

COMITETUL DE REDACȚIE

Director:

Academician MIHAI BĂCESCU

Redactor șef:

PETRU MIHAI BĂNĂRESCU, membru corespondent al Academiei Române

Membri:

Acad. NICOLAE BOTNARIUC; acad. OLGA NECRASOV; prof. dr. GRIGORE STRUNGARU; prof. dr. IRINA TEODORESCU; dr. NICOLAE TOMESCU; prof. dr. RADU MEȘTER — secretar de redacție.

Revista apare de două ori pe an

Pentru a vă asigura colecția completă și primirea la timp a revistei, reînnoiți abonamentul dumneavoastră.

În țară, revista se poate procura prin poșta, pe bază de abonament la:

RODIPET S.A. Piața Presei Libere nr. 1, sect. 1, P.O. Box 33-57, Fax 401-222 6407, Tel. 401-618 5103, 401-222 4126, București, România.

ORION PRESS INTERNATIONAL S.R.L., Șos. Olteniei 35-37, sect. 4, P.O. Box 61-170, Fax 401-312 2425, 401-634 7145, Tel. 401-634 6345, București, România.

AMCO PRESS S.R.L., Bd. Nicolae Grigorescu nr. 29 A, ap. 66, sect. 3, P.O. Box 57-88, Fax 401-312 5109, Tel. 401-643 9390; 401-312 5109, București, România.

Manuscrisele, cărțile, revistele pentru schimb, precum și orice corespondență se vor trimite pe adresa Comitetului de redacție al revistei: Institutul de Biologie, Splaiul Independenței, nr. 296, București.

La revue „Studii și cercetări de biologie animală” paraît deux fois par an. Toute commande de l'étranger pour les travaux parus aux éditions de l'Academie Roumaine sera adressée à:

RODIPET S.A., Piața Presei Libere, nr. 1, sect. 1, P.O. Box 33-57, Fax 401-222 6407, Tel. 401-618 5103, 401-222 4126, București, România.

ORION PRESS INTERNATIONAL S.R.L., Șos. Olteniei 35-37, sect. 4, P.O. Box 61-170, Fax 401-312 2425; 401-634 7145, Tel. 401-634 6345, București, România.

EDITURA ACADEMIEI ROMÂNE
Calea 13 Septembrie, nr. 13
76117 București
Telefon 410 38 46/2123, 2107, 2119

PT 1695

BIOLOGIA
INV. 99
25443

Studii și cercetări de BIOLOGIE

SERIA BIOLOGIE ANIMALĂ

TOMUL 49, NR. 1

ianuarie – iunie 1997

SUMAR

LOTUS MEȘTER, OTILIA ZĂRNESCU, C. TESIO, D. VIZITIU, CECILIA DUMITRU, Observații asupra ovogenezei la <i>Polyodon spathula</i> (Walbaum) acclimatizat în România	3
OTILIA ZĂRNESCU, R. MEȘTER, Caracterizarea ultrastructurală a transportului moleculelor exogene (peroxidază) în foliculii ovarieni de <i>Carassius auratus gibelio</i>	13
LOTUS MEȘTER, OTILIA ZĂRNESCU, C. TESIO, D. VIZITIU, CRISTINA STAICU, C. STOICESCU, Observații asupra spermatogenezei la <i>Polyodon spathula</i> (Walbaum) acclimatizat în România	27
MARIA CALOIANU, LUCIA MOLDOVAN, OTILIA ZĂRNESCU, Studii privind distribuția glicozaminoglicanilor în cornea de porc	35
VIORICA MANOLACHE, MARIANA ORĂȘANU, NICOLETA TELETIN, MARIANA GĂLEȘANU, VALERIA CLUCERESCU, LILIANA BABEŞ, Comportamentul cito-scheletului actinic în fenomenul de hemadsorbție la celulele liniei <i>VERO</i> infectate cu virus rujeolos	41
VIORICA MANOLACHE, MARIA NĂSTĂSESCU, C. TESIO, OTILIA ZĂRNESCU, Acțiunea mercurului asupra rinichiului, mantalei și branhei la <i>Anodonta cygnea piscinalis</i> (Nilsson)	45
LUCIA MOLDOVAN, MARIA CALOIANU, OTILIA ZĂRNESCU, Membranele de collagen-substrat pentru celulele epiteliale <i>in vitro</i>	53
AL. G. MARINESCU, I. TRANDAFIRESCU, O. DRĂGHICI, S. ANDREUȚĂ, Cercetări ecofiziologice la șalău (<i>Stizostedion lucioperca</i> L.) crescut în apa de mare	57
I. RÖSCA, ELISABETA SCHMIDT, A. NAUM, C. POPOV, IONELA DOBRIN, Rolul unor factori tehnologici ai culturilor de cereale păioase asupra faunei de sol	67
IRINA TEODORESCU, A. SIMIONESCU, Situația atacului principalelor lepidoptere defoliatoare și miniere în pădurile de quercine din România (1990-1996)	77
A. SIMIONESCU, IRINA TEODORESCU, Starea fitosanitară a pădurilor din România, în intervalul 1995-1996	89
OTILIA ZĂRNESCU, Caracterizarea celulară și moleculară a vitelogenezei la vertebratele inferiore (Pești și Amfibieni)	101
RÁKOSY LÁSZLÓ, Die Noctuiden Rümäniens (Lepidoptera: Noctuidae) Staphia-Linz	117
St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 49, nr. 1, p. 1-117, București, 1997	



OBSERVAȚII ASUPRA OVOGENEZEI
LA *POLYODON SPATHULA* (WALBAUM)
ACLIMATIZAT ÎN ROMÂNIA

I. Perioada previtelogenetică

LOTUS MEȘTER, OTILIA ZĂRNESCU*, C. TESIO*,
D. VIZITIU**, CECILIA DUMITRU**

Polyodon spathula is a fish of economic value, introduced from the USA in our country, at the Nucet Station. The aim of this study is to characterize the ovogenesis of this fish in our fishculture conditions and to correlate the somatic development and the degree of gonadal differentiation. In this connection, special attention has been payed to modifications taking place during the differentiation of female gonad and the previtellogenesis period. The histological reaction for lipids put into evidence its presence in the connective tissue from the basis of forming ovigerous lamellae, in the interoocytar tissue, in the vitelline envelope and in the ooplasm. The initial disposition of the lipids is at one pole of the cell and the latter in the whole cytoplasm or perinuclear. A peculiar aspect of atresia was observed at the 3+ females (affecting both groups of oogonia and earlier previtellogenic oocytes). Some environmental factors can influence the developmental process and can rise the percent of atretic oocytes. On the basis of results reached, it was found that for the evaluation of cellular events taking place during oogenesis the temporo-spatial aspects of the oocytar development in *Polyodon* offer a peculiar pattern.

Polyodon spathula, singurul sturion planctonofag aparține familiei Polyodontidae (Chondrostei). Arealul său natural este reprezentat de bazinile fluviilor Mississippi, Missouri, Tennessee, Arkansas și Ohio din S.U.A. El a fost aclimatizat inițial în U.R.S.S., începând din anul 1974. La noi în țară, *Polyodon spathula* este supus aclimatizării la Stațiunea de Cercetări Piscicole Nucet din anul 1992.

Deși prezintă o importanță economică deosebită, există puține studii asupra gametogenezei la *Polyodon spathula* (1, 12), probabil din cauza perioadei lungi necesare maturării (circa 10 ani). La Acipenseridae, ovogeneza a mai fost descrisă la *Acipenser güttenstaedti* (3, 4, 5, 6), *A. ruthenus* (2), *A. stellatus* (2) și *Huso huso* (3, 4, 5).

Scopul acestui studiu a fost caracterizarea ovogenezei la *Polyodon spathula*, aclimatizat în țara noastră și corelarea dezvoltării somatice cu gradul de diferențiere al gonadelor.

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 49, nr. 1, p. 3-11, București, 1997

MATERIAL ȘI METODĂ

Observațiile histologice au fost realizate pe femele de *Polyodon spathula* provenite de la Stațiunea de Cercetări Piscicole Nucet.

După sacrificarea femelelor, s-au prelevat fragmente de ovar, care au fost fixate în formol tamponat (pH — 7,4), Bouin și Ciaccio. Fragmentele de gonadă au fost incluse în parafină, secționate la microtom (5μ) și colorate cu hematoxilină-eozină, cu Sudan negru pentru evidențierea lipidelor (2) și cu acid periodic-Schiff (PAS), pentru glucide (7).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Ovarele de *Polyodon spathula* sunt structuri perechi așezate dorsal de-a lungul marginilor laterale ale corpului.

Ovarul imatur este acoperit de o masă voluminoasă de țesut adipos, care se micșorează pe parcursul diferențierii gonadei.

În perioada indiferentă a gametogenezei, gonada este formată dintr-un epiteliu, sub care există o zonă de țesut conjunctiv (fig. 1). La baza țesutului conjunctiv există o acumulare de lipide neutre, evidențiată prin colorarea cu Sudan negru.

Angajarea gonadei pe calea de diferențiere femelă este marcată de apariția la exemplarele de două veri a unui sănț în mijlocul gonadei (fig. 2). Unii autori (1) au indicat faptul că acest sănț este prezent la puii de 150–160 de zile. Mai târziu, de o parte și de alta a acestui sănț, se observă ovogonii, care sunt celule de origine ale liniei germinale și își fac apariția în gonadele imature sub forma unor grupuri celulare strâns asociate (fig. 3). Ovogoniile prezintă un nucleu eucromatic rotund, localizat central, care conține un nucleol. Ulterior, ovogoniile sunt prezente printre ovocitele previtelogenetice mijlocii (fig. 4a) sau la periferia lamelelor ovariene spre sfârșitul perioadei previtelogenetice (fig. 4b).

Prima modificare observată în grupurile de ovogonii este reprezentată de creșterea volumului celular și dispunerea cromatinei la periferia nucleului (fig. 5). Ovogoniile se transformă apoi în ovocite, care suferă un proces continuu de creștere până în momentul maturării.

Foliculii ovarieni, formați din ovocit și celule foliculare, parcurg în dezvoltarea lor trei mari etape: previtelogenetică, vitelogenetică și de maturare. În cadrul acestor etape există o serie de stadii, care caracterizează evoluția în timp a acestor celule.

Din punct de vedere structural, gonada femelă este formată din lamele ovariene, care se prelungesc liber în cavitatea abdominală (fig. 6). Aceste lamele se alungesc pe parcursul diferențierii gonadei. Ovocitele în diferite stadii de dez-

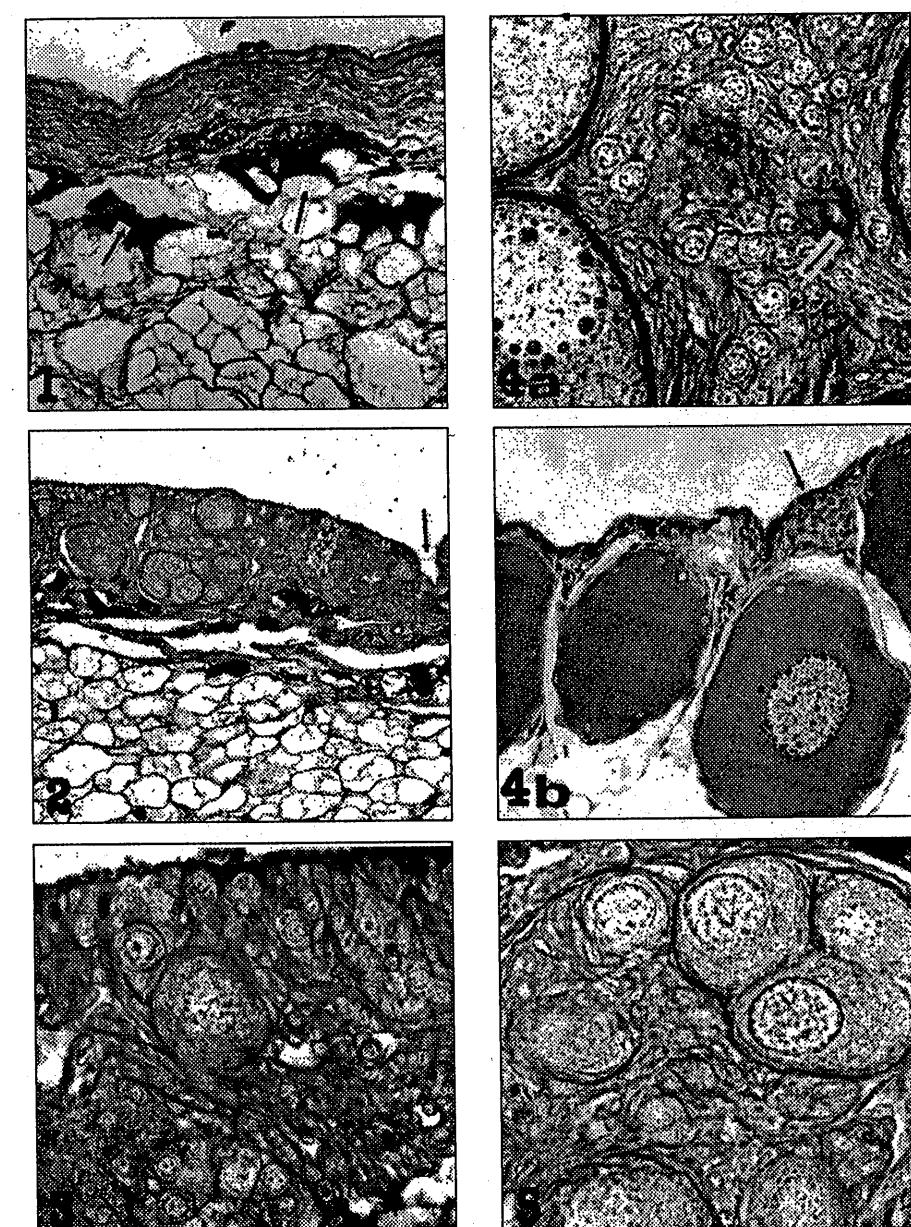


Fig. 1 — Gonada imatură la puietul de o vară. Se remarcă prezența lipidelor neutre sub țesutul conjunctiv (săgeți). Sudan.

Fig. 2 — Angajarea gonadei pe calea de diferențiere femelă este marcată de apariția la exemplarele de două veri a unui sănț în mijlocul gonadei (săgeată). Sudan.

Fig. 3 — Grupuri de ovogonii în gonada imatură. Sudan.

Fig. 4 — În ovarele previtelogenetice ovogoniile sunt prezente (a) printre grupurile de ovocite (săgeata) sau (b) la periferia lamelelor ovariene (săgeata). Hematoxilină-eozină.

Fig. 5 — Celule la sfârșitul perioadei oogeniale. Sudan.

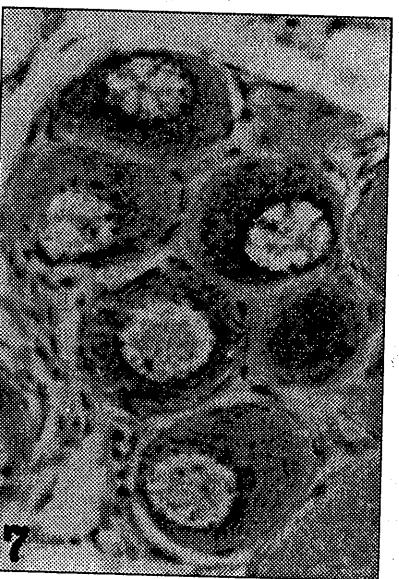


Fig. 6 — Lamelă ovariană. Hematoxilină-eozină.

Fig. 7 — Ovocite previtelogenetice timpurii. Hematoxilină-eozină.

Fig. 8 — Ovocite previtelogenetice înconjurate de un înveliș PAS pozitiv.

Fig. 9 — Ovocite previtelogenetice târzii cu alveole corticale (sägeată). Hematoxilină-eozină.

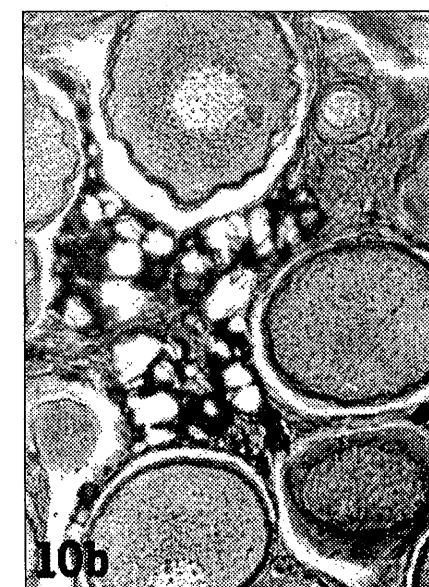
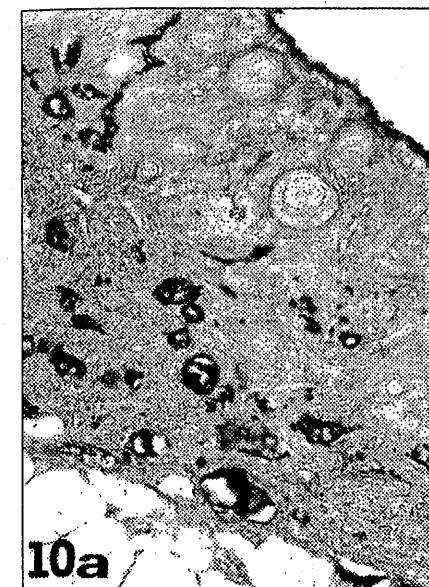
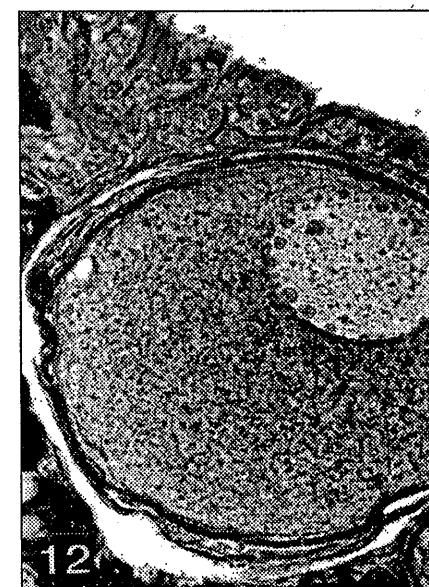
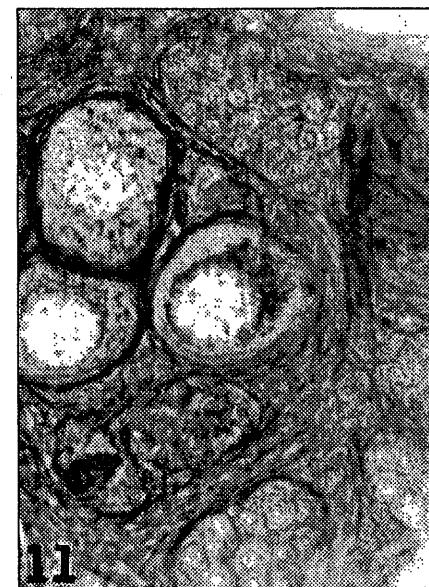


Fig. 10 — Lipidele neutre sunt prezente la (a) baza lamelelor ovariene în formare și (b) în țesutul interovocitar. Sudan.

Fig. 11 — În ovocitele previtelogenetice timpurii lipidele se dispun la un pol al celulei. Sudan.

Fig. 12 — În citoplasma ovocitelor previtelogenetice târzii există numeroase picături lipidice dispuse în toată citoplasma și perinuclear. Sudan.



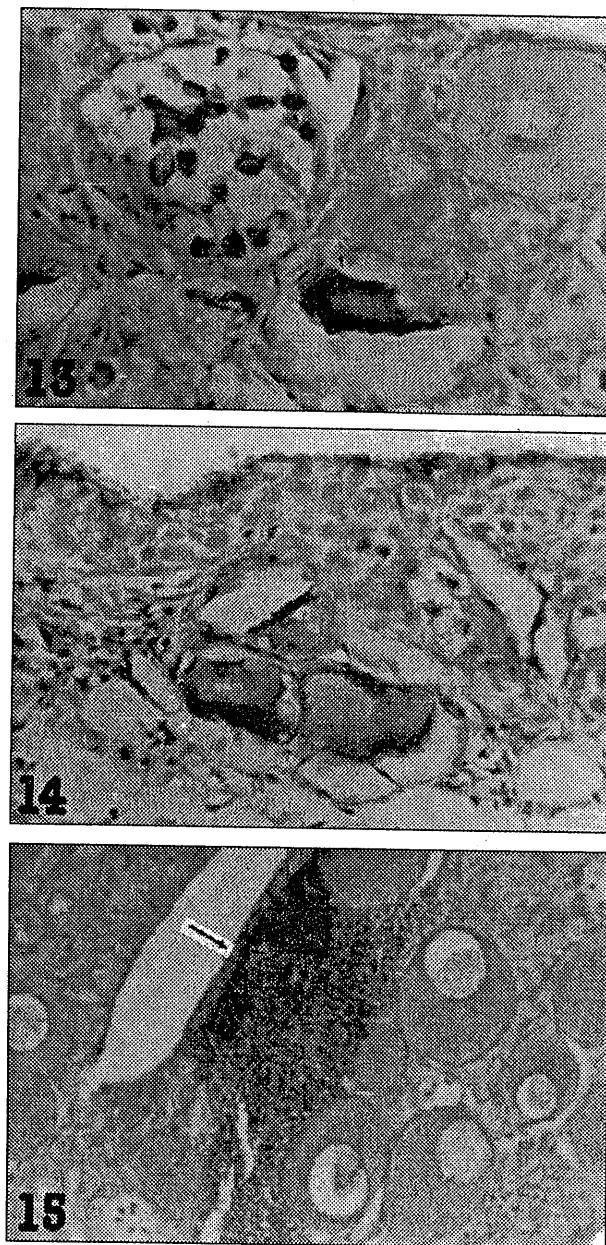


Fig. 13 — Atrezia foliculară afectează la exemplarele de trei veri grupurile de ovogonii.

Fig. 14 — Ovocitele previtelogenetice timpurii atretice. Hematoxilină-eozină.

Fig. 15 — La exemplarele de trei veri se remarcă prezența în lamelele ovariene a unui țesut limfoid (sâgeată). Hematoxilină-eozină.

voltare sunt aşezate la periferia lamelelor, axul acestora fiind format dintr-un țesut conjunctiv lax.

Ovocitele previtelogenetice timpurii conțin un nucleu voluminos, în care se găsesc de obicei patru nucleoli mari (fig. 7). Ovocitele care depășesc 30 μ sunt înconjurate de un epiteliu folicular și de un înveliș vitelin PAS pozitiv (fig. 8). Natura glicoproteică a zonei radiata a fost evidențiată și la alte acipenseride (*Huso huso*, *Accipenser güldenstaedti*, *A. stellatus* și *A. ruthenus*) (3).

Pe măsură ce ovocitele parcurg etapa previtelogenetică crește numărul de nucleoli, dintre aceștia trei fiind mai mari. Spre sfârșitul acestei perioade în citoplasmă apar alveole corticale (fig. 9).

Colorația cu Sudan negru evidențiază prezența lipidelor în țesutul conjunctiv de la baza lamelelor ovariene în formare (fig. 10a), în țesutul interovocitar (fig. 10b) la nivelul învelișului vitelin și în ooplasmă. Lipidele apar și localizate în ovocitele previtelogenetice timpurii la un pol al celulei (fig. 11), în timp ce în cele mijlocii și târzii se dispun în toată citoplasma sau perinuclear (fig. 12). La *Acipenser güldenstaedti* și *A. stellatus* s-a demonstrat că stadiile previtelogenetice timpurii se caracterizează în microscopia electronică prin numeroase picături lipidice (6), care descresc ca număr la sfârșitul acestei perioade. Corpuri lipidici sudanofili formați mai ales din fosfolipide sunt prezente și în ovocitele previtelogenetice ale teleosteenilor (9). Sudanofilia zonei radiata a fost evidențiată la *Gobio gobio* și *Noemacheilus barbatulus* (11).

Un aspect caracteristic observat de noi la femeile în vîrstă trei ani a fost cel de atrezie foliculară. Acest proces afectează atât grupurile de ovogonii (fig. 13), cât și ovocitele previtelogenetice timpurii (fig. 14).

Atrezia foliculară a fost pusă în evidență la ciclostomi, pești cartilaginoși și teleosteeni (9) și poate afecta foliculii ovarieni în toate stadiile de dezvoltare (10). Primul semn al atreziei în foliculii previtelogenetici este micșorarea ovoculului și formarea unor spații clare în ooplasmă periferică. Ulterior are loc dezorganizarea componentelor nucleare și citoplasmatiche. Se presupune că atrezia foliculară poate limita numărul de ovocite care vor suferi vitelogeneza, maturarea și ovulația. De asemenea, anumiți factori de mediu (inclusiv xenobiotici) pot crește incidența atreziei (9).

La exemplarele de trei veri, cu intens proces de atrezie, s-a observat prezența unui țesut limfoid localizat în lamelele ovariene (fig. 15). La alte specii (pești cartilaginoși) gonada conține un țesut granulopoietic care poartă denumirea de țesut epigonadal (8).

Observațiile noastre asupra gonadelor de la *Polyodon spathula* au arătat că există o corelație între caracteristicile somatice (lungimea corpului, greutate) și gradul de dezvoltare al gonadelor (tabelul nr. 1). Conform acestor date, femeile cu lungimi cuprinse între 52–119 cm și greutăți de 400–5250 g se găsesc în perioada previtelogenetică a ovogenezei. Aceste rezultate sunt în concordanță cu

Tabelul nr. 1
Stadiul de dezvoltare al ovarului în funcție de caracteristicile somatice

Vârstă	Lungimea corpului (cm)	Greutatea (g)	Stadiul de dezvoltare
o vară	52	400	nediferențiat
o vară	51,5	405	nediferențiat
o vară	57,5	475	nediferențiat
o vară	57,5	500	nediferențiat
o vară	61	610	nediferențiat
două veri	68,5	1000	ovogonii și ovocite previtelogenetice timpurii
două veri	82	1695	ovogonii și ovocite previtelogenetice timpurii
două veri	82,5	1925	ovogonii și ovocite previtelogenetice timpurii
trei veri	82,5	1470	ovogonii și ovocite previtelogenetice timpurii și mijlocii
trei veri	83,5	1440	ovogonii și ovocite previtelogenetice timpurii și mijlocii
trei veri	88	2435	ovogonii și ovocite previtelogenetice timpurii și mijlocii
patru veri	87	2200	ovogonii și ovocite previtelogenetice timpurii, mijlocii și târzii
patru veri	105	3400	ovogonii și ovocite previtelogenetice timpurii, mijlocii și târzii
cinci veri	119	5250	ovogonii și ovocite previtelogenetice timpurii-târzii și cu alveole corticale

cele ale lui Weldon Larimore (12), care a arătat că femelele de *Polyodon* cu lungimi cuprinse între 90,93–128,27 cm nu conțin icre mature, ci numai ovogonii și ovocite. De asemenea, la aceste exemplare nu s-a observat începutul vitelogenezei.

În concluzie, aspectele spațiale și temporale ale dezvoltării ovocitare la *Polyodon spathula* oferă un model particular pentru caracterizarea evenimentelor celulare care au loc în cursul ovogenezei. Sunt necesare studii suplimentare privitoare la transformările specifice perioadei vitelogenetice și de maturare.

BIBLIOGRAFIE

1. ALEXANDROVNA I. V., Teza de doctorat, Moscova, 1989.
2. BAYLISS HIGH O. B., în: Theory and Practice of Histological Techniques, BANCROFT J. D., STEVENS A., TURNER D. R. (Eds), CHURCHILL LIVINGSTONE, 215–244, 1990.
3. CALOIANU-IORDĂCHEL M., Rev. Roum. Biol. Zool., **16**: 87–150, 1971.
4. CALOIANU-IORDĂCHEL M., Rev. Roum. Biol. Zool., **16**: 165–169, 1971.
5. CALOIANU-IORDĂCHEL M., Rev. Roum. Biol. Zool., **16**: 371–373, 1971.
6. CALOIANU-IORDĂCHEL M., Trav. Mus. Hist. Nat. „Grigore Antipa”, **XIX**: 77–82, 1978.
7. COOK H. C., în: Theory and Practice of Histological Techniques, BANCROFT J. D., STEVENS A., TURNER D. R. (Eds), CHURCHILL LIVINGSTONE, 177–213, 1990.

8. FÄNGE R., în: Fish Physiology, HOAR W. S., RANDALL D. J., FARRELL A. P. (Eds), **XII B**, Academic Press, San Diego, 2–54, 1992.
9. GURAYA S. S., în: The Cell and Molecular Biology of Fish Oogenesis, Karger (Basel), 86–102, 1986.
10. NAGAHAMA Y., în: Fish Physiology, HOAR W. S., RANDALL D. J., FARRELL A. P. (Eds), **IX A**, Academic Press, New York, 223–276, 1983.
11. RIEHL R., Zool. Anz., **198**: 328–354, 1977.
12. WELDON LARIMORE R., Copeia, **2**: 116–124, 1950.

Primit la redacție
la 31 octombrie 1996

* Universitatea București, Facultatea de Biologie,
Splaiul Independenței nr. 91–95,
** Stațiunea de cercetări pentru piscicultură,
Nucet, jud. Dâmbovița.

CARACTERIZAREA ULTRASTRUCTURALĂ
A TRANSPORTULUI MOLECULELOR EXOGENE
(PEROXIDAZA) ÎN FOLICULII OVARIENI
DE *Carassius auratus gibelio*

OTILIA ZĂRNESCU, R. MEŞTER

The structure and transport of injected peroxidase in the ovarian follicles of *Carassius auratus gibelio* are described.

The growing follicle consists of several cellular and acellular layers. The oocyte within the follicle is immediately invested by the acellular vitelline envelope which contains microvillar processes primarily from the oocyte. Overlying the vitelline envelope is a follicular epithelium comprised of a single layer of flat (in previtellogenic follicle) or cuboidal (in vitellogenic follicle) follicle cells. In the vitellogenic follicle these cells are periodically interrupted by large intercellular channels. A basal lamina separates the follicle cells from theca. A capillary network resides within the scant connective tissue stroma of the theca and supplies the developing follicle with maternal nutrients. The entire follicle is covered by a single layer of squamous epithelial cells.

Exogenous proteins appear to leave the perifollicular capillaries via an intercellular route and pass through intercellular channels within the follicular epithelium and pore channels of vitelline envelope before reaching the oocyte surface where they are incorporated via endocytosis and translocated to growing yolk spheres in the ooplasm. In the early cortical alveolus stage the traces were present in the multivesicular bodies distributed throughout the ooplasm and in the perinuclear zone. The marker is also conspicuous inside pore channels and around the microvilli. Peroxidases were observed in vesicles or lysosomes of endothelial, stromal, theca and follicle cells.

Cresterea și diferențierea ovocitului la vertebratele inferioare implică preluarea prin endocitoză mediată de receptor a unei proteine plasmatică, sintetizată în ficat, numită vitelogenină (24, 37). Odată internalizată, vitelogenina este clivată proteolitic și convertită în proteine viteline de tipul lipovitelinului și fosvitinului, molecule care sunt depozitate în granule (pești) sau placete viteline (amfibieni). Studierea căii prin care diferite molecule ajung la ovocit s-a realizat folosind markeri electrono-densi ca peroxidază (1, 2, 8, 18, 25, 26), feritină (6, 8), dextran-fier, thorotраст (8) și vitelogenină marcată radioactiv (25, 26, 38), sau cu aur coloidal (41).

Peroxidaza a fost folosită pentru studierea endocitozei în ovocitele de *Drosophila melanogaster* (10), la diferite specii de pești, *Cyprinodon variegatus* (25),

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 49, nr. 1, p. 13–26, București, 1997

Fundulus heteroclitus (25, 37), *Anguilla anguilla*, *Cyprinus carpio*, *Mugil cephalus*, *Aphanius dispar*, *A. mento*, *Sparus aurata* (2), *Xiphophorus helleri* (40), la amfibieni *in vivo* (8) și *in vitro* (30), reptile (20) și mamifere (3).

Există puține studii (2, 6, 25, 26, 38, 40) care au urmărit caracterizarea ultrastructurală a căii de preluare a moleculelor exogene în ovarul peștilor teleosteeni. Dintre acestea doar trei (2, 25, 26) au caracterizat traseul moleculelor injectate intraperitoneal în întregul folicul ovarian.

Scopul acestui studiu a fost identificarea căii prin care macromoleculele exogene sunt transportate din sistemul circulator al foliculului ovarian la suprafața ovocitului precum și destinul ovocitar al macromoleculelor endocitate. Pentru a urmări calea, distribuția și compartmentalizarea moleculelor în foliculi ovarianii pre- și vitelogenetici s-a folosit peroxidaza ca trisor electrono-opac.

MATERIAL ȘI METODĂ

Experimentele au fost realizate pe femele de *Carassius auratus gibelio* provenite de la Stațiunea de Cercetări Piscicole Nucet.

Femelele de caras au fost injectate intraperitoneal (I. P.) cu 20 mg peroxidază (tip II, Sigma) dizolvată în 0,2 ml NaCl (0,8%) și sacrificiate după 24 de ore.

Fragmente mici de ovar au fost fixate 2 ore, la 4°C în tampon cacodilat 0,1 M (pH 7,4) cu 2,5% glutaraldehidă și 4% sucroză. După spălare, în același tampon cu 4% sucroză, fragmente mici de ovar au fost incubate 40 minute la întuneric în următoarea soluție: tampon Tris-HCl 0,05 M (pH 7,6), 0,1% 3,3' diaminobenzidină (DAB, Sigma) și 0,01% H₂O₂ (12). După developarea reacției peroxidazice, probele au fost spălate în tampon cacodilat 0,1 M (pH - 7,4) cu 4% sucroză, postfixate 2 ore la rece cu o soluție de 1% OsO₄ în tampon cacodilat 0,1 M (pH - 7,4). După osmificare și spălare, fragmentele au fost incubate inițial într-o soluție de 1% acid tanic, 30 minute, 4°C și ulterior, într-o soluție de 1% sulfat de sodiu, 10 minute, 4°C. După spălare în tampon 0,1 M (pH - 7,4), probele au fost deshidratate în etanol și incluse în rășini sintetice (Epon 812). Secțiunile tăiate la ultramicrotom au fost colorate succesiv cu acetat de uranil și citrat de plumb și examinate la microscopul electronic JEOL-200.

Probele pentru microscopia optică au fost prelucrate după același protocol. Ele au fost trecute însă din etanol absolut în toluen și incluse în parafină.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Ovarul femelelor de *Carassius auratus gibelio* injectate intraperitoneal cu peroxidază conține foliculi ovarianii pre- și vitelogenetici.

Folicul ovarian este format dintr-o serie de straturi celulare și acelulare pe care moleculele exogene trebuie să le străbată în drumul lor spre ovocit.

Stratul extern al foliculului ovarian este reprezentat de epitelul de suprafață ce înconjoară celulele tecii foliculare. Celulele acestui epiteliu sunt aplăzate și conectate una cu alta prin desmozomi. În citoplasmă se găsesc numeroase microfilamente, mitocondrii mici și ribozomi liberi. La 24 de ore după administrarea peroxidazei, produsul de reacție a fost observat atât în microscopia optică (fig. 1) cât și în cea electronică (fig. 2) acumulându-se intens în celulele epiteliale de la suprafața foliculilor ovarianii. Aceste celule conțin numeroși lizozomi mari plini cu produs de reacție.

O serie de studii *in vitro* au arătat că epitelul de suprafață este impermeabil pentru diferite molecule, iar preluarea proteinelor din mediul de cultură de către foliculii ovarianii întregi de *Xenopus laevis* (15) și *Oncorhynchus mykiss* (27) este consecința distrugerii acestui epiteliu în timpul izolării foliculilor. Pe de altă parte s-a demonstrat recent la *O. mykiss* (20) că vitelogenina este preluată *in vitro* de ovocitele în grup, acest aspect demontrând că epitelul de suprafață și țesutul stromal asociat nu reprezintă o barieră impermeabilă pentru macromolecule. Existența unui proces de endocitoză în aceste celule a fost pusă în evidență prin studiile ultrastructurale, care au indicat prezența de vezicule pinocitotice pe ambele fețe ale acestui epiteliu (13). Micropinocitoza peroxidazei injectate I. P. a fost observată și la reptile (*Anolis carolinensis*) în celule scvamoase de la suprafața ovarului (21). Acumularea masivă de produs de reacție peroxidazică observată de noi în celulele epiteliale de suprafață poate fi consecința unei creșteri neobișnuite a componentelor sistemului circulator ovarian după injectarea trisorului.

Următorul strat celular al foliculului ovarian este cel al tecii interne. Acest strat conține capilare, fibre de colagen și celule tecale fibroblastice. La unele specii de pești s-a demonstrat prezența în acest strat a unor celule hipertrofiate considerate a fi producătoare de steroizi (13, 19).

În experimentele noastre, trisorul peroxidazic este prezent în lumenul capilarilor și între celulele tecale, o parte din acesta fiind preluat de celulele endoteliale prin endocitoză (fig. 3). Atât la pești (2, 25, 26), cât și la amfibieni (5, 41) trisorii folosiți în studiile de endocitoză apar prima dată în capilarele și spațiile pericapilare ale stromei. Studiile anterioare (2, 5, 25, 26, 41) au atăstat că celulele endoteliale sunt moderat pinocitotice fiind capabile să preia molecule de tipul peroxidazei, dextran-fier (2, 5, 25, 26) și vitelogenină cuplată cu aur coloidal (41). De asemenea, membrana bazală din jurul capilarilor nu împiedică difuzia macromoleculelor în teaca foliculară (8).

În cazul ovocitelor previtelogenetice, produsul reacției peroxidazice a fost observat și în lizozomii din celulele tecii foliculare, atât în cele de tip fibroblastic cât și în cele hipertrofiate din apropierea capilarilor (fig. 4). Vezicule de endocitoză care conțin particule de vitelogenină cuplată cu aur coloidal au fost descrise în fibrocitele tecii foliculare de la *X. laevis* (41) și sunt considerate a fi consecința unei preluări nespecifice.

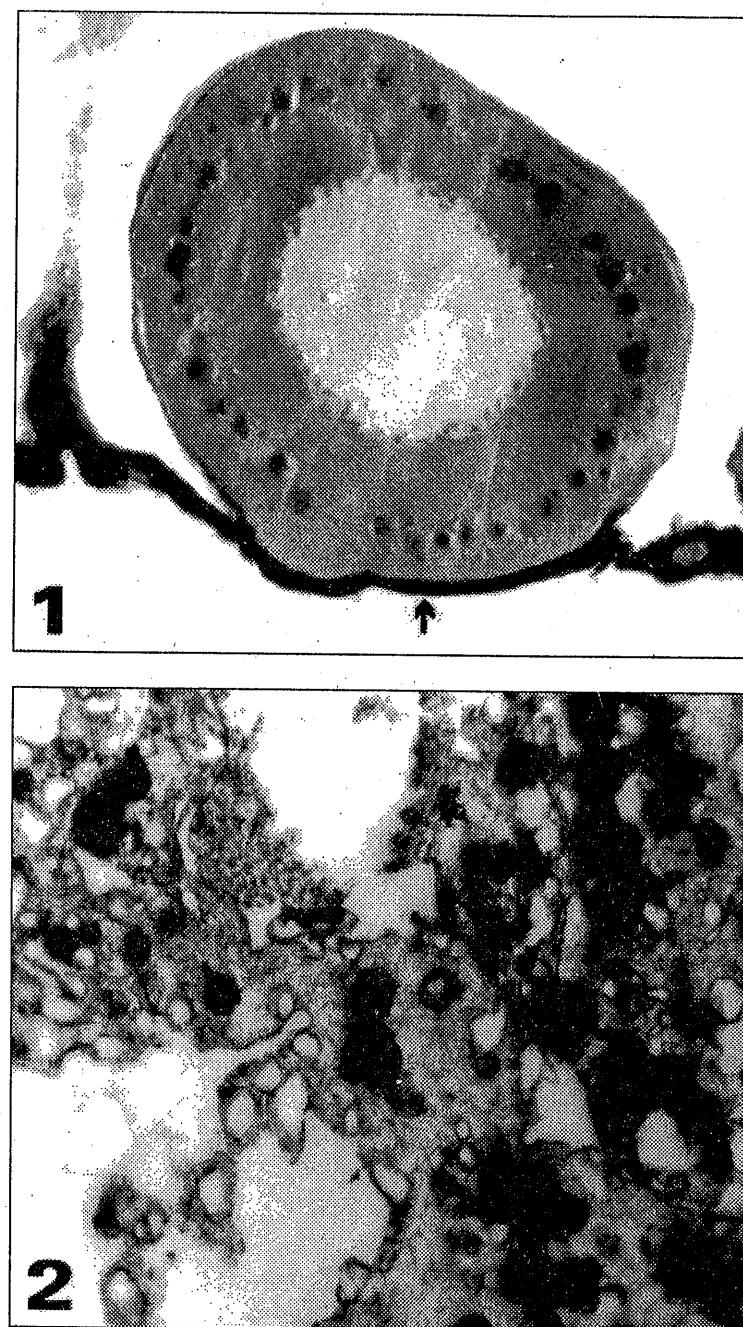


Fig. 1 — Acumularea peroxidazei la nivelul epitelului ovarian (săgeata) $\times 320$.

