimele serice LDH-4 și LDH-5 lipsesc sau sînt în concentrații mici, LDH-3 fiind cea mai intensă formă moleculară. La *H. molitrix*, LDH-4 și LDH-5 sînt bine conturate și apar chiar sub

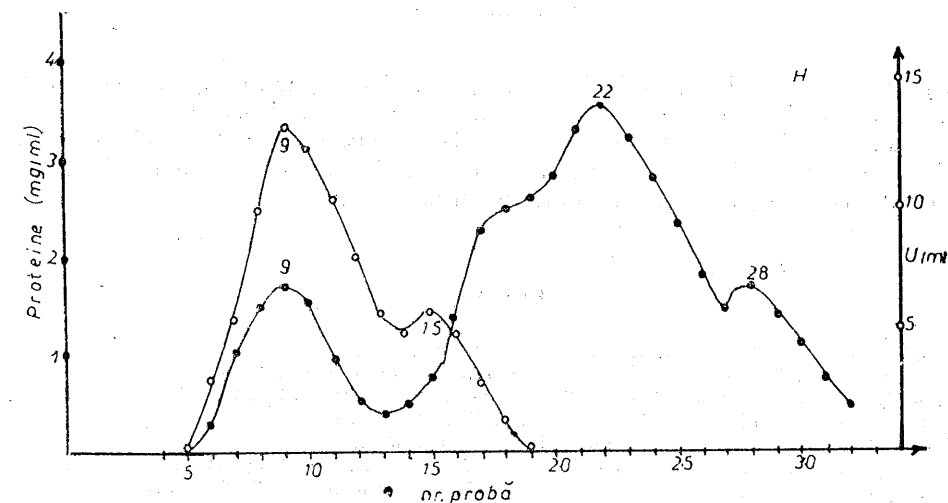


Fig. 7. — Proteinele musculare și LDH, separate cromatografic pe Sephadex G-200 din hibrid.

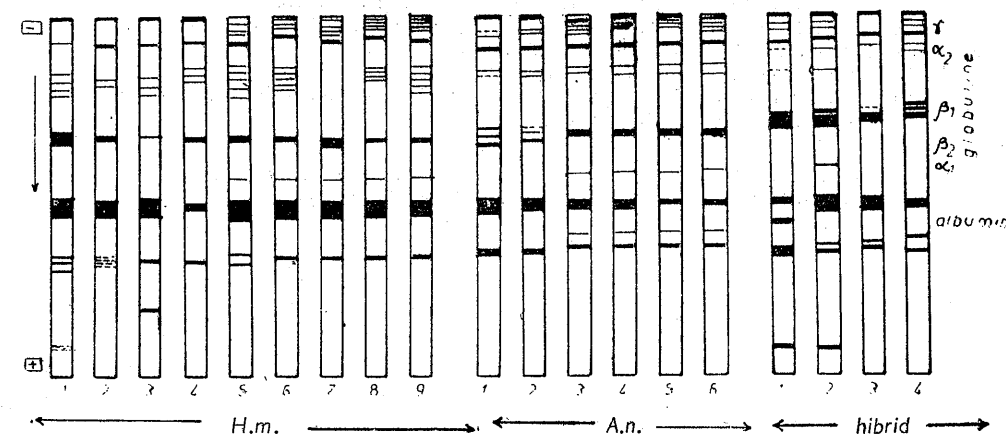


Fig. 8. — Schița proteinelor serice, separate electroforetic, din cei doi genitori și din hibridul lor.