Fig. 2 — Prezența trisorului peroxidazic în lizozomii celulelor epiteliale de suprafață $\times 30.000$.

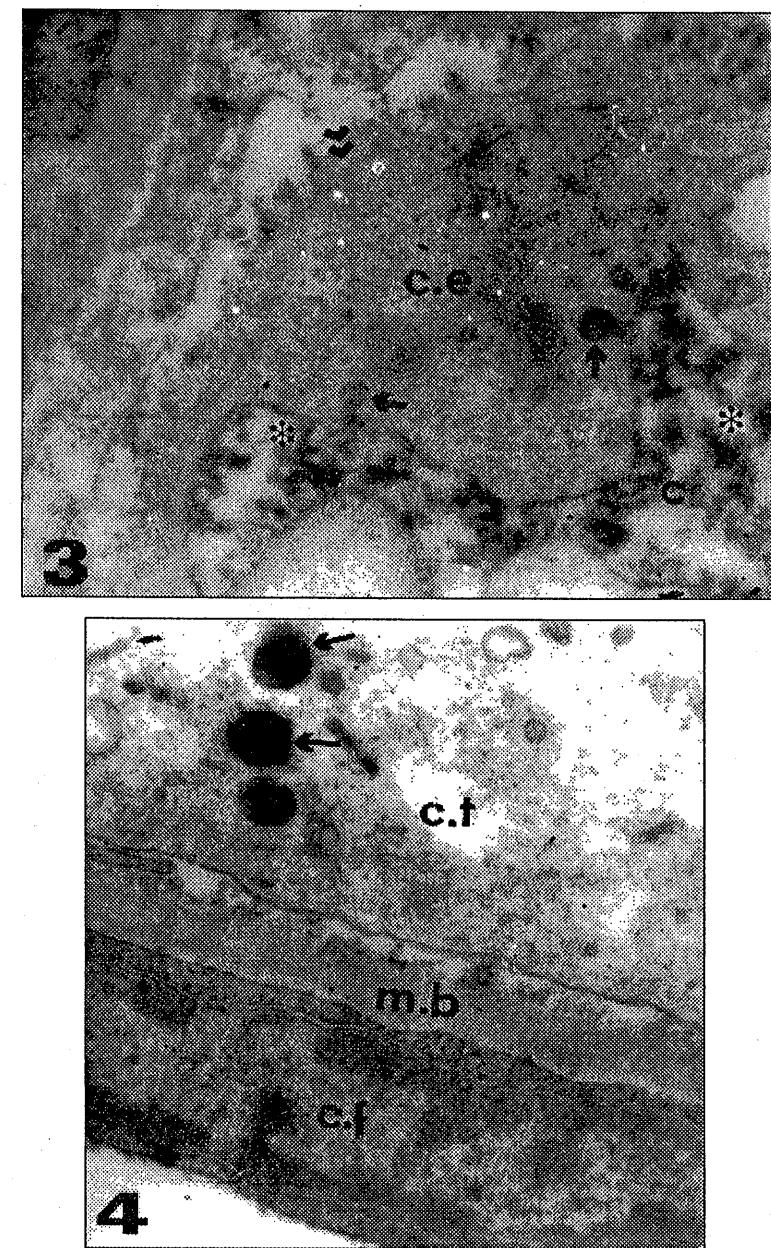


Fig. 3 — La 24 de ore după injectarea I. P., peroxidaza se găsește în lumenul capilarelor din teaca folliculară (*). Se remarcă numeroase invaginări și vezicule de endocitoză în celulele endoteliale (săgeți). Produsul de reacție peroxidazic este prezent, de asemenea în spațiile dintre celulele tecii folliculare (săgeata dublă): c — capilar, c. e. — celulă endotelială $\times 40.000$.

Fig. 4 — În citoplasma celulelor tecale din folliculi previtelogenetici se remarcă lizozomi plini cu produs de reacție (săgeți): c. f. — celulă folliculară, m. b. — membrană bazală, c. t. — celulă tecală $\times 30.000$.

Următoarea barieră în calea moleculelor este reprezentată de lamina bazală localizată între celulele folliculare și teacă. S-a demonstrat că această membrană bazală este formată dintr-o lamină bazală (glicocalix diferențiat) care poate acționa ca un filtru mecanic și un spațiu adjacente plin cu fibre de colagen (2). În micrografiile noastre electronice traserul a fost observat pe ambele fețe ale acestei membrane. Studiile anterioare au arătat că ea este permeabilă pentru molecule ca peroxidază (8, 25, 26), dextran-fier, feritină (8) și impermeabilă pentru molecule foarte mari ca thorotrast (8) sau carbon coloidal (4).

În drumul lui spre ovocit, traserul ajunge la stratul celulelor folliculare. În ovocitele previtelogenetice aceste celule sunt aplatizate și separate de ovocit printr-un spațiu larg (fig. 5). Celulele folliculare prezintă în citoplasmă mitocondrii, aparat Golgi, reticul endoplasmatic și ribozomi liberi. În cursul vitelogenezei celulele folliculare devin columnare și emit microvili spre ovocit. Rezultate noastre au demonstrat prezența peroxidazei exogene în lizozomii celulelor folliculare. Acești lizozomi sunt mai abundenți în foliculii previtelogenetici (fig. 6). Celulele folliculare sunt, de asemenea moderat endocitotice (5) fiind capabile să preia doar o cantitate mică din proteinele exogene (21, 33, 41). Unii autori (2) nu au observat produs de reacție peroxidazic în celulele folliculare ale ovocitelor vitelogenetice timpurii. În schimb, la mamifere, celulele granuloase încorporează peroxidază (3) sau alte proteine exogene (11).

Majoritatea autorilor (5, 25, 26, 41) au arătat că transportul moleculelor prin epiteliu folicular se realizează în principal prin canale existente între celule. Prezența acestor canale a fost demonstrată la diferite specii de pești (13, 19), amfibieni ca *X. laevis* (7, 9, 31), *Rana esculenta*, *R. temporaria* (17), *Triturus alpestris* (39), *Triturus viridescens* (14), *Necturus maculosus* (16) și reptile (20).

Stratul acelular dintre epiteliu folicular și ovocit poartă denumirea de *zona radiata*, *corion* sau *anvelopă vitelină*. În timpul perioadei previtelogenetice materialul care va forma acest înveliș acelular este depus între suprafața ovocitului și microvili (fig. 5). În cazul ovocitelor vitelogenetice anvelopa vitelină are o structură tripartită și este străbătută de pori în care se găsesc microvili ovocitari și folliculari (fig. 7). Peroxidaza a fost observată în contact cu peretele intern al unor pori și la suprafața microvililor (fig. 8). Observațiile noastre sunt asemănătoare cu cele ale altor autori care au demonstrat prezența acestui marker în jurul microvililor și în lumenul porilor zonei radiată din foliculii vitelogenetici mijlocii și târzii (2).

Ajuns la suprafața ovocitului moleculele exogene sunt internalizate prin endocitoză. În citoplasma corticală a ovocitelor vitelogenetice timpurii, traserul a fost observat în vezicule corticale în microscopia optică (fig. 9) și în corpuri multiveziculare (fig. 10) și lizozomi (fig. 11) în microscopia electronică. În ovocitele aflate la mijlocul perioadei vitelogenetice, traserul apare la periferia unor granule viteline mici (fig. 12) sau în apropierea granulelor viteline mari (fig. 13).

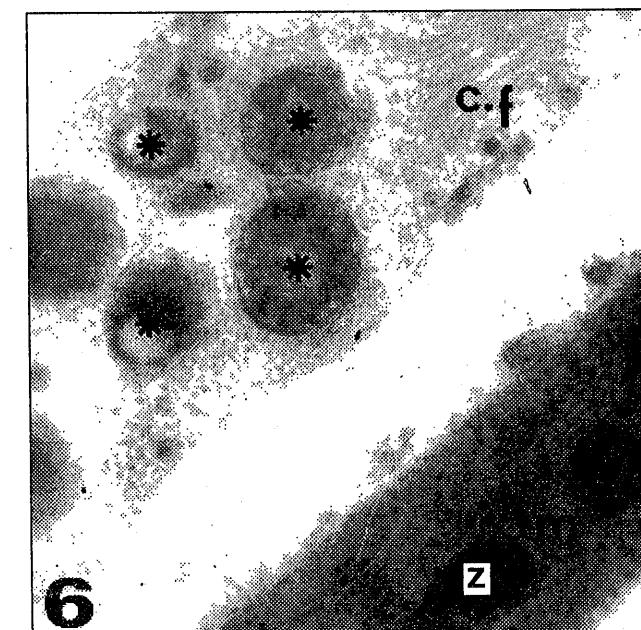
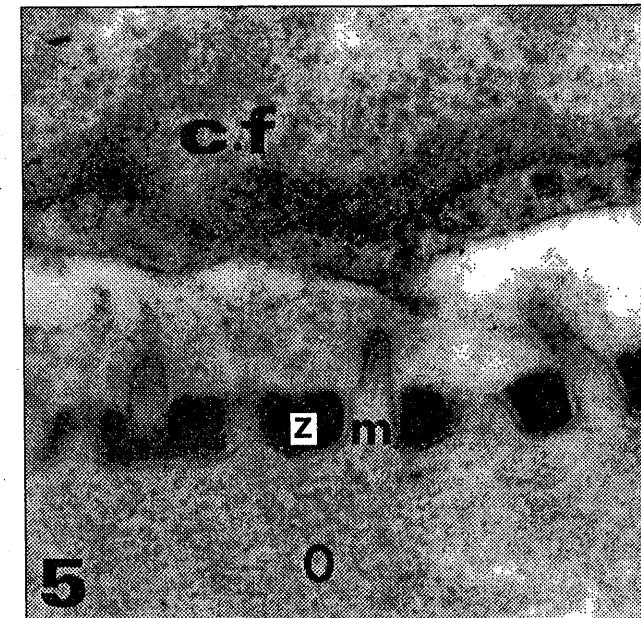


Fig. 5 — În ovocitele previtelogenetice începe acumularea între microvili ovocitari (m) a materialului ce va forma zona radiata (z). Celulele folliculare (c. f.) sunt aplatizate și separate de ovocit printr-un spațiu larg $\times 30.000$.

Fig. 6 — Celulele folliculare (c. f.) din foliculii previtelogenetici prezintă traserul peroxidazic localizat în numeroși lizozomi (*): m — microvil ovocitar, z — zona radiata $\times 40.000$.

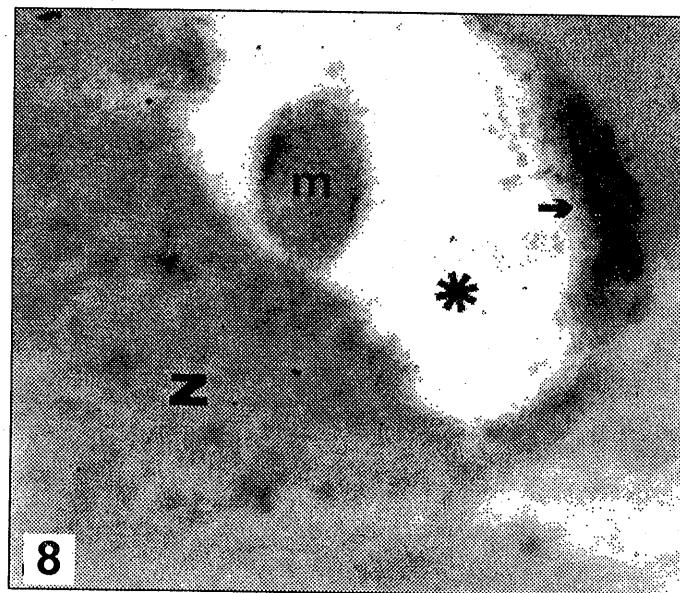
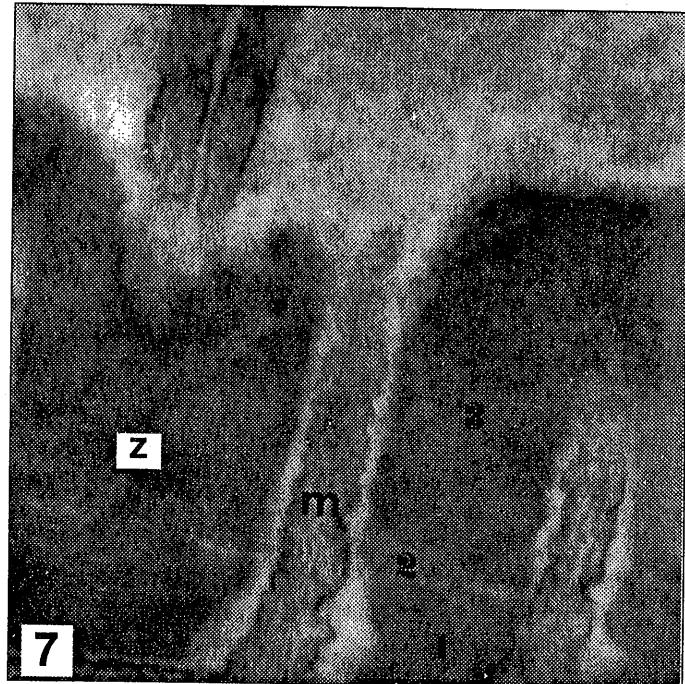


Fig. 7 — Ultrastructura zonei radiata (z). Se remarcă prezența celor trei straturi (1, 2, 3) ale anvelopei viteline și a microvililor (m) $\times 30.000$.

Fig. 8 — Prezența peroxidazei (săgeată) în contact cu peretele intern al porilor (*) ce străbat zona radiata (z):
m — microvil ovocitar $\times 60.000$.

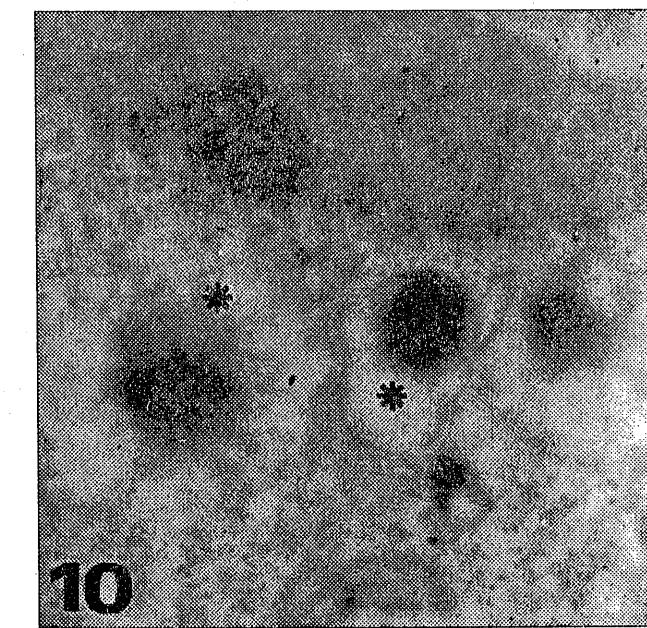
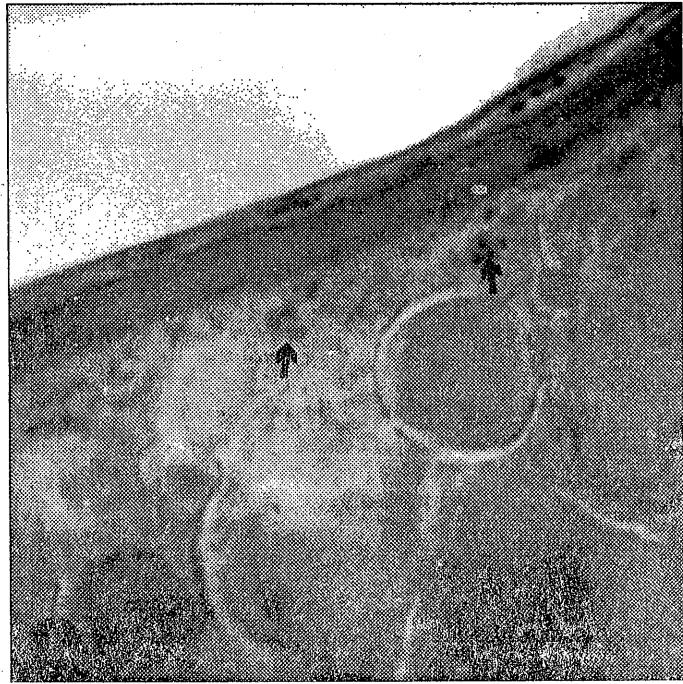


Fig. 9 — Acumularea trisorului în vezicule corticale (săgeți) din foliculii previtelogenetici timpurii $\times 640$.

Fig. 10 — Corpi multiveziculare corticale (*) în care se acumulează produs de reacție peroxidazic $\times 30.000$.

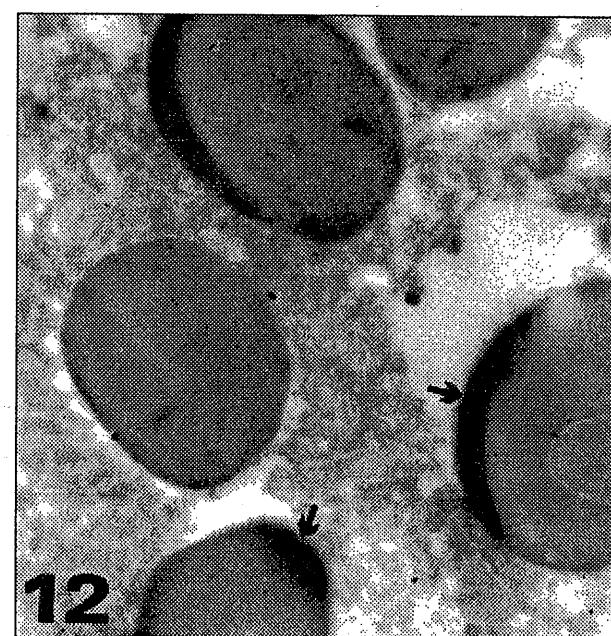
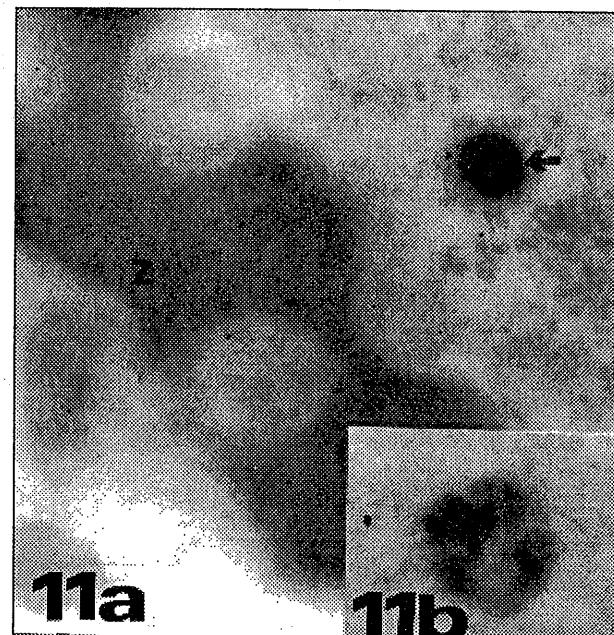


Fig. 11 — În foliculii vitelogenetici peroxidaza se acumulează în lizozomi corticali (săgeata): a. z — zona radiata $\times 40.000$, b. Lizozom cu produs de reacție peroxidazic $\times 60.000$.

Fig. 12 — Ovocit vitelogenetic în care peroxidaza a fost identificată la marginea granulelor viteline (săgeți) $\times 12.000$.

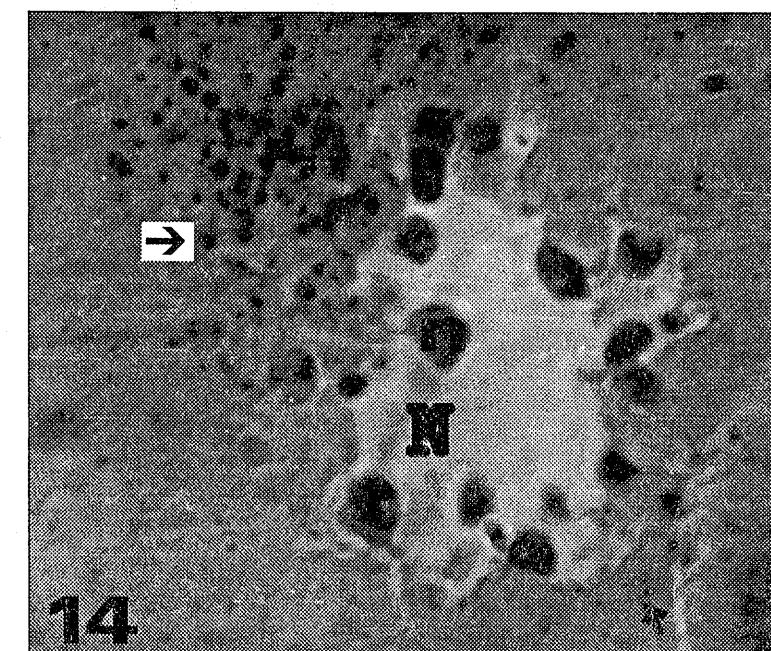
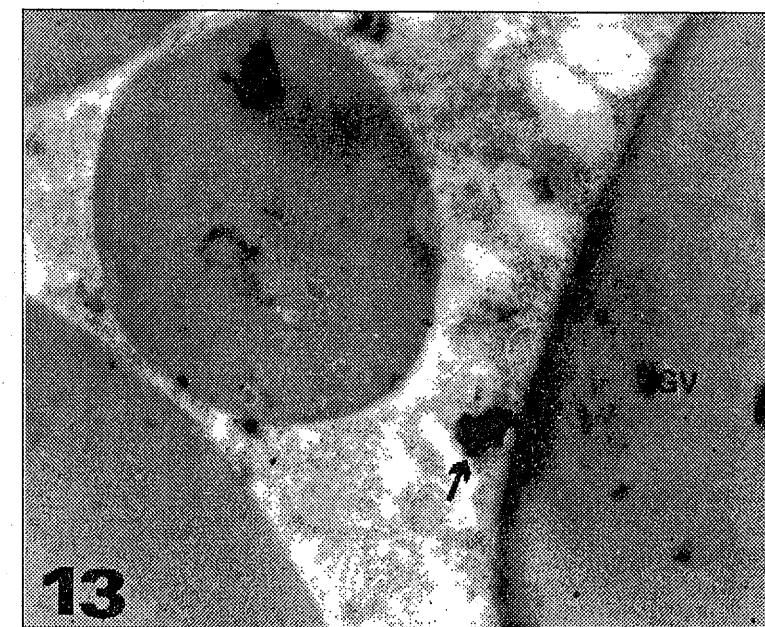


Fig. 13 — Acumularea de produs de reacție peroxidazic (săgeata) în apropierea unei granule viteline (GV) mari $\times 16.000$.

Fig. 14 — Ovocit la sfârșitul perioadei previtelogenetice. Se remarcă prezența lizozomilor (corpi multiveziculari) în toată citoplasma și perinuclear (săgeți): N — nucleu, n — nucleol $\times 640$.

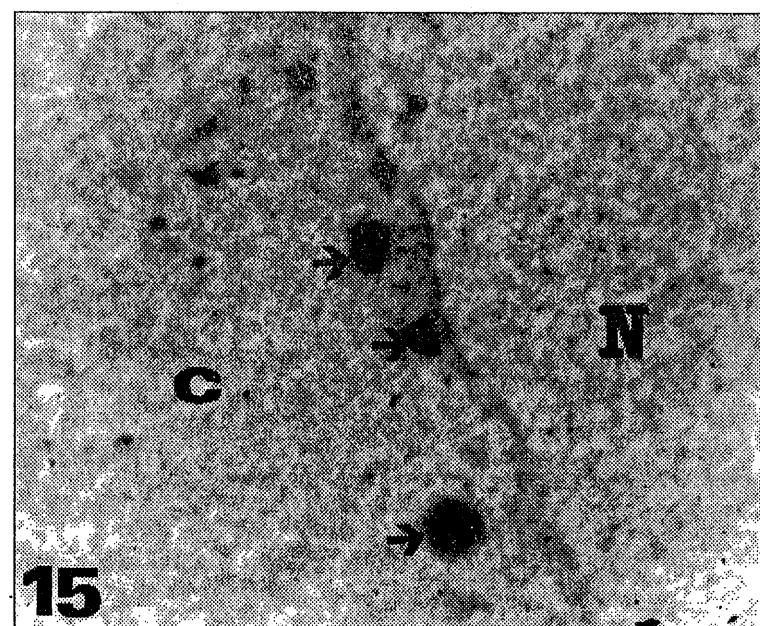


Fig. 15 — Lisozomi perinucleari (săgeți): c — citoplasmă, N — nucleu $\times 12.000$.

Ovocitele la sfârșitul perioadei previtelogenetice conțin trisorul în lisozomii distribuiți în toată citoplasma (fig. 14). Lisozomii sunt mai abundenți în regiunea perinucleară (fig. 15). Studiile anterioare (29) la *Carassius auratus gibelio* au evidențiat prezența enzimelor lisozomale în ovocitele pre- și vitelogenetice. Creșterea numărului de corpi multiveziculares (lisozomi) perinucleari a fost observată la păstrăvul tratat cu gonadotropină (28).

S-a evidențiat că în cazul vitelogeninei, după internalizarea prin endocitoză mediată de receptor, aceasta se deplasează succesiv prin vezicule acoperite cu clatină, vezicule neacoperite, endozomi tubulari, corpi multiveziculares, placete viteline primordiale și placete viteline mature (41).

Trasorii electrono-densi folosiți în studiile de endocitoză rămân în marea lor majoritate la periferia granulelor sau placetelor viteline (10, 39), spre deosebire de vitelogenină (41) care se poate integra în cristalul vitelin.

Peroxidaza administrată intraperitoneal a fost observată la pești în veziculele corticale și granulele viteline de diferite mărimi (26), veziculele de endocitoză, în invaginări, și tubuli corticali (2, 25). De asemenea, Wallace și Selman (38) au arătat că peroxidaza este prezentă în endozomii și granulele viteline nou formate din ovocitele ce parcurg prima jumătate a procesului de maturare, însă, încorporarea trisorului, inclusiv a vitelogeninei nu a fost observată în ovocitele care suferă maturarea în momentul injectării markerului.

Prezența peroxidazei în granulele viteline nu este surprinzătoare deoarece aceste organite sunt considerate lisozomi modificați care reprezintă destinația tuturor moleculelor internalizate de ovocit (22, 23, 24, 29, 35).

Pe baza studiilor cu un alt trisor electrono-dens (feritina), Busson-Mabillet (6) a concluzionat că internalizarea macromoleculelor la *Salmo trutta fario* este diferită de cea de la *X. laevis*. Conform acestui studiu la *X. laevis* vitelogenina este internalizată prin vezicule de endocitoză care fuzionează una cu alta pentru a forma corpuri vitelini tranziționali ce se unesc la rândul lor pentru a da naștere unei placete viteline. În acest caz, vitelusul se acumulează în aşa numiții „endozomi blocăți” în timp ce corpuri vitelini tranziționali și placetele viteline reprezintă lisozomi secundari modificați (37). La păstrăv, vitelusul este internalizat printr-o endocitoză mediată de receptor similară cu cea din celulele somatiche, formarea vitelusului implicând două compartimente: (a) vezicule acoperite și endozomi, (b) lisozomi preexistenți.

Studiile realizate la *X. laevis* au atăstat că vitelogenina este sechestrată de 25–30 de ori mai rapid decât alte proteine (32, 34, 36). Ea este incorporată în ovocit, procesată proteolitic și stocată sub formă de vitelus (23) în timp ce alte molecule sunt în mare parte degradate. Deși peroxidaza este mai susceptibilă la degradarea de către proteaze decât vitelogenina ea intră rapid în fracția placetelor viteline usoare într-o formă insolubilă în acid (30).

În concluzie, rezultatele noastre demonstrează permeabilitatea foliculului ovarian de *Carassius auratus gibelio* pentru molecule exogene de tipul peroxidazei. Calea pe care moleculele sunt transportate din sistemul circulator al foliculului ovarian la suprafața ovocitului este similară cu cea observată anterior la diferite specii de pești și amfibieni și implică: (a) celulele endoteliale ale tecii foliculare; (b) membrana bazală endotelială; (c) spațiile dintre celulele endoteliale; (d) țesutul conjunctiv al tecii interne; (e) membrana bazală care acoperă epitelul folicular; (f) canalele dintre celulele foliculare; (g) zona radiata. Ajunsă la suprafața ovocitului, moleculele sunt endocitate și depuse în organite viteline sau degradate. Pe parcursul acestei căi o cantitate mică de trisor este preluată și degradată în lisozomii din celulele periovocitare (epitelul de suprafață, celulele tecale și celulele foliculare).

BIBLIOGRAFIE

- ABRAHAM M., HILGE V., LISON S., TIBIKA H., Isr. J. Zool., **30**: 110, 1981.
- ABRAHAM M., HILGE V., LISON S., TIBIKA H., Cell Tissue Res., **235**: 403–410, 1984.
- ANDERSON E., în: BRIGGERS J. D., SCHUETZ A. W. (eds), Oogenesis, University Park Press, Baltimore, 1–70, 1972.
- ANDERSON W. A., SPIELMAN A., J. Cell Biol., **50**: 201–221, 1971.
- BRUMMETT A. R., DUMONT J.N., J. Ultrastruct. Res., **55**: 4–16, 1976.
- BUSSON-MABILOT S., Biol. Cell., **51**: 53–66, 1984.

7. DUMONT J. N., Dev. Biol., **136**: 153–180, 1972.
8. DUMONT J. N., J. Exp. Zool., **204**: 193–217, 1978.
9. DUMONT J. N., BRUMMETT A. R., J. Morphol., **155**: 73–98, 1978.
10. GIORGI F., JACOB J. J., J. Embriol. Exp. Morphol., **38**: 115–124, 1977.
11. GLASS L. E., CONS J. M., Anat. Rec., **162**: 139–155, 1968.
12. GRAHAM R. C., KARNOVSKY M. J., J. Histochem. Cytochem., **14**: 291–302, 1966.
13. GURAYA S. S., în: The Cell and Molecular Biology of Fish Oogenesis, Karger, (Basel), 86–102, 1986.
14. HOPE J., HUMPHRIES A. A., BOURNE G. H., J. Ultrastruct. Res., **9**: 302–324, 1963.
15. JARED D. W., WALLACE R. A., Exp. Cell Res., **57**: 454–458, 1969.
16. KESSEL R. G., PANJE W. R., J. Cell Biol., **39**: 1–34, 1968.
17. KRESS A., SPORNITZ U. M., Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., **128**: 438–456, 1972.
18. LE MENN F., în: Proc. Int. Symp. Reproductive Physiology of Fish, Wageningen, 198, 1982.
19. NAGAHAMA Y., CHAN K., HOAR W. S., Can. J. Zool., **54**: 1128–1139, 1976.
20. NAGLER J. J., TYLER C. C., SUMPTER J. P., J. Exp. Zool., **269**: 45–52, 1994.
21. NEAVES W. B., J. Exp. Zool., **179**: 339–364, 1972.
22. OPRESKO L. K., WILEY H. S., WALLACE S. A., J. Exp. Zool., **209**: 367–376, 1979.
23. OPRESKO L. K., WILEY H. S., WALLACE R. A., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **77**: 1556–1560, 1980.
24. OPRESKO L. K., WILEY H. S., WALLACE R. A., Cell, **22**: 47–57, 1980.
25. SELMAN K., WALLACE R. A., Tissue & Cell, **14**: 555–571, 1982.
26. SELMAN K., WALLACE R. A., J. Exp. Zool., **226**: 441–457, 1983.
27. TYLER C. R., SUMPTER J. P., BROMAGE N. R., J. Exp. Zool., **255**: 216–231, 1990.
28. UPADHYAY S. N., BRETON B., BILLARD R., Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., **18**: 1019–1025, 1978.
29. VARO M. I., MESTER R., SCRIPCARIU D., PECINGINE L., Rev. Roum. Biol. Biol. Anim., **22**: 27–32, 1977.
30. WALL D. A., PATEL S., J. Biol. Chem., **262**: 14779–14789, 1987.
31. WALLACE R. A., DUMONT J. M., J. Cell Physiol., **72**, Suppl. 1, 1–18, 1968.
32. WALLACE R. A., JARED D. W., NELSON B. L., J. Exp. Zool., **175**: 259–270, 1970.
33. WALLACE R. A., JARED D. W., DUMONT J. M., SEGA N. W., J. Exp. Zool., **184**: 321–334, 1973.
34. WALLACE R. A., JARED D. W., J. Cell Biol., **69**: 345–351, 1976.
35. WALLACE R. A., HOLLINGER T. G., Exp. Cell Res., **119**: 277–287, 1979.
36. WALLACE R. A., DUEFEL R., MISULOVIN Z., Comp. Biochim. Physiol., **65B**: 151–155, 1980.
37. WALLACE R. A., OPRESKO L., WILEY H. S., SELMAN K., în: Molecular Biology of Egg Maturation, CIBA Found. Symp. **98**: 228–248, 1983.
38. WALLACE R. A., SELMAN K., Dev. Biol., **110**: 492–498, 1985.
39. WARTENBURG H., Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., **63**: 1004–1019, 1964.
40. WEGEMANN I., GOTTING K. J., Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., **119**: 405–433, 1971.
41. YOSHIZAKI N., Develop. Growth. Differ., **34**: 517–527, 1992.

Primit în redacție
la 17 septembrie 1996

Universitatea București,
Facultatea de Biologie,
Splaiul Independenței, nr. 91–95.

OBSERVAȚII ASUPRA SPERMATOGENEZEI LA *POLYODON SPATHULA* (WALBAUM) ACLIMATIZAT ÎN ROMÂNIA

LOTUS MEȘTER*, OTILIA ZĂRNESCU*, C. TESIO*, D. VIZITIU**,
CRISTINA STAICU*, C. STOICESCU**

The aim of this paper is to study the testicular evolution in paddlefish introduced in our country. In this fish testicular type is primitive, including seminiferous tubules and interstitial tissue. The immature testis (at age 0⁺) contains very numerous spermatogonia, that are not grouped into cysts, being surrounded individually by the cytoplasmic extensions of Sertoli cells. The secondary spermatogonia are confined to germinal cysts. During spermatogenesis the excess cytoplasm is eliminated (as residual bodies). The paddlefish spermatozoa possess a complex acrozone, in teleost fishes being probably a secondary simplification. Around the spermatogonia from the immature testis there are lipids, put into evidence by Sudan coloration. In the mature ones, the lipids are restricted to the cytoplasm of the Sertoli cells, disposed at the periphery of the tubules. The lipid accumulation in Sertoli cells is the consequence of residual bodies phagocytosis. The males of paddlefish, acclimated in our country reach sexual maturity more rapidly than in natural waters (4–5 summers). There are necessary further investigations about their fertilisation capacity.

Problema conservării sturionilor a intrat recent în atenția cercetătorilor din diferite țări, una din metodele preconizate fiind și aclimatizarea unor specii foarte rare, în bazine piscicole. Printre acestea se numără și *Polyodon spathula* originar din SUA, adus ca larve la Stațiunea de Cercetări Piscicole Nucet din 1992.

Deși reproducerea este o etapă deosebit de importantă în viața unui animal și de succesul său depinde supraviețuirea speciei, există puține studii asupra gametogenezei la *Polyodon spathula* (1, 15), probabil din cauza perioadei lungi necesare maturării (7–10 ani).

Lucrarea prezintă include o caracterizare a spermatogenezei la *Polyodon spathula* aclimatizat în țara noastră și o corelare a dezvoltării somatice cu gradul de diferențiere al gonadei.

MATERIAL ȘI METODĂ

Observațiile histologice au fost realizate pe muschi de *Polyodon spathula* de diferite vârste proveniți de la Stațiunea de Cercetări Piscicole Nucet.

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 49, nr. 1, p. 27–34, București, 1997

După sacrificare, s-au prelevat fragmente de gonadă, care au fost fixate în formol tamponat (pH — 7,4), Bouin și Ciaccio. Fragmentele de țesut au fost incluse în parafină, secționate la microtom (5μ) și colorate cu hematoxilină-eozină și Sudan negru pentru evidențierea lipidelor (2).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Testicul de *Polyodon spathula* este format din două benzi care se întind de-a lungul marginilor latero-dorsale ale corpului. Aceste benzi sunt unite doar la extremitatea caudală și vin în contact pe partea ventrală cu o masă de țesut adipos, foarte dezvoltată la exemplarele imature.

Masculii de *Polyodon spathula* se caracterizează printr-un testicul de tip primitiv, în interiorul căruia se găsesc tubulii seminiferi și țesut intersticial. Întregul testicul este acoperit de o capsulă de țesut conjunctiv.

Compartimentul tubular al testiculu este format din două tipuri celulare: celule germinale și celule somatice Sertoli, localizate la periferia tubulilor.

La pești osoși unitatea spermatogenetică a testiculu este reprezentată de spermatocit, definit de Callard (3) ca o clonă de celule germinale asociată cu celule Sertoli. Întreaga unitate este delimitată de o membrană bazală. Maturarea celulelor germinale la *Polyodon spathula* are loc în cadrul acestor spermatociști și cuprinde următoarele stadii: spermatogonii, spermatocite primare, spermatocite secundare, spermatide și spermatozoizi.

Spermatogoniile primare sunt foarte abundente în testicul imatur (exemplare de două veri) și se caracterizează prin faptul că nu sunt grupate în spermatociști, fiind încunjurate individual de prelungirile citoplasmatice ale celulelor Sertoli (fig. 1). Spermatogoniile secundare și toate stadiile ulterioare ale dezvoltării celulelor germinale se diferențiază în interiorul spermatocistului. Spermatogoniile secundare sunt dispuse în spermatocisti, care sunt încunjați de o membrană bazală (fig. 2). Acestea prezintă un nucleu eucromatic, care conține un nucleol proeminent, localizat frecvent lângă membrana nucleară. În testicul matur spermatogoniile sunt dispuse la periferia tubulilor seminiferi.

În momentul în care spermatogoniile secundare își replică ADN-ul și intră în profaza meiozei, ele devin spermatocite primare. Aceste celule prezintă un nucleu voluminos, care conține 1–2 nucleoli mari (fig. 3). Spermatocitele primare prezintă o morfologie nucleară diferită pe măsură ce parcurg etapele profazelor meiotice (fig. 4).

Spermatocitele secundare sunt mai mici decât cele primare și nucleul prezintă cromatina mai condensată. Ele reprezintă un stadiu tranzitoriu și sunt dificil de diferențiat de spermatidele timpurii în microscopia optică (13).

În cursul procesului de spermogeneză, spermatidele suferă o serie de modificări nucleare și citoplasmatic, care culminează cu formarea spermatozoidu-

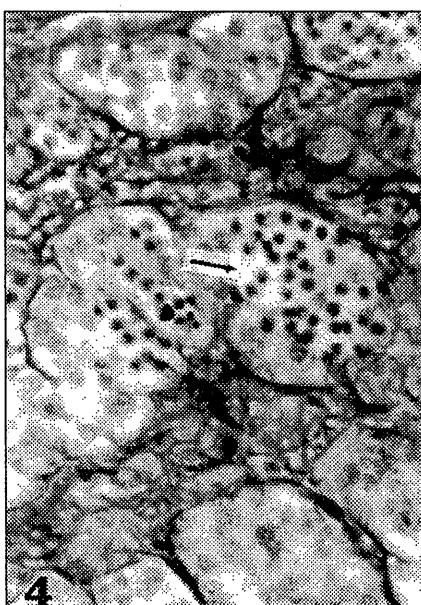
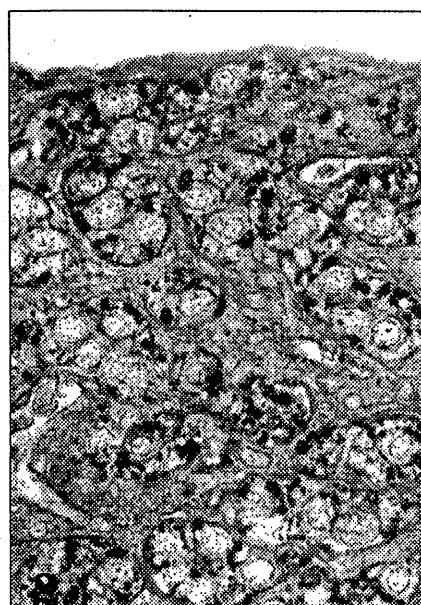
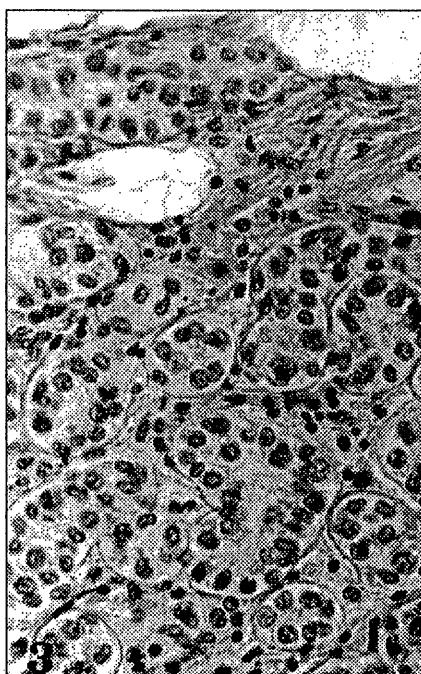
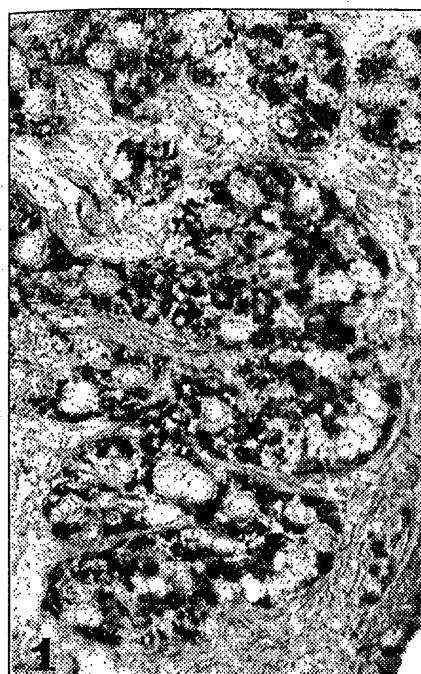


Fig. 1 — Spermatogonii primare încunjurate de celule Sertoli sudanofile. Sudan.

Fig. 2 — Spermatocisti cu spermatogonii secundare. Sudan.

Fig. 3 — Spermatocite primare în testicul exemplarelor de trei veri. Hematoxilină-eozină.

Fig. 4 — Spermatocite primare în profaza meiozei (sägeata). Hematoxilină-eozină.

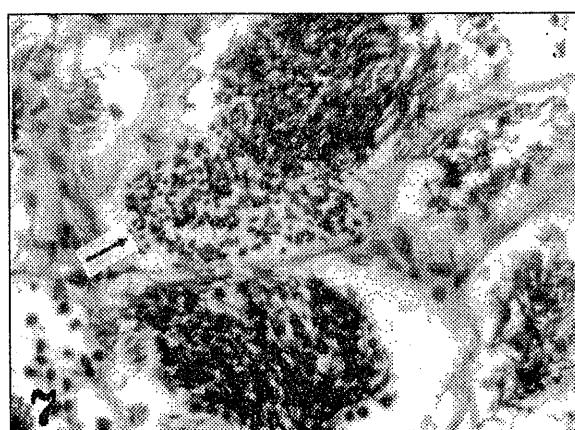
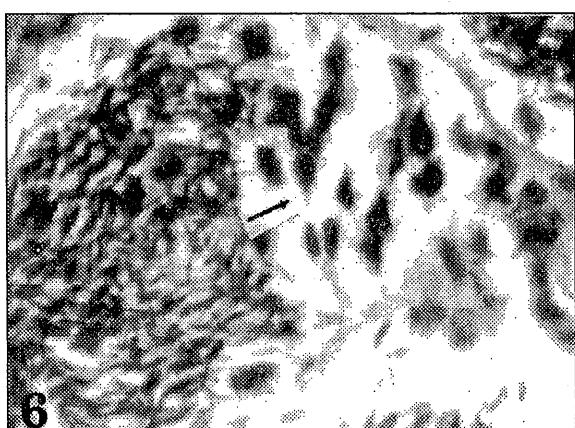
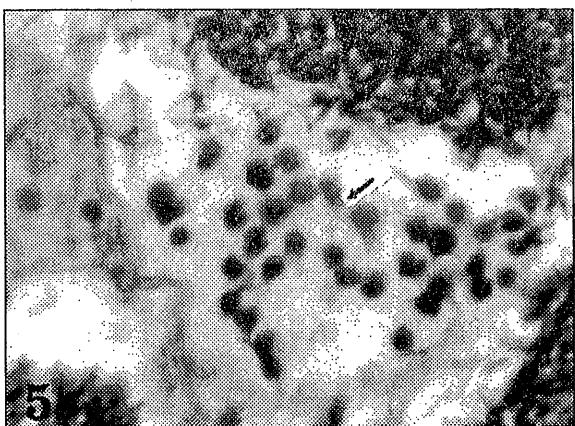


Fig. 5 — Spermatide timpurii (săgeata). Hematoxilină-eozină.
Fig. 6 — Spermatide târzii (săgeata). Hematoxilină-eozină.
Fig. 7 — Spermatozoizi maturi (săgeata). Hematoxilină-eozină.

lui matur. Modificările nucleare sunt reprezentate de tranziția de la un nucleu rotund în spermatidele timpurii (fig. 5) la unul alungit caracteristic spermatozoidului (fig. 6). Paralel cu modificările nucleare și condensarea cromatinei are loc formarea acrozomului, a piesei intermediare și a flagelului. La sfârșitul spermiogenezei citoplasma în exces (corp rezidual) este eliminată. Spermatozoizii imaturi sunt dispuși sub formă de perechi sau grupuri de diferite dimensiuni (fig. 7), iar cei maturi formează mase voluminoase în lumenul tubulilor seminiferi.

Spre deosebire de peștii teleosteeni, sturionii posedă un acrozom complex (11). Jamieson (10) a sugerat că structura spermatozoidului la Neopterigieni pare a fi rezultatul unei simplificări secundare a unui tip de spermatozoid mai complex și a presupus că gameții Acipenseridelor datorită prezenței acrozomului, pot reprezenta un stadiu tranzitional înaintea acestei simplificări.

Țesutul interstitișal apare în microscopia optică sub forma unor mase celulare alungite, mai dezvoltate în testicul imatur (fig. 8). S-a demonstrat la o serie de teleosteeni că acest țesut este alcătuit din celule Leydig, fibroblaste, celule mioide, vase de sânge și fibre de colagen (4).

Colorarea cu Sudan negru a evidențiat prezența lipidelor în jurul spermatogoniilor din testicul peștilor imaturi (fig. 1, 2). Ulterior, în testicul matur, sudanofilia este restrânsă la citoplasma celulelor Sertoli localizate la periferia tubulilor (fig. 9). Sudanofilia celulelor Sertoli a fost evidențiată și la *Esox lucius* (8), atât în celulele care înconjoară spermatogoniile, cât și în cele de la marginea tubulilor seminiferi ce conțin spermatozoizi. Acumularea de lipide în celulele Sertoli este consecința fagocitării corpilor reziduali (9). Fagocitoza corpilor reziduali a fost observată la Salmoniforme, Atheriniforme, Perciforme și Clupeiforme (5, 6, 7, 12, 14).

Fagocitoza realizată de celulele Sertoli a fost împărțită de Grier (9) în două categorii: (1) fagocitarea celulelor germinale degenerate, inclusiv spermatozoizii reziduali rămași după sezonul de reproducere și (2) fagocitarea corpilor reziduali.

Observațiile noastre asupra gonadelor de *Polyodon spathula* au arătat existența unei corelații între caracteristicile somatiche (lungimea corpului, greutate) și gradul de dezvoltare al testiculului (tabelul nr. 1). Conform acestor date, masculii cu lungimi cuprinse între 80–98,5 cm și greutăți de 1,600–4,000 kg nu conțin spermatozoizi maturi. În schimb, masculii cu lungimi de peste 99,6 cm și greutăți ce depășesc 4,300 kg au atins maturitatea sexuală și conțin spermatozoizi maturi. În plus, masculii în vara a cincea sunt la începutul unui nou ciclu reproducător, spermatozoizii maturi fiind detectați în canalele spermatiche (fig. 10).

Tabelul nr. 1

Stadiul de dezvoltare al testiculului în funcție de caracteristicile somatice

Vârstă	Lungimea corpului (cm)	Greutatea (g)	Stadiul de diferențiere al gonadei
o vară	52	400	nediferențiată
o vară	51,5	405	nediferențiată
o vară	55,5	475	nediferențiată
o vară	57,5	500	nediferențiată
o vară	61	610	nediferențiată
două veri	70,5	1160	spermatogonii primare și secundare
două veri	71,5	1280	spermatogonii primare și secundare
două veri	72,5	1390	spermatogonii primare și secundare
trei veri	97	4000	spermatogonii primare și secundare, spermatocite primare
trei veri	98,5	3890	spermatogonii primare și secundare, spermatocite primare
patru veri	105	4600	spermatide și spermatozoizi abundenți
patru veri	110	4350	spermatide și spermatozoizi abundenți
cinci veri	109	4300	spermatogonii și spermatocite primare (începutul unui nou ciclu de reproducere)

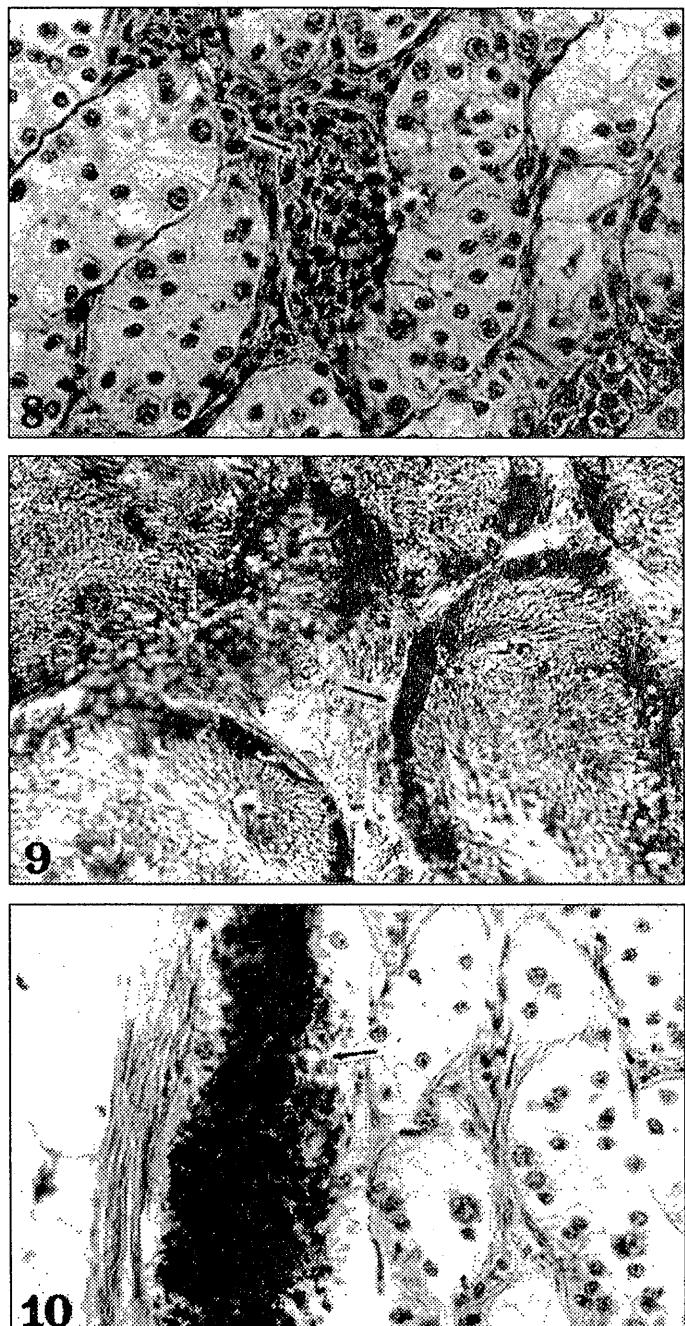


Fig. 8 — Ţesut interstijial în testicul imatur (săgeata). Hematoxilină-eozină.

Fig. 9 — Prezența lipidelor în celulele Sertoli din testicul matur (săgeata). Sudan.

Fig. 10 — Spermatozoizii la masculul de cinci veri se găsesc numai în canalele spermatiche (săgeata). Hematozilină-eozină.

Rezultatele noastre sunt în concordanță cu cele ale lui Weldon Larimore (15), care a arătat că masculii ating maturitatea sexuală la o lungime de 101,6 cm. Cel mai mic mascul cu spermatozoizi maturi a avut o lungime de 99,6 cm și o greutate de 3,350 kg. Spre deosebire însă de aceste rezultate care indică o maturare sexuală a masculilor la aproximativ șapte ani, observațiile noastre arată că în condițiile de hrană și climă ale țării noastre această maturare poate fi atinsă la vârstă de 4–5 veri.

În concluzie, masculii de *Polyodon spathula* aclimatizați în țara noastră ating maturitatea sexuală mai repede decât cei din arealul natural. Sunt necesare însă studii suplimentare privitoare la capacitatea acestor spermatozoizi de a suferi o reacție acrozomală normală.

BILBIOGRAFIE

1. ALEXANDROVNA I. V., Teză de doctorat, Moscova, 1989.
2. BAYLISS HIGH O. B., în: Theory and Practice of Histological Techniques, BANCROFT Y. D., STEVENS A., TURNER D. R. (Eds), CHURCHILL LIVINGSTONE, 215–244, 1990.
3. CALLARD G. V., în: Vertebrate Endocrinology: Fundamentals and Biomedical Implications, 4, part A, PANG A. P., SCHREIBMAN M., (Eds), Academic Press, New York, 303–341, 1991.

4. CAUTY C., LOIR M., *Tissue & Cell*, **27**: 383–395, 1995.
5. GRIER H. G., *J. Morphol.*, **146**: 229–250, 1995.
6. GRIER H. J., LINTON J. R., LEATHERLAND J. F., DE VLAMING V. L., *Am. J. Anat.*, **159**: 331–345, 1980.
7. GRIER H. J., *Am. Zool.*, **21**: 345–357, 1981.
8. GRIER H. J., VAN DER HURK R., BILLARD R., *Cell Tissue Res.*, **257**: 491–496, 1989.
9. GRIER H. J., în: *The Sertoli Cell*, RUSSEL L. D., GRISWOLD M. D. (Eds), Cache River Press, 703–739, 1993.
10. JAMIESON B. G. M., *Fish Evolution and systematics: Evidence from spermatozoa*. Cambridge Univ. Press, 1991.
11. KOCH R. A., LAMBERT C. C., *J. Electron. Microsc.*, **16**: 115–154, 1990.
12. LAHNSTEINER F., PATZNER R. A., *Zool. Anz.*, **225**: 87–100, 1990.
13. NAGAHAMA Y., în: *Fish Physiology*, HOAR W. S., RANDALL D. J., FARRELL A. P. (Eds), **IX A**, Academic Press, New York, 223–276, 1993.
14. SPRANDO R. L., RUSSELL L. D., *J. Morphol.*, **198**: 165–177, 1988.
15. WELDON LARIMORE R., *Copeia*, **2**: 116–124, 1950.

Primit în redacție
la 31 octombrie 1996

* Universitatea București,
Facultatea de Biologie,
Splaiul Independenței, nr. 91–95.
** Stațiunea pentru Cercetări
Piscicole Nucet, jud. Dâmbovița.

STUDII PRIVIND DISTRIBUȚIA GLICOZAMINOGLICANILOR ÎN CORNEEA DE PORC

MARIA CALOIANU*, LUCIA MOLDOVAN*, OTILIA ZĂRNEȘCU**

In most mammalian and avian cornea two distinct types of proteoglycans are present: one type containing keratan sulfate chains (KS), also named lumican, and the other type constituted of dermatan sulfate (DS) and chondroitin sulfate (CS) chains known as decorin. We have studied the distribution of glycosaminoglycans within the porcine corneal stroma layers by specific histochemical methods. Tissues processed for light microscopy were stained by Ruthenium Red and Alcian Blue in the presence of MgCl₂ after keratanase, chondroitinase AC and chondroitinase B enzymic digestion. The results obtained by microscopic examination revealed in the anterior (epithelial) zone of the stroma and in the posterior (endothelial) side of the stroma a high amount of glycosaminoglycans, uniformly distributed, unlike the middle zone of the stroma where glycosaminoglycan concentration was lower. We have also observed that the amount of keratan sulfate was higher in the anterior and the posterior thirds of the stroma, whereas dermatan sulfate and chondroitin sulfate were present in high concentrations towards the posterior zone (above Descemet membrane).

Glicozaminoglicanii (GAG) sunt heteropolimeri glucidici liniari, formați din unități dizaharidice repetitive (în general, o hexoză aminată și un acid uronic) sulfatate în diverse poziții.

Proprietățile fizice, chimice și biologice ale glicozaminoglicanilor sunt determinate de înalta lor reactivitate, conferită de caracterul de polianionici puternici. Deoarece aceste macromolecule au o importanță fundamentală în multe domenii ale cercetării biomedicale, analiza lor histochimică cu ajutorul coloranților cationici este larg aplicată (1), (2), (3).

Cele mai multe studii histochimice privind distribuția glicozaminoglicanilor în țesuturi folosesc următorii coloranți cationici: albastru alcian dizolvat în soluții cu diferite pH-uri (4), cupromeronic blue (5), cuprolinic blue (6) și diamine de fier (7). Aceste metode de colorare s-au dovedit a fi ineficiente pentru vizualizarea tuturor tipurilor de glicozaminoglicani și, mai ales, în cazurile în care ei se găsesc în cantitate mică în diferitele structuri histologice.

În țesuturi, glicozaminoglicanii se găsesc sub formă de proteoglicani, numărul lanțurilor de glicozaminoglicani variind între 1 și 100. În cornea celor mai multe mamifere și păsări sunt prezente două tipuri distincte de proteoglicani: unul care conține lanțuri de keratan sulfat (KS), denumit și lumican, și altul

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 49, nr. 1, p. 35–39, București, 1997

constituit din lanțuri de dermatan sulfat (DS) și condroitin sulfat (CS), cunoscut ca decorină.

Scopul prezentei lucrări a fost identificarea și localizarea în microscopie optică a glicozaminoglicanicilor din cornea de porc prin două metode de colorare specifice, una cu roșu de rutenu și alta cu albastru alcian după tratarea secțiunilor de țesut cu enzime specifice.

MATERIAL ȘI METODĂ

Corneile de porc au fost procurate de la abatorul București. Fragmente din țesuturile prelevate imediat după sacrificarea animalelor au fost procesate în vederea analizării în microscopie optică.

Pentru evidențierea glicozaminoglicanicilor am utilizat două metode: o metodă de colorare specifică cu roșu de rutenu modificată (8) și o metodă de colorare cu albastru alcian după digestia cu enzime specifice.

Metoda cu roșu de rutenu

Fragmentele de țesut au fost fixate într-o soluție de glutaraldehidă 2,5% în tampon cacodilat de sodiu 0,1 M, pH 7,4 conținând roșu de rutenu 0,3%. După spălarea probelor de 3 ori, câte 15 minute cu soluție de tampon cacodilat de sodiu 0,1 M, pH 7,4, deshidratare în alcool, clarificare în toluen și includere în parafină, probele s-au examinat la microscopul optic.

Metoda digestiei enzimaticice

1. Digestia cu condroitinază AC

Secțiunile de țesut cornean au fost incubate timp de 3 ore, la 37°C într-o soluție de condroitinază AC 2U/ml în tampon Tris-HCl 0,0001 M, pH 8,0 conținând acetat de sodiu 6 μ mol/ml, BSA 20 μ g/ml, (EDTA) Na_2 2 μ mol/ml, PMSF(fluorură de fenil metan sulfonil) 1 μ mol/ml și pepstatin 0,07 μ mol/ml. Colorarea secțiunilor astfel tratate s-a făcut cu o soluție de albastru alcian 0,05% în tampon acetat 0,2 M, pH 5,8 conținând $MgCl_2$ 0,5 M.

2. Digestia cu condroitinază B

Înainte de colorare cu albastru alcian în tampon acetat conținând $MgCl_2$ 0,5 M, secțiunile au fost imersate într-o soluție de condroitinază B (2U/ml) conținând aceiași reactivi ca și soluția de condroitinază AC, timp de 3 ore, la 25°C.

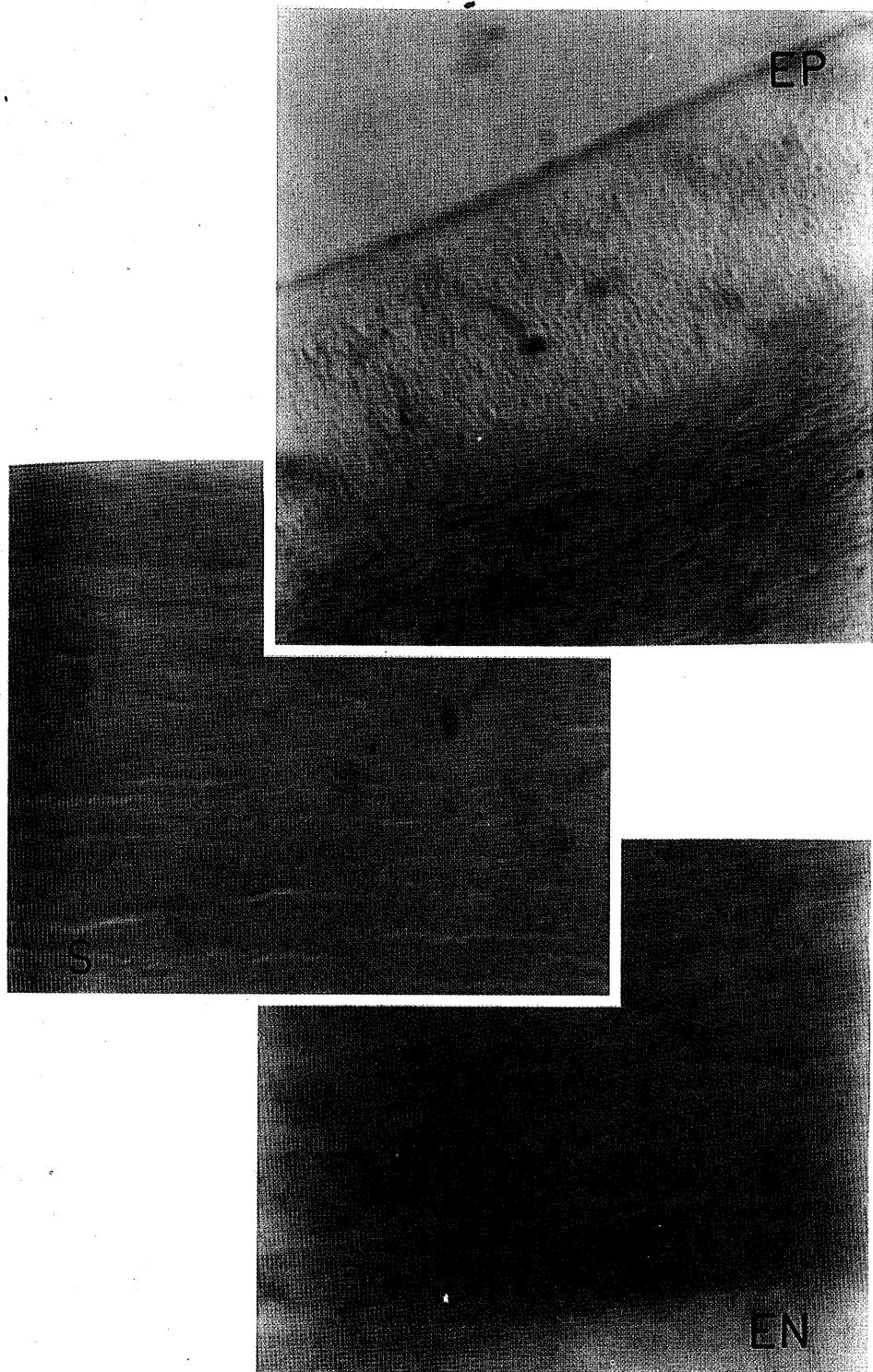


Fig. 1 — Evidențierea glicozaminoglicanicilor în straturile stromei corneene prin colorare cu roșu de rutenu. Toți glicozaminoglicanii apar colorați în roșu.

EP — epiteliu; S — stroma; EN — endoteliu.

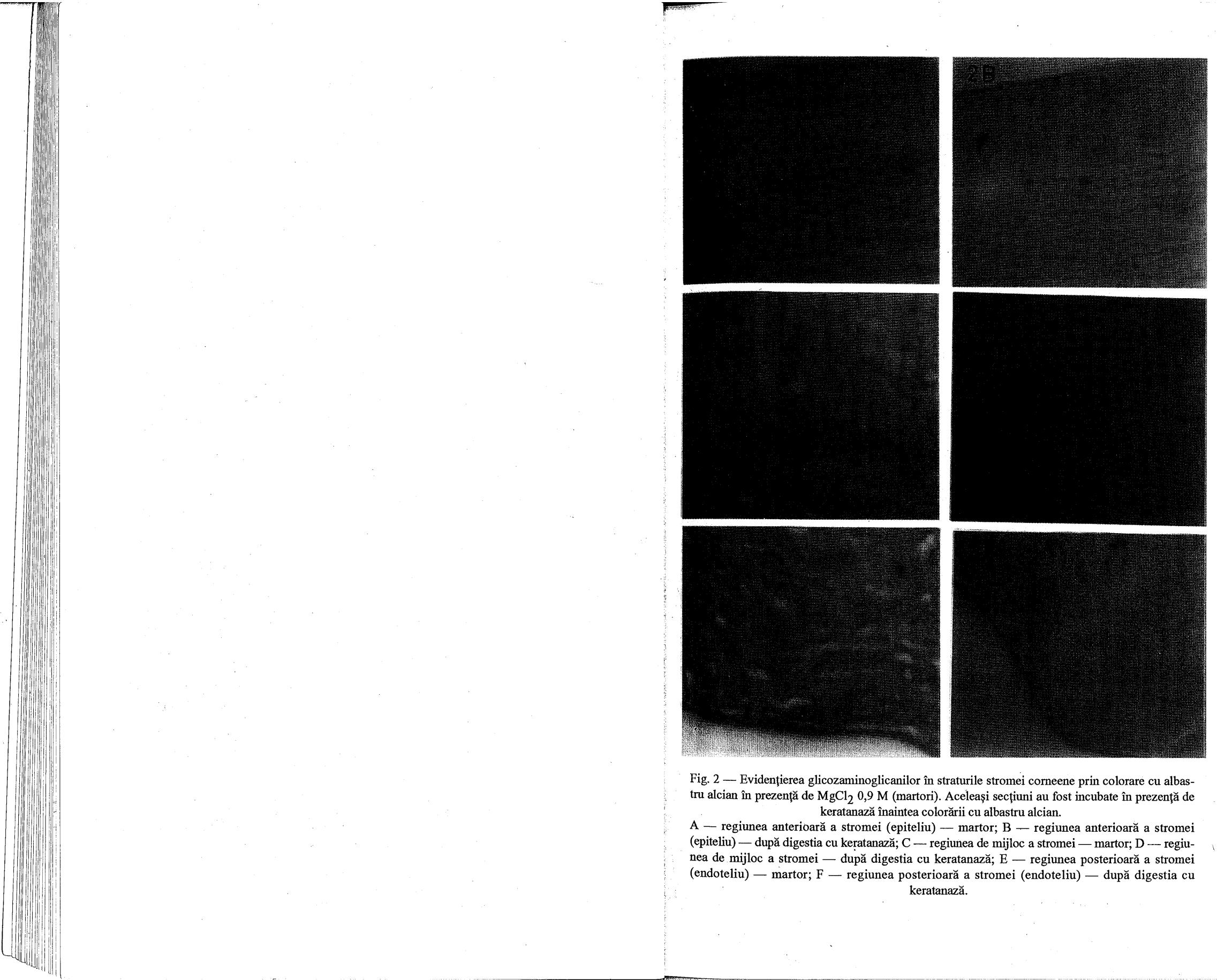


Fig. 2 — Evidențierea glicozaminoglicanicilor în straturile stromei corneene prin colorare cu albastru alcian în prezență de $MgCl_2$ 0,9 M (martori). Aceleși secțiuni au fost incubate în prezență de keratanază înaintea colorării cu albastru alcian.

A — regiunea anterioară a stromei (epiteliu) — martor; B — regiunea anterioară a stromei (epiteliu) — după digestia cu keratanază; C — regiunea de mijloc a stromei — martor; D — regiunea de mijloc a stromei — după digestia cu keratanază; E — regiunea posterioară a stromei (endoteliu) — martor; F — regiunea posterioară a stromei (endoteliu) — după digestia cu keratanază.

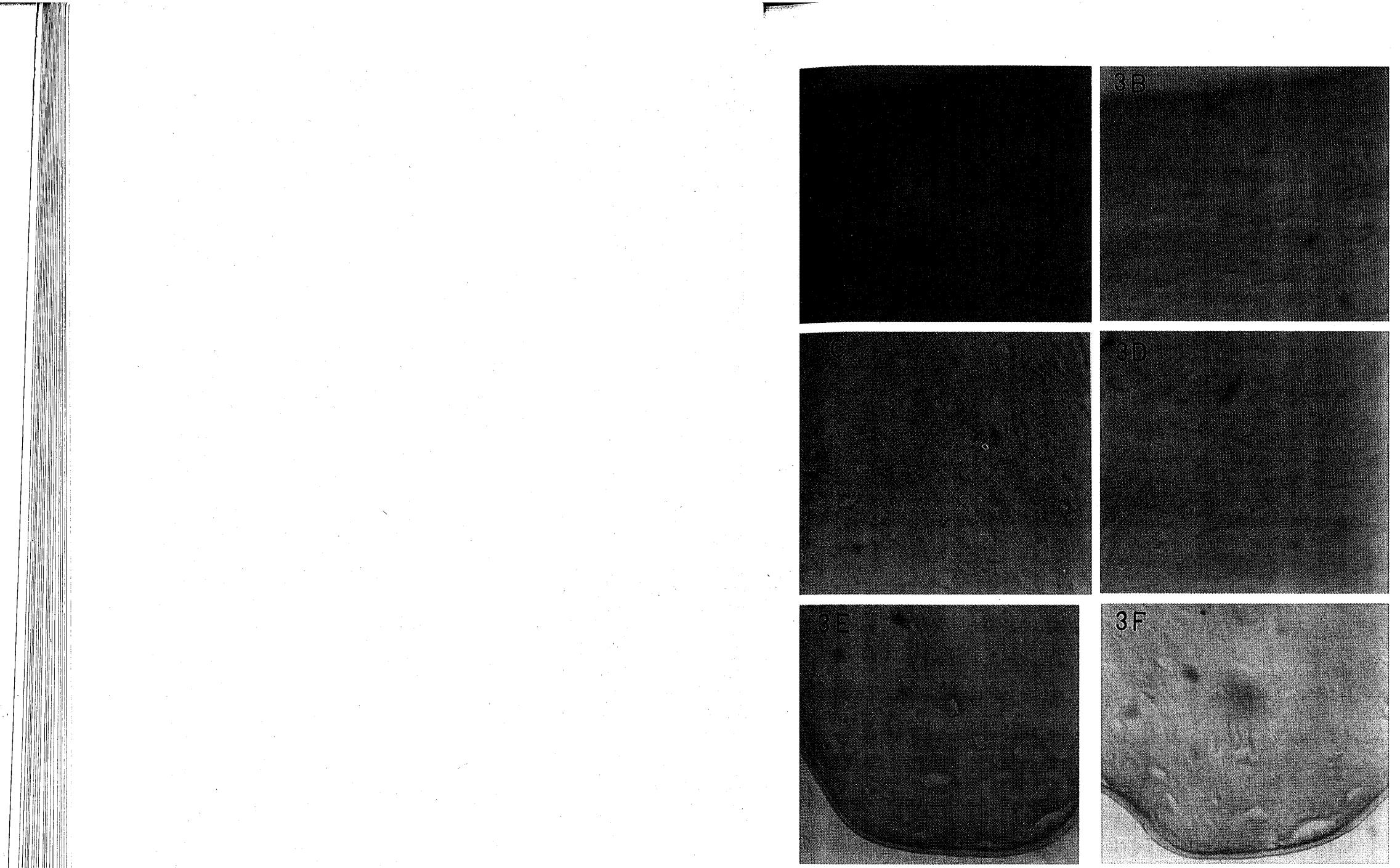


Fig. 3 — Evidențierea glicozaminoglicanicilor în straturile stromei corneene prin colorare cu albastru alcian în prezență de $MgCl_2$ 0,5 M (martori). Aceleași secțiuni au fost incubate în prezență de condroitinază B înaintea colorării cu albastru alcian.

A — regiunea anterioară a stromei (epiteliu) — martor; B — regiunea anterioară a stromei (epiteliu) — după digestia cu condroitinază B; C — regiunea de mijloc a stromei — martor; D — regiunea de mijloc a stromei — după digestia cu condroitinază B; E — regiunea posterioară a stromei (endoteliu) — martor; F — regiunea posterioară a stromei (endoteliu) — după digestia cu condroitinază B.

3. Digestia cu keratanază

Secțiunile au fost incubate într-o soluție conținând keratanază (1U/ml) și reactivii prezentați mai sus, timp de 3 ore, la 37°C. Apoi, acestea s-au colorat cu albastru alcian în prezență de $MgCl_2$ 0,9 M.

Ca probe martor pentru cele trei tipuri de experimente de digestie enzimatică s-au folosit secțiuni care au fost incubate în soluția tampon fără enzime, în condiții de temperatură și de timp identice.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Cornea reprezintă un țesut avascular și transparent cu o structură unică, relativ simplă și cuprinde cinci straturi: epitelul pluristratificat, stratul Bowman, stroma, membrana Descemet și endoteliul.

Remarcabilele proprietăți fizice ale cornee sunt rezultatul direct al unicei compoziții biochimice și organizării ultrastructurale fine ale matricei sale extracelulare reprezentată de stroma corneană. Aceasta este constituită, în principal, din lamele de fibrile de colagen, dispuse paralel cu suprafața stromei, înconjurate de o matrice polianionică de proteoglicani. În funcție de lanțurile de glicozaminoglicani pe care-i conțin, proteoglicanii din corne sunt de două tipuri: proteoglicani de tip keratan sulfat (PG—KS) și proteoglicani de tip condroitin/dermatan sulfat (PG—CS/DS).

Distribuția glicozaminoglicanicilor în țesuturi corneene s-a evidențiat prin tehnici histochimice care folosesc diverse coloranți cationici. Glicozaminoglicanii interacționează specific cu coloranții cationici în prezența electrolitilor, la o anumită concentrație de elecțrolit, denumită concentrație critică. Noi am studiat distribuția glicozaminoglicanicilor corneeni – keratan sulfat, dermatan sulfat și condroitin sulfat – folosind doi coloranți cationici specifici: roșu de ruteniu și albastru alcian. În secțiunile examinate după colorarea cu roșu de ruteniu, care s-a adăugat în soluția de fixare, glicozaminoglicanii apar colorați în roșu.

Se observă că glicozaminoglicanii nu sunt uniform distribuiți în toată stroma corneei de porc; ei apar în cantitate mare în regiunea de lângă epiteliu și în cea de lângă endoteliu și în cantitate mai redusă în zona de mijloc (fig. 1). Aceste observații sunt în concordanță cu cele ale lui Scott care a determinat numărul total de proteoglicani (atât de tip keratan sulfat, cât și de tip condroitin sulfat/dermatan sulfat) din cele trei straturi ale stromei corneei de iepure și care este de 145 în regiunea de lângă epiteliu, 32 în regiunea centrală și 95 în regiunea de lângă endoteliu (9).

Pentru identificarea glicozaminoglicanicilor corneeni individuali, secțiunile de țesut au fost tratate cu enzime specifice: condroitinază AC, condroitinază B și keratanază, care degradează condroitin sulfatul, dermatan sulfatul și, respectiv, keratan sulfatul. Fragmentele de țesut tratate enzimatic au fost colorate cu

albastru alcian în prezență electrolitului $MgCl_2$, la o concentrație critică de eletrolit de 0,5 M pentru condroitin sulfat și dermatan sulfat și de 0,9 M pentru keratan sulfat. Secțiunile martorului apar colorate în albastru (fig. 2A, 2C, 2E) (fig. 3A, 3C, 3E), iar la cele tratate cu enzime specifice (fig. 2B, 2D, 2F), (fig. 3B, 3D, 3F) intensitatea culorii variază în funcție de cantitatea de glicozaminoglicani.

Digestia cu keratanază a evidențiat că regiunea inferioară și cea superioară a cornee prezintă o afinitate moderată față de colorant, în timp ce stroma mediană se colorează similar cu martorul (fig. 2). În cazul digestiei cu condroitinază B toate cele trei regiuni ale cornee sunt slab colorate de colorantul cationic, cea mai puțin colorată fiind regiunea stromei de lângă endoteliu (fig. 3). Colorații asemănătoare s-au obținut și la secțiunile tratate cu condroitinază AC.

Aceste rezultate arată că, în cornea de porc, glicozaminoglicanul keratan sulfat apare în cantitate mare în regiunea stromei de lângă epiteliu și în cea încinată endoteliului și în cantitate redusă în stroma mijlocie, în timp ce, dermatan sulfatul și condroitin sulfatul apar în concentrații mai mari în regiunea posterioară a stromei (deasupra membranei Descemet).

Studii anterioare privind variația raportului KS:CS/DS în diferite țesuturi corneene au arătat că distribuția glicozaminoglicanicilor în straturile stromei cornee nu este pe deplin elucidată. Primele observații, făcute pe cornee bovină au evidențiat o creștere a raportului KS:CS/DS în regiunea stromei de lângă epiteliu (10). Rezultatele ulterioare, bazate pe determinări biochimice și electronmicroscopice folosind cornei bovine și cornei de rechin, au demonstrat că raportul KS:DS este mare în regiunea stromei de lângă endoteliu (11), (12).

Diferențele privind raportul cantitativ KS:CS/DS, ca și localizarea lor structurală și ultrastructurală au fost corelate cu grosimile stromelor diferitelor țesuturi corneene. S-a observat că, odată cu mărirea grosimii corneei are loc o creștere a raportului KS:CS/DS. Această constatare este în acord cu ipoteza „lipsei de oxigen” care susține că în corneele mai groase, în care oxigenul și nutrienții difuzează mai greu, sinteza de dermatan sulfat/condroitin sulfat este înlocuită cu sinteza de keratan sulfat, aceasta din urmă putând avea loc și în prezență unor cantități reduse de oxigen (13).

Studiile întreprinse de noi în prezenta lucrare demonstrează că, în stroma cornee de porc, raportul KS:CS/DS este mai mare în regiunea de lângă epiteliu.

BIBLIOGRAFIE

1. KOGAYA Y., KIM S., AKISAKA T., J. Histochem. Cytochem., **38**: 1459, 1990.
2. DELGADO M. V., ZOLLER L. C., Histochemistry, **87**: 279, 1987.
3. TORACK R. M., MORRIS J. C., Acta Neuropathol., **78**: 492, 1989.
4. LEV R., SPICER S. S., J. Histochem. Cytochem., **12**: 309, 1964.
5. SCOTT J. E., HAIGH M., Biochem. J., **253**: 607, 1988.
6. SCOTT J. E., ORFORD C. R., Biochem. J., **197**: 213, 1981.
7. SPICER S. S., J. Histochem. Cytochem., **13**: 211, 1965.
8. HUNZIKER E. B., LUDI A., HERRMANN W., J. Histochem. Cytochem., **40**: 909, 1992.
9. SCOTT J. E., HAIGH M., ALI P., Trans. Biochem. Soc., **16**: 333, 1988.
10. ANSTH A., Exp. Eye Res., **196** (1): 25, 1961.
11. PRANS R., GOLDMAN J. N., Invest. Ophthalmol., **9**: 131, 1970.
12. BETTELHEIM F., GOETZ D., Invest. Ophthalmol., **15**: 301, 1976.
13. GREILING H., SCOTT J. E., Keratan Sulphate – Chemistry, Biology, Chemical Pathology, London, **148**: 1989.

Primit în redacție
la 28 noiembrie 1996

* Institutul de Biologia Dezvoltării București,
Splaiul Independenței, nr. 296

** Facultatea de Biologie București,
Splaiul Independenței, nr. 91 – 95.

COMPORTAMENTUL CITOSCHELETULUI ACTINIC ÎN FENOMENUL DE HEMADSORBȚIE LA CELULELE LINIEI VERO INFECTATE CU VIRUS RUJEOLOS

VIORICA MANOLACHE, MARIANA ORĂȘANU, NICOLETA TELETIN,
MARIANA GĂLEȘANU, VALERIA CLUCERESCU, LILIANA BABEŞ

The actin cytoskeleton in VERO cells infected with measles virus and in erythrocytes in contact with these cells in HAD + phenomenon were studied. Both infected cells and erythrocytes present long and thin protrusions. The erythrocytes come in touch by actin thin cytoplasmatic bridges.

S-a urmărit fenomenul de hemadsorbție (HAD) din punct de vedere al citoscheletului actinic, cunoscut ca fiind propriu unor virusuri posesoare de hemaglutinină în învelișul lor. Hemaglutinina prezintă o mare afinitate pentru hematii. Celulele infectate cu virus rujeolos exprimă pe suprafața lor această proteină și fixează globulele roșii de maimuță în diferite puncte de pe suprafața membranei lor.

În lucrarea de față, ne-a interesat în mod special comportamentul citoscheletului actinic în mecanismul de ancorare al hematilor la celulele infectate cu virus rujeolos în fenomenul de hemadsorbție.

MATERIAL ȘI METODĂ

Linia VERO (green monkey renal cells) a fost cultivată în MEM (minimal essential medium) cu 5% ser foetal. Cultura a fost menținută în mediu Eagle cu 1% ser foetal.