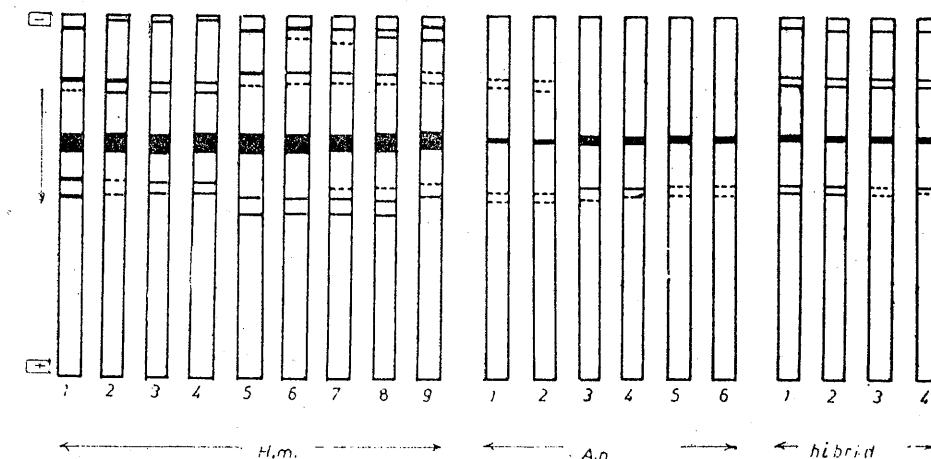


Fig. 9. — Izoenzimele LDH serice, separate electroforetic din serul de la *A. nobilis*, *H. molitrix* și de la hibridul lor.

forma mai multor benzi. Hibridul are aceste izoenzime, dar în concentrații mai mici, deci moștenește ambele caractere de la genitori.

Pentru siguranța concluziilor privind asemănarea metabolică a unor hibridi cu genitorii lor, considerăm că studiul unor enzime markeri ale unor căi metabolice este deosebit de important.

BIBLIOGRAFIE

1. ADAMS M. J., FORD G. C., Nature, 227: 1098, 1974.
2. BABSON A. L., PHILLIPS G. E., Clin. Chim. Acta, 12: 210, 1965.
3. BALAHNIN I. A., GALAGAN N. P., Biochim. genet. ribi., 151: 143, 1973.
4. CRISS T. F., Proc. Roy. Irish. Acad., B 78: 323, 1979.
5. DAVIS B. J., Ann. N. Y. Acad. Sci., 121: 404, 1964.
6. HANG J. S., KABACK H. R., Proc. Natl. Acad. Sci., 69: 3336, 1972.
7. KANINGS W. N., BARNES E. M. JR., Eur. J. Biochem., 38: 58, 1973.
8. LINEWEAVER H., BURK D., J. Am. Chem. Soc., 56: 658, 1934.
9. LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J., FARR L. A., RANDALL R. J., J. Biol. Chem., 193: 165, 1951.
10. MATER I. A., KANINGS W. N., Eur. J. Biochem., 38: 58, 1973.
11. PASTEWKA N. J., NESS A. T., PEACOCK A. C., Clin. Chim. Acta, 14: 219, 1966.
12. STARMACH J., Acta hydrobiol., 21: 237, 1979.
13. TAYLOR S., Proc. Natl. Acad. Sci., 70: 119, 1972.
14. VALEDA M., KRASNIKA F., KAPKOVA J., VALENTA S., Anim. Blood Groups Biochem. Genet., 16: 49, 1985.

Primit în redacție
la 8 decembrie 1989

Facultatea de biologie
București, Splaiul Independenței, nr. 95-97

EFICIENȚA ECOLOGICĂ A ZOOPLANCTONULUI ÎN ZONE DE GOLF ALE LACULUI PORȚILE DE FIER I

LAURA TEODORESCU, V. ZINEVICI, M. OLTEAN și N. NICOLESCU

The ecological efficiency is the ratio between the secondary production of the given level and the production of the former level. This ratio allows to estimate the efficiency of food employment by the zooplankton. The ecological efficiency depends on: the type of consumers (c_1 or c_2), the biological productivity of that area, as well as the structure modifications of the plankton communities. This paper analyses the zooplankton ecological efficiency in three gulf areas of Iron Gates Lake I: Bahna in 1981, Cerna during 1981-1983 and Mraconia between 1981-1982. As for the trophic level three gulfs have evolved between 1981 and 1983 from meso to eutrophic, and this, according to Pederson and co-workers (1976), means a poor uptake of the food stock by the zooplankton. The ecological efficiency of the zooplankton in the three gulfs is low; greater values of the secondary show greater possibilities of using different food sources by these consumers, as compared to the primary consumers. The ecological efficiency of the c_1 zooplankton shows the highest values during the summer time and in the autumn, while in the case of zooplankton c_2 , the maximum efficiency is recorded in spring and summer.