Virusul rujeolos sălbatnic, tulpina Edmonston B, a fost menținut pe VERO. Culturile au fost inoculate cu virus atunci când au format monostrat confluent (la 48 de ore).

Hematiile de cercopitec au fost conservate în soluție Alsever (1:2). La utilizare, soluția se centrifughează și din sedimentul de hematii se face o soluție de 0,5% în mediu Eagle fără ser foetal. Această soluție de hematii se adaugă în cultură inoculată cu virus rujeolos. Se lasă 30 minute la 4°C, după care se spală suprafața culturii cu tampon fosfat. La celulele liniei VERO aflate în confluență, inoculate cu virus rujeolos, se adaugă la instalarea ECP-ului pe monostrat sus-

pensia de hematii de cercopitec, singurele hematii cu care virusul rujeolos dă reacție HAD+.

Vizualizarea filamentelor de actina F

Celulele au fost cultivate pe lamele plasate în plăci LINBRO (diametru 7 cm), spălate cu tampon fosfat, fixate 15 minute în paraformaldehida 3,8%, spălate din nou cu tampon fosfat și permeabilizate cu Tween X-100 0,15%, timp de 4 minute. Celulele au fost spălate și colorate cu conjugatul phalloidina-FITC (Sigma) în care au fost incubate 30 de minute la temperatura camerei și la întuneric. Lamelele au fost apoi montate în ulei de cedru și observate în epifluorescență la microscopul LEITZ-LABOR LUX S (pentru care mulțumim dr. Dan Ionescu). Fotografiile au fost făcute pe film Agfapan-700.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Pătrunderea virusului în celulă și apoi exprimarea la suprafața acestei celule a unor proteine virale printre care și hemaglutina determină un fenomen de HAD+. Hematiiile se fixează astfel în număr mare pe celulele epiteliale ale liniei VERO.

Celulele liniei VERO etalate în monostrat confluent prezintă citoscheletul actinic format din fibre de actină bine vizibile, orientate în toate direcțiile și ancorate cu unul din capete la periferie, alcătuind adevărate „fibre de stres” (fig. 1). În unele zone, sub influența virusului celulele încep să se desprindă, se rotunjesc, își retrag dispozitivele de aderență la sticla, sau mai rămân prinse doar prin filamente subțiri emise de celulă (fig. 2). În interiorul lor actina nu mai apare organizată în fibre de stres, doar foarte rar, în unele celule se mai disting resturi din aceste fibre. În general, actina apare difuză, fin granulară sau dispusă în blocuri la periferia celulelor (fig. 3).

Hematiiile sunt mult mai mici, de regulă globuloase. Actina este concentrată într-un inel periferic cunoscut sub denumirea de cortex, iar în centru este fin granulară (fig. 4). Hematiiile emit prelungiri, uneori mai groase, alteori mai fine, aciculare cu care se fixează de celulele VERO (fig. 4, 5). Sunt celule pe care se află mai multe hematii (fig. 6), după cum se observă cazuri în care, o hematie se ancorează prin prelungiri aciculare fine de două celule epiteliale (fig. 5). Se remarcă însă și un fenomen mai deosebit în unele zone unde se găsesc mai multe hematii apropiate, unde acestea emit prelungiri prin care „parcă” s-ar lega unele de altele (fig. 5).

În ceea ce privește fenomenul de HAD, tehnica de evidențiere a actinei a scos la iveală câteva observații inedite. Dispoziția actinei în celulele liniei VERO este cunoscută (3) și nu ne-a mai concentrat atenția. Preocuparea noastră s-a îndreptat asupra modului de fixare a hematilor pe celulele infectate cu virus rujeolos.

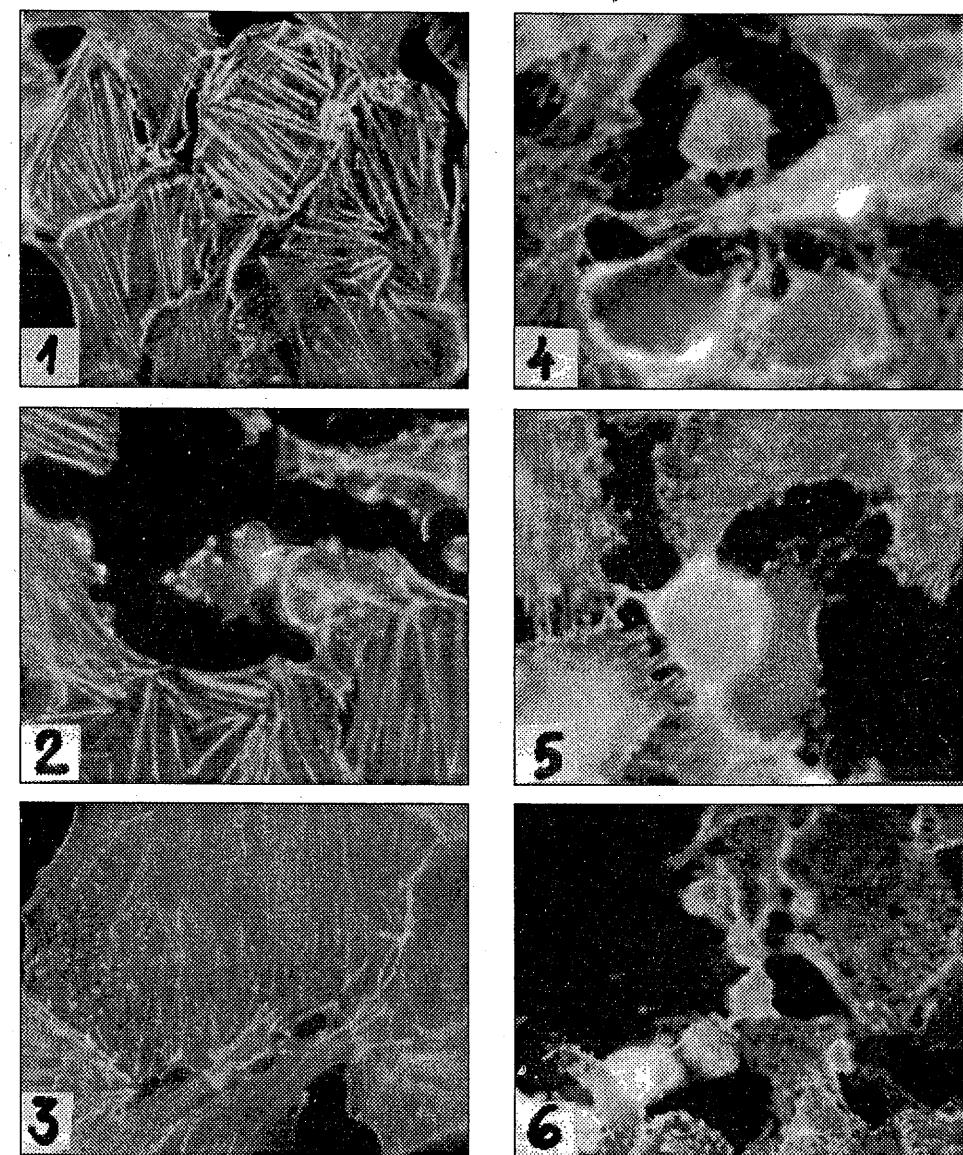


Fig. 1 — Celule epiteliale VERO — martor, monostrat confluent.

Fig. 2 — Celule VERO infectate cu virus rujeolos. Se remarcă celule cu citoschelet normal dar și cu zone de citoschelet degradat.

Fig. 3 — Celule VERO infectate cu virus rujeolos. Se distinge prezența actinei F fragmentată în blocuri la periferia celulei.

Fig. 4 — Hematie ancorată de prelungirea unei celule VERO infectată cu virus rujeolos.

Fig. 5 — Hematie care prinde în același timp mai multe celule VERO; aceste celule trimit spre eritrocite prelungiri fine citoplasmatică.

Fig. 6 — Lanț de eritrocite fixate pe celulele VERO infectate cu virus rujeolos. Între hematii se observă prelungiri citoplasmatică.

Se știe din literatură că numai celulele infectate hemadsorb, deoarece ele prezintă la suprafața membranei lor hemaglutinina virală. Zonele de contact dintre eritrocite și celulele infectate au fost studiate în microscopia electronică de transmisie (TEM) și scanning (SEM) pentru virusul urlian (4, 5). În special, în TEM, eritrocitele emit și ele prelungiri care se insinuează printre protruziile celulelor infectate. În TEM, de altfel, eritrocitele au forme contorsionate, în timp ce în SEM apar cu contur neted. Zonele de contact între celule și hematii apar net marcate atunci când se folosește marcajul cu peroxidază; ele sunt arii ferm circumscrise de pe proeminențele mari ale suprafeței celulare și ultrastrucatura acestor zone ale plasmalemei este întotdeauna modificată specific.

În infecția cu virus rujeolos s-au studiat, de asemenea, contactele dintre hematii și celulele infectate, în special cele sincițiale gigantice (2, 6). Este descrisă dinamica hematiilor pe suprafața acestor celule sincițiale unde hematii apar la scurt timp post-infecție plasate pe centrul celulelor gigantice, iar cu timpul, se deplasează spre margine (SEM). Locurile de contact în TEM apar liniare și la nivelul lor plasmalema este ușor modificată, dublată la exterior de un material fin, granular.

Studiul acestor contacte, din punctul de vedere al citoscheletului actinic, confirmă observațiile după care ambele celule emit protruzii fine una spre cealaltă (1).

CONCLUZII

În fenomenul de HAD:

1. Atât hematii cât și celulele infectate cu virus rujeolos emit fine și numeroase prelungiri, alcătuind dispozitive de prindere.
2. O hematie se poate lega de mai multe celule infectate prin punți fine aciculare.
3. O *cwlula infecta* poate prinde mai multe hematii.
4. Când hematii sunt apropiate, se prind între ele prin punți fine citoplasmatici în care se află actina.

BIBLIOGRAFIE

1. BARKER R. F., GORDON I., STEVENSON D., Virology, **27**: 441, 1965.
2. DUBOIS-DALCQ M., BARBOSA L. H., J. Virol., **12**: 909, 1973.
3. GAGHEȘ A., BABEȘ L., ORĂȘANU M., CODAU M. L., TELETIN N., Rom. Arch. Microbiol. Immunol., **52**: 89, 1993.
4. HUN DUC-NGUYEN, J. Virol., **2** (5): 494, 1968.
5. MANNWEILLER K., RUTTER G., J. gen. Virol., **28**: 99, 1975.
6. RENTIER B., HOGHE-PETERS E. L., DUBOIS-DALCQ M., J. Virol., **28** (2): 567, 1978.

Primit în redacție
la 16 septembrie 1996

Facultatea de Biologie
Institutul „Dr. I. Cantacuzino”, București.

ACȚIUNEA MERCURULUI ASUPRA RINICHIULUI, MANTALEI ȘI BRANHIEI LA *ANODONTA CYGNAEA PISCINALIS* (NILSSON)

VIORICA MANOLACHE, MARIA NĂSTĂSESCU, C. TESIO, OTILIA ZĂRNESCU

Branchiae, mantle and kidney of *Anodonta cygnea piscinalis* (*Lamelli branchiata*) were subject to optical microscopic investigation in normal conditions and when intoxicated with mercury chloride.

The most significant changes were recorded in kidney and in the cells and fibrils of the conjunctive tissues around the mentioned organs.

Cercetările efectuate la diferite specii de lamelibranchiate au demonstrat că aceste animale acumulează mari cantități de metale grele din mediul înconjurător. Dintre acestea mercurul a fost mai puțin studiat (15). A fost cercetată în special acțiunea cadmiului, zincului, cuprului, manganului (4, 5, 6, 12). Specia *Anodonta cygnea piscinalis* s-a dovedit uneori destul de sensibilă la doze mici de clorură mercurică, fapt evidențiat prin modificările produse asupra tubului digestiv și gonadelor (10, 12, 17). În lucrarea de față am cercetat efectul mercurului asupra rinichiului, mantalei și branhiilor la specia *Anodonta cygnea piscinalis*.

MATERIAL ȘI METODĂ

Exemplare de *Anodonta cygnea piscinalis* au fost disecate și s-au prelevat branhiile, mantaua și rinichiul, care au fost folosite ca martor pentru cercetări histologice.

Alte exemplare au fost supuse intoxicației cu clorură mercurică în concentrație de 5 µg/l, timp de 4 zile, după care s-au făcut sacrificările și s-au prelevat aceleși organe. Pielele au fost fixate cu fixator Bouin și formol calcic. Secțiunile au fost colorate cu tehnici histologice și histochemice curente (hemalaun-eritrozină, Azan și PAS).

REZULTATE

Observațiile noastre asupra structurii rinichiului la *Anodonta cygnea piscinalis* în microscopie optică au evidențiat aspecte asemănătoare cu cele descrise la specia tip (7).

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 49, nr. 1, p. 45–51, București, 1997

Astfel, rinichiul la *Anodonta cygnea piscinalis* se compune din pâlnia pericardială sau nefrostom, care se deschide în pericard, urmează canalul reno-pericardic și apoi parenchimul renal, format din numeroase anse epiteliale, care se deschid prin porul genital sau uro-genital, în cavitatea paleală. Între ansele epiteliale se află țesut conjunctiv bogat vascularizat în care se disting numeroase amibocite. Țesutul conjunctiv dintre falduri conține de asemenea și numeroase fibre musculare. Ansele au celule prismatice cu cili la polul apical, iar în citoplasmă, concrețiuni de culoare neagră. Nucleul prezintă cromatina uniform repartizată, iar nucleoul evident. Printre aceste celule se pot întâlni și celule care prezintă inclusii în citoplasma lor. Concrețiunile sunt foarte numeroase în lumenul faldurilor epiteliale unde au fost exocitate din celule. Uneori se remarcă infiltrarea de amibocite în celulele epiteliale ale anselor rinichiului (fig. 1).

Doza de $5 \mu\text{g/l}/4$ zile produce dezorganizarea epitelului anselor rinichiului. Celulele apar, uneori, desprinse de epiteliu, alteori rămân integrate în acesta dar în acest caz, nucleul este picnotic. Citoplasma celulelor se remarcă, la anumite exemplare, vacuolizată, iar mercurul se acumulează în cantitate mare în tuburile renale (fig. 2).

Membrana bazală care încingează epitelul renal apare mai îngroșată, fapt remarcat, în special, în reacția PAS.

În țesutul conjunctiv am observat picoza nucleilor celulelor conjunctive, iar cantitatea de fibre de colagen pe alocuri este mai mare, consecința firească a intoxicației cu mercur. Amibocitele sunt de asemenea în număr mai mare decât la martor.

Mantaua la *Anodonta cygnea* este căptușită de un epitel paleal care mărginește cavitatea mantalei și un epitel extrapaleal care fațetează cavitatea dintre manta și cochilie.

Epitelul este unistratificat constituit din celule prismatice prevăzute cu cili printre care se găsesc intercalate celule mucoase. Celulele sunt mai joase către cei doi poli ai mantalei, iar spre mijloc, mai înalte. Sub epiteliu există țesut conjunctiv cu amibocite, vase limfatice și mușchi cu orientare diferită (fig. 3).

La exemplarele tratate cu doza de $5 \mu\text{g/l}/4$ zile, se observă epitelul mantalei mai afectat decât la alte doze, chiar la o expunere mai îndelungată.

Se remarcă astfel, în multe porțiuni, celule complet distruse, iar în altele la care uneori se mai păstrează integralitatea celulei, nuclei picnotici. În multe dispare cilii. Celulele mucoase nu se mai remarcă, fiind evidente doar dârile de mucus la suprafața epitelului mantalei. Țesutul conjunctiv este și el afectat de intoxicația cu mercur ca și amibocitele din interiorul acestuia (fig. 4).

Branhia la *Anodonta cygnea* are forma literei W, cu un epiteliu unistratificat constituit din celule cilindrice ciliante. Nucleul celulelor este situat central, ovoid și cromatic. Uneori printre celulele ciliante se constată și celule mucoase (fig. 5).

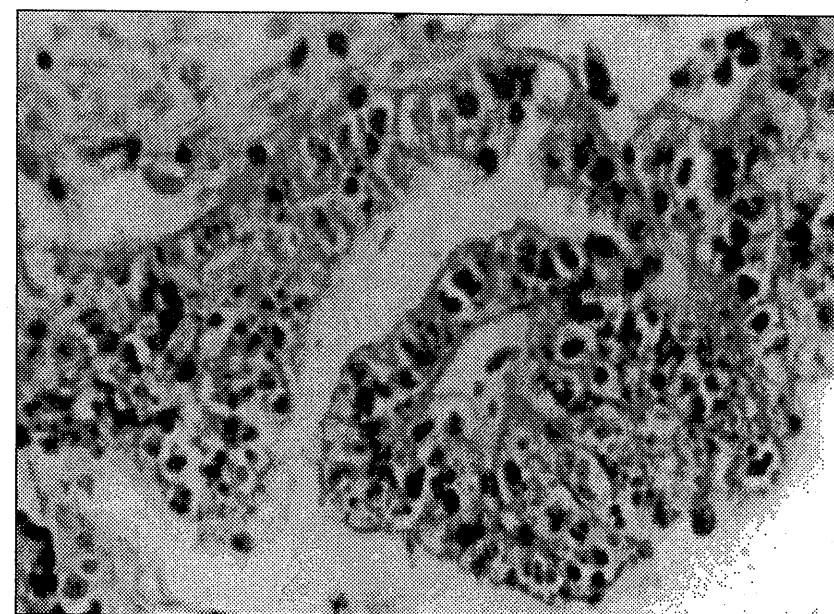


Fig. 1 — *Anodonta cygnea piscinalis* — rinchi — martor.

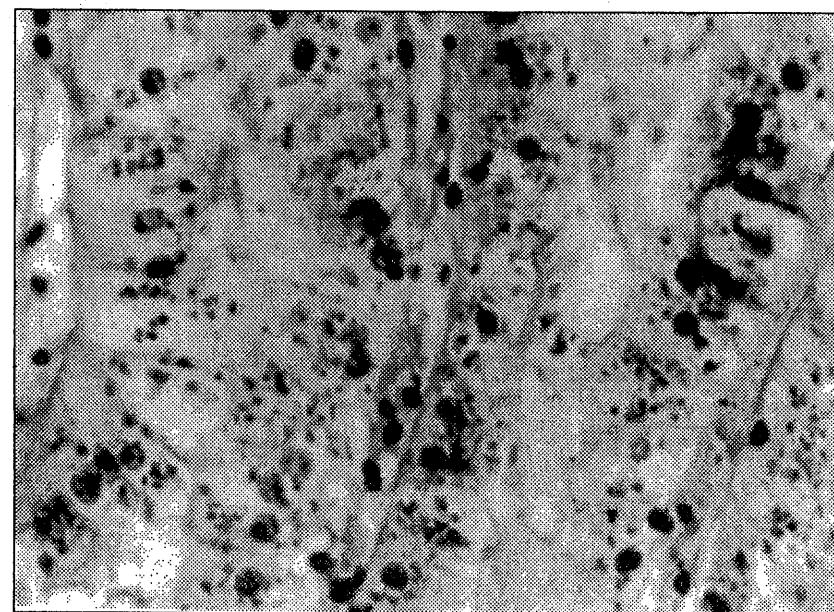


Fig. 2 — *Anodonta cygnea piscinalis* — rinchi — intoxicare — $5 \mu\text{g HgCl}_2/4$ zile.

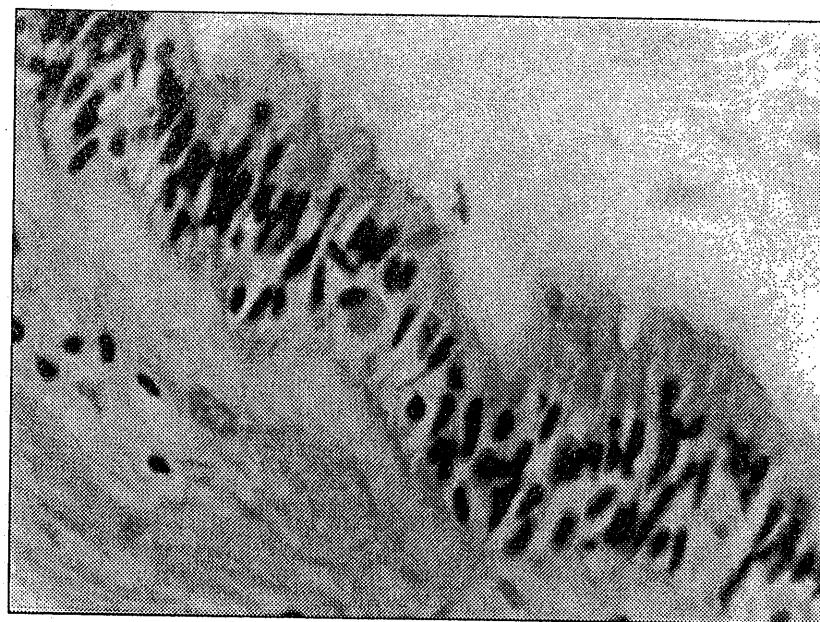


Fig. 3 — *Anodonta cygneaea piscinalis* — manta — martor.

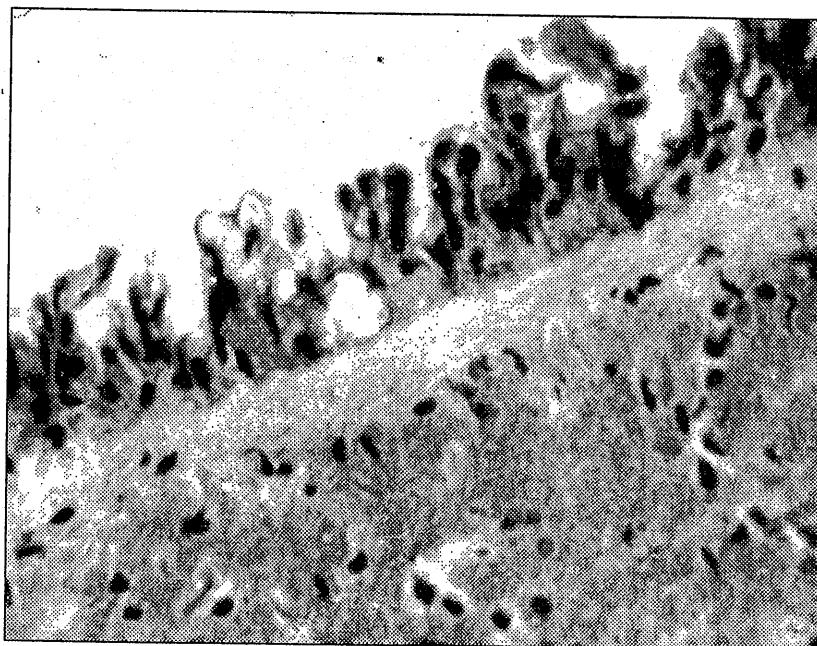


Fig. 4 — *Anodonta cygneaea piscinalis* — manta — intoxicare — 5 µg HgCl₂/l-4 zile.

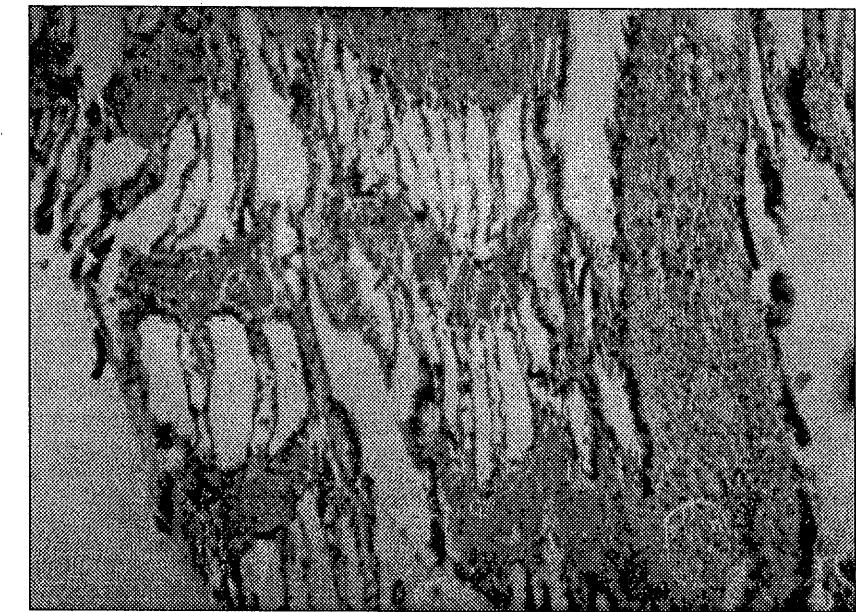


Fig. 5 — *Anodonta cygneaea piscinalis* — branhie — martor.

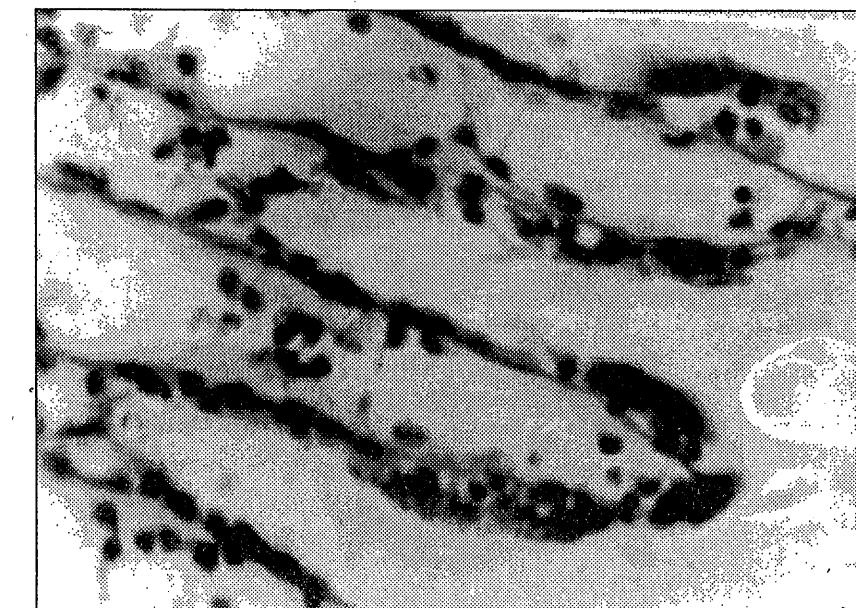


Fig. 6 — *Anodonta cygneaea piscinalis* — branhie — intoxicare — 5 µg HgCl₂/l-4 zile.

La doza de $5 \mu\text{g/l}/4$ zile se constată că epitelul branhial este destul de puțin afectat. Totuși, în diferite zone s-a observat că epitelul este distrus. În zonele în care s-au mai păstrat celule, s-a remarcat picnoza nucleilor (fig. 6).

DISCUȚII

Cercetările noastre realizate la *Anodonta cygnea piscinalis* asupra structurii unor organe diferite (rinichi, branhi, manta) completează și confirmă unele date din literatură efectuate în microscopia fotonică sau electronică la Lamellibranchiate de apă dulce și marine (2, 3, 7, 8).

Reactivitatea tisulară a rinichiului, branhiilor și mantalei sub influența poluanților este diferită. Dintre acestea, cel mai afectat este rinchiul care, este considerat organ de stocare pentru multe metale (6) sau organ „țintă” (14).

Influența Hg asupra rinichiului, mantalei și branhiilor nu a mai fost cercetată la moluștele bivalve.

În ceea ce privește rinchiul, se menționează în literatură la moluștele acvatice, corelația dintre concrețiunile minerale din celulele faldurilor rinichiului și prezența metalelor grele (8). La nevertebratele marine concrețiunile pot avea rol în detoxifierea și excreția metalelor din celule. Mauri (11), la rinchiul de *Donax trunculus* a observat formarea granulațiilor sub influența manganului, dar și a altor factori: anotimp, sex, temperatură, iar Doyle (3) sub influența salinității și a ciclului reproducător.

La specia *Donacilla cornea* s-a menționat acumularea de Cu și Cd în celulele renale (13).

În intoxicațiile cu HgCl_2 am constatat, ca și autorii menționați mai sus, acumularea de granulații atât în celulele rinichiului, cât și în țesutul conjunctiv și amibocite.

Celulele mantalei reacționează în general prin modificări ale mucocitelor.

În intoxicațiile cu Pb la *Viviparus viviparus* (Gasteropoda), Benedetti și col. (1) a observat creșterea cantității de mucus sub influența plumbului; la *Physa integra* (15) s-a remarcat sub influența Cd și Hg, iar la *Mytilus edulis* (16) sub influența Cu, Cd. Tot la epitelul mantalei s-a observat și mărirea numărului granulocitelor (16), aşa cum am remarcat și noi.

Cantitatea mare de mucus produsă de celulele mucoase sub influența Hg la *Anodonta*, poate fi considerată ca o reacție de apărare împotriva poluantului.

Influența Hg asupra branhiilor la *Anodonta* nu a fost studiată. S-au realizat cercetări la aceeași specie în toxicarea cu Fe și Mn (9). Am constatat că sub acțiunea clorurii mercurice se distrug la *Anodonta* unele porțiuni ale epitelului branhial, dar în general branchia este puțin afectată.

În cazul toxicării cu Hg la țesuturile studiate de la *Anodonta cygnea piscinalis* am observat pe lângă modificarea pronunțată a structurii epitelialelor și

acumularea macrofagelor în țesutul conjunctiv din jurul faldurilor epiteliale ale rinichiului, din jurul branhiilor sau mantalei. Uneori acestea erau prezente printre celulele epiteliale.

Astfel, admitem și noi ca și alți autori că metalele grele se acumulează în amibocite și aceste celule transportă compușii respectivi prin circulația sanguină în mediul înconjurător (4, 14).

Observațiile noastre concordă cu datele din literatură după care amibocitele la nevertebrate au rol în bioacumulare și detoxifiere.

BIBLIOGRAFIE

1. BENEDETTI I., BENEDETTI L., BOLOGNANI I., BOLOGNANI-FANTIN A. M., Bas Appl. Histochem., **26**: 7–9, 1982.
2. CARMICHAEL N. G., SQUIBB K. S., FOWLEN B. A., J. Fish. Res. Board Can., **36**: 1149–1155, 1979.
3. DOYLE J. L., BLAKE N. J., WOO C. C., YEVICH P., Science, **199**: 1431–1433, 1978.
4. GEORGE S. G., CARPENE E., COOMBS T. L., Marine Biology, **45**: 147, 1978.
5. GEORGE S., BRIAN Y. S. PIRIE, J. mar. biol. Ass. U. K., **60**: 575–590, 1980.
6. GEORGE S. G., Comp. Biochem. Physiol., **76**: 49–58, 1983.
7. GRASSÉ P. P., Traité de Zoologie, V (2), Masson et Cie Editeurs, 1960.
8. YEVICH P. P., Thalassia jugoslavica, **16**: 399–403, 1980.
9. LAUTIÉ N., CARRU A. M., TRUCHET M., Malacologia, **29**: 405–417, 1988.
10. MANOLACHE V., NĂSTĂSESCU M., ZĂRNEȘCU O., TESIO C., Rev. roum. biol. **39**: 93–96, 1994.
11. MAURI M., ORLANDO E., J. exp. Mar. Biol. Ecol., **63**: 47–57, 1982.
12. NĂSTĂSESCU M., MANOLACHE V., ZĂRNEȘCU O., TESIO C., Rev. roum. biol. **40**: 33–37, 1995.
13. REGOLI F., MARCO N., ENZO O., Comp. Biochem. Physiol., **102**: 189–192, 1992.
14. RUDDELL C. L., RAINS D. W., Comp. Biochem. Physiol., **51 A**: 565, 1975.
15. SPHEHAR R. L., Environ. Pollut., **15**: 195–208, 1978.
16. SUNILLA I., Limnologica (Berlin), **15**: 523–527, 1984.
17. ZĂRNEȘCU O., MANOLACHE V., TESIO C., NĂSTĂSESCU M., STAICU C., St. și cerc. Biol., **46**: 91–94, 1994.

Primit în redacție
la 1 noiembrie 1996

Facultatea de Biologie,
Splaiul Independenței, nr. 91–95, București.

MEMBRANELE DE COLAGEN — SUBSTRAT PENTRU CELULELE EPITELIALE *IN VITRO*

LUCIA MOLDOVAN*, MARIA CALOIANU*, OTILIA ZĂRNESCU**

We have investigated the possibility to use type I collagen membranes as substrate for epithelial cell growth *in vitro*. Type I collagen was obtained from bovine corneas using a method with pepsin and was purified by precipitation with sodium chloride. In order to characterize the obtained collagen solution some biochemical determinations were performed. The epithelial cells cultured on type I collagen membranes for 48 and 72 h are disposed as a monolayer on their surface. Cells were either round or oval, having a nucleus with granulous chromatin. Our results demonstrated that corneal collagen membranes represent good substrates for epithelial cell adhesion and proliferation.

Cercetările ultimilor ani au demonstrat că interacțiunea dintre celule și colagen este capabilă să influențeze fundamental comportamentul celular: să activeze sau să inhibe diviziunea celulelor, să determine diferențierea lor și să retroinhibe însăși sinteza colagenului (1), (2). Fiecare tip de lanț α din structura moleculei de colagen are rol specific, deoarece fiecare poartă unul sau mai multe mesaje destinate diferitelor tipuri de celule sau chiar diferitelor etape ale dezvoltării unui tip celular (3).

Pe baza acestor observații unele studii *in vitro* au arătat că diferite substate solide de colagen extras din țesuturi conjunctive, testate în culturi celulare au avut o influență semnificativă asupra morfologiei și proliferării celulare (4), (5).

Scopul prezentei lucrări a fost izolarea și purificarea colagenului tip I din cornee bovină precum și testarea acestuia sub formă de membrane ca substrat pentru celulele epiteliale din rinichi de vițel.

MATERIAL ȘI METODĂ

Prepararea membranelor de colagen

Tipul I de colagen utilizat pentru obținerea de membrane a fost preparat din cornei bovine printr-un procedeu enzimatic, folosind pepsină în mediul de acid acetic (6).

Pentru soluția obținută s-a determinat conținutul de colagen prin dozarea hidroxiprolinei după metoda Woessner modificată (7) și conținutul în hexoza-

mine după metoda Elson-Morgan (8). De asemenea, colagenul obținut a fost caracterizat prin electroforeză în gel de SDS-poliacrilamidă 7,5% după metoda Laemmli modificată (9).

Soluția de colagen tip I s-a diluat la concentrația de 0,4%, s-a dializat față de apă distilată și s-a uscat la 35°C. S-au obținut membrane transparente care au fost sterilizate prin expunere la radiații γ .

Cultivarea celulelor

S-a folosit o cultură de celule epiteliale din rinichi de vițel, în mediu MEM conținând 10% ser fetal bovin. Membranele de colagen tip I au fost menținute în cultură la temperatură de 37°C, timp de 48 h și, respectiv, 72 h.

Examinarea histologică

Pentru microscopie optică, membranele au fost fixate în Bouin conținând 20% DMSO, deshidratate, clarificate și incluse în parafină. Secțiunile tăiate la microtom (7 μ) au fost colorate prin metoda von Gieson.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Pentru realizarea de substrate solide pentru celule epiteliale s-a folosit o soluție de colagen tip I extras din cornei bovine care a fost reconstituită sub formă de membrane transparente cu o grosime de 70 μ m.

Tipul I de colagen care reprezintă mai mult de 60% din totalul collagenilor corneeni este implicat direct în procese privind dezvoltarea și menținerea transparenței cornee. Izolarea acestui tip de colagen din cornei bovine s-a realizat printr-o metodă enzimatică, iar purificarea s-a făcut prin precipitări succesive cu clorură de sodiu. S-a obținut, astfel, o soluție de colagen tip I de concentrație 0,8% și un conținut în colagen de 96% (tabelul nr. 1). Datele prezentate în tabel

Tabelul nr. 1
Determinări analitice pentru colagen tip I extras din cornei bovine

Determinare	Valoarea
Hidroxiprolină (%)	10,1
Colagen (%)	92
Hexoze aminate (%)	0,8
Greutate moleculară medie	310.000 D

arată că soluția de colagen tip I, obținută de noi, prezintă caracteristici biochimice și structurale asemănătoare colagenului nativ. Puritatea colagenului obținut s-a determinat și prin electroforeză în gel de SDS — poliacrilamidă folosind ca probă etalon colagenul tip I din tendonul cozii de șobolan (fig. 1). Se observă că

Fig. 1 — Electroforeza în gel de SDS — poliacrilamidă a colagenului:

- (a) tip I din tendonul cozii de șobolan.
- (b) tip I din cornee de bovină.

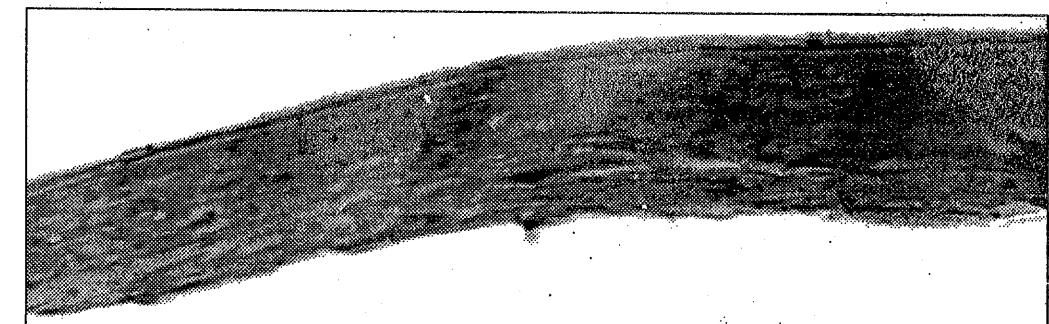
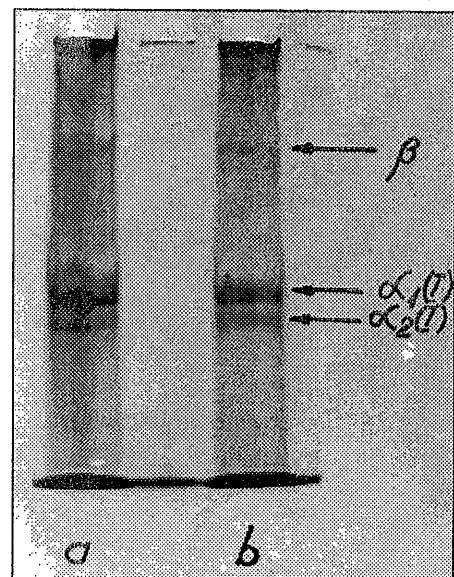


Fig. 2 — Imagine de microscopie optică a unei membrane de colagen, menținută în mediul de cultură, fără celule.



Fig. 3 — Imagine de microscopie optică a celulelor epiteliale cultivate pe o membrană de colagen, timp de 48 h.



Fig. 4 — Imagine de microscopie optică a celulelor epiteliale cultivate pe o membrană de colagen, timp de 72 h.

atât lanțurile $\alpha 1(I)$ și $\alpha 2(I)$ cât și dimerii β au migrat în aceeași poziții cu cele ale lanțurilor probei de referință.

Membranele obținute prin uscarea la 37°C a unei soluții de colagen cu o concentrație de 0,4% au fost sterilizate prin expunere la radiații γ , la o doză de 15 kGy. Studiile noastre anterioare privind dozele de radiații γ necesare sterilizării preparatelor colagenice solide, au demonstrat că doza de 15 kGy este suficientă pentru a asigura sterilitatea lor și nu le produce efecte de degradare structurală (10).

În vederea investigării efectului membranelor de colagen asupra celulelor, am folosit o cultură de celule epiteliale din rinichi de vițel care au fost menținute în prezența substratului colagenic timp de 48 h și, respectiv, 72 h.

Examinarea histologică a evidențiat că în cultură, membranele de colagen (fig. 2) pot reprezenta substrate pentru celulă. Observațiile noastre au demonstrat că celulele epiteliale renale formează un monostrat celular pe suprafața membranei atât după 48 h cât și după 72 h de cultivare (fig. 3, fig. 4). Aceste celule prezintă un aspect normal și se caracterizează printr-un nucleu rotund sau oval care conține cromatină granulară. Contactul strâns dintre stratul celular și membrană a fost demonstrat și prin faptul că acesta a fost menținut pe tot parcursul protocolului de includere în parafină.

Studii anterioare au arătat că anumiți parametri fizici ai substratelor celulare cum sunt: gradul de hidrofobicitate, de hidrofilicitate, conținutul de apă precum și încărcarea ionică la suprafața lor, pot să modifice comportarea celulară. Moleculele de colagen sunt cunoscute (11), (12), că leagă o cantitate mare de apă și prezintă pe suprafața lor sarcini pozitive care alternează cu cele negative. În plus, colagenii prezintă proprietăți biologice specifice precum implicarea în adeziunea celulară.

Rezultatele obținute de noi demonstrează că membranele de colagen tip I cornean reprezintă substrate adecvate pentru adeziunea celulelor epiteliale *in vitro*.

BIBLIOGRAFIE

1. GAIL F., LECHAIN J. P., DENEFLE J. P., Biol. Cell, **72**: 149, 1991.
2. GILLERY P., LEPERRE A., CONSTRY F., BOREL J. P., FEBS Lett., **296**, 1992.
3. BOREL J. P., MONBOISE J. C., C. R. Soc. Biol., **187**: 124, 1993.
4. HULMES D. J., BRUNS R. R., GROSS J., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **80**: 388, 1983.
5. NEGROIU G., MIRANCEA N., MIRANCEA D., OANCEA A., MOLDOVAN L., Rev. roum. Biochim., **29** (1): 23–28, 1992.
6. MOLDOVAN L., OANCEA A., TURCU D., ZĂRNESCU O., Rev. roum. Biol., Biol. Anim., **39** (1): 65–68, 1994.

7. NEGROIU G., MOLDOVAN L., CALOIANU M., MIRANCEA N., MIRANCEA D., Rev. roum. Biochim., **25** (2): 143–146, 1988.
8. ELSON A., MORGAN N. T. J., Meth. Enzymol., **VIII**: 20, 1966.
9. MILLER E. J., RHODES R. K., Meth. Enzymol., **82**, Part A, 61, 1982.
10. MOLDOVAN L., OANCEA A., ZĂRNEȘCU O., BĂRBOI G., Rev. roum. Biol., **41** (1): 59–64, 1996.
11. COTE M.-F., DOILLON C. J., Biomaterials, **13** (9): 612, 1992.
12. JANSEN J. A., VAN DER WAERDEN J. P. C. M., DeGROOT K., Biomaterials, **10**: 604–608, 1989.

Primit în redacție
la 31 octombrie 1996

* Institutul de Biologia Dezvoltării București,
Splaiul Independenței, nr. 296

**Facultatea de Biologie București,
Splaiul Independenței, nr. 91–95.

CERCETĂRI ECOFIZIOLOGICE LA ȘALĂU (*STIZOSTEIDON LUCIOPERCA* L.) CRESCUT ÎN APĂ DE MARE

AL. G. MARINESCU, I. TRANDAFIRESCU, O. DRĂGHICI, S. ANDREUȚĂ

For the zander under marine water conditions, both in laboratory and natural milieu, the relations of the respiratory metabolism of the whole organism with any environmental factors (oxygen concentration, salinity, salinity stress, nutrition state, depletion and temperature) were investigated.

All the obtained values for the oxygen consumption belong to "routine metabolism". The authors consider these results as a basis for the nutritional rations on the pisciculture practice.

Diversificarea procedeelor de obținere a unor ritmuri superioare de creștere la speciile de pești de interes economic a necesitat pe de o parte, aprofundarea investigațiilor de zoofiziologie și, în acest context, al celor de ecofiziologie (30, 31, 38, 17, 28, 22, 24, 25, 4) iar pe de altă parte, prospectarea valorificării efectelor favorizante ale modificării unor condiții de mediu natural. În acest sens, un loc de un interes special îl are cultivarea unor specii de tip dulcicol în medii salmastre sau chiar marine (1, 5).

Pornind de la preocuparea utilizării păstrăvului în astfel de mediu natural modificat, procedeu cunoscut în unele țări cu o pondere majoră în acvacultura experimentală, piscicultorii din România și-au propus introducerea acestei tehnologii de creștere pentru o specie de interes economic deosebit (calitatea superioară a cărnii, dar și un ritm corespunzător de creștere); șalăul (*Stizostedion lucioperca* L.), specie dulcicolă, care „evadează” și în ape ușor salmastre (2).

Prezentăm în lucrarea de față rezultatele cercetărilor noastre întreprinse asupra metabolismului respirator (sau energetic) în diferite condiții experimentale, dar și în raport cu unii factori biotici.

* La realizarea acestor cercetări au fost utilizate materiale donate de Fundația Alexander-von-Humboldt din Germania.

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 49, nr. 1, p. 57–66, București, 1997

MATERIAL ȘI METODĂ

Toate variantele experimentale urmărite de noi au fost realizate în condiții de laboratorului (bazinile de conținere și cele experimentale fiind situate în incinta serei I.R.C.M. — Constanța sau în Institutul de Biologie — București).

Au fost urmărite următoarele aspecte:

1. Determinarea metabolismului respirator (după 6) la alevini din prima perioadă după eclozare (luna mai);
2. Investigarea influenței timpului de confinare asupra intensității schimburilor metabolice (în vederea eliminării stresului de manipulare sau, cel puțin, de limitare a influenței acestuia, potrivit 22, 8);
3. Urmărirea relației dintre concentrația oxigenului din apă și intensitatea metabolismului respirator (această relație prezintă o mare importanță atât pentru scopurile cercetării noastre, cât și pentru eliminarea unor valori artefactive: 36, 19, 26);
4. Determinarea influenței salinității asupra nivelului metabolismului la alevini și puiet în primul an de creștere (C);
5. Stabilirea relației dintre factorul individual al greutății corporale și consumul de oxigen ca indice al metabolismului energetic global (33, 9, 23);
6. Investigarea influenței trecerii (stresului) de la mediul salin la cel dulcicol (15);
7. Urmărirea variației metabolismului respirator în raport cu starea de nutriție, respectiv cu inaniția (24);
8. Determinarea influenței temperaturii asupra intensității metabolismului (30).

Loturile de pești utilizati în cercetarea întreprinsă de noi au fost obținute la I.R.C.M. Constanța din icre eclozate în condiții de laborator, sau au provenit din populațiile crescute în lacul Sinoe (pentru grupele „zero plus” și „unu plus”).

Metoda de determinare a consumului de oxigen a fost aceea a spațiului confinat, într-o variantă modificată (23), iar dozarea oxigenului dizolvat în apă s-a făcut pe cale chimică (WINKLER), precum și pe cale polarografică, utilizând un oximetru tip „WTW” (după 20). Potrivit metodologiei de lucru, descrisă de unul dintre noi (23), au fost evitate eventualele influențe ale unor factori perturbatori. A fost înălțată, cu precădere, influența negativă (în sensul unui efect „hipometabolic”) a hipoxiei (37), consumul de oxigen fiind prevăzut (în determinări preliminare) să nu depășească 25–30% din cantitatea existentă la începutul experimentării. Au fost evitate, de asemenea, și alte fenomene descrise în literatură; fenomenele autotoxice (23), relația de dependență față de volumul vasului de experiență (după 7 au fost descrise la *Perca fluviatilis* modificări ale consumului de oxigen la volume mai mici decât de 10 ori volumul ocupat de animalul de experiență). De asemenea stresul de salinitate neconformă cu „istoria anterioară” a loturilor respective (29, 17), stresul de temperatură (după terminologia

școlii din Kiel a prof. dr. H. Precht și a continuatorului acestuia, prof. dr. H. Kunnenmann) AT (temperatura de adaptare va fi egală pentru scopurile experimentale urmărite de noi cu VT (temperatura de experimentare) (30, 23), iar atunci când trebuie să fie investigată evoluția valorilor modificate la o altă temperatură de experimentare, era realizată o prealabilă aclimatizare (după 6) de cel puțin 10 zile, suficientă față de amplitudinea modificării termice (27).

Experiențele au fost întotdeauna realizate în limitele același nictemer (aceleași ore ale zilei), în vederea evitării influenței variației circadiene a metabolismului energetic și activității (14, 25). Urmărindu-se realizarea unor condiții experimentale cît mai apropiate de cele existente în natură, am utilizat în experiment pești aflați în condițiile fotoperiodismului natural (32, 10).

Alegerea exemplarelor și constituirea loturilor experimentale s-a făcut cu multă atenție, nefiind decât pești sănătoși și cu aspect corespunzător.

Parametrii urmăriți în cadrul experimentelor efectuate au fost: temperatura, salinitatea, greutatea și consumul de oxigen.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

1. Influența timpului de experimentare și a concentrației oxigenului dizolvat.

Rezultatele înregistrate la diferite loturi de alevini (având o greutate corporală de circa 4,6–5,0 mg), alcătuite din 6–10 exemplare fiecare sunt trecute în fig. 1.

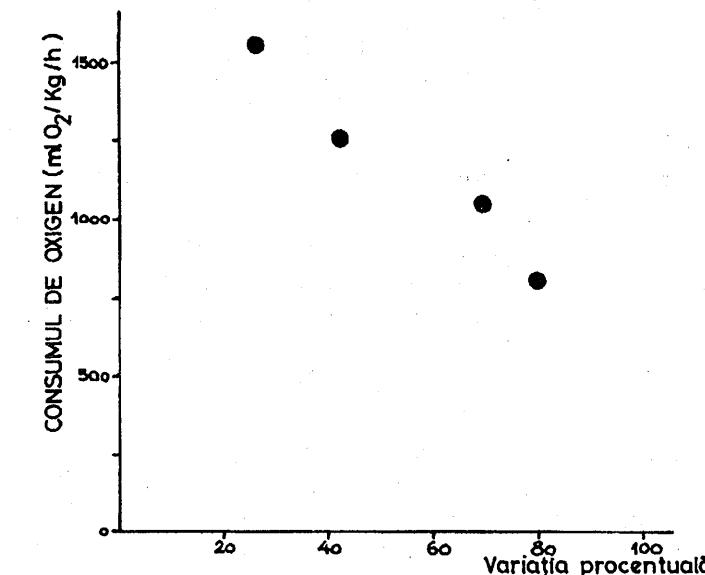


Fig. 1 — Influența concentrației oxigenului asupra consumului de oxigen la alevini în prima lună după ecloziune.

După cum se observă, nivelul cel mai înalt este obținut la concentrații ale oxigenului de până la circa 30% reducere față de nivelul inițial. La o reducere mai accentuată a cantității de oxigen, se instalează o „inhibiție” metabolică — cu un evident caracter adaptativ — ceea ce duce la o micșorare substanțială a valorilor consumului de oxigen (până la jumătate), (a se compara cu datele lui KREBS 19).

Acest fenomen este important în cazul cultivării unei specii originar dulcicole în mediul marin, având în vedere faptul că salinitatea determină o reducere a cantității de oxigen dizolvate în apă (16).

2. Influența salinității

Au fost urmărite mai multe grade de salinitate, în care alevinii perfect „aclimați” erau crescuți după eclozare (fig. 2).

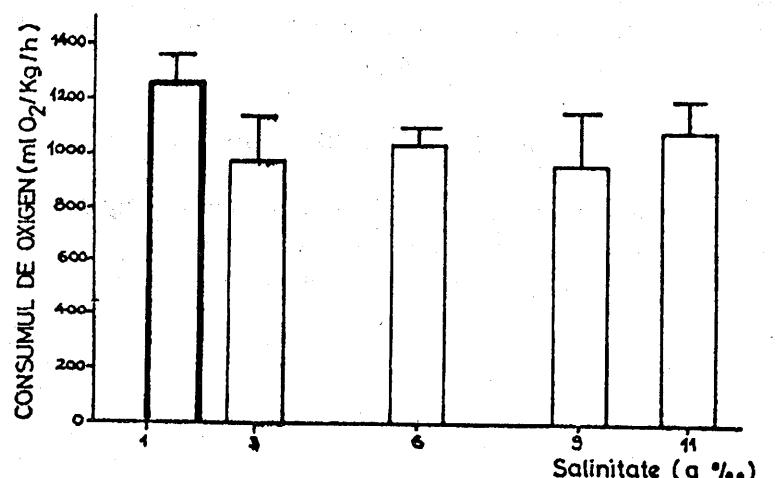


Fig. 2 — Relația dintre consumul de oxigen și gradul de salinitate (de adaptare) la alevini.

Valorile medii la alevini din prima lună de viață, precum și abaterea standard pentru fiecare lot în parte (la concentrații de 3, 6, 9 și respectiv, 11 grame la mie) nu indică o modificare semnificativă a metabolismului respirator față de lotul martor (circa 1,5 g la mie).

S-ar putea aprecia deci, că în cazul acestei etape ontogenetice consumul de oxigen nu este mai înalt în mediu sărat față de cel dulcicolar, așa cum este considerat în general (12, 13, 17). În ceea ce ne privește apreciem că două aspecte trebuie luate în considerare: 1) în cazul de față este vorba de limita superioară a metabolismului de tip „current” sau chiar a celui „activ” (6), cu efecte mai puțin importante în aprecierea cantității de energie (materializată în rația de hrănire) necesare acoperirii cheltuielilor energetice în această fază de creștere; 2) pentru aceste diferențe relativ minore de salinitate, poate fi vorba de existența unor mecanisme fiziológice (osmoregulație implicită, și metabolice) care acționează

în sens adaptativ (de tip genetic, vezi Kinne, 17) pentru o specie care în condiții naturale întâlnește condiția de mediu salmastru.

Este interesant de observat că la peștii din lotul „zero plus”, crescute în condițiile relativ constante de seră (temperatură, luminozitate, hrană) în mediu marin (13,5–14,8 g %), proveniți din icre eclozate la I.R.C.M. Constanța, intensitatea metabolismului respirator este însă semnificativ diferită (fig. 3).

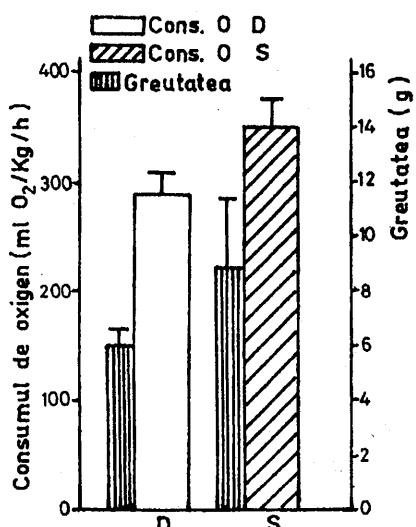


Fig. 3 — Influența salinității asupra consumului de oxigen la puiet „zero plus” (seră) D — dulcicolar; S — sărat.

Astfel, lotul crescut în apă de mare prezintă valori mai înalte ($350,98 \pm 26,21$ ml O₂/kg/h) față de acela din mediul dulcicolar ($289,20 \pm 17,84$ ml O₂/kg/h). Explicația avansată de diferiți autori (13, 12, 11) este teoretic bazată pe faptul că, în condiții de salinitate, costurile metabolice determinate de reglarea osmotica a peștilor teleosteeni (caracterizați printr-un mediu intern hipoosmotic) constituie adaosul la metabolismul energetic de bază.

3. Influența factorului greutății corporale (fazei de creștere)

Dacă comparăm valorile consumului de oxigen la alevini (în jur de 1200–1300 ml O₂/kg/h) cu aceleia înregistrate la loturile din fază de creștere „zero plus” (273,30 ml O₂/kg/h) și, respectiv, „unu plus” (243,53 ml O₂/kg/h) este evidentă și la această specie reducerea — biologic condiționată — a nivelului metabolismului respirator în raport cu fază de creștere (etapa ontogenetică) (10, 21).

În fig. 4 sunt trecute valorile medii ale consumului de oxigen la loturile „zero-plus — laborator”, „zero-plus — natură” și „unu plus — natură”. Este evident raportul de invers — proporționalitate — caracteristic întregului regn animal (9, 10) — dintre mărimea metabolismului respirator și greutatea corporală.

Având în vedere „caracteristica ecologică a activității” — termen propus de Marinescu, 21 și 23 — potrivit căreia o specie mai puțin activă, cu un grad redus de mobilitate, prezintă indici de greutate (valori ale exponentului b din

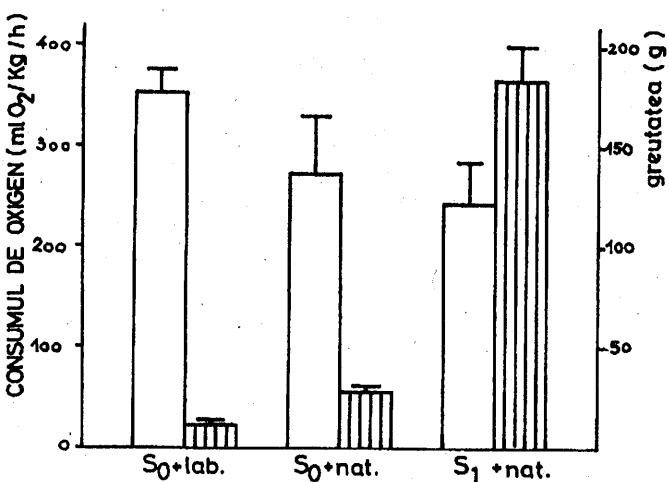


Fig. 4 — Relația metabolism respirator — greutate la șalău în diferite faze de creștere.

relația $Y = a \cdot X^b$) mai înalți (în jurul valorii de 1,0), se poate aprecia că acest indice specific (factor individual al greutății corporale) în cazul speciei investigate de noi (*Stizostedion lucioperca* L.) caracterizează fidel comportamentul acesteia în mediul natural (22).

4. Influența trecerii de la mediul salin la cel dulicol

Datele înregistrate în cazul modificării caracterului salinității apei (în sensul revenirii la situația „naturală”, condiționată genetic) sunt trecute în fig. 5.

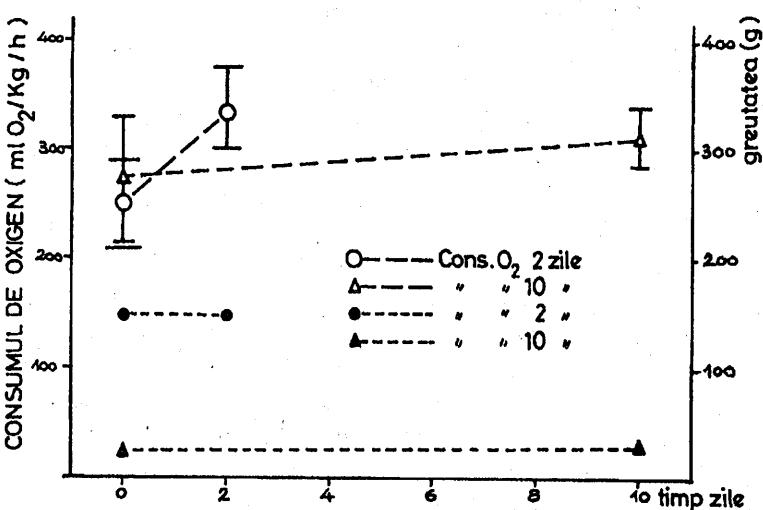


Fig. 5 — Inflația stresului de sens hiposalin asupra consumului de oxigen.

În ambele variante experimentale (loturi „zero plus” și „unu plus”) trecerea la mediul dulcicol reprezintă pentru exemplarele de șalău, crescute în apă marină, un stres de osmoreglare, care necesită o perioadă de readaptare („aclimatatie”), cu o modificare corespunzătoare a cheltuielilor energetice pentru această modificare de salinitate. Astfel, după 2 zile de la modificarea salinității, consumul de oxigen a crescut semnificativ la peștii din grupa „unu plus”: $337,87 \pm 38,59$ ml O₂/kg/h față de $252,71 \pm 41,91$ ml O₂/kg/h (inițial în apă marină).

În cazul lotului „zero plus” (exemplare provenite de asemenea din bazinele complexului Sinoe); după 10 zile de menținere în apă dulce, valorile consumului de oxigen se situează la un nivel mai moderat de creștere: $313,30 \pm 27,78$ ml O₂/kg/h față de $273,30 \pm 56,34$ ml O₂/kg/h.

Rezultatele înregistrate de noi sunt de același sens cu acelea comunicate de Hickman (12) la specia *Phieuonectes flessus*. Acest autor a apreciat că necesarul metabolic pentru eliminarea sărurilor era mai mare decât acela pentru filtrarea apei și absorbția ionilor, ce au loc în apă dulce. Totuși, în condițiile trecerii bruscă în apă dulce se instalează o reactivitate metabolică, care conduce la nivele mai înalte ale consumului de oxigen. Acest comportament metabolic este cuprins într-o secțiune pentru salinitate (valori mai înalte în salinități mai scăzute) din clasificarea făcută de Kinne (17).

5. Influența stării de nutriție și a inaniției

Pentru evidențierea efectelor metabolice la nivelul întregului organism (30), am ales pești din faza de creștere „zero plus”, proveniți din lacul Sinoe (cu o dezvoltare mai rapidă, datorată mai bunelor condiții naturale, cu deosebire a celor de hrănire).

Lotul martor (cu hrană *ad libitum* alcătuită din fragmente de pește proaspăt) a fost contentionat în condiții similare celor naturale. Lotul supus inaniției a fost transferat de la Constanța la Institutul de Biologie București, unde în condiții comparabile (apă marină, luminozitate, temperatură constantă) au fost realizate observațiile efectelor inaniției asupra metabolismului respirator și greutății corporale. Datele înregistrate sunt trecute — valorile medii și abaterea standardă a mediei (fig. 6).

Este interesant de observat faptul că în primele 6 zile de inaniție scăderea valorilor metabolismului energetic (determinat prin consumul de oxigen) este mai accentuată. Acest lucru este probabil caracteristic unei specii cu un mod de hrănire aproape exclusiv ihtiofag (2). Datele noastre sunt comparabile cu unele rezultate notate în literatură (12, 6, 35, 3), care au arătat caracterul logaritmic al declinului metabolic în primele 3–7 zile de la instalarea inaniției experimentale.

Menționăm și letalitatea exemplarelor supuse inaniției după circa trei săptămâni (17–20 zile). Explicația acestui fenomen ține, probabil, nu de epuizarea totală (cașexia de inaniție) care precede timpul letal, cât mai ales de scăderea accentuată a rezistenței generale la variații, altfel nevătămătoare în condițiile hrănirii.

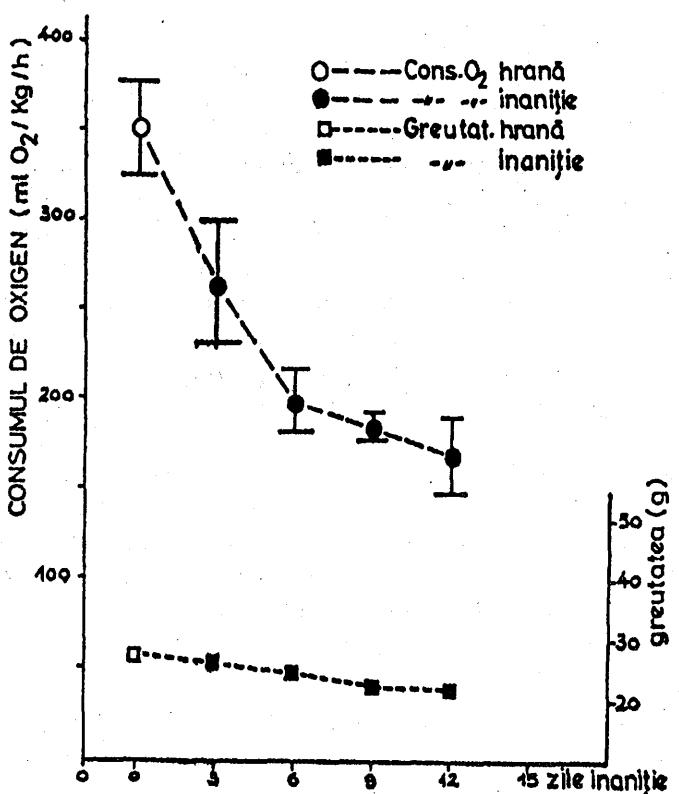


Fig. 6 — Relația dintre consumul de oxigen și starea de nutriție (inanție) la puiet în fază de creștere „zero plus — Sinoie”.

7. Influența temperaturii

Pentru experimentele noastre desfășurate în perioada mai-octombrie, temperatura s-a situat într-o „zonă normală” termică ($18\text{--}21,5^{\circ}\text{C}$ în acvariile de la I.R.C.M. Constanța și $14\text{--}18^{\circ}\text{C}$ la Institutul de Biologie — București).

Valorile consumului de oxigen s-au menținut la nivele apropiate pentru grupe de pești din această fază de creștere și nivel de hrănire neînregistrându-se diferențe semnificative (pentru zona termică de $18\text{--}21,5^{\circ}\text{C}$: valori cuprinse între $250,0\text{--}300,0 \text{ ml O}_2/\text{kg/h}$ la loturile din etapa ontogenetică „zero plus”).

Nivelul relativ constant al schimburilor energetice în acest interval termic poate fi apreciat ca fiind datorat, pe de o parte, unei adaptări termice complete (27) și, pe de altă parte, mai ales, situației într-o zonă apropiată de o „temperatură preferată” (23), specifică șalăului în condițiile investigate de noi, temperatură la care se instalează un „optim metabolic” (11), similar ca sens și manifestare cu „intervalul constant” (34), la care intensitatea metabolismului respirator rămâne la un nivel constant, relativ independent de temperatura mediului ambient.

CONCLUZII

1. La diferite loturi de șalău (*Stizostedion lucioperca* L.), crescut în apă de mare, atât în condiții naturale (lacul Sinoe) cât și în condiții de laborator (I.R.C.M. — Constanța și Institutul de Biologie — București), în raport cu faza de creștere (etapa ontogenetică) alevini, puiet „zero plus”, puiet „unu plus”, au fost investigate relațiile metabolismului respirator (energetic global) ale întregului organism cu unii factori de mediu (concentrația oxigenului dizolvat, salinitatea, stresul de salinitate, hrana/inanție și temperatura).

2. Toate valorile consumului de oxigen, înregistrate în diferitele variante experimentale aparțin în determinările noastre așa-numitei categorii „metabolism curent” (6), fiind situate deasupra nivelului standard. Având în vedere comportamentul acestei specii în habitatul natural, se apreciază că nivelele metabolice înregistrate pot constitui o reală bază de estimare pentru dirijarea procesului de furajare a populațiilor de șalău crescute în apă de mare (procedeu biotecnologic de creștere super-intensivă).

3. Cu ajutorul formulelor de calcul a energiei pentru o anumită specie (conversia hranei, indicii de conversie, sporul de creștere etc.), a se vedea și 27 și 4, pot fi utilizate valorile rezultate din investigarea metabolismului respirator, în acest mod putând aprecia cu mai multă exactitate, cantitatea de energie necesară întreținerii funcțiilor și, de aici, sporul de creștere.

BIBLIOGRAFIE

1. ARNESEN A. M., Dr. scient. thesis, Univ. Tromso, Norway, 1–34, 1994.
2. BĂNĂRESCU P., Pisces: Osteichthyes. in Fauna, Edit. Acad., 493–496, 1964.
3. BEAMISH F. W. H., Can. J. Zool., 189–194, 1964.
4. CHO C. Y., Proc. 9-th Symp. Energy Metab., France, 44, 1982.
5. DEMPSON J. B., J. Fish. Biol., 43: 451–452, 1993.
6. FRY F. E. J., The aquatic respiration of fish, in: The Physiology of Fishes, M. E. Brown ed., N. Y. Academic Press, 1–63,
7. GEYER F., MANN H., Zeitschr. vergl. Physiol., 429–433, 1939.
8. GRONOW G., Zool. Anz., Jena, 192: 316–391, 1974.
9. HEMMINGSEN A. M., Rep. Steno Mem. Hosp. Nordinsul., 9 (1): 110, 1960.
10. HOAR W. S., General and Comparative Physiology, New Jersey, 1–815, 1966.
11. HOCHACHKA P. W., SOMERO, Strategies of Biochemical Adaptation, Saunders Comp., 1–358, 1973.
12. HICKMANN C. P., Can. J. Zool., 997–1060, 1959.
13. JOB J. V., Proc. Ind. Acad. Sci., 267–288, 1959.
14. KAYSER C., HEUSNER A., J. Physiol., 3–116, 1967.
15. KINNE O., Physiol. Zool., 33: 288–317, 1960.
16. KINNE O., Ver. Inst. Meeresf., Bremerhaven Symp., 49–66, 1963.
17. KINNE O., Helg. Wiss. Meeresunters., 9: 433–458, 1964.
18. KNAUTHE K., Arch. f. ges. Physiol., 490–500, 1898.

19. KREBS F., Arch. Hydrobiol., **76** (1): 89–131, 1975.
20. KUNNEMANN H., A. G. MARINESCU, Verh. Dtsch. Zool. Ges., 311, 1980.
21. MARINESCU A. G., St. cerc. biol., Ser. zool., **21** (6): 333–338, 1969.
22. MARINESCU A. G., St. cerc. biol., Ser. zool., **23** (6): 563–571, 1971.
23. MARINESCU A. G., Influența diferenților factori endo- și exogeni asupra metabolismului energetic al peștilor, Rez. teză doct., Cluj, 1–55, 1972.
24. MARINESCU A. G., Zool. Anz., Jena, **3/4**: 210–214, 1975.
25. MARINESCU A. G., DRĂGHICI O., PICOS C. A., Bul. St. Univ. Pitești, XI, 5–36, 1994.
26. MAXIME V., BOEUF G., PENNEC J. P., PEYRAUD C., Aquaculture, **82**: 163–171, 1989.
27. PALOHEIMO J. E., DICKIE L. M., J. Fish. Res. Bd. Can., **23**: 869, 1966.
28. MESKE C., Aquakultur von Warmwasse — Nutzfischen, 1–163, 1973.
29. PORA E. A., NIȚU S., PORA M., ROȘCA I. D., St. cerc. biol., Cluj, **3**: 214–224, 1952.
30. PRECHT H., Temperatur und Leben, Springer Verlag, Heidelberg, 1–514, 1955.
31. PROSSER C. L., în: Physiological Adaptation, 167–180, 1958.
32. ROBERTS J. L., Helg. Wiss. Meeresunters., **9**: 459–473, 1964.
33. RUBNER M., Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung, Leipzig und Wien, 1–334, 1902.
34. SCHMEING - ENGBERDING F., Zeitschr. f. Fisch., 2, N. F. **1/2**: 125–155, 1953.
35. SMITH H. W., FARANACCI N., BREITWEISER A., J. Cell. Comp. Physiol., **6**: 43–67, 1935.
36. STAIB A. H., Naturwiss., **48** (10): 413–441, 1961.
37. VAN DER TILLART G., Mol. Physiol., **2**: 49–61, 1982.
38. WINBERG G. G., Intensivnosti obmena i prisuevii potrebnosti rib, Minsk, 1–251, 1956.

Primit în redacție
la 11 noiembrie 1996

Institutul de Biologie
al Academiei Române

ROLUL UNOR FACTORI TEHNOLOGICI AI CULTURILOR DE CEREALE PĂIOASE ASUPRA FAUNEI DE SOL

I. ROȘCA, ELISABETA SCHMIDT, A. NAUM, C. POPOV, IONELA DOBRIN

There are presented preliminary results regarding influence of TIRAMETOX 90 PTS seed chemical treatment on wheat and barley soil fauna, weekly analysed by pitfall traps. Due to these results it is underlined that there are no significant differences between treated and untreated fields, but there are differences in case of fields cultivated with wheat and barley for many years.

Evoluția spectaculoasă din ultima perioadă a tratamentelor chimice împotriva dăunătorilor, reflectată prin suprafetele tratate și cantitățile de pesticide utilizate, alături de preocupările unei mase de oameni tot mai dispusă la acțiuni de protejarea mediului înconjurător, aspect reflectat în legislația tuturor țărilor evolute, a făcut să crească interesul pentru studiul efectelor diferenților tehnologii de combatere a dăunătorilor asupra faunei dăunătoare sau utile din agroecosistemele în care se utilizează pesticide.

Agrobiocenoza cerealelor păioase a fost studiată din punct de vedere al structurii speciilor de dăunători semnalate (2), (5), (6), (7), (8), (9), al factorilor ecologici care intervin în reglarea populațiilor de insecte dăunătoare (4), al dinamicii în timpul perioadei de vegetație a faunei dăunătoare și utile pe zone limitate (1), rolului metodei de colectare a faunei (3), al faunei utile (10).

În ultimii ani, au fost preocupări susținute pentru înlocuirea produsului FB-7, utilizat peste 20 de ani, pentru tratamentul seminței de grâu și orz împotriva gândacului ghebos (*Zabrus tenebrioides*) și a mălurei comune (*Tiletia spp.*). Produsul TIRAMETOX 90 PTS, fabricat de Oltchim cunoaște o extindere deosebită, în prezent peste 80% din suprafață este tratată cu acest amestec insec-to-fungicid, având ca substanțe active 35% TMTD, 20% Metiltifonat și 35% Lindan.

MATERIAL ȘI METODĂ

În perioada 26 IV–3 VII 1996, s-au prelevat probe prin sondaje săptămânale din culturile de grâu și orz de la I.C.C.P.T. Fundulea din punctul experimental Lizica.

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 49, nr. 1, p. 67–76, București, 1997

Observațiile s-au efectuat în sole de grâu și orz în condiții de producție, iar soiurile au fost *Dropia* pentru grâu și *Productiv* pentru orz.

Tehnologiile utilizate pe solele urmărite au fost diferite alcătuind 7 variante:

- 1 — Grâu monocultură, sămânță nefiltrată
- 2 — Grâu cultivat în primul an, sămânță tratată cu Tirametox 90 TS
- 3 — Grâu cultivat în primul an, sămânță nefiltrată
- 4 — Grâu cultivat în primul an, sămânță nefiltrată, solă situată în imediata apropiere a pădurii, înconjurată pe trei laturi de aceasta
- 5 — Orz monocultură, sămânță nefiltrată
- 6 — Orz cultivat în primul an, sămânță tratată cu Tirametox 90 TS
- 7 — Orz cultivat în primul an, sămânță nefiltrată

În timpul perioadei de vegetație s-au aplicat în condiții de producție, în variantele 1–3, 5–7, următoarele tratamente: erbicidat cu ICEDIN Super în doza de 1 l/ha în perioada 3–6 V, iar pentru combaterea ploșnițelor cerealelor s-au aplicat 2 tratamente cu SUPERSECT în doza de 150 ml/ha în data de 16 V pentru combaterea adulților hibernați, iar în 12 VI cel de al doilea tratament pentru combaterea noii generații.

Pentru stabilirea cantitativă și calitativă a entomofaunei existente în culturile de cereale păioase, faună ce ar putea fi influențată de tehnologiile de cultură aplicate, în special de tratamentul seminței, s-au prelevat periodic probe, prin folosirea metodei capcanelor tip Barber, cutii de plastic de 15/15 cm (5 capcane în 3 repetiții), îngropate la nivelul solului și menținute deschise pentru 24 de ore. Probele au fost ridicate săptămânal, triate, conservate în alcool 70% și determinate în laborator.

Pentru studiul influenței tehnologiilor de cultură asupra faunei utile din culturile de cereale păioase, s-a luat în considerație numai fauna de sol capturată în capcanele tip Barber, apreciind că nu există deosebiri semnificative în ceea ce privește fauna capturată prin cosirile cu fileul entomologic, luând în considerație totodată faptul că pe de o parte, datorită fenomenelor de secetă din anul 1996 cu implicații asupra dezvoltării afidelor, fauna utilă reprezentată prin *Coccinellidae*, *Nabidae*, *Syrphidae* și *Chrysopidae* nu a avut posibilitatea să se dezvolte, iar pe de altă parte tratamentele de combatere a ploșnițelor cerealelor, au influențat puternic întreaga entomofaună, inclusiv fauna utilă recoltată cu ajutorul fileului entomologic.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Cercetările efectuate au pus în evidență un spectru larg de specii capturate în capcanele de sol.

S-au capturat un număr total de 2730 exemplare, încadrate în 4 clase: *Molusca* — 3 exemplare (0,1%), *Arahnida* — 225 exemplare (2,2%),

Myriapoda — 54 exemplare (1,98%) și *Insecta* — 2448 exemplare (89,67%). Predomină reprezentanții insectelor. Dintre ordinele de insecte s-au recoltat exemplare din următoarele: *Orthoptera* — 138 exemplare (5,63%), *Heteroptera* — 597 exemplare (24,39%), *Homoptera* și *Hymenoptera* câte 9 exemplare (0,37%), *Coleoptera* — 1692 exemplare (69,12%) și *Diptera* — 3 exemplare (0,12%).

Luând în considerație influența pe care ar putea să o aibă măsurile agrofitotehnice asupra principalelor grupe de animale, se constată (tabelul nr. 1) că

Tabelul nr. 1

Influența unor măsuri agrofitotehnice asupra principalelor grupe de animale capturate în capcanele de sol

VARIANTA	<i>Arahnida</i>	<i>Orthoptera</i>	<i>Heteroptera</i>	<i>Coleoptera</i>	TOTAL
Grâu monocultură	9	30	114	201	354
Grâu (sămânță tratată)	21	21	162	288	492
Grâu (sămânță nefiltrată)	12	15	105	237	369
Grâu lângă pădure (sămânță nefiltrată)	135	6	48	432	621
Orz monocultură	30	30	84	258	402
Orz (sămânță tratată)	15	18	33	159	225
Orz (sămânță)	33	18	51	117	219

biocenezele mai puțin afectate de activitatea omului, în cazul orzului, au un număr aproape dublu de specimene capturate în condiții de monocultură, iar în ceea ce privește grâul, cultivarea acestuia lângă o biocenoază deosebită de bogată și cu o reglare numerică relativ stabilă, sporește numărul de specimene capturate. Diferențe semnificative se întâlnesc mai ales în ceea ce privește numărul total de coleoptere și arahnidide. Datorită faptului că nu s-au putut determina speciile de arahnidide colectate, interpretarea rezultatelor obținute în cadrul acestui grup, este

generală, constatăndu-se că există un număr semnificativ mai mare de specimene capturate în sola de grâu mărginită de pădure. Probabil, o mare parte din exemplarele capturate provin din această biocenoză, rămânând ca în viitor să se încerce determinarea de către specialiști a speciilor capturate.

Datele prezentate susțin ideea că în ceea ce privește tratamentul seminței de grâu și orz, fauna de nevertebrate terestre capturate în capcanele de sol nu diferă semnificativ de fauna întâlnită în solele martor, cu sămânță ne tratată.

Analizând datele referitoare la componența speciilor de heteroptere capturate în capcanele de sol în funcție de tehnologia de cultură aplicată culturilor de grâu și orz, se constată că din totalul celor 597 de exemplare de ploșniță capturate, 363 (60,8%) aparțin genului *Eurygaster*, care în condiții normale nu își desfășoară activitatea la suprafața solului. Numărul mare de exemplare de *Eurygaster integriceps* capturate, se poate explica prin condițiile exceptionale din acest an, zăpezi târziu urmate de o primăvară deosebit de secetoasă și caldă, fapt ce a determinat o talie redusă a cerealelor păioase. Zilele deosebit de călduroase au făcut ca o bună parte din activitatea dăunătorului să se desfășoare la suprafața solului, sporind probabilitatea de a fi capturat în capcanele de sol. Numărul mai mic de exemplare capturate în sola de lângă pădure se explică prin aceea că dăunătorul s-a deplasat de la locul de hibernare, la început în solele de cereale păioase situate în imediata vecinătate a pădurii spre sole mai îndepărtate. În general, numărul mai redus de ploșniță cerealelor din cultura de orz este explicable datorită preferinței reduse a dăunătorului față de această cultură.

Specia *Pyrrhocoris apterus*, cu cele 183 de exemplare capturate (30,65%) din totalul heteropterelor, prin activitatea ce o desfășoară la suprafața solului și prin modul de hrănă nu este influențată de aplicarea tratamentelor la sămânță, rezultatele obținute nu dovedesc o corelație între numărul de exemplare apartinând speciei și cultura sau tehnologia aplicată.

Cel mai numeros și în același timp cel mai important grup de insecte capturate în capcanele de sol, îl constituie coleopterele, grupate în 16 familii, din care cele mai importante sunt familiile *Cicindelidae* — 21 exemplare (1,24%), *Carabidae* — 606 exemplare (35,82%), *Coccinellidae* — 24 exemplare (1,42%), *Bostrichidae* — 165 exemplare (9,75%), *Tenebrionidae* — 519 exemplare (30,67%), *Chrysomelidae* — 60 exemplare (3,55%) și *Curculionidae* — 237 exemplare (14,0%), (fig. 1).

Reprezentanții familiei *Cicindelidae* sunt specii zoofage, dar numărul lor relativ redus nu permite extragerea unor concluzii valabile privind influența tehnologiilor de cultură asupra lor.