Eficiența ecologică este raportul dintre producția secundară a nivelului dat și producția nivelului precedent $\left(\frac{P_n}{P_{n-1}} \right)$. El arată ce porție din hrana (energia) produsă de nivelul trofic precedent este pusă la dispoziția nivelului trofic succedent (1).

Consumatorii zooplanctonici primari (c_1) utilizează ca sursă de hrană nanofitoplanctonul, care acoperă numai 50% din necesarul de hrană al zooplanctonului. De aici rezultă că zooplanctonul își procură o parte suplimentară de hrană din alte surse (agregate detrito-bacteriene și resturi organice de natură alohtonă) (2).

Consumatorii zooplanctonici secundari (c_2) au ca hrană preferențială zooplanctonul c_1 , dar pe lângă acesta se hrănesc și cu bacterii, alge, detritus.

Lucrarea de față analizează eficiența ecologică a consumatorilor zooplanctonici în 3 zone de golf ale lacului Porțile de Fier I.

METODA DE LUCRU

Eficiența ecologică a zooplanctonului s-a determinat în golfurile Bahna în anul 1981, Cerna în perioada 1981-1983 (în golfurile Cerna s-au efectuat observații în două stații: golf-coadă și golf-centru, întrucât între cele două zone ale golfului există vizibile diferențe în ceea ce privește dinamica și structura asociațiilor planctonice), și Mraconia în perioada 1981-1982. Ea a fost calculată pornind de la date de productivitate exprimate în $\text{cal/m}^3/24$.

Eficiența ecologică a zooplanctonului c_1 s-a determinat prin raportul dintre productivitatea netă a consumatorilor pasnici și productivi-

tatea netă fitoplanctonică $\left(\frac{P_n c_1}{P_n f}\right)$. Eficiența ecologică a zooplanctonului c_2 s-a determinat prin raportul dintre productivitatea netă a consumatorilor răpitori și productivitatea netă a consumatorilor pașnici $\left(\frac{P_n c_2}{P_n c_1}\right)$.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Toate cele 3 golfuri au evoluat din 1981 spre 1983, din punct de vedere trofic, de la mezo-spre eutrofie. În lacuri oligo- și mezotrofe, algele reprezintă peste 50% din hrana zooplanctonului, iar bacteriile și detritusul mai puțin de 50% (2). În lacuri eutrofe, algele reprezintă 5–15%, detritusul 10–20% și bacteriile 70–85% din hrana zooplanctonului. Așa cum s-a arătat însă, dintre alge, zooplanctonul consumă de preferință nanofitoplanctonul, care reprezintă în bazinele eutrofe cea mai mică parte din producția algală.

Eficiența ecologică a zooplanctonului c_1 (tabelul nr. 1) în golful Bahna, în cursul anului 1981, prezintă valori scăzute primăvara și toamna, maxima înregistrându-se în cursul verii. În golful Cerna (pentru aceeași perioadă), minimele sînt, de asemenea, toamna, iar maximele în cursul verii. În anii 1982 și 1983, minimele s-au înregistrat în luna mai, în timp ce maximele au fost atinse în cursul verii. În golful Mraconia, eficiența

Tabelul nr. 1

Eficiența ecologică a zooplanctonului c_1 ($P_n c_1 / P_n f$) și a zooplanctonului c_2 ($P_n c_2 / P_n c_1$)