În ceea ce privește speciile familiei *Carabidae* sunt predominant considerate ca făcând parte din fauna utilă, printre excepții face parte gândacul ghebos al cerealelor păioase, *Zabrus tenebrioides*. Majoritatea specimenelor de carabidae capturate aparțin la două genuri, *Amara* cu 3 specii — 123 specimene

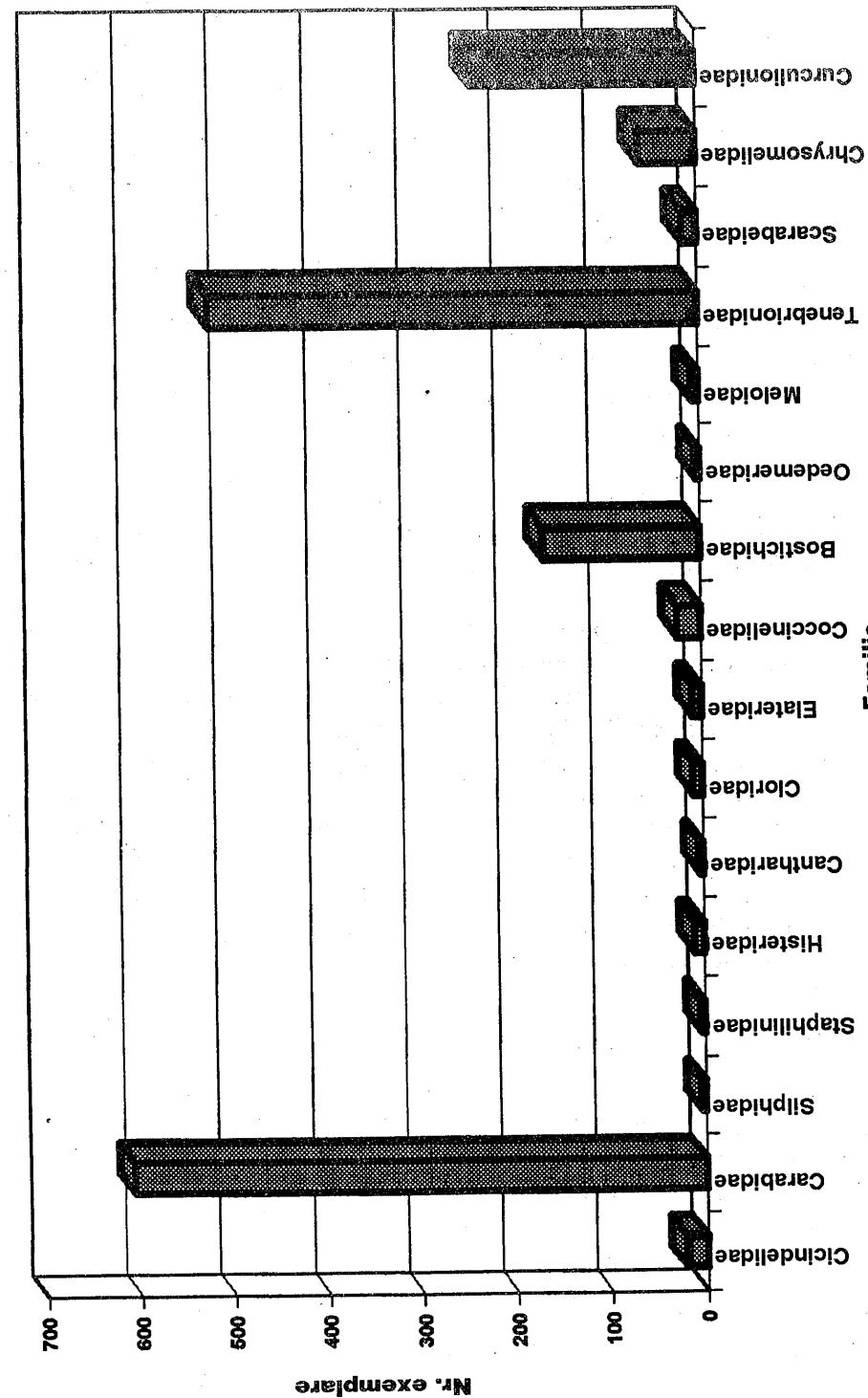


Fig. 1 — Structura populațiilor de Coleoptere.

(20,5%) și *Pterostichus* cu 4 specii — 417 specimene (68,81%), împreună reprezentanții lor totalizează 540 de specimene capture, ceea ce reprezintă 89,31% din totalul carabidelor capture. Așa cum se poate constata din figura 2, nu există o corelație între tehnologia de cultură aplicată solelor studiate și prezența uneia sau alteia din speciile de carabide, excepție face, cum era de așteptat, prezența dăunătorului *Zabrus tenebrioides*, întâlnit numai în monocultura de grâu sau orz.

Reprezentanții familiei *Curculionidae*, cunoscuți ca specii dăunătoare sunt puțin numeroși, numai 6 specii, din care speciile *Tanymecus dilaticolis* și *T. palliatus* constituie marea majoritate a exemplarelor capture, 96,20%.

Rezultatele arată că specia dăunătoare *Opatrum sabulosum*, singurul reprezentant al familiei Tenebrionidae, reprezintă cu cele 519 specimene capture, sau 30,67% din totalul coleopterelor, mai puțin o doavă a influenței tehnologice aplicate asupra populației dăunătorului cât o doavă a rolului pe care îl are amplasarea culturii, deoarece în sola mărginită de pădure s-au capturat 246 de exemplare, aproape de jumătate din numărul total al exemplarelor capture. Se remarcă totodată, că în cultura de orz s-au capturat mai puține exemplare decât în cea de grâu.

Specia *Bostrichus capucinus*, singurul reprezentant al familiei Bostrichidae, deși prezintă în probele analizate în număr relativ mare, este o specie caracteristică pentru păduri și nu prezintă diferențe semnificative legate de tehnologia aplicată, aspect explicabil prin apropierea solelor studiate de pădure.

Un aspect deosebit de important din punct de vedere al posibilității de a aprecia dacă speciile întâlnite în solele cu cereale păioase care au avut diferite tehnologii, sunt asemănătoare sau diferite, este compararea structurii calitative a comunităților de insecte obținută prin calcularea indicelui de asemănare Sorenson. Acest indice evidențiază asemănările calitative dintre comunitățile de insecte existente în cele 7 tipuri de culturi, prin compararea lor două câte două, indicele calculându-se în baza formulei:

$$I_s = \frac{2c}{a+b} \times 100$$

În care: I_s = indicele Sorenson; c = numărul speciilor de insecte comune celor două faune comparate; a = numărul total al speciilor existente în prima faună comparată; b = numărul total al speciilor existente în cea de a două faună comparată.

Analizând datele obținute, prezentate în tabelul nr. 2, se remarcă faptul că din punct de vedere calitativ, comunitățile de insecte cele mai apropiate sunt cele din cultura de grâu monocultură, atunci când se compară cu fauna din cultura de grâu, anul I în care s-a semănat sămânță tratată ($I_s = 78,26\%$), o apropiere a celor două faune de insecte comparate, au rezultat și în binomul grâu,

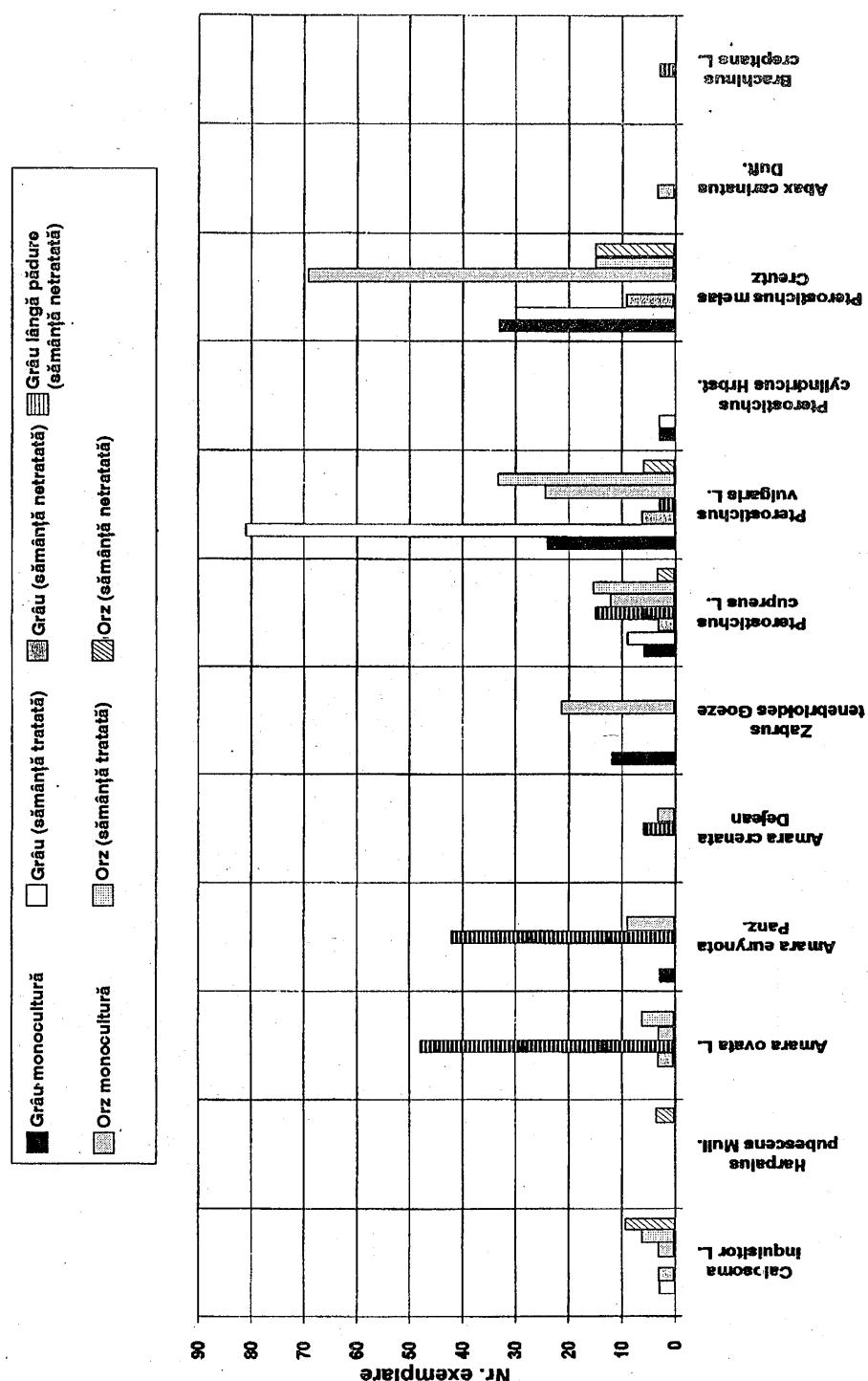


Fig. 2 — Rolul tehnologiei asupra populației de Carabidae.

Tabelul nr. 2

Compararea componenței structurale a comunității de insecte din solele luate în studiu pe baza indicelui de asemănare Sorensen

	Grâu monocultură (sămânță nefratată)	Grâu an I (sămânță tratată)	Grâu an I (sămânță nefratată)	Grâu an I lângă pădure (sămânță nefratată)	Orz monocultură (sămânță nefratată)	Orz an I (sămânță tratată)	Orz an I (sămânță nefratată)
Grâu monocultură		61–80%	41–60%	41–60%	41–60%	41–60%	41–60%
Grâu an I (sămânță tratată)	25; 18; 21 78,26%		61–80%	41–60%	41–60%	61–80%	61–80%
Grâu an I (sămânță nefratată)	25; 14; 23 58,33%	21; 15; 21 71,43%		41–60%	41–60%	61–80%	61–80%
Grâu an I lângă pădure (sămânță nefratată)	25; 11; 19 50,00%	21; 11; 19 55,00%	23; 12; 19 57,14 %		41–60%	61–80%	41–60%
Orz monocultură	24; 16; 30 58,18%	30; 14; 23 56,00%	30; 13; 23 49,06%	30; 13; 19 53,06%		41–60%	21–40%
Orz an I (sămânță tratată)	24; 11; 16 55,00%	20; 13; 16 72,22%	22; 12; 15 64,86%	16; 11; 19 62,86%	30; 12; 16 52,17%		61–80%
Orz an I (sămânță nefratată)	25; 11; 19 54,55%	21; 15; 19 75,00%	23; 13; 19 61,90%	19; 9; 19 47,36 %	30; 11; 29 37,29%	16; 12; 19 68,57%	

anul I în care s-a semănat sămânță nefratată ($I_s = 71,43\%$), sau când s-a comparat fauna de insecte întâlnită în sola cultivată cu grâu, anul I în care s-a semănat sămânță tratată cu fauna de insecte din sola cultivată cu orz, anul I în care s-a semănat sămânță tratată ($I_s = 72,22\%$).

Comunitățile de insecte cele mai diferite, se întâlnesc între fauna din cultura de orz, anul I în care s-a semănat sămânță nefratată și fauna semnalată în cultura de orz monocultură ($I_s = 37,29\%$), sau fauna întâlnită în cultura de grâu, anul I lângă pădure cu sămânță nefratată ($I_s = 47,36\%$). Indicele Sorensen evidențiază o mai slabă asemănare între fauna de insecte semnalată în cultura de grâu, anul I cu sămânță nefratată și fauna de insecte din cultura de orz monocultură ($I_s = 49,06\%$).

Comparând comunitățile de insecte din cadrul celorlalte 15 variante se evidențiază că nu există diferențe majore între variantele luate în considerație (I_s cuprins între 50,00% și 68,56%).

Urmărind în ansamblu asemănările calitative exprimate prin valoarea indicelui Sorensen, se remarcă faptul că fauna de insecte din grâul în monocultură este cea mai apropiată de cea întâlnită în cultura de grâu anul I care are sămânță tratată, iar cu toate celelalte variante are o asemănare relativă. În același timp, se remarcă cu ușurință că există o asemănare relativă între fauna de insecte identificată în cultura de orz monocultură și celelalte variante culturale luate în considerație, cu excepția culturii de orz anul I cu sămânță nefratată.

Datele obținute privind asemănarea faunelor de insecte întâlnite în cele 7 variante culturale luate în considerație, oglindite de valoarea indicelui Sorensen, confirmă ideea că tratamentul chimic al seminței cu TIRAMETOX 90 TS nu influențează major, în perioada de primăvară și până la recoltare fauna de insecte epigee din culturile de cereale păioase.

Diferențe mai mari în ceea ce privește fauna de insecte apar când se compară culturile de orz cu cele de grâu, solele în care orzul sau grâul s-au cultivat în monocultură cu cele în care cultura este în primul an și legate de apropierea altor biocenoze cum este cazul culturii de grâu situate în apropierea pădurii și mărginită pe trei laturi de aceasta.

CONCLUZII

Datele obținute privind asemănarea speciilor de insecte întâlnite în cele 7 variante luate în considerație, oglindite de valoarea indicelui Sorensen, confirmă ideea că tratamentul chimic al seminței cu TIRAMETOX 90 TS nu influențează major, în perioada de primăvară și până la recoltare fauna de insecte din culturile de cereale păioase.

Fauna întâlnită în culturile de cereale păioase este deosebit de bogată, predominând speciile de insecte (91,7%).

Dintre insecte, Coleopterele, prin cele 69,12% procente, se evidențiază atât prin număr cât mai ales prin componența speciilor întâlnite, din care o mare parte o reprezintă specii utile.

Majoritatea specimenelor de Carabidae capturate, considerate ca făcând parte din fauna utilă, aparțin genului *Pterostichus* cu 4 specii — 417 specimene (68,81%).

Nu există o corelație între tehnologia de cultură aplicată solelor studiate și prezența uneia sau alteia din speciile de Carabide, excepție face cum era de așteptat prezența dăunătorului *Zabrus tenebrioides*, întâlnit numai în monocultura de grâu sau orz.

Luând în considerație condițiile excepționale din anul agricol, se impune continuarea studiului și în viitor, ținând seama de fluctuațiile anuale și de faptul că o concluzie definitivă se poate trage numai pe baza cercetărilor multianuale.

BIBLIOGRAFIE

1. BANIȚĂ E., POPOV C., ȘARPE D., VOICU M., CANTOREANU M., VILĂU F., LUCA E., Cercetări privind evoluția faunei de artropode dăunătoare și utile în agroecosistemul grâului de toamnă din câmpia Olteniei, Lucr. III Conf. Naț. Prot. Mediului prin Metode și mijloace Biologice și Biotehnice — Brașov, 60–63, 1996.
2. MALSCHI D., POPOV C., PAULIAN FL., MUSTEȚEA D., Cercetări preliminare privind structura și răspândirea speciilor de diptere dăunătoare culturilor de grâu, Prob. Prot. Pl., 8 (4): 309–328, 1980.
3. NICOLAEȚCU N., PAULIAN FL., POPOV C., Contribuții la cunoașterea faunei de artropode dăunătoare și utile din culturile de cereale păioase colectate prin diferite metode. Lucr. III Conf. Naț. Entomol. — Iași, 619–626, 1986.
4. POPOV C., Considerații generale privind factorii ecologici care intervin în reglarea nivelului numeric al populațiilor de insecte dăunătoare din culturile de cereale păioase, Prob. Prot. Pl., 7 (4): 401–423, 1979.
5. POPOV C., FLUIERAȘU I., MALSCHI D., Contribuții la cunoașterea unor dăunători întâlniți pe grâu de primăvară semănat în cultură succesivă, Prob. Prot. P., 13 (3): 263–266, 1985.
6. POPOV C., Cercetări privind structura speciilor de afide dăunătoare cerealelor păioase, Prob. Prot. Pl., 15 (4): 311–314, 1987.
7. POPOV C., HONDRU N., BĂRBULESCU AL., VONICA I., MĂRGĂRIT G., Specii de afide dăunătoare culturilor de grâu și orz, An. ICCPT, 56: 379–384, 1988.
8. POPOV C., Cercetări privind stabilirea rolului unor elemente în combaterea integrată a ploșniței cerealelor (*E. integriceps*). Combaterea integrată, II, 105–113, 1991.
9. POPOV C., BĂRBULESCU AL., PETCU L., UDREA A., BANIȚĂ E., LUCA E., VILĂU F., BUCUREAN E., LUCA M., Realizări recente privind protecția culturilor de cereale păioase împotriva principalilor dăunători prin tratamente aplicate în perioada de vegetație. PROTPLANT 94: 48–59, 1994.
10. VOICU M., POPOV C., MATEIAȘ M., ROȘCA I., URSACHI C., Structura și dinamica entomofaunei utile din unele agrobiocenoze din România. An. ICCPT, 59: 213–225, 1993.

Primit în redacție
la 11 noiembrie 1996

*Universitatea de Științe Agronomice
și Medicină Veterinară, București,
Bdul Mărăști, nr. 59.*

SITUATIA ATACULUI PRINCIPALELOR LEPIDOPTERE DEFOLIATOARE ȘI MINIERE, ÎN PĂDURILE DE QUERCINEE DIN ROMÂNIA (1990–1996)

IRINA TEODORESCU, A. SIMIONESCU

The paper presents trophic preference, distribution and dynamics of the attacked areas, attack intensity, for 20 Lepidoptera species: *Tischeria equebladella* (syn. *T. complanella* Hb.), *Parectopa robinella* Cl., *Tortrix viridana* L., *Erannis defoliaria* Cl., *Operophtera brumata* L., *Colotois pennaria* L., *Macaria alternata* Den. et Schiff. (syn. *Semiothisa alternaria* Hbn.), *Thaumetopoea processionea* L., *Phalera bucephala* L., *Drymonia ruficornis* Hfn., *Clostera* (syn. *Pygaera*) *anastomosis* L., *Lymantria dispar* L., *Leucoma salicis* L., *Euproctis chrysorrhoea* L., *Orgyia recens* Hb. (syn. *O. antiqua* L.), *Calliteara* (syn. *Dasychira*) *pudibunda* L., *Orthosia cerasi* F. (syn. *O. stabilis* Den. et Schiff.), *O. cruda* Den. et Schiff., *Hyphantria cunea* Drury, *Malacosoma neustria* L., in Romanian deciduous forests, between 1990–1995.

Diminuarea suprafețelor de păduri tratate cu pesticide, reducerea ponderii combaterii chimice prin produse organofosforice, cu creșterea compensatorie a utilizării altor categorii de substanțe și cu accentul pe controlul natural, pe măsurile silviculturale, au dus la o situație bună în pădurile României, cu predominarea atacului de intențitate slabă și foarte slabă, la toate lepidopterale defoliatoare și miniere.

Intervenția pe cale chimică, pentru evitarea defolierilor, s-a rezumat la situațiile în care s-au înregistrat atacuri puternice și foarte puternice, dar și atunci îndeosebi cu metoda microbiologică, cu insecticide chimice mai puțin poluanți (piretroizi, inhibitori ai sintezei chitinei).

În această situație, deși dăunătorii s-au menținut permanent în arborete, densitățile lor au fost scăzute, astfel că, în cele mai multe cazuri, atacul s-a situat sub pragul critic de dăunare.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În prezentă lucrare, atenția a fost orientată către cunoașterea situației atacului a 20 de specii de lepidoptere defoliatoare și miniere, din 10 familii: *Tischeria equebladella* (syn. *T. complanella* Hb.) (*Tischeriidae*), *Parectopa robinella*

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 49, nr. 1, p. 77–87, București, 1997

Cl. (Gracillariidae), *Tortrix viridana* L. (Tortricidae), *Erannis defoliaria* Cl., *Operophtera brumata* L., *Colotois pennaria* L., *Macaria alternata* Den. et Schiff. (syn. *Semiothisa alternaria* Hbn.) (Geometridae), *Thaumetopoea processionea* L., *Phalera bucephala* L., *Drymonia ruficornis* Hfn., *Closteria* (syn. *Pygaera*) *anastomosis* L. (Notodontidae), *Lymantria dispar* L., *Leucoma salicis* L., *Euproctis chrysorrhoea* L., *Orgyia recens* Hb. (syn. *O. antiqua* L.), *Calliteara* (syn. *Dasychira*) *pudibunda* L. (Lymantriidae), *Orthosia cerasi* F. (syn. *O. stabilis* Den. et Schiff.), *O. cruda* Den. et Schiff., (Noctuidae), *Hyphantria cunea* Drury (Arctiidae), *Malacosoma neustria* L. (Lasiocampidae).

Compoziția pădurilor atacate

Atacul lepidopterelor defoliatoare și miniere s-a semnalat îndeosebi în păduri mature și de vîrstă mijlocie.

În privința spectrului trofic al acestor specii, ele se pot încadra în 3 grupe: polifage, oligofage și monofage.

Speciile polifage au manifestat o preferință marcată pentru pădurile de cvercine.

Lymantria dispar, specie care se hrănește cu circa 300 de specii de plante, și-a exercitat atacul îndeosebi în pădurile în care au predominat *Quercus cerris* L., *Q. frainetto*, *Q. pedunculiflora* C. Koch, *Q. pubescens* Wild. și în mai mică măsură în cele cu *Q. sessiliflora* Salisb.

Geometridele au infestat toate speciile de *Quercus*, dar și *Tilia*, *Carpenus*, *Ulmus*, *Betula*, *Salix*, *Fagus* etc.

Hyphantria cunea, care se hrănește cu circa 200 de specii de arbori, arbuști, plante ierboase, în pădurile din România, a inclus în spectrul său trofic, pe lângă *Quercus* și specii de *Populus*, *Salix*, *Acer*, *Tilia*, *Robinia* etc.

O preferință marcată pentru speciile de *Quercus* au manifestat de asemenea *Malacosoma neustria*, *Euproctis chrysorrhoea*, specii polifage care atacă de asemenea *Tilia*, *Ulmus* etc.

Phalera bucephala s-a hrănit cu frunze de *Salix*, *Populus*, *Quercus*, *Tilia*, *Betula*, *Alnus* etc.

Orgyia recens s-a dezvoltat pe *Salix*, *Fagus*, *Quercus*, dintre foioase, dar a atacat și molindul.

Orthosia cerasi a preferat *Fagus*, *Quercus*, *Tilia*, *Populus*, *Prunus spinosa* etc., iar *Orthosia cruda*, îndeosebi *Quercus*, *Ulmus*, *Tilia*, *Acer*, *Carpenus*.

Speciile oligofage au fost *Tischeria ekebladella*, cu larve miniere în frunze de *Quercus robur*, *Q. rubra*, defoliatorii *Drymonia ruficornis*, *Tortrix viridana*, *Thaumetopoea processionea*, care s-au hrănit cu *Quercus* și speciile *Leucoma salicis*, *Choristoneura anastomosis*, care au atacat *Populus* și *Salix*.

Speciile monofage au fost *Calliteara pudibunda* care s-a hrănit cu *Fagus silvatica*, *Quercus*, *Macaria alternata*, *Parectopa robinella*, cu *Robinia pseudacacia* L.

Distribuția suprafețelor atacate pe teritoriul României

La *Lymantria dispar*, datele din ultima jumătate de secol indică existența unui atac mai puternic în zonele cu climat arid, temperaturi ridicate și regim scăzut de precipitații.

În cursul ultimei mari gradații (1986–1989), când suprafața atacată s-a suprapus practic pe arealul cvercineelor, defoliatorul s-a extins și în zone cu climat mai rece.

În intervalul 1990–1995, în medie, mai mult de jumătate (59%) din suprafața atacată de acest defoliator s-a aflat în Câmpia Română (tabelul nr. 1), unde cele mai mari suprafețe infestate s-au înregistrat în anii 1992, 1991 și 1995.

Tabelul nr. 1

Distribuția pe teritoriul României a suprafețelor de păduri atacate de *Lymantria dispar* (în procente)

Anul	Total mii ha	Câmpia Română	Dealurile subcarpatice ale Olteniei și Munteniei	Dobrogea	Podișul și dealurile subcarpatice ale Moldovei	Podișul și dealurile subcarpatice ale Transilvaniei	Câmpia de Vest	Banat
1990	53,6	49,2	—	27,1	7,4	3,3	9,3	3,7
1991	60,0	67,8	—	16,4	8,0	0,7	3,6	3,5
1992	54,1	70,8	—	11,8	8,9	0,7	4,1	3,7
1993	40,7	56,5	—	12,5	3,7	2,5	2,4	4,2
1994	40,0	39,3	—	46,2	3,7	—	6,4	4,4
1995	102,9	61,6	16,7	17,6	1,1	—	1,5	1,5
Media	58,55	59,0	4,9	22,8	2,5	3,5	4,1	3,2

Suprafețe însemnate de păduri atacate de *Lymantria dispar* (în medie peste 22%) au fost înregistrate și în Dobrogea, în anul 1994, ele fiind de peste două ori mai mari (46,2%) decât valoarea medie.

Cele mai mici suprafețe atacate s-au înregistrat în Moldova, Transilvania și Banat (în medie de circa 13% din suprafața totală atacată).

Se remarcă absența atacului acestui defoliator, în intervalul 1990–1994, în pădurile de pe dealurile subcarpatice ale Munteniei și Olteniei, abia în 1995 semnalându-se suprafețe atacate și în aceste zone.

Se confirmă și în acest interval de timp, preferința defoliatorului pentru zona de sud a țării (Oltenia, Muntenia, Dobrogea, Banat), în care s-au aflat în medie aproximativ 90% din suprafețele de păduri atacate.

Celelalte specii de lepidoptere, cu excepția speciei *Calliteara pudibunda* s-au întâlnit predominant sau exclusiv în pădurile din sudul țării.

Tortrix viridana (tabelul nr. 2) și-a exercitat atacul pe suprafețe însemnate, în pădurile din Câmpia și dealurile subcarpatice din Oltenia și Muntenia (peste

Tabelul nr. 2

Distribuția pe teritoriul României a suprafețelor de păduri atacate de *Tortrix viridana* (în procente)

Anul	Total mii ha	Câmpia Română	Dealurile subcarpatice ale Olteniei și Munteniei	Dobrogea	Podișul și dealurile subcarpatice ale Moldovei	Podișul și dealurile subcarpatice ale Transilvaniei	Câmpia de Vest	Banat
1990	575,9	30,3	36,5	6,2	16,2	7,9	0,6	2,3
1991	514,8	38,5	27,3	5,7	19,6	7,0	0,7	1,2
1992	561,9	30,8	33,4	8,0	18,0	7,1	0,6	2,1
1993	457,0	28,5	38,8	5,0	15,9	9,4	0,9	1,5
1994	425,7	26,3	38,5	6,5	7,9	18,2	2,0	2,1
1995	410,6	33,1	24,7	8,7	21,4	9,9	0,6	1,6
Media	490,98	31,4	33,3	6,6	18,1	8,1	0,7	1,8

64%) și în mai mică măsură, în cele din podișurile și dealurile subcarpatice din Moldova și Transilvania (circa 27%).

Și în cazul lui *T. viridana* se constată o preferință marcată pentru pădurile din jumătatea de sud a țării (peste 73% din suprafața atacată), dar și o mai mare extindere către centrul și estul țării (26,90%) comparativ cu *L. dispar* (circa 10%). Se remarcă ponderea însemnată (60%) deținută de pădurile atacate situate în zone mai reci din podișurile și dealurile subcarpatice, îndeosebi din Muntenia și Oltenia.

Pădurile situate în jumătatea de sud a țării au oferit condiții bune de dezvoltare și pentru speciile de *Geometridae* (tabelul nr. 3), în medie peste 67% din suprafața atacată găsindu-se în aceste zone. Preferința pentru zone de deal și podiș a fost chiar mai pronunțată decât la *T. viridana* (60,70% din suprafața medie atacată).

Tabelul nr. 3

Distribuția pe teritoriul României a suprafețelor de păduri atacate de *Geometridae* (în procente)

Anul	Total mii ha	Câmpia Română	Dealurile subcarpatice ale Olteniei și Munteniei	Dobrogea	Podișul și dealurile subcarpatice ale Moldovei	Podișul și dealurile subcarpatice ale Transilvaniei	Câmpia de Vest	Banat
1990	254,4	20,0	36,6	9,7	10,0	15,6	4,6	3,5
1991	306,6	24,5	33,8	10,6	11,8	15,0	3,1	1,2
1992	397,9	21,6	36,6	10,9	14,9	12,7	2,4	0,9
1993	369,3	22,1	39,5	6,1	12,1	13,8	2,9	3,5
1994	383,7	19,7	28,0	10,6	17,1	11,3	6,4	6,9
1995	332,4	20,1	23,4	10,4	19,1	12,7	8,9	5,4
Media	340,7	21,3	33,0	9,7	14,4	13,3	4,7	3,6

Spre deosebire de atacul produs de *Tortrix viridana*, care a fost slab reprezentat în Banat și Câmpia de Vest (2,5%), pădurile atacate de *Geometridae* și *Lymantria dispar*, în aceste două zone au reprezentat peste 7 – 8% din întreaga suprafață pe care acești defoliatori și-au exercitat atacul.

Din totalul pădurilor atacate de principali defoliatori (*Lymantria dispar*, *Tortrix viridana*, *Geometridae*), cele mai mari suprafețe s-au întâlnit în jumătatea de sud a țării (peste 72%, în medie), iar cele mai mici, în Transilvania (peste 12%) (tabelul nr. 4).

Tabelul nr. 4

Distribuția pe teritoriul României a suprafețelor medii de păduri atacate de *Lymantria dispar*, *Tortrix viridana* și *Geometridae* (în procente)

	Total mii ha	Câmpia Română	Dealurile subcarpatice ale Olteniei și Munteniei	Dobrogea	Podișul și dealurile subcarpatice ale Moldovei	Podișul și dealurile subcarpatice ale Transilvaniei	Câmpia de Vest	Banat
L. d.	58,55	59,0	4,9	22,8	2,5	3,5	4,1	3,2
T. v.	490,98	31,4	33,3	6,6	18,1	8,1	0,7	1,8
G.	340,71	21,3	33,0	9,7	14,4	13,3	4,7	3,6
Media	296,75	29,3	31,3	8,9	15,7	9,8	2,4	2,6

Îndeosebi prin atacul exercitat de *Tortrix viridana* și *Geometridae*, peste jumătate din suprafețele atacate (56,80%) au fost localizate în zonele de podiș și deal.

Pădurile din vestul țării n-au oferit condiții bune de dezvoltare pentru acești dăunători.

Speciile *Malacosoma neustria*, *Thaumetopoea processionea*, *Drymonia ruficornis*, *Parectopa robinella* și-au exercitat atacul exclusiv în pădurile din sudul țării.

Malacosoma neustria a fost semnalată pe suprafețe reduse (între 0,600 și 2.500 de hectare), pe raza Filialei Silvice Giurgiu (70%), îndeosebi în pădurea Nebuna, din Ocolul Silvic Ghimpăți. Restul suprafețelor atacate s-au depistat în unele păduri din Filiala Alexandria.

Atacul produs de *Euproctis chrysorrhoea* a fost depistat în pădurile situate în sudul țării, îndeosebi în Filiala Teleorman, dar și în Banat, în cadrul Ocolului Silvic Chișineu-Criș.

Thaumetopoea processionea și-a făcut simțită prezența în unele păduri din Filialele Tulcea (55%), Craiova (39%) și I.C.A.S.

Drymonia ruficornis a avut un atac de intensitate scăzută, în păduri din Filialele Craiova (Ocoalele Craiova, Perișor, Segarcea) și Alexandria (Ocolul Roșiori, pădurea Cucuietii).

Parectopa robiniella a început încă din 1988 să-și facă simțit atacul la salcâm, în județele Dolj (Ocoalele Silvice Calafat, Poiana Mare) și Mehedinți (Drobeta-Turnu Severin, Ocoalele Șimian și Jiana). Suprafețele atacate au variat între 2.200 de hectare în 1992 și 10.900 de hectare, în intervalul 1993 – 1995, cu o medie anuală de 7.300 de hectare. Atacul este în curs de a se stinge pe cale naturală.

Macaria alternata a atacat de asemenea salcâmul, în Ocoalele Hanu-Conachi (Galati) și Urziceni (Slobozia).

Calliteara pudibunda, al cărui atac a fost depistat în 1992, a atacat fagul, în intervalul 1992 – 1995, pe o suprafață de 12.200 de hectare, în Ocolul Silvic Sovata, din județul Mureș. Dăunătorul a mai fost semnalat în unele făgete limitrofe zonei principale de atac, din Ocoalele Sighișoara, Sângelorz de Pădure, Răstolnița, Lunca Bradului.

Celelalte specii au fost semnalate pe suprafețe reduse, atacul lor însumat afectând între 3.000 și 8.000 de hectare cu o medie de 5.100 de hectare.

Ponderea suprafețelor de păduri atacate

Din cele 20 de specii de lepidoptere defoliatoare și miniere, al căror atac s-a făcut simțit în pădurile de foioase din România, pe primele locuri s-au situat *Tortrix viridana*, cu o pondere de peste 53%, din întreaga suprafață afectată și speciile de *Geometridae*, cu peste 37%. Împreună cu *Lymantria dispar*, aceste 2 specii au afectat peste 97% din suprafața totală atacată (tabelul nr. 5).

Tabelul nr. 5

Ponderea suprafețelor medii de păduri atacate în intervalul 1990 – 1995 de diferitele specii de lepidoptere defoliatoare și miniere

Specia	Suprafața medie atacată în cei 6 ani (mii ha.)	% din totalul suprafeței atacate de cele 20 de specii
<i>Tortrix viridana</i>	491,05	53,7
<i>Geometridae</i>	340,75	37,3
<i>Lymantria dispar</i>	58,55	6,4
<i>Tortrix + Geometridae + Lymantria dispar</i>		97,4
<i>Malacosoma neustria</i>	1,83	0,2
<i>Euproctis chrysorrhoea</i>	1,20	0,1
<i>Calliteara pudibunda</i>	8,36	0,9
<i>Parectopa robiniella</i>	7,30	0,8
<i>Malacosoma + Euproctis + Dasychira + Parectopa</i>		2,0
Celelalte specii	5,10	0,6

Suprafețele infestate de toate celelalte specii au avut o pondere scăzută. Valori ceva mai ridicate au înregistrat *Calliteara pudibunda*, *Parectopa robiniella*, *Malacosoma neustria*, *Euproctis chrysorrhoea*.

Speciile *Tischeria equebladella*, *Thaumetopoea processionea*, *Phalera bucephala*, *Drymonia ruficornis*, *Clostera anastomosis*, *Leucoma salicis*, *Orgyia recens*, *Orthosia cerasi*, *O. cruda*, *Hyphantria cunea* și-au exercitat atacul pe suprafețe reduse, ponderea lor fiind în medie sub 0,6% din total.

Dinamica suprafețelor de păduri atacate de lepidoptere

Amprenta principală, asupra dinamicii suprafețelor de păduri în care s-a făcut simțit atacul lepidopterelor defoliatoare și miniere a fost pusă de *Tortrix viridana*, speciile de *Geometridae* și *Lymantria dispar*, al căror atac însumat s-a exercitat pe 97,40% din totalul suprafețelor atacate (tabelul nr. 6).

Tabelul nr. 6

Dinamica suprafețelor atacate de *Lymantria dispar* L. d.), *Tortrix viridana* (T. v.), *Geometridae* (G.), *Malacosoma neustria* (M. n.), *Euproctis chrysorrhoea* (E. c.), *Calliteara pudibunda* (D. P.), *Parectopa robiniella* (P. r.), Alte 10 specii (A.) (în mii hectare)

Anul	Supr. totală atacată	L. d.	T. v.	G.	M. n.	E. c.	D. p.	P. r.	A.
1990	891,4	53,6	575,9	254,4	0,6	1,1	—	—	5,8
1991	898,8	60,0	514,8	306,6	2,5	1,3	—	8,9	4,7
1992	1041,7	54,1	561,0	397,9	2,5	1,4	12,9	2,2	8,8
1993	897,1	40,7	457,0	369,3	1,9	0,9	12,9	10,9	3,5
1994	879,8	40,0	425,7	383,7	1,9	1,9	12,2	10,9	3,5
1995	876,1	102,9	411,0	332,6	1,6	0,6	12,2	10,9	4,3
Media	914,1	58,55	491,0	340,7	1,8	1,2	8,36	7,3	5,1

Din suprafața totală atacată de lepidoptere, pe mai mult de jumătate s-a înregistrat atacul speciei *Tortrix viridana*, suprafețele afectate în fiecare an, variind între 411.000 și 575.900 de hectare.

În intervalul 1993 – 1995, valorile au fost mai scăzute decât în cei trei ani anteriori, între primul și ultimul an al intervalului, înregistrându-se o diferență de peste 160.000 de hectare atacate.

Pe locul doi ca pondere, în suprafața totală a pădurilor atacate, s-au situat speciile de *Geometridae*, care au afectat suprafețe mari de păduri. În intervalul 1991 – 1995, aceste suprafețe au depășit 300.000 de hectare anual, cu cele mai ridicate valori în anii 1994 (383.700 de hectare) și 1992 (397.900 de hectare). O tendință de diminuare a atacului s-a înregistrat în 1995, fără a atinge însă nivelul cel mai scăzut, din 1990.

Lymantria dispar, care se situează pe locul trei ca suprafață atacată este totuși specia cea mai importantă, prin gravitatea atacului produs. Suprafețele afectate în intervalul 1990–1994 s-au situat între 40.000 și 60.000 de hectare, crescând brusc în 1995, la peste 100.000 de hectare. Prin această valoare, de peste două ori mai mare decât media primilor cinci ani, *Lymantria dispar* „anunță” o nouă perioadă de înmulțire în masă.

Celealte 14 specii de lepidoptere dețin împreună doar 2,6% din totalul suprafețelor atacate în intervalul 1990–1995. Dintre acestea, speciile *Calliteara pudibunda*, *Parectopa robiniella*, *Malacosoma neustria*, și *Euproctis chrysorrhoea* și-au exercitat atacul pe 2% din întreaga suprafață atacată.

La *Calliteara pudibunda*, în primii doi ani nu s-a înregistrat atac, dar în următorii patru, dăunătorul a infestat peste 12.000 de hectare anual. Prin suprafață medie de păduri infestate (8.360 de hectare), *C. pudibunda* se situează pe locul patru, în clasamentul importanței lepidopterelor dăunătoare pădurilor de foioase din România, în intervalul 1990–1995.

Pe suprafețe ce au depășit în medie 7.000 de hectare, s-a depistat și atacul gelechiidului minier, *Parectopa robiniella*. Originară din America de Nord, pătrunsă în Europa în 1970, specia a fost recent semnalată și în fauna României (Nețoiu C., 1994, Ruști D., 1994). Atacul a debutat în 1991 pe 8.900 de hectare și după o depresiune în 1992, suprafețele s-au extins, menținându-se la 10.900 de hectare în următorii trei ani.

Malacosoma neustria și-a manifestat atacul pe suprafețe ce au variat între 600 și 2.500 de hectare, cu o medie anuală de 1.830 de hectare. Valorile cele mai ridicate s-au înregistrat în intervalul 1991–1992, ulterior constatăndu-se o tendință de diminuare a suprafețelor atacate.

Cu o medie de 1.200 de hectare și cu suprafețe atacate anual, variind între 600 și 1.400 de hectare, s-a manifestat și atacul de *Euproctis chrysorrhoea*.

Suprafețele de păduri atacate de toate celelalte 10 specii au reprezentat între 3.500 de hectare, în anii 1993, 1994 și 8.800 de hectare, în 1992, suprafața medie atacată fiind de 5.100 de hectare.

În total atacul celor 20 de specii de lepidoptere a afectat în medie peste 900.000 de hectare, suprafețele anuale afectate variind între 876.100 de hectare, în 1995 și 1.041.700 de hectare, în 1992.

În primii 4 ani ai intervalului în discuție, infestarea cu lepidoptere defoliatoare și miniere a fost depistată pe circa 890.000 de hectare, suprafața diminuând ușor în următorii doi ani.

Dinamica suprafeței totale infestate a fost determinată de dinamica suprafețelor infestate cu atac de *Tortrix viridana* și speciile de *Geometridae*.

În anul de vîrf, 1992, creșterea suprafeței totale de păduri atacate, s-a datorat extinderii la peste 560.000 de hectare, a infestării cu *Tortrix viridana*, din care aproape 400.000 de hectare, au fost infestate și cu atac asociat de *Geometridae*.

În anul 1995, când s-a înregistrat cea mai mică suprafață atacată din întreg intervalul, scăderea valorilor totale a fost dată de diminuarea atacului produs de *Tortrix viridana* (cu cea mai scăzută valoare a sa) și de *Geometridae*.

Intensitatea atacului (tabelul nr. 7, tabelul nr. 8)

Acest parametru, care dă imaginea reală a efectului produs de acțiunea insectelor dăunătoare asupra arboretelor, a fost estimat la speciile de lepidoptere defoliatoare care dețin ponderea suprafețelor de păduri atacate: *Tortrix viridana*, *Geometridae*, *Lymantria dispar*, *Euproctis chrysorrhoea* și *Malacosoma neustria*.

Tabelul nr. 7

Valorile intensității atacului la principalele specii de lepidoptere defoliatoare:

Lymantria dispar (L. D.), *Tortrix viridana* (T. V.), *Geometridae* (G.)

Anul	L. d.	L. d.	L. d.	T. v.	T. v.	T. v.	G.	G.	G.
	Atac slab și foarte slab	Atac mediu	Atac puternic și foarte puternic	Atac slab și foarte slab	Atac mediu	Atac puternic și foarte puternic	Atac slab și foarte slab	Atac mediu	Atac puternic și foarte puternic
1990	77,7	7,2	15,1	74,5	16,2	9,3	95,5	2,2	2,3
1991	82,7	7,5	9,8	71,0	20,6	8,4	93,3	3,7	2,0
1992	82,4	5,4	12,2	80,4	12,3	7,3	79,0	18,1	2,9
1993	85,5	7,4	7,1	91,7	6,5	1,8	94,3	5,0	0,7
1994	84,2	5,4	10,4	94,9	4,7	0,4	93,3	5,7	1,0
1995	82,4	5,3	12,3	95,3	3,2	1,5	96,7	3,1	0,2
Media	81,7	6,9	11,4	83,6	11,2	5,2	91,8	6,8	1,4

Tabelul nr. 8

Valorile intensității atacului la *Malacosoma neustria* (M. n.)

și *Euproctis chrysorrhoea* (E. c.)

Anul	M. n.	M. n.	M. n.	E. c.	E. c.	E. c.
	Atac slab și foarte slab	Atac mediu	Atac puternic și foarte puternic	Atac slab și foarte slab	Atac mediu	Atac puternic și foarte puternic
1990	71,8	29,2	—	50,7	34,1	15,2
1991	68,3	31,7	—	69,2	7,7	23,1
1992	68,0	32,0	—	78,6	21,4	—
1993	—	15,8	84,2	77,8	22,2	—
1994	79,0	21,0	—	66,7	33,3	—
1995	100	—	—	92,9	—	7,1
Media	65,4	19,2	15,4	74,5	17,6	7,4

La fiecare specie s-au analizat comparativ suprafețele cu trei categorii ale intensității atacului: slabă și foarte slabă, mijlocie, puternică și foarte puternică.

Atacul de intensitate slabă și foarte slabă a dominat. La toate speciile s-a remarcat faptul că, cel puțin ca valoare medie, cea mai mare parte a pădurilor atacate (între 65,4% și 91,8%) au prezentat un atac slab și foarte slab.

La *Geometridae*, aproape pe întreaga suprafață (circa 92%), atacul a fost slab și foarte slab. În 5, din 6 ani luati în obiectiv, în peste 93% din suprafață s-a înregistrat un atac slab și foarte slab și doar în 1992, valoarea a scăzut puțin sub 80%, cu creșterea corespunzătoare a atacului de intensitate mare, dar mai ales mijlocie.

Și la celelalte 4 specii, ponderea cea mai mare au avut-o suprafețele cu atac slab și foarte slab. Astfel, peste 83% din cele 491.050 de hectare atacate de *Tortrix viridana*, peste 81% din cele 58.550 de hectare atacate de *Lymantria dispar*, peste 74% din cele 1.200 de hectare atacate de *Euproctis chrysorrhoea* și peste 65% din cele 1.830 de hectare atacate de *Malacosoma neustria* au prezentat un atac de intensitate slabă și foarte slabă.

Atacul de intensitate medie s-a exercitat pe suprafețe în general reduse, ce s-au situat în jur de 6% din suprafețele atacate, la *Lymantria dispar* și *Geometridae*, peste 10% la *Tortrix viridana* și între 17 și 19% la *Malacosoma neustria* și *Euproctis chrysorrhoea*.

Atacul de intensitate puternică și foarte puternică s-a manifestat pe suprafețe mici sau a fost absent în unii ani.

Lymantria dispar a făcut excepție, suprafețele cu atac puternic și foarte puternic fiind ceva mai mari (între 7,1% și 15,1%, cu o medie de 11,4%). Cea mai mare suprafață cu atac puternic și foarte puternic s-a înregistrat în 1995: peste 13.000 hectare, din totalul celor 102.900 atacate.

Chiar valoarea medie de 5,2% semnalată la specia *Tortrix viridana* este semnificativă, deoarece raportată la suprafața afectată de acest defoliator reprezintă în medie peste 23.000 de hectare.

O situație particulară a prezentat *Malacosoma neustria*, la care atacul de intensitate puternică și foarte puternică, absent în 5 din cei 6 ani de observație, s-a manifestat în 1993 pe mai mult de 84% din suprafața atacată, determinând o valoare medie ridicată (peste 15%).

CONCLUZII

Analiza suprafețelor de păduri, în care s-a manifestat atac de lepidoptere defoliatoare și miniere, în intervalul 1990 – 1996 și compararea datelor cu situația celor 5 ani anteriori evidențiază următoarele aspecte mai importante:

Principaliii defoliatori continuă să fie *Lymantria dispar*, *Tortrix viridana* și speciile de *Geometridae*.

Se constată o preferință marcată a majorității speciilor pentru *Quercus*, cele cu o largă polifagie atacând de asemenea *Populus*, *Salix*, *Tilia*, *Ulmus*, *Acer*, *Carpenus*, *Fagus*, *Betula* etc.

Speciile monofage sau oligofage, mai puțin numeroase, au atacat *Quercus*, *Fagus*, *Populus*, *Salix*, *Robinia*.

Prin suprafețele atacate se remarcă *Tortrix viridana* și speciile de *Geometridae*, al căror atac, adesea asociat, a afectat în primii 5 ani ai intervalului, peste 800.000 de hectare anual.

La majoritatea speciilor, intensitatea atacului a fost redusă, atacul slab, foarte slab și mijlociu manifestându-se pe întreaga suprafață infestată (la *Malacosoma neustria* în intervalul 1990 – 1992 și 1994–1995, la *Euproctis chrysorrhoea* în intervalul 1992 – 1994), sau pe cea mai mare parte din suprafețele atacate (peste 98% la *Geometridae*, peste 94% la *Tortrix viridana* și peste 88% la *Lymantria dispar*).

Atacul de intensitate mijlocie s-a manifestat pe suprafețe reduse la *Geometridae*, *Lymantria dispar*, ceva mai ridicate, îndeosebi în primii ani, la *Tortrix viridana* și pe suprafețe mai mari, la *Malacosoma neustria* și *Euproctis chrysorrhoea*.

Atacul de intensitate puternică și foarte puternică a prezentat o importanță deosebită în cazul speciei *L. dispar*, la care, în unii ani, a afectat 10 – 15% din suprafața atacată.

Deși mari ca pondere, suprafețele cu atac puternic și foarte puternic la *Euproctis chrysorrhoea* (15 – 23% în 1990 și 1991), dar îndeosebi la *Malacosoma neustria* (peste 84%, în 1993), raportate la suprafața totală atacată (sub 2.000 de hectare), nu sunt alarmante.

BIBLIOGRAFIE

- NETOIU C., Cercetări privind bioecologia moliei miniere a salcâmului *Parectopa robinella Clemens* 1863 (Gracilariidae), Bucovina forestieră, anul 3, 1, 90–101, 1994.
- RUȘTI D., Additional data to the checklist of Romanian Lepidoptera (Insecta: Lepidoptera), Trav. Mus. His. Nat. „Gr. Antipa”, XXXIV: 81–93, 1994.
- SIMIONESCU A., IRINA TEODORESCU, Considerații cu privire la dinamica populațiilor de *Tortrix viridana* L. și *Geometridae*, în intervalul 1976–1988, Ann. Univ. Buc., anul XXXIX, 88–94, 1990.
- IRINA TEODORESCU, SIMIONESCU A., “*Lymantria dispar* attack dynamics in Romania, between 1976–1980”, Rev. Roum. Biol. Anim., 36 (1–2): 107–113, 1991.
- IRINA TEODORESCU, SIMIONESCU A., Situația atacului defoliatorilor *Malacosoma neustria*, *Euproctis chrysorrhoea*, *Thaumetopoea processionea*, în pădurile din România (1976–1990), Stud. și Cercet. de Biol., 43 (1–2): 7–18, 1991.
- IRINA TEODORESCU, SIMIONESCU A., Dynamics of defoliating Lepidoptera attack and the control measures in Romania's deciduous forests, 1953–1990, Ambio, XXIII (4–5), 1994.

Primit în redacție
la 11 noiembrie 1996

Facultatea de Biologie,
Universitatea București,
Splaiul Independenței, nr. 91–95.

STAREA FITOSANITARĂ A PĂDURILOR DIN ROMÂNIA, ÎN INTERVALUL 1995–1996

A. SIMIONESCU, IRINA TEODORESCU

The impact of abiotic and biotic factors on Romanian forests was investigated. Attack intensity and attacked surfaces of different pest categories of defoliator species (*Lepidoptera* and *Coleoptera*), wood-boring (*Coleoptera Cerambycidae*), bark beetles (*Coleoptera Scolytidae*), fruits and seed pests (*Coleoptera* and *Lepidoptera*), sucking *Homoptera* and gall wasps (*Hymenoptera Cynipidae*) were estimated.

Circa 28% din suprafața ocupată de păduri a fost afectată în intervalul 1995–1996, de diferiți factori abiotici și biotici.

Factorii abiotici au fost reprezentați mai ales de vânt, care a dus la ruperea ramurilor, dezrădăcinarea arborilor și de temperaturile scăzute din timpul primăverii, care au afectat mugurii pe cale să se deschidă, sau din timpul toamnei, care au afectat mugurii, încă insuficient pregătiți pentru iernat.

Factorii biotici reprezentați de diferite organisme (îndeosebi insecte, paraziți vegetali, mamifere), au adus prejudicii vegetației forestiere, atacând toate organele arborilor (frunzele, mugurii florali și foliai, fructificațiile, lăstarii, ramurile, tulipa, rădăcinile) sau ale puieților, ducând la defolieri parțiale sau totale, distrugerea mugurilor, fructificațiilor, rădăcinilor, afectarea lemnului ramurilor și tulpinilor, cu întreruperea afluxului sevei și stagnarea creșterii etc.

CATEGORIILE DE INSECTE DĂUNĂTOARE DIN PĂDURILE DE FOIOASE ȘI CONIFERE

Corelat cu modul de hrănire, insectele dăunătoare pădurilor, aparțin la 6 categorii: defoliatori, xilofagi, specii sugătoare și galigene, dăunători ai fructificațiilor, dăunători de scoarță, dăunători ai puieților.

Speciile defoliatoare aparțin ordinelor *Lepidoptera*, *Coleoptera* și *Hymenoptera*.

Principalele specii de lepidoptere defoliatoare foioaselor aparțin familiilor *Tortricidae* (*Tortrix viridana* L.), *Gracillariidae* (*Parectopa robinella* Cl.) *Lymantriidae* (*Lymantria dispar* L., *Orgyia recens* Hb., syn. *O. antiqua* L.)

Arctiidae (*Hyphantria cunea* Drury), *Geometridae* (*Operophtera brumata* L., *Erannis defoliaria* Cl. *Agriopsis*, syn. *Erannis aurantiaria* Hb., *Agriopsis*, syn. *Erannis marginaria* F., *Macaria alternata* Den. et Schiff., syn. *Semiothisa alternaria* Hbn.), *Notodontidae* (*Drymonia ruficornis* Hfn., *Phalera bucephala* L., *Closteria*, syn. *Pygaera anastomosis* L.), *Lasiocampidae* (*Malacosoma neustria* L.), *Noctuidae* (*Orthosia cruda* Den. et Schiff., *O. cerasi* F. syn. *O. stabilis* Den. et Schiff.), *Nolidae* (*Earias clorana* L., *Nycteola asiatica* Krul.), *Yponomeutidae* (*Yponomeuta rorrella* Hbn.).

La rășinoase, atacul a fost produs de *Zeiraphera* (syn. *Semasia*) *rufimitrana* HS., din familia *Tortricidae*.

Coleopterele defoliatoare aparțin familiilor *Meloidae* (*Lytta vesicatoria* L.), *Scarabaeidae* (*Melolontha melolontha* L., *Polyphylla fullo* L. etc.), *Chrysomelidae* (*Haltica queretorum* Foudr., *Melasoma populi* L., *M. aenea* L., *Agelastica alni* L., *Gallerucella lineola* F., *Phyllodecta* sp., *Chlorophanus viridis* L., *Plagiodesma versicolor* Laich.), *Curculionidae* (*Orchestes fagi* L., *Stereonichus fraxini* De Geer, *Phyllobius argentatus* L., *Lepyrus palustris* Scop.).

Himenopterele defoliatoare au fost reprezentate de *Caliroa annulipes* Klug, din familia *Tenthredinidae*.

Insectele care au atacat fructificațiile au aparținut ordinelor *Lepidoptera*, încadrare în familiile *Tortricidae* (*Laspeyresia strobilella* L., *L. splendana* Hb.), *Pyralidae* (*Dyoriictria abietella* Den. et Schiff., *Etiella zinckenella* Tr.) și *Coleoptera*, din familia *Curculionidae* (*Curculio glandium* Marsh., *Lignyodes enucleator* Panz., *Bradybatus creutzeri* Germ.).

Speciile sugătoare și galigene se încadrează în ordinele *Homoptera*, *Hymenoptera* și *Diptera*.

Homopterele întâlnite mai frecvent în pădurile de foioase aparțin familiilor *Cercopidae* (*Aphrophora alni* Fall., *Phyllaphis fagi* L.), *Aphididae*, *Lecanidae* (*Parthenolecanium corni* Bche., *P. rufulum* Ckll.), *Diaspididae* (*Lepidosaphes ulmi* L.), *Pseudococcidae* (*Cryptococcus fagis* Baer), iar în cele de conifere, familiei *Adelgidae* (*Sacchiphantes abietis* Fitch., *Adelges laricis* Vallot).

Ordinul *Hymenoptera*, este reprezentat de familia *Cynipidae* (specii de *Adleria*, *Andricus*, *Neuroterus*, *Cynips* etc), iar ordinului *Diptera*, prin familia *Cecidomyiidae* (*Mikiola fagi* Hart.)

Insectele care își exercită atacul între scoarță și lemn, aparțin ordinului *Coleoptera*, familiei *Scolytidae* (*Ips typographus* L., *I. acuminatus* Eichh., *I. amitinus* Eichh., *I. sexdentatus* Boern., *Pityogenes chalcographus* L., *Pityokteines curvidens* Germ., *Cryphalus piceae* Ratz., *Blastophagus piniperda* L., *B. minor* Hart. etc., la rășinoase și *Hylesinus fraxini* Panz., *Scolytus* sp., la foioase).

Insectele xiologe identificate aparțin ordinelor *Coleoptera*, *Lepidoptera* și *Diptera*. Coleopterele xiologe care au infestat pădurile, se încadrează în

familiile *Cerambycidae* (*Cerambyx cerdo* L., *Saperda populnea* L., *S. charcharias* L.), *Curculionidae* (*Cryptorrhynchus lapathi* L.), *Ipidae* (*Xyleborus monographus* F.).

Dintre lepidopterele cu larve xiologe, au fost identificate specii de *Cossidae* (*Cossus cossus* L., *Zeuzera pyrina* L.) și *Sesiidae* (*Paranthrene tabaniformis* Rott.), iar dintre diptere, cecidomiidul *Rhabdophaga saliciperda* Duf.

La puieți, rădăcinile, tulpinile, mugurii au prezentat atac de insecte din ordinele *Coleoptera* și *Lepidoptera*. Dintre coleoptere, au fost specii din familiile *Scarabaeidae* (îndeosebi *Melolontha melolontha* L.), *Curculionidae* (*Hylobius abietis* L.), *Ipidae* (*Hylastes* sp.), iar dintre lepidoptere, din familia *Tortricidae* (*Rhyacionia buoliana* Schiff.).

SPECIILE DE FOIOASE ȘI CONIFERE ATACATE DE INSECTELE DĂUNĂTOARE

Lepidopterele defoliatoare și miniere au manifestat o preferință pentru speciile de *Quercus*, dar au infestat și *Carpenus*, *Betula*, *Ulmus*, *Tilia*, *Salix*, *Populus*, *Acer* etc. Excepție au făcut *Macaria alternata*, defoliator și *Parectopa robiniella*, minier, la *Robinia pseudacacia*, *Yponomeuta rorrella*, prezentă în arboretele de salcie, *Earias clorana*, *Nycteola asiatica*, *Orgyia recens*, *Orthosia stabilis*, întâlnite mai ales în răchitării, *Hyphantria cunea*, care a preferat *Populus*, *Acer* și *Salix*, speciile *Pygaera anastomosis* și *Phalera bucephala*, care au atacat speciile de *Populus*.

Acele de brad au fost atacate de *Zeiraphera rufimitrana*.

Coleopterele defoliatoare au atacat *Fagus* (*Orchestes fagi*), *Fraxinus* (*Stereonichus fraxini*, *Lytta vesicatoria*), speciile de *Alnus* (*Agelastica alni*, *Melasoma aenea*), *Populus* (*Melasoma populi*), răchităriile (*Gallerucella lineola*, *Phyllodecta* sp., *Chlorophanus viridis*, *Phyllobius argentatus*, *Lepyrus palustris*, *Plagiodesma versicolor*).

Insectele xiologe au afectat îndeosebi speciile de *Quercus* (*Cerambyx cerdo*), *Populus* (*Saperda populnea*, *S. charcharias*), *Salix*, *Populus* etc., (*Cossus cossus*), *Fraxinus* (*Zeuzera pyrina*), *Salix* (*Rhabdophaga saliciperda*).

Gândacii de scoarță au atacat îndeosebi molidul (*Ips typographus*, *I. amitinus* și în mai mică măsură *Pityogenes chalcographus* etc.), bradul (*Pityokteines curvidens*, *Cryphalus piceae* etc), pinul (*Blastophagus piniperda*, *B. minor*, *Ips acuminatus*, *I. sexdentatus* etc.).

La foioase, atacul a fost exercitat de *Hylesinus fraxini*, specii de *Scolytus* etc.

Insectele dăunătoare fructificațiilor au atacat ghinda de stejar (*Curculio glandium*, *Laspeyresia splendana*), conurile de molid (*Dioryctria abietella*,

Laspeyresia strobilella), fructificațiile frasinului (*Lygniodes enucleator*) și paltinului (*Bradybatus creutzeri*).

Insectele sugătoare și galigene și-au exercitat atacul la *Fagus* (*Phylaphis fagi*, frecvent în asociație cu coleopterul *Orchestes fagi*, dar și *Mikiola fagi*, *Cryptococcus fagi*), *Salix*, *Alnus* (*Aphrophora alni*), *Ulmus* (*Lepidosaphes ulmi*), *Robinia* și *Quercus* (*Parthenolecanium corni*, *P. rufulum*), diferite specii de *Quercus* (homoptere-Aphididae, himenoptere-Cynipidae), molidul (*Sacchiphantes abietis*), *Larix* (*Adelges laricis*).

Insectele dăunătoare puietilor au atacat rădăcinile (larvele de *Melolontha melolontha* la foioase și conifere, *Hylobius abietis* la răshinoase, speciile de *Hylastes* la molid) și mugurii (*Rhyacionia buoliana*, la pin).

Răchităriile au fost atacate de *Alphrophora alni*, *Cryptorrhynchus lapathi* etc., care au produs declasarea nuielor destinate impletiturilor.

DISTRIBUȚIA PE TERITORIUL ROMÂNIEI A SUPRAFETEILOR DE PĂDURI INFESTATE DE PRINCIPALELE SPECII DĂUNĂTOARE

Lepidopterele defoliatoare au preferat jumătatea de sud a țării, unele din ele întâlnindu-se numai în această zonă (tabelul nr. 1).

Tabelul nr. 1

Distribuția pe teritoriul României, a suprafețelor atacate de principalele specii de lepidoptere defoliatoare

Specie	Supraf. atacului %	Câmpia Română	Deal. subcar. Munt. și Olt.	Podiș Moldovei	Podiș Transilvaniei	Câmpia Transilvaniei	Dobrogea	Banat
<i>Tortrix viridana</i>	48,1	30,0	31,7	21,0	7,9	0,8	7,6	1,0
<i>Geometridae</i>	36,5	31,4	21,1	14,5	11,0	6,2	10,7	5,1
<i>Lymantria dispar</i>	12,7	49,2	27,8	1,5	0,9	2,6	17,6	0,4
<i>Parectopa robiniella</i>	1,5	68,2	31,8	—	—	—	—	—
<i>Drymonia ruficornis</i>	0,4	100	—	—	—	—	—	—
<i>Malacosoma neustria</i>	0,2	100	—	—	—	—	—	—
<i>Orthosia cruda</i>	0,2	100	—	—	—	—	—	—
<i>Macaria alternata</i>	0,1	100	—	—	—	—	—	—
<i>Yponomeuta rorella</i>	0,1	59	—	—	—	—	41	—
<i>Earias chlorana</i>	0,1	26,9	15,1	39,4	7,9	4,1	6,6	—
Alte specii	0,1	52,3	9,3	13,5	0,4	0,8	3,4	20,3
Media		32,2	27,0	15,6	7,9	3,0	9,9	2,4

Singurele specii prezente în toate zonele țării au fost *Tortrix viridana*, *Lymantria dispar* și geometridele, dar peste 50% din suprafața pădurilor infestate de ele s-a aflat în Oltenia și Muntenia. În cazul lui *Lymantria dispar*, aproape 80% din suprafață atacată a fost situată în această zonă.

Tortrix viridana a infestat pădurile din Filialele Silvice Târgoviște, Drobeta Turnu-Severin, Târgu-Jiu, Craiova, Giurgiu (Oltenia și Muntenia) Focșani, Bacău, Botoșani, Iași, Vaslui (Moldova), Brașov, Alba-Iulia (Transilvania), Tulcea, Constanța (Dobrogea), Arad, Timișoara (Banat), Satu-Mare, Oradea (Vestul Transilvaniei). Deoarece efectivele dăunătorului se mențin la nivele scăzute, sub pragul de dăunare, prognoza pentru 1997 este favorabilă.

La *Geometridae*, au fost atacate suprafețe mai mari în Filialele Pitești, Târgoviște, Ploiești, Botoșani, Bacău, Târgu-Mureș, Brașov, Alba-Iulia, Oradea, Satu-Mare, Tulcea, Constanța, Arad, Reșița, Timișoara și mai puțin Craiova, Slatina, Drobeta Turnu-Severin, Iași, Vaslui. Atacul geometridelor pare să se mențină la același nivel și în 1997.

Lymantria dispar, care și-a extins și intensificat atacul, comparativ cu anul precedent, s-a manifestat mai ales în Oltenia (Filialele Craiova, Slatina, Târgu-Jiu, Râmnicu-Vâlcea) și în mai mică măsură în Filialele Giurgiu, Alexandria, București, Tulcea etc. Suprafețele atacate au fost mai reduse în Delta Dunării, vestul Transilvaniei și Banat (Timișoara).

În unele păduri puternic atacate de *Lymantria dispar*, *Tortrix viridana* și alte specii, pentru evitarea defolierilor s-a recurs la combatere, cu preparatul biologic Dipel, insecticidul Dimilin (selectiv pentru vertebrate) și mai puțin cu substanțe chimice (Decis, Sumi-Alfa etc.).

O nouă gradație a defoliatorului *Lymantria dispar* este în desfășurare.

Speciile *Drymonia ruficornis*, *Malacosoma neustria*, *Orthosia cruda*, *Macaria alternata* și-au exercitat atacul exclusiv în Câmpia Română.

Malacosoma neustria a fost prezentă în Filialele Giurgiu (1557 de hectare în pădurea din cer și gârniță, Nebuna, din Ocolul Ghimpăți), Călărași, Slatina, Alexandria.

Orthosia cruda a fost semnalată în Filiala Giurgiu (pădurea de gârniță și cer Letca-Mereni, din Ocolul Silvic Ghimpăți).

Drymonia ruficornis se menține în pădurile din cadrul Filialei Craiova (Ocoalele Silvice Perișor, Segarcea, Craiova), Alexandria (pădurea Cucuieti, din Ocolul Silvic Roșiorii de Vede).

Parectopa robiniella a atacat pădurile de salcâm din Filialele Craiova (Ocoalele Silvice Poiana-Mare, Calafat), Buzău (pădurea Rușetu) și Slobozia (pădurea Groasa, din Ocolul Silvic Urziceni).

Infestarea pădurilor de salcâm cu *Macaria alternata* a fost depistată în Filialele Slobozia (pădurea Groasa) și Brăila (Ocolul Silvic Ianca).

Yponomeuta rorrella a infestat arboretele de salcie din Câmpia Română (Filiala Slatina) și Dobrogea (Filialele Brăila și Silvodelta Tulcea).

Earias clorana a fost prezentă în răchităriile din majoritatea ocoalelor silvice cultivate de răchită, cu cele mai mari suprafețe infestate în Oltenia, Muntenia (42%) și Podișul Moldovei (circa 40%); atacul a lipsit doar în Banat.

În pădurile din Banat, cele mai puțin atacate, pe lângă *Tortrix*, *Lymantria* și *Geometridae* au mai fost semnalate dispersat și cu intensitate scăzută, infestați ale altor specii, care nu creiază probleme din punct de vedere economic.

Zeiraphera rufimitrana, a prezentat o infestare foarte slabă, în pădurile de brad din Filialele Buzău, Miercurea-Ciuc, Focșani.

Atacul de *Orchestes fagi* a fost semnalat în pădurile de fag, din Filialele Târgu-Mureș, Piatra-Neamț, Bistrița, Buzău, Brașov, Miercurea-Ciuc etc.

Stereonichus fraxini și *Lytta vesicatoria* au atacat culturile, arboretele tinere de frasin și frasinul din pădurile de amestec, din Filialele Alexandria, Slobozia, Giurgiu, Drobeta Turnu-Severin, Pitești, Ploiești, Arad etc. În unele zone cu atac puternic și foarte puternic s-a apelat la combatere chimică, folosindu-se insecticidul Decis.

În aminișurile situate în lungul văilor, din Filialele Suceava, Piatra Neamț etc. s-a semnalat atacul asociat al crizomelidelor *Agelastica alni* și *Melasoma aenea*.

La plop, atacul de *Melasomea populi* a fost depistat mai ales în Filialele Călărași (în plantațiile de plopi din Lunca Dunării), Slatina, Craiova, Iași.

PONDEREA SUPRAFEȚELOR DE PĂDURI AFFECTATE DE FACTORI ABIOTICI ȘI BIOTICI

Factorii abiotici și-au exercitat acțiunea negativă asupra unor păduri a căror suprafață însumată reprezintă doar 15% din total.

Factorii biotici au afectat 85% din totalul suprafeței de păduri atacate. Dintre aceștia, cele mai mari suprafețe au fost infestate de insecte și în măsură mult mai mică de paraziți vegetali și mamifere rozătoare (tabelul nr. 2).

Dintre insecte, cele mai importante au fost lepidopterele defoliatoare, prezente pe aproape 70% din suprafață infestată, dăunătorii ce atacă între scoarță și lemn și coleopterele defoliatoare. Celelalte categorii de insecte dăunătoare au afectat între 0,6 și 2,5 % din întreaga suprafață a pădurilor atacate (tabelul nr. 3).

În suprafețele atacate de lepidopterele defoliatoare au dominat cele infestate de *Tortrix viridana*, *Geometridae* și *Lymantria dispar* (adesea cu un atac asociat, îndeosebi al primelor două). Celelalte specii au afectat suprafețe reduse, cuprinse între 0,1 și 1,5% la foioase și 0,8% la conifere (tabelul nr. 4).

Tabelul nr. 2

Ponderea suprafeței atacate și intensitatea atacului dăunătorilor forestieri în intervalul 1995–1996

Nr. crt.	Dăunători	Ponderea suprafeței atacate	Intensitate slabă și foarte slabă	Intensitate medie	Intensitate puternică și foarte puternică
1	Biotici	85	81	12	7
	Insecte	78	83	10	7
	Paraziți vegetali	6	55	43	2
	Mamifere rozătoare	1	84	13	3
2	Abiotici	15	54	28	18
	Media		79	13	8

Tabelul nr. 3

Ponderea suprafeței atacate și intensitatea atacului insectelor dăunătoare

Nr. crt.	Dăunători	Ponderea suprafeței atacate	Intensitate slabă și foarte slabă	Intensitate medie	Intensitate puternică și foarte puternică
1	Lepidoptere defoliatoare	68	87	6	7
2	Coleoptere defoliatoare	8,6	91	5	4
3	Insecte xilofage	1,5	37	41	22
4	Insecte de scoarță	17,6	77	15	8
5	Dăunătorii fructificațiilor	2,5	16	62	22
6	Insecte sugătoare și galigene	1,2	76	22	2
7	Insecte dăunătoare puieșilor	0,6	77	16	7
	Media		83	10	7

În atacul coleopterelor defoliatoare, ponderea cea mai mare au avut-o *Orchestes fagi* (peste 80%), *Stereonichus fraxini*, *Haltica quercretorum*, speciile de *Melolontha* (tabelul nr. 5).

Dintre pădurile afectate de insecte xilofage, cele mai multe au prezentat atac de coleoptere (circa 96%) și dintre acestea, îndeosebi de *Cerambyx cerdo* (67,6%). Suprafețe semnificative de păduri (10–12%) au fost infestate de asemenea de *Trypodendron lineatum* și *Cryptorrhynchus lapathi* (tabelul nr. 5).

Lepidopterele cu larve xilofage au infestat peste 3% din suprafața pădurilor afectate de această categorie de dăunători (cel mai important fiind *Paranthrene tabaniformis*), iar dipterele, restul de 1%.

Gândaciile de scoarță (coleoptere *Scolytidae*) au atacat îndeosebi conifere (99% din suprafețele atacate) și foarte puțin, foioasele. Specia cea mai afec-

Tabelul nr. 4

Ponderea suprafeței atacate și intensitatea atacului principalelor specii de lepidoptere defoliatoare

Nr. crt.	Specia	Ponderea suprafeței atacate	Intensitate slabă și foarte slabă	Intensitate medie	Intensitate puternică și foarte puternică
A Foioase					
1	<i>Tortrix viridana</i>	47,7	86	8	6
2	<i>Geometridae</i>	36,2	95	3	2
3	<i>Lymantria dispar</i>	12,6	71	8	21
4	<i>Parectopa robiniella</i>	1,5	34	34	32
5	<i>Drymonia ruficornis</i>	0,4	100	—	—
6	<i>Malacosoma neustria</i>	0,2	82	—	18
7	<i>Orthosia cruda</i>	0,2	100	—	—
8	<i>Macaria alternata</i>	0,1	93	7	—
9	<i>Yponomeuta orrella</i>	0,1	72	23	5
10	<i>Earias clorana</i>	0,1	86	16	—
11	Alte specii	0,1	100	—	—
	Media	99,2	87	6	7
B Conifere					
1	<i>Zeiraphera rufimitrana</i>	0,8	100	—	—
	Media (foioase și conifere)		87	6	7

Tabelul nr. 5

Ponderea suprafețelor atacate și intensitatea atacului speciilor de coleoptere defoliatoare

Nr. crt.	Specia	Ponderea suprafeței atacate	Intensitate slabă și foarte slabă	Intensitate medie	Intensitate puternică și foarte puternică
1	<i>Orchestes fagi</i>	81,4	100	—	—
2	<i>Stereonychus fraxini</i>	7,3	41	17	42
3	<i>Haltica quercetorum</i>	4,4	68	29	3
4	<i>Melolontha</i> sp.	2,3	32	65	3
5	<i>Melasoma populi</i>	1,4	87	13	—
6	<i>Lytta vesicatoria</i>	1,3	64	17	19
7	<i>Agelastica alni</i>	0,5	10	8	82
8	<i>Galerucella lineola</i>	0,4	69	31	—
9	<i>Phyllococta</i> sp.	0,2	86	14	—
10	<i>Chlorophanus viridis</i>	0,2	69	31	—
11	<i>Phyllobius argentatus</i>	0,2	78	22	—
12	<i>Lepyrus palustris</i>	0,2	72	28	—
13	<i>Plagiodesma versicolor</i>	0,1	100	—	—
14	Alte specii	0,1	100	—	—
	Media		91,3	4,7	4,0

tată a fost molidul (peste 94%), la care s-a exercitat un atac asociat, dominat de *Ips typographus* (80%).

În pădurile în care s-a înregistrat **atac la fructificațiile arborilor**, domineante au fost atacurile de *Curculio glandium* (peste 50% din suprafața afectată) și *Dioryctria abietella*.

Dintre pădurile atacate de insecte sugătoare și galigene, cele mai mari suprafețe au fost afectate de *Phyllaphis fagi* (63,1%), *Aphrophora alni* (14,2%), *Parthenolecanium corni*, *P. rufulum* (7,3%), *Mikiola fagi* (5,3%), *Sacchiphantes abietis* (4,1%), *Aphididae* (2,3%).

La puieți, ponderea cea mai mare a avut-o atacul produs de *Hylobius abietis* (59,7%) și larvele de *Scarabaeidae* (29,7%).

INTENSITATEA ACȚIUNII NEGATIVE A FACTORILOR ABIOTICI ȘI BIOTICI (tabelul nr. 2; tabelul nr. 5)

Atacul de intensitate slabă și foarte slabă. Spre deosebire de factorii abiotici care s-au manifestat cu intensitate slabă și foarte slabă, doar pe circa 50% din suprafața afectată, cei biotici au prezentat un atac de asemenea intensitate, în medie pe 81% din suprafața infestată. Dacă în cazul insectelor și mameferelor rozătoare, suprafețele cu atac slab și foarte slab, s-au situat în jurul mediei, la paraziții vegetali, valoarea a fost mai scăzută.

La lepidopterele defoliatoare, atacul de intensitate slabă și foarte slabă, a fost preponderent la toate speciile, cu excepția speciei *Parectopa robiniella*, la care numai pe o treime din suprafața infestată, atacul a fost de o asemenea intensitate. În cazul speciilor *Drymonia ruficornis*, *Orthosia cruda*, *O. stabilis*, *Orgya recens*, *Pygaera anastomosis*, *Phalera bucephala*, *Zeiraphera rufimitrana*, pe întreaga suprafață infestată s-a manifestat un atac de intensitate scăzută.

La speciile de coleoptere, care dețin ponderea mare a suprafețelor de păduri afectate (*Tortrix viridana*, *Geometridae*, *Lymantria dispar*), peste 70% din suprafața infestată, iar la *Geometridae* aproape întreaga suprafață a prezentat un atac de intensitate slabă și foarte slabă.

Ca valoare medie, suprafețele de păduri cu atac slab și foarte slab, de lepidoptere defoliatoare, au reprezentat 87%.

La coleopterele defoliatoare, atacul de intensitate slabă și foarte slabă s-a manifestat predominant, la majoritatea speciilor, suprafețele cu atac de intensitate scăzută depășind 60%.

La *Plagiodesma versicolor* suprafețele cu atac slab și foarte slab au fost de peste 90%, iar la *Orchestes fagi* au reprezentat întreaga suprafață infestată.

O situație specială s-a întâlnit la *Agelastica alni*, unde doar 10% din suprafața afectată a înregistrat un atac slab și foarte slab. Suprafețe ceva mai reduse cu atac de asemenea intensitate s-au înregistrat de asemenea la *Stereonichus fraxini* și la speciile de *Melolontha*.

Suprafața medie cu atac slab și foarte slab de coleoptere defoliatoare a depășit 90%.

Atacul de intensitate medie. Ponderea suprafețelor de păduri afectate de vânt și temperaturi scăzute a fost relativ mai ridicată decât în cazul factorilor biotici (ca valoare medie), însemnatatea reală a acțiunii negative de intensitate medie, fiind dată de mărimea suprafețelor atacate.

În cazul paraziților vegetali, ponderea suprafețelor cu atac de intensitate medie a fost ridicată (peste 40%).

Ca pondere, cea mai mică valoare a fost înregistrată în cazul insectelor (10%).

La lepidopterele defoliatoare, atacul de intensitate medie, absent la unele specii, a cuprins peste o treime din suprafața afectată, la *Parectopa robiniella* și peste 20% la *Yponomeuta rorrella*.

Ca valoare medie, a fost redusă suprafața pădurilor cu atac de intensitate medie produs de lepidoptere defoliatoare (6%).

La coleopterele defoliatoare, atacul de intensitate medie, prezent la majoritatea speciilor s-a manifestat pe suprafețe relativ ridicate la *Gallerucella lineola*, *Chlorophanus viridis*, *Haltica quercetorum*, *Lepyrus palustris*, fiind dominant la *Melolontha*, unde a cuprins 68% din suprafața atacată.

Suprafața medie cu atac de asemenea intensitate a fost redusă în cazul coleopterelor defoliatoare (sub 5%).

Atacul de intensitate puternică și foarte puternică. Ponderea suprafețelor de păduri pe care acțiunea factorilor abiotici a avut intensitate puternică și foarte puternică a fost mai mare decât cea a factorilor biotici (îndeosebi la paraziții vegetali și mamiferele rozătoare).

Dintre lepidopterele defoliatoare, atacul de asemenea intensitate, a prezentat importanță deosebită la *Lymantria dispar*, care prin valoarea absolută a suprafeței cu atac de asemenea intensitate, rămâne dăunătorul numărul unu al pădurilor de cvercine.

Valurile aparent scăzute ale suprafețelor de păduri puternic atacate de *Tortrix viridana* și *Geometridae*, capătă importanță prin corecta raportare la suprafețele mari infestate de acești defoliatori.

Ponderea aparent mare a atacului puternic și foarte puternic produs de *Parectopa robiniella* și *Malacosoma neustria*, nu este mare ca valoare reală, datorită suprafețelor totale, mici, infestate de acești defoliatori (0,2–1,5%).

Suprafața medie, atacată puternic și foarte puternic de lepidopterele defoliatoare a fost mică (7%).

La coleopterele defoliatoare, atacul de intensitate puternică și foarte puternică, absent la cele mai multe specii, a fost dominant la *Agelastica alni* și *Melasoma aenea* (peste 80% din suprafețele infestate). Prezintă de asemenea importanță *Stereonichus fraxini*, la care peste 40% din pădurile infestate au avut un atac puternic și foarte puternic.

Ca valoare medie, suprafețele cu atac puternic și foarte puternic au avut pondere redusă și în cazul coleopterelor defoliatoare (4%).

CONCLUZII

Pădurile sunt expuse atât acțiunii defavorabile a factorilor abiotici, îndeosebi vântului și temperaturilor scăzute din timpul primăverii și toamnei, cât și atacului exercitat de factorii biotici (insecte, paraziți vegetali, mamifere).

Cele mai mari suprafețe de păduri, afectate îndeosebi de factorii biotici, au fost situate în jumătatea de sud a țării, care oferă condiții bune de dezvoltare, mai ales pentru insectele dăunătoare.

Cea mai mare importanță o au insectele, prin numărul de specii, afectarea tuturor organelor arborilor, intensitatea atacului, suprafețele infestate.

Principalele grupe de insecte dăunătoare pădurilor au fost: lepidopterele și coleopterele defoliatoare, speciile xilofage, dăunătorii de scoarță, speciile sugătoare și galigene, speciile care atacă fructificațiile, dăunătorii puieților.

Speciile de foioase au fost afectate de un număr mai mare de dăunători și pe suprafețe mai extinse, comparativ cu cele de conifere.

Dintre foioase, cele mai atacate au fost speciile de *Quercus*, *Salix*, iar dintre conifere, molidul.

Prin suprafețele pe care își exercită atacul, dar și prin efectul atacului lor asupra arborilor, cea mai mare importanță au avut-o lepidopterele defoliatoare și îndeosebi *Lymantria dispar*, care pare să-și sporească efectivele, declanșând o nouă gradăție.

Intensitatea atacului a fost în general slabă și foarte slabă, la diferitele grupe de dăunători, cu excepția celor xilofagi și care au afectat fructificațiile.

Atacul de intensitate puternică și foarte puternică a avut o pondere mare în suprafețele atacate de *Agelastica alni*, *Stereonichus fraxini*, *Parectopa robiniella*, dar, prin suprafața reală a pădurilor atacate, o importanță deosebită a avut în cazul defoliatorului *Lymantria dispar*.

Acțiuni de combatere, cu preparate biologice, inhibitori ai sintezei chitinei, insecticide chimice, au fost întreprinse în pădurile atacate în principal de *Lymantria dispar*, *Tortrix viriciana* și *Stereonichus fraxin*, pentru evitarea pierderilor economice.

BIBLIOGRAFIE

I. SIMIONESCU A. și colab., Starea fitosanitară a pădurilor din România, în perioada 1976–1985, Edit. intermedia, București, 1992.

Primit în redacție
la 11 noiembrie 1996

Facultatea de Biologie,
Universitatea București,
Splaiul Independenței, nr. 91–95.