Anul	Luna	Eficiența ecologică							
		Bahna		Cerna-coadă		Cerna-centru		Mraconia	
		c_1	c_2	c_1	c_2	c_1	c_2	c_1	c_2
1981	V	0,40	432,56	0,20	37,50	3,14	89,93	0,49	130,68
	VI	0,73	8,52	0,08	10,87	0,15	41,02	0,93	16,13
	VII	12,76	0,07	11,33	1,81	0,77	9,28	11,04	0,16
	VIII	4,38	4,48	2,50	5,80	2,05	1,08	4,99	24,68
	IX	2,69	0,56	1,73	28,05	0,19	46,63	48,08	3,46
	X	0,28	0	0,02	0	0,07	0	3,85	35,75
	$\bar{X}_g$	1,52	2,94	0,50	7,04	0,46	10,95	4,09	10,05
1982	V	—	18,78	0,0001	0	0,004	50,00	0,03	1,30
	VI	—	45,41	0,13	10,38	0,37	10,91	3,53	0
	VII	—	6,64	0,93	327,18	1,97	90,39	0,16	8,48
	VIII	—	1,10	3,98	7,14	0,77	1,88	3,76	5,02
	IX	—	0	2,46	6,37	0,80	9,73	9,47	3,80
	X	—	10,00	—	—	—	—	—	—
	$\bar{X}_g$	—	6,30	0,16	10,91	0,28	15,53	0,90	2,91
1983	V	—	42,25	0,01	66,67	0,03	25,00	—	—
	VI	—	0	2,07	12,89	0,19	45,65	—	—
	VII	—	0,83	1,45	12,98	0,11	59,55	—	—
	VIII	—	11,52	11,17	24,29	6,09	3,11	—	—
	IX	—	0	0,08	0	0,09	0	—	—
	X	—	8,11	0,26	0	0,11	0	—	—
	$\bar{X}_g$	—	3,85	0,44	8,04	0,18	7,72	—	—

ecologică scade semnificativ din 1981 spre 1982; minimele se înregistrează tot primăvara, dar, spre deosebire de celelalte cazuri, maximele se întîlnesc toamna. Valoarea cea mai mare a mediei geometrice anuale ($\bar{X}_g$) a eficienței ecologice a zooplanctonului c_1 o întîlnim în golful Mraconia în anul 1981 și ea s-ar putea explica prin caracterul preponderent oligotrof al apei în cursul acestui an.

Piederson și colab. (3) au arătat că rezervele de hrană ale zooplanctonului sînt tot mai slab valorificate pe măsură ce bazinele evoluează de la oligomezotrofie spre eutrofie.

Deși la fiecare trecere de la un nivel trofic la altul se produc însemnate pierderi de energie, eficiența ecologică a zooplanctonului c_2 prezintă valori mai ridicate decît a zooplanctonului c_1 , ceea ce reflectă o mai bună valorificare a rezervelor nutritive de către consumatorii secundari decît realizează consumatorii primari în raport cu producția fitoplanctonică.

Din tabelul nr. 1 se constată că în toate cele 3 golfuri studiate apar situații cînd eficiența ecologică a zooplanctonului secundar depășește 100%, fapt ce se explică prin lărgirea spectrului bazei trofice a acestei verigi a biocenozelor. Spre exemplu, *Asplanchna priodonta*, care este un carnivor, se poate hrăni complementar și cu alge, de asemenea, *Synchaeta*. Ciclopidele adulte, care sînt consumatori secundari, în funcție de condițiile ecologice ale bazinului respectiv, se pot hrăni alternativ prin predatorism sau prin filtrarea algelor (4).

La golful Bahna, în perioada 1981–1983, eficiența ecologică a consumatorilor secundari este maximă primăvara. La Cerna-coadă maxima o întîlnim primăvara în anii 1981 și 1983, pe cînd în 1982, în luna iulie. La Cerna-centru, în 1981, valoarea maximă este tot primăvara, pentru ca în 1982 și 1983 aceasta să fie în cursul verii. În golful Mraconia eficiența ecologică cea mai mare este în luna mai pentru anul 1981, iar pentru 1982, în luna iulie. Se constată deci că în cazul zooplanctonului c_2 , $\bar{X}_g$ anuală a eficienței ecologice crește din 1981 spre 1982 (cu excepția golfului Mraconia), ca apoi să scadă în 1983.

Comparînd $\bar{X}_g$ anuale ale eficienței ecologice a golfurilor studiate cu cea a unor ecosisteme din deltă (5) se observă o asemănare între golful Mraconia și ghiolul Merhei, pentru zooplanctonul c_1 , și între Cerna-centru și Merhei, pentru zooplanctonul c_2 .

CONCLUZII

În raport cu structura calitativă și cantitativă a zooplanctonului, și cu structura calitativă a fitoplanctonului, eficiența ecologică a zooplanctonului, în cele 3 golfuri studiate în zona lacului Porțile de Fier I, este scăzută, indicînd o slabă eficiență de utilizare a rezervelor de hrană; în aceasta se reflectă condițiile de troficitate ridicată din planctonul celor 3 zone studiate.

Eficiența ecologică a zooplanctonului c_2 este mai mare decît cea a zooplanctonului c_1 , datorită posibilităților mai mari de valorificare a diverselor resurse nutritive.

Eficiența ecologică a zooplanctonului c_1 prezintă valorile cele mai mari în cursul verii și mai puțin toamna, în timp ce pentru zooplanctonul c_2 eficiența maximă se înregistrează primăvara și vara.

BIBLIOGRAFIE

1. BOTNARIUC N., YĂDINEANU A., *Ecologie*, Edit. Didactică și pedagogică, București, 1982.
2. HILLBRICHT-ILKOWSKA A., *Pol. ecol. Stud.*, 3 (1): 3-98, 1977.
3. PIEDERSON G. L., WELCH E. B., LITT A. H., *Hydrobiologia*, 50 (2): 129-144, 1976.
4. POURRIOT R., CAPBLANQ J., CHAMP P., MEYER J. A., *Ecologie du plankton des eaux continentales*, Collection d'écologie, 16, Masson, Paris, 1982.
5. ZINEVICI V., OLTEAN M., TEODORESCU L., NICOLESCU D., NICOLESCU N., *Delta Dunării, Studii și comunicări de ecologie*, 1: 224-230, Tulcea, 1985.

Primit în redacție
la 25 octombrie 1988

Institutul de științe biologice
București, Splaiul Independenței nr. 296



NOTĂ CĂTRE AUTORI

Revista „Studii și cercetări de biologie, Seria biologie animală” publică articole originale de nivel științific superior din toate domeniile biologiei animale: morfologie, taxonomie, fiziologie, genetică, ecologie etc. Sumarele revistei sînt completate cu alte rubrici, ca: 1. *Viața științifică*, ce cuprinde unele manifestări științifice din domeniul biologiei, ca simpozioane, lucrările unor consfătuiri etc. 2. *Recenzii*, care cuprind prezentări asupra unor cărți de specialitate apărute în țară și peste hotare.

Autorii sînt rugați să înainteze articolele, notele și recenziile dactilografiate la două rînduri, în două exemplare.

Bibliografia, tabelele și explicația figurilor vor fi dactilografiate pe pagini separate, iar diagramele vor fi executate în tuș pe hîrtie de calc. Figurile din planșe vor fi numerotate în continuarea celor din text. Se va evita repetarea aceluiași date în text, tabele și grafice. Citarea bibliografiei în text se va face prin numere. În bibliografie se vor cita, alfabetic și cronologic, numele și inițiala autorilor (cu majuscule), titlurile cărților (subliniate) sau ale revistelor (prescurtate conform uzanțelor internaționale), volumul, urmat, în cazul în care este menționat, de număr (în paranteză), despărțit prin : de pagină și an. Lucrările vor fi însoțite de o prezentare în limba engleză de maximum 10 rînduri. Textul lucrărilor, inclusiv bibliografia, explicația figurilor și tabelele, nu trebuie să depășească 7 pagini dactilografiate.

Responsabilitatea asupra conținutului articolelor revine în exclusivitate autorilor.

La revue „Studii și cercetări de biologie, Seria biologie animală” paraît 2 fois par an.

Toute commande de l'étranger sera adressée à RÔMPRES-FILATELIA, Département d'exportation-importation (Presse), Boîte postale 12-201, télex 10 376 prsfir, 78104 - Bucarest, Roumanie, Calea Grîviței 64-66, ou à ses représentants à l'étranger.