CARACTERIZAREA CELULARĂ ȘI MOLECULARĂ A VITELOGENEZEI LA VERTEBRATELE INFERIOARE (PEȘTI ȘI AMFIBIENI)

OTILIA ZĂRNESCU

Vitellogenin is the precursor to yolk proteins of oviparous animals and contributes vitally to egg quality and reproductive success. In the vertebrate system estradiol produced by the follicle cells in the ovary induces vitellogenin gene transcription and translation by liver cells.

Vitellogenin is a phospholipoglycoprotein transported by the blood stream and specifically taken up by growing oocytes. The backbone of the vitellogenin molecule is a protein chain of substantial size (molecular weight 250.000–600.000). It also carries copious amounts of lipid material, carbohydrate components, phosphate groups and mineral salts.

Following highly selective uptake into the oocyte, the transport molecule, vitellogenin is broken up and accumulated as egg-specific yolk constituents such as phosvitin and lipovitelin.

In this review I discuss the molecular biology, biochemistry and functions of vitellogenin.

Vitelusul reprezintă rezerva internă majoră în embriogeneza majorității vertebratelor inferioare. El este utilizat în momentul formării țesuturilor și asigură supraviețuirea embrionului până când acesta este capabil să se hrănească singur.

Diferențierea ovocitului la vertebratele inferioare are loc în perioada când acesta este blocat în profaza meiozei I. Principalul eveniment responsabil de creșterea enormă a ovocitului este reprezentat de preluarea unei proteine plasmatice denumită vitelogenină (VTG) care este internalizată de ovocitul în creștere printr-o endocitoză mediată de receptor, procesată parțial într-un compartiment endozomal și apoi stocată în organite specializate denumite granule viteline la pești sau placete viteline la amfibieni. Acumularea vitelusului implică o succesiune de evenimente cunoscute sub denumirea colectivă de vitelogenează.

La pești și amfibieni, VTG este o glicofosfolipoproteină sintetizată în ficat sub influența estradiolului (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). La peștii teleosteeni sinteza VTG are loc în două etape. În prima etapă, gonadotropina hipofizară induce sinteza de 17β estradiol (8, 9, 10) care stimulează în cea de-a două etapă sinteza VTG în ficat și eliberarea ei în sânge (6, 11, 12, 13). Estradiolul este produs de celulele foliculare din jurul ovocitelor. La pești, spre deosebire de amfibieni sinteza

VTG poate fi indusă și de alți steroizi. La *Carassius auratus* (14) și *Gobius niger* (15, 16) androgenii administrați în doze farmacologice sunt capabili să mimeze acțiunea estrogenilor. Au fost sugerate două mecanisme posibile ale inducerii sintezei VTG de către androgeni (17): (1) androgenii sunt convertiți în estrogeni care în schimb stimulează vitelogeneza, (2) androgenii acționează direct asupra procesului inductor sub forma unui agonist estrogenic pe o cale dependentă de receptorul pentru estrogeni.

Sintesa VTG în ficat este un proces complex care implică mai multe etape (18):

1. NUCLEU

a) Activarea genei VTG prin legarea hormon-receptor la nivelul unor secvențe specifice de ADN. Secvența completă a genei VTG a fost elucidată numai la trei specii de vertebrate inferioare: *Ichthyomyzon unicuspis* (19), *Fundulus heteroclitus* (20) și *O. mykiss* (82). La *Xenopus laevis* s-au identificat patru gene VTG grupate în două familii (21). La pești numărul de gene VTG este necunoscut.

- b) Transcrierea genei.
- c) Procesarea transcriptului primar.
- d) Translocarea în citoplasmă.

2. RETICULUL ENDOPLASMATIC RUGOS (REG)

a) Traducerea ARNm VTG.
 b) Procesarea subunităților.
 c) Fosforilarea resturilor de serină. S-au identificat la *F. heteroclitus* (20) situri fosforilate de următoarele kinaze: 7 pentru protein kinaze dependente de AMP_C și GMP_C; 39 pentru cazein kinaza II și un situs pentru o tirozin kinază. (Fig. 1).

La *Xenopus laevis* fosforilarea are loc numai în REG și REN (18).

d) Lipidizare — situsul celular exact al atașării necovalente a lipidelor este încă controversat.

e) Translocarea la REN.

3. RETICULUL ENDOPLASMATIC NETED (REN)

- a) Fosforilare suplimentară pe resturile de serină.
- b) Translocarea la aparatul Golgi.

4. APARATUL GOLGI (AG)

a) Glicozilare. La *Fundulus heteroclitus* (20) au fost identificate 16 situri potențiale de glicozilare (fig. 1). Sunt adăugate resturi de manoză, NAc glucozamină, acid sialic.

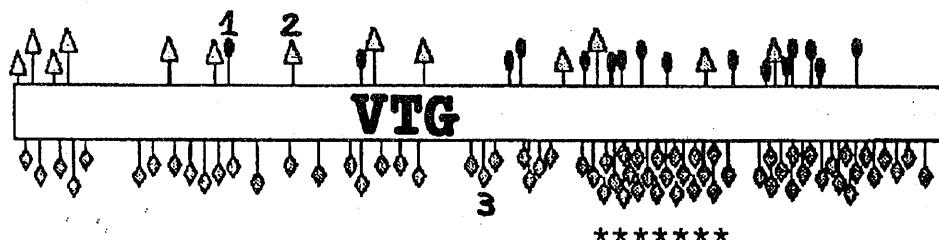


Fig. 1 — Reprezentarea schematică a siturilor implicate în modificările post translational ale vitelogeninei la *F. heteroclitus*. 1 — situs de N-glicozilare; 2 — situs de N-miristilare; 3 — situs de fosforilare; * — domeniul poliserinic (20).

- b) Lipidizare.
- c) Îndepărțarea peptidei semnal.
- d) Dimerizare.
- e) Fosforilarea resturilor de serină. La păsări VTG este fosforilată în AG după care este secretată rapid din hepatocit.
- f) Eliberarea în sânge.

Vitelogenina este prezentă în serumul femeilor și masculilor maturi nefratați hormonal precum și a femeilor și masculilor imaturi (1, 22, 23, 24). La toate vertebratele inferioare, în structura vitelogeninei au fost identificate trei domenii comune: un domeniu N-terminal (lipovitelin-1) un domeniu central (fosvitin) și un domeniu C-terminal (lipovitelin-2) (25).

La majoritatea speciilor VTG circulă în sânge sub formă unui dimer cu o masă moleculară cuprinsă între 130 kDa la *Triturus vulgaris* (26) și 630 kDa la *Cyclopterus lampus* (27). Marea varietate de greutăți moleculare descrise pentru VTG este în mare parte o consecință a metodologiei folosite (tabelul nr. 1). La unele specii monomerul VTG conține o singură polipeptidă a cărei greutate moleculară variază în funcție de specie în timp ce la altele (*Carassius auratus*) monomerul VTG este heterogen și format din cel puțin trei polipeptide cu greutăți moleculare cuprinse între 147–140 kDa (28).

Un aspect interesant este acela că în ceea ce privește greutatea moleculară și numărul subunităților există o mare variabilitate între familiile aceluiași gen. În schimb, în cadrul aceleiași familii VTG este foarte conservată (29). De exemplu, unele caracteristici imunologice și biochimice precum și structura subunităților și a proteinelor viteline sunt identice la 14 specii de salmonide (30).

Analiza secvenței de aminoacizi a VTG a demonstrat că există asemănări între diferențele speciei de pești și amfibieni.

Tabelul nr. 1

Masa moleculară a VTG la diferite specii de vertebrate inferioare

	Specia	Masa molecu-lară (kDa)	Masa molecu-lară subunități (kDa)	Metode folosite pentru izolarea VTG	Autori
P E S T I O S O S I	<i>Raja erinacea</i>	205	—	Precipitare selectivă (MgCl ₂ /EDTA)	(95)
	<i>Acipenser transmontanus</i>	400	180 120		(96)
	<i>Salmo salar</i>	495	—	Filtrare gel	(22)
		535	—	SDS-PAGE	(97)
	<i>Salmo trutta</i>	440	—	Filtrare gel	(35)
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	600	—	Filtrare gel	(98)
		470	—	SDS-PAGE	(81)
		550	—	Filtrare gel	(99)
	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	390	—	Filtrare gel	(80)
		540	—	Filtrare gel	(30)
	<i>Anguilla japonica</i>	350	85	Filtrare gel/ SDS-PAGE	(45)
		292		PAGE-nativă	(47)
	<i>Fundulus heteroclitus</i>		200	SDS-PAGE	(100)
	<i>Carassius auratus</i>	326	140–156	SDS-PAGE	(14)
		380	140–147	SDS-PAGE	(28)
	<i>Cyprinus carpio</i>	326	—	SDS-PAGE	(14)
		300	—	SDS-PAGE	(101)
	<i>Heteropneustes fossilis</i>	550	—	Filtrare gel	(102)
	<i>Oryzias latipes</i>	420	—	Filtrare gel	(103)
	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	640		SDS-PAGE	(104)
	<i>Gadus morhua</i>	400	—	Filtrare gel	(105)
		485,2		Filtrare gel, ultrafiltrare, cromatografie pe DEAE Sephadex	(27)

Tabelul nr. 1 (continuare)

	Specia	Masa molecu-lară (kDa)	Masa Moleculară subunități (kDa)	Metode folosite pentru izolarea VTG	Autori
	<i>Macrozoarces americanus</i>	577,8	—	Filtrare gel, ultrafiltrare, cromatografie pe DEAE Sephadex	(27)
	<i>Cyclopterus lumpus</i>	630,5	—	Filtrare gel, ultrafiltrare, cromatografie pe DEAE Sephadex	(27)
	<i>Cynoscion nebulosus</i>	220	—	Filtrare gel	(106)
A M F I B I E N I	<i>Oreochromis niloticus</i>	300	—	Cromatografie pe DEAE Sephadex	(54)
		500	—	SDS-PAGE	(107)
	<i>Scophthalmus maximus</i>	530	185	Cromatografie pe schimbători de ioni	(37)
	<i>Platichthys flesus</i>	550		Filtrare gel	(108)
	<i>Verasper moseri</i>	520		Filtrare gel	(77)
	<i>Oreochromis aureus</i>	300		Filtrare gel, ultracentrifugare, precipitatie selectivă	(109)
	<i>Ictalurus punctatus</i>		150	Precipitatie selectivă cu N–N dimetilformamida	(24)
	<i>Morone saxatilis</i>		170	Cromatografie pe schimbători de ioni DEAE-agaroză	(110)
	<i>Oreochromis mossambicus</i>		200	Cromatografie DEAE agaroză	(111)
<i>Xenopus laevis</i>	420 460	220	SDS-PAGE SDS-PAGE	(112) (58)	
<i>Rana esculenta</i>		125	SDS-PAGE	(26)	
<i>Rana temporaria</i>	406		SDS-PAGE	(98)	
<i>Triturus vulgaris</i>		130	SDS-PAGE	(26)	
<i>Triturus carnifex</i>	460	—	SDS-PAGE	(98)	

Tabelul nr. 2

Compoziția chimică a VTG la diferite specii de vertebrate inferioare

Specie	Proteine %	Lipide totale %	Triacilgliceroli %	Fosfolipide %	Colesterol total %	Colesterol liber %	Carbohidrat %	Autori
<i>Anguilla japonica</i>	86	13	2,2	9,4	1,4	1,39	1	(47)
<i>Onchorhynchus mykiss</i>	83	17,6	4	11	2	ND	ND	(35) (37)
<i>Salmo trutta</i>	81	19	2,7	13,9	2	ND	ND	(35)
<i>Verasper moseri</i>		18,7	3	11,8	2,9			
<i>Gadus morhua</i>	ND	21,34	ND	ND	ND	ND	ND	(27)
		18,1	ND	ND	ND	ND	ND	(37)
<i>Macrozoarces americanus</i>	ND	17,92	ND	ND	ND	ND	ND	(27)
<i>Cyclopterus lumpus</i>	ND	21,18	ND	ND	ND	ND	ND	(27)
<i>Scophthalmus maximus</i>	ND	15,8	ND	ND	ND	ND	ND	(37)
<i>Anarhichas lupus</i>	ND	16,8	ND	ND	ND	ND	ND	(37)
<i>Carassius auratus</i>	ND	20	ND	ND	ND	ND	ND	
	ND	21	ND	ND	ND	ND	ND	
<i>Xenopus laevis</i>	87	12,3	3	10	ND	ND	0,7	

ND = nedeterminat

S-a sugerat că VTG de la carasul auriu conține mai mulți aminoacizi neutră decât cea de la *Xenopus laevis*, acest aspect fiind considerat a sta la baza divergenței evolutive dintre peștii osoși și tetrapode (28). Una dintre caracteristicile VTG la teleosteeni este conținutul mare de alanină comparativ cu vitelogenina de la *Xenopus laevis* (31). În schimb conținutul de serină este mai scăzut decât la amfibieni. Conținutul scăzut de serină este corelat cu cantitatea redusă de fosfor din vitelogenina teleosteenilor (28).

VTG este considerată o VHDL (lipoproteină de foarte înaltă densitate — Very High Density Plasma Lipoprotein) cu un conținut lipidic diferit în funcție de specie (tabelul nr. 2). La majoritatea speciilor vitelogenina este caracterizată printr-un conținut mare de fosfolipide ce reprezintă 70–90% din totalul lipidelor (32, 33, 34, 35). Analiza compoziției în acizi grași ai lipidelor din vitelogenina diferitelor specii de teleosteeni (*Gadus morhua*, *Scophthalmus maximus*, *Onchorhynchus mykiss* și *Anarhichas lupus*) a evidențiat preponderența a 9 acizi grași polinesaturați (89–91% din total) în special 20:5 (n-3) și 22:6 (n-3) (36, 37). În cazul amfibienilor acizii grași sunt mai scurți și mai puțin nesaturați

(n-6). Vitelogenina speciilor marine conține o concentrație relativ mare de acizi grași nesaturați cu catenă lungă.

VTG este înrudită molecular cu apolipoproteina B-100 (apo B-100) ceea ce a condus la presupunerea că ea poate sta la originea acestor lipoproteine (38). Apo B este un component al familiilor de lipoproteine de densitate foarte scăzută, intermediaрă și scăzută (VLDL, IDL și LDL) ce funcționează ca transportori ai colesterolului și a triacilglicerolilor precum și în îndepărтarea LDL-ului din plasmă (38, 39). Faptul că lipoproteine și apolipoproteine, comparabile cu cele umane sunt prezente chiar la peștii primitivi (40) sugerează că divergența ce a condus la apariția VTG și a lipoproteinelor a avut loc la începutul sau înaintea evoluției vertebratelor. Aceste relații ale familiei de gene VTG cu proteinele mamaliene a condus și la ipoteza că vitelogenina vertebratelor poate avea funcții încă nedescoperite, ca de exemplu transportor al unor molecule apolare sau enzime (29).

S-a evidențiat că fosfolipidele din VTG transportă în ovocit substanțe — acizi grași esențiali polinesaturați (33, 36), tiroxină (T4) și triiodotironină (T3) (42), anumiți ioni — zinc (43), calciu, magneziu (44), fier (45), și factori inducatori mezodermali de tipul activinei și follistatinului (proteină ce leagă activina) (46).

La *Xenopus laevis* atomii de zinc sunt asociati cu domeniul lipovitelin în timp ce calciul și magneziul sunt prezentați în regiunea ce va forma fosvitinul (tabelul nr. 3).

Tabelul nr. 3

Conținutul în metale al VTG, lipovitelin și fosvitin la *Xenopus laevis* (113)

METAL	VTG mol/220 kDa	LIPOVITELIN mol/141 kDa	FOSVITIN mol/30 kDa
ZINC	1,2	1,06	0,20
CALCIU	1,50	—	2,10
MAGNEZIU	0,15	0,10	3
MANGAN	0,06	—	0,05
FIER	0,15	0,10	0,50
CUPRU	0,09	0,03	—

Majoritatea fosfolipidelor stocate în ovocit prin intermediul VTG sunt esențiale pentru sinteza de biomembrane și producerea de energie în embrion (47).

La *Anguilla japonica* (48) VTG prezintă în formă latentă activitate proteazică similară cu cea identificată în vitelogenina de crustacei (49). Deși nu se cunoaște semnificația acestei activități proteazice ea a fost pusă în evidență și în alte proteine. Fibronectina conține o secvență cu activitate proteazică ce este exprimată după digestia cu catepsina D (50, 51).

Prin injectarea *in vivo* a diferiților trăsori au fost identificate două căi prin care macromoleculele părăsesc vasele de sânge la nivelul ovarului (52, 53, 54). O cale celulară ce implică traversarea celulelor endoteliale și o cale acelulară directă prin canalele existente între celule.

După ce părăsesc capilarele, moleculele se distribuie printre celulele țesutului conjunctiv și fibrele de colagen ale tecii interne, după care în drumul lor către epitelul folicular trec prin lamina bazală ce acoperă acest epiteliu. Deși există unele dovezi ce susțin că celulele foliculare pot internaliza VTG prin pinocitoză, marea majoritate a acestor molecule traversează epitelul folicular difuzând prin canalele existente între celule (53, 54). În final, macromoleculele traversează anvelopa vitelină pentru a ajunge la suprafața ovocitului unde sunt internalizate printr-o endocitoză mediată de receptor.

Studiile recente au evidențiat existența receptorului VTG la diferite specii de pești, *O. mykiss* (52, 53, 54), *O. niloticus* (55), *O. nerka* (56), la amfibieni ca *X. laevis* (57) și la păsări (58).

La pești, afinitatea receptorului pentru VTG și numărul maxim de situri de legare se modifică în cursul dezvoltării foliculare. Viteza de internalizare a receptorului la *X. laevis* variază semnificativ între ovocitele recoltate de la animale diferite (57). Această situație este diferită de cea întâlnită în celulele mamiferelor la care viteza de internalizare a unui receptor într-un anumit tip celular este mai mult sau mai puțin constantă. De asemenea, spre deosebire de mamifere la care endocitoza se realizează eficient la 37°C, ovocitele vertebratelor inferioare pot internaliza receptorii foarte rapid și la 22°C. O serie de studii au demonstrat că, ovocitele sunt capabile să internalizeze VTG la temperaturi sub 4°C (59).

La *O. mykiss* s-a descoperit recent că foliculii ovariani conțin patru proteine receptoare cu afinitate pentru VTG (54). Acești receptori sunt specifici pentru ovă și nu interacționează cu alte lipoproteine plasmatic de tipul: VLDL, LDL sau HDL. Peptidele obținute în urma digestiei cu tripsină a proteinelor receptoare au demonstrat că ele prezintă omologie de secvență cu receptorii altor lipoproteine. Cele mai semnificative secvențe identificate au fost (Phe-Asp-Asn-Phe-Tyr) și (Ser-Glu-Leu-Tyr-Glu-Pro-Ala). Prima secvență este similară cu o regiune identificată în domeniul citoplasmatic al receptorilor VLDL și LDL de la mamifere, LDL de la amfibieni și VTG/VLDL de la găină (60, 61, 65). Această secvență acționează ca semnal de internalizare. A doua secvență este identică cu 6/7 aminoacizi din receptorul VTG/VLDL de la găină.

Clonarea receptorului VTG de la diferite specii a demonstrat existența a 8 secvențe repetitive în domeniul de legare a ligandului. Aceste secvențe sunt prezente la toți receptorii familiei VLDL și VTG. În plus, în structura receptorilor LDL, VLDL și VTG de la diferite specii au fost conservate următoarele domenii (66): un domeniu ce reprezintă omologie cu precursorul EGF (Epidermal-Growth-Factor), un domeniu transmembranar și un domeniu citoplasmatic (fig. 2).

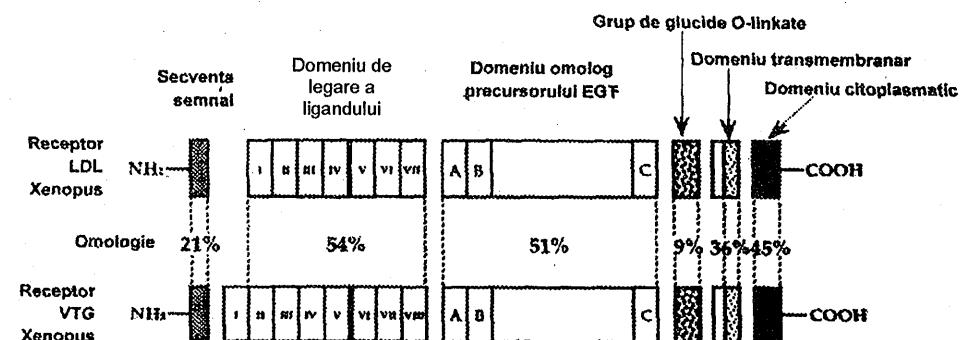


Fig. 2 — Modelul celor 5 domenii ale receptorilor VTG și LDL la *Xenopus*. Omologia dintre domeniile celor două proteine este indicată procentual (66).

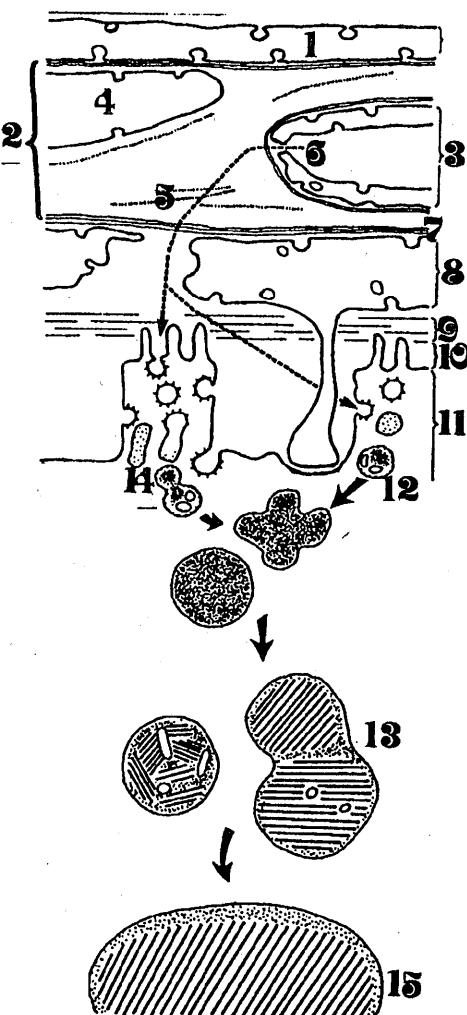


Fig. 3 — Reprezentarea schematică a căii de transport a VTG în ovocitul de amfibian.
1 — epiteliu ovarian; 2 — teacă foliculară; 3 — capilar; 4 — fibrocit; 5 — fibre de colagen; 6 — VTG; 7 — lamina bazală; 8 — celule foliculare; 9 — anvelopă vitelină; 10 — microvil; 11 — macrovil; 12 — endozom multivezicular; 13 — placetă vitelină primordială; 14 — endozom; 15 — placetă vitelină matură. (63).

După internalizare, VTG se deplasează succesiv prin invaginări și vezicule cu înveliș, endozomi, plachete viteline primordiale și plachete viteline mature (fig. 3).

În endozomi, VTG este procesată proteolitic pentru a forma lipovitelin 1 și 2, fosvitin și fosvet 1 și 2 (26), componente ce sunt stocate ulterior într-o formă cristalină în plachetele viteline. Capătul -COOH al VTG (domeniul LV2) este clivat la 1–2 ore după internalizare. Acest situs de clivaj dintre fosvitin și LV2 este caracteristic pentru catepsina D (67, 68, 69).

Studiile biochimice au evidențiat că transportul VTG se desfășoară în două faze. În prima fază are loc o creștere rapidă a densității organelor de endocitoză (corpi multiveziculares/plachete viteline primordiale) la 1,21 g/ml urmată de o intrare relativ înceată în compartimentul plachetelor viteline grele (70). Prima fază implică agregarea gradată și cristalizarea VTG în corpuri multiveziculares și convertirea lor în plachete viteline ușoare (cu diametrul de 3–4 μm). A doua fază corespunde apariției VTG în plachetele viteline grele (cu diametru mai mare de 4 μm) (71).

Plachetele viteline sunt considerate lizozomi modificați (72) și asemănător acestor organite, ele reprezintă destinația tuturor moleculelor internalizate de ovocit (73, 74, 75). Aceste organite conțin întregul set de hidrolaze necesare pentru degradarea vitelusului însă această degradare are loc, spre deosebire de lizozomii clasici, la câteva săptămâni după formarea lor. Au fost implicați doi factori în reglarea degradării vitelusului: pH-ul și întârzirea exprimării activității unor enzime (76). Spre deosebire de lizozomii clasici la care mediul acid este esențial pentru activitatea enzimelor degradative, plachetele viteline își pot modula pH-ul în funcție de starea celulei. Astfel, pH-ul inițial al plachetelor viteline este neutru sau cel mult slab acid, o condiție foarte nefavorabilă pentru funcția lizozomală normală. Aceste condiții inițiale de pH sunt necesare doar pentru proteoliza parțială a VTG, fiind stabile mai multe săptămâni. Acidificarea plachetelor viteline are loc în timpul dezvoltării embrionare în stadii specifice pentru formarea fiecărui ţesut. Această acidificare este corelată cu degradarea vitelusului.

Din punct de vedere enzimatic s-a observat că în proteoliza vitelusului sunt implicate enzime ca fosfataza acidă (70), catepsina D și L (77). Aceste enzime devin active în embriogeneza timpurie.

Transferul nutrientilor stocați în vitelus are loc în trei etape (78). În prima etapă vitelusul este fagocitat de celulele blastodermului și degradat intracelular. În a doua etapă vitelusul este degradat extracelular de către sinciul vitelin și epitelul endodermal al sacului vitelin. Produsele rezultătoare sunt absorbiți în circulația vitelină. În a treia etapă plachetele viteline sunt deplasate din sacul vitelin la intestin.

Aminoacizii rezultați în urma proteolizei viteline (viteloliză) sunt transportați în embrion prin intermediul sistemului vascular vitelin sau sunt incorporate în apolipoproteinele sintetizate în sinciul vitelin. Lipidele viteline sunt transportate în embrion prin intermediul sistemului circulator sub formă de LDL sintetizate în cantități mari în REG și AG din sinciul vitelin (77).

În structura cristalului vitelin de la pești și amfibieni au fost identificate molecule de tipul: lipovitelin, fosvitin, fosvet, componentul β , enzime, ADN, glicoproteine și glucide.

Lipovitelinul este o moleculă mare formată din două subunități. O subunitate mare (LV1) de 120 kDa și una mică (LV2) de 40 kDa. El conține la *V. moseri* lipide (20,7%), fosfolipide (12,9%), trigliceride (3,2%) și colesterol (2,7%) (79).

Fosvitinul și fosvetul sunt molecule puternic fosforilate care se caracterizează printr-o sarcină negativă mare datorată conținutului crescut de fosfo-serină.

În ovarul de *O. latipes* au fost identificate (80, 81) patru fosfoproteine notate de la 1 la 4 (PP1-PP4). PP1 este heterodimerică și formată dintr-o subunitate fosfoproteică de 113 kDa și o proteină de 94 kDa. PP2 este tot un heterodimer format dintr-o subunitate fosfoproteică de 72 kDa și o subunitate proteică de 84 kDa. PP3 și PP4 sunt monomerice și reprezintă două forme de fosvitin. Clonarea genei VTG a permis evidențierea următoarelor caracteristici ale fosvitinului (82): conținut mare de serină fosforilată care este așezată în șiruri neîntrerupte de alți aminoacizi, prezența unei cantități mari de aminoacizi bazici și un număr mic de lanțuri apolare sau care conțin sulf. Fosforilarea serinei este mai pronunțată la păsări, reptile și amfibieni (până la 100%) decât la pești (~ 54%).

Componentul β (E2) este o proteină vitelină identificată la salmonide și *V. moseri* (79, 83). Componența sa în aminoacizi este diferită de cea a lipovitelinului și fosvitinului (84) și nu conține lipide sau fosfoserină.

Analiza cristalului vitelin a arătat că el este format dintr-un schelet alcătuit din dimeri de lipovitelin. Moleculele de lipovitelin prezintă domenii speciale pentru interacțiile cu fosvitinul și cu lipidele. Fosvitinul este localizat în spațiul apropiat de cristalul vitelin (7, 85).

La unele specii de pești ca *F. heteroclitus* (86), *V. moseri* (79) și *Paralichthys olivaceus* (87) proteinele viteline suferă un clivaj secundar după formarea vitelusului și anume în timpul maturării. La *V. moseri* (79) lipovitelinul este clivat în doi monomeri în timp ce fosvitinul și componentul β sunt degradați la aminoacizi. Clivarea proteolitică a proteinelor viteline din timpul maturării are două funcții (79): (1) furnizează un efector osmotic necesar pentru influxul apei în ou și (2) asigură o sursă de aminoacizi liberi ce vor fi folosiți în etapele initiale ale dezvoltării embrionare.

Materialul amorf din jurul cristalului vitelin a fost puțin studiat și conține glicoproteine și glucide (88), enzime de tipul fosfatazei acide (89, 90), ribonucleazei (91) și arilsulfatazei (92, 93). Ribonucleaza identificată la *Rana catesbeiana* (91) este prezentă numai în placetele viteline mature. Pentru că această enzimă este abundantă în ovocitele de *Rana* dar nu și în cele de *X. laevis* este neclară funcția ei biologică.

La *X. laevis* placetele viteline conțin cantități mici (20 ng) de ADN dublu catenar ce se caracterizează printr-o greutate moleculară mare (94). Acest ADN nu este implicat în transferul de informație din timpul dezvoltării embrionare și suferă un turnover rapid.

Biochimia vitelogeninei și a proteinelor viteline este departe de a fi rezolvată. Sunt necesare în continuare studii referitoare la compoziția completă a VTG și a proteinelor viteline, a enzimelor implicate în clivajul proteolitic al VTG și al proteinelor viteline, exprimarea receptorilor VTG în cursul oogenesei și implicarea vitelogeninei în transportul diferitelor substanțe (hormoni, vitamine, metale).

BIBLIOGRAFIE

- BERGINK, WALLACE R. A., J. Biol. Chem., **249**: 2897, 1974.
- FOLLETT, REDSHAW M. R., în: B. Lofts (ed), *Physiology of the Amphibia*, vol. II, Academic Press, New York, 219, 1974.
- DEELEY R. G., MULLINIK K. P., WETERKAM W., KRONENBERG H. M., MEYERS M., ELDRIDGE J. D., GOLDBERGER R. F., J. Biol. Chem., **250**: 9060, 1975.
- TATA J. R., *Cell*, **9**: 14, 1976.
- SHAPIRO D., CRC Crit. Rev. Biochem., **12**: 187, 1982.
- WALLACE R. A., în: L. Browder (ed) *Developmental Biology*, vol. I, Plenum Press, New York, 127, 1985.
- LANGE R. H., Int. Rev. Cytol., **97**: 133, 1985.
- FOSTIER A., BRETON B., JALABERT B., Ann Endocrinol., **40**: 83, 1979.
- IDLER D. R., CAMPBELL C. M., Gen. Comp. Endocrinol., **41**: 384, 1980.
- YARON Z., BARTON C., Gen. Comp. Endocrinol., **42**: 151, 1980.
- NG T. B., IDLER D. R., în: W. S. Hoar, RANDALL D. J., DONALDSON (ed) E. M., *Fish Physiology*, IXA, Academic Press, New York, 373, 1983.
- TYLER C. R., SUMPTER J. P., KAWAUCHI H., SWANSON P., Gen. Comp. Endocrinol., **84**: 291, 1991.
- NAGAHAMA Y., YOSHIKUNI M., YAMASHITA M., SAKAI N., TANAKA M., Fish Physiol. Biochem., **11**: 3, 1993.
- HORI S. H., KODAMA T., TANAHASHI K., Gen. Comp. Endocrinol., **37**: 306, 1979.
- MENN F. LE, C. R. Acad. Sci. Paris Ser. D, **289**: 413, 1979.
- MENN F. LE, ROCHEFORT H., GARCIA M., Steroids, **35**: 315, 1980.
- HO S., în: D. O. NORRIS, R. E. JONES (eds), *Hormones and Reproduction in Fish, Amphibians and Reptiles*, Plenum Press, New York, 145, 1987.
- MOMMSEN T. P., WALSH P. J., în: HOAR W. S., RANDALL D. J. (eds), vol. XIa, Academic Press, New York, 1988.

- SHARROCK W. J., ROSENWASSER T. A., GOULD J., KNOTT J., HUSSEY D., GORDON J. I., BANASZAK L., Mol. Biol., **226**: 903, 1992.
- LE FLEUR G. J., BYRNE B. M., KANUNGO J., NELSON L. D., GREENBERG R. M., WALLACE R. A., J. Mol. Evol., **41**: 505, 1995.
- RYFFEL, WAHLI W., în: M. Mc Lean, S. P. Gregory, R. A. Flavell (eds), *Eukaryotic Genes: their structure, activity and regulation*, Butterworths, London, 329, 1983.
- SO Y. P., IDLER D. R., HWANG S. J., Comp. Biochem., **81B**: 63, 1985.
- PACOLI C.-Q., GRIZZLE J. M., BRADLEY Y. T., Aquaculture, **90**: 353, 1990.
- GOODWIN A. E., GRIZZLE J. M., BRADLEY J. T., ESTRIDGE B. E., Comp. Biochem. Physiol., **101B**: 441, 1992.
- NARDELLI D., VAN SCHIP F. D., GERBER-HUBER S., HAEFLIGER J. A., GRUBER M., Ab G., WAHLI W., J. Biol. Chem., **262**: 15377, 1987.
- WILEY H. S., WALLACE R. A., J. Biol. Chem., **256**: 8626, 1981.
- YAO Z., CRIM L. W., Comp. Biochem. Physiol., **113B**: 247, 1996.
- DE VLAMING V. L., WILEY H. S., DELAHUNTY G., WALLACE R. A., Comp. Biochem. Physiol., **67B**: 613, 1980.
- SPECKER J. L., SULLIVAN C. V., în: PETER R. E., TOBE S. S. (eds) *Perspectives in Comparative Endocrinology*, National Research Council, Ottawa, 305, 1994.
- HARA A., SULLIVAN C. V., DICKHOFF W. W., Zool. Sci., **10**: 245, 1993.
- MONTORZI M., FALCHUK K. H., VALLEE B. L., Biochem. Biophys. Res. Commun., **200**: 1407, 1994.
- ITO Y., FUJII T., KANAMORI M., HATTORI T., YOSHIOKA R., J. Biochem., **60**: 726, 1966.
- SCHNEIDER W. J., Int. Rev. Cytol., **166**: 103, 1996.
- FREMONT L., LEGER C., PETRIDOU P., GOZZELINO M. T., Lipids, **19**: 522, 1984.
- NORBERG B., HAUX C., Comp. Biochem. Physiol., **81B**: 869, 1985.
- FREMONT L., RIAZI A., Reprod. Nutr. Develop., **28**: 939, 1981.
- SILVERSAND C., HAUX C., J. Cromatogr., **478**: 387, 1989.
- BAKER M. E., Biochem. J., **255**: 1057, 1988.
- BYRNE B. M., GRUBER M., G. Ab, Progr. Biophys. Mol. Biol., **53**: 33, 1989.
- BABIN P. J., VERNIER J. M., J. Lipid Res., **30**: 467, 1989.
- FREMONT L., LEGER C., PETRIDOU B., GOZZELINO M. T., Lipids, **19**: 522, 1984.
- BABIN P. J., Am. J. Physiol., **262**: E7 12, 1992.
- OLSEN P. E., ZAPARULLAH M., GEDAMU L., Biochem J., **257**: 555, 1989.
- BJORNSSON B. T., HAUX C., J. Comp. Physiol., **155B**: 347, 1985.
- HARA A., YAMAUCHI K., HIRAI H., Comp. Biochem. Physiol. Pyhiol., **65B**: 315, 1980.
- UCHIYAMA H., NAKAMURA T., KOMAZAKI S., TAKIO K., ASASHIMA M., SUGINO H., Biochem. Biophys. Res. Com., **202**: 484-489, 1994.
- RAINUZZO J. R., REITAN K. I., JORGENSEN L., Comp. Biochem. Physiol., **103B**: 21, 1992.
- KOMATSU M., MATSUMOTO W., HAYASHI S., Comp. Biochem. Physiol., **113B**: 561, 1996.
- KOMATSU, HAYASHI S., Fisheries Science, **60**: 753, 1994.
- VIDMAR S. L., LOTTSPEICH F., EMOD I., PLANCHENAULT T., KEIL-DLOUHA V., Eur. J. Biochem., **201**: 71, 1991.
- VIDMAR S. L., LOTTSPEICH F., EMOD I., IMHOFF J.-M., KEIL-DLOUHA V., Eur. Biochem., **201**: 79, 1991.
- LE MENN F., NUNEZ-RODRIGUEZ J., în: A.P. Scott (ed), *Reproductive Physiology of Fish*, Fish Symp. 91, Sheffield, U. K., 300, 1991.
- TYLER C. R., LANCASTER P. M., J. Comp. Physiol., **163B**: 225, 1993.
- TYLER C. R., LUBBERINK K., J. Comp. Physiol., **166**: 11, 1996.
- CHAN S. L., TAN C. H., PANG M. K., LAM T. J., J. Exp. Zool., **257**: 96, 1991.

56. STIFANI, LE MENN F., NUNEZ-RODRIGUEZ J., SCHNEIDER W. J., Biochem. Biophys. Acta., **1045**: 271, 1990.
57. OPRESKO L. K., WILEY H. S., J. Biol. Chem., **262**: 4109, 1987.
58. STIFANI, GEORGE R., SCHNEIDER W. J., Biochem. J., **250**: 467, 1988.
59. WALLACE R. A., OPRESKO L., WILEY H. S., SELMAN K., în: Molecular Biology of Egg Maturation, CIBA Found. Symp., 98, Pitman Books, London, 228, 1983.
60. DAVIS C. G., GOLDSTEIN J. L., SUDHOFF T. C., ANDERSON R. G. W., RUSSELL D. W., BROWN M. S., Nature, **326**: 760, 1987.
61. BARBER D.L., SANDERS E. J., AEBERSOLD R., SCHNEIDER W. J., J. Biol. Chem., **266**: 18761, 1991.
62. DUMONT J. M., J. Exp. Zool., **204**: 193, 1978.
63. SELMAN K., WALLACE R. A., Tissue & Cell, **14**: 555, 1982.
64. YOSHIZAKI N., Develop. Growth. Differ., **32**: 345, 1992.
65. MEHTA K. D., CHEN W. J., GOLDSTEIN J. L., BROWN J. L., J. Biol. Chem., **266**: 104061, 1991.
66. OKABAYASHI K., SHIJI H., NAKAMURA T., HASHIMOTO O., ASASHIMA M., SUGINO H., Biochem. Biophys. Res. Com., **224**: 406–413, 1996.
67. BYRNE B. M., VAN HER SCHIP A. D., VAN DER KLUNDERT J. A. M., ARNBERG A. C., GRUBER M., G. Ab., Biochemistry, **23**: 4275, 1984.
68. BEYNON R. J., BOND S. J., Am. J. Physiol., **251C**: 141, 1986.
69. OPRESKO L. K., KARPF R. A., Cell, **51**: 557, 1987.
70. WALL D. A., MELEKA I., J. Cell. Biol., **101**: 1651, 1985.
71. WALL D. A., PATEL S., J. Biol. Chem., **262**: 14779, 1987.
72. PASTEELS J. J., în: J. Dingle(ed), Lysosomes in Biology and Pathology, vol. 3, Amsterdam North Holland, 216, 1973.
73. WALLACE R. A., HOLLINGER T. G., Exp. Cell. Res., **119**: 277, 1979.
74. OPRESKO L. K., WILEY H. S., WALLACE R. A., J. Exp. Zool., **209**: 367, 1979.
75. OPRESKO L. K., WILEY H. S., WALLACE R. A., Cell, **22**: 47, 1980.
76. FAGOTTO F., J. Cell. Sci., **108**: 3645, 1995.
77. SIRE M. F., BABIN P. J., VERNIER J. M., J. Exp. Zool., **269**: 69, 1994.
78. WOURMS J. P., GROVE B. D., LOMBARDI J., în: W. S. Hoar, D. J. Randal (eds), Fish Physiology, vol. XIB, Academic Press Inc. (London) Ltd, 2, 1988.
79. MATSUBARA T., SAWANO K., J. Exp. Zool., **272**: 34, 1995.
80. MURAKAMI M., IUCHI I., YAMAGAMI K., Develop. Growth. Differ., **32**: 619, 1990.
81. MURAKAMI M., IUCHI I., YAMAGAMI K., Comp. Biochem. Physiol., **100B**: 587, 1991.
82. GOULAS A., TRIPLETT E. L., TABORSKI G., DNA Cell Biol., **15**: 605–616, 1996.
83. MARKERT J. R., VANSTONE W. E., J. Fish. Res. Bd. Canada, **28**: 1853, 1971.
84. CAMPBELL C. M., IDLER D. R., Biol. Reprod., **22**: 605, 1980.
85. LANGE R. H., RICHTER H.-P., RIEHL R., ZIEROLD K., TRANDABURU T., MAGDOWSKI G., J. Ultrastruct. Res., **83**: 122, 1983.
86. WALLACE R. A., BEGOVAC P., J. Biol. Chem., **260**: 11268, 1985.
87. MATSUBARA T., ADACHI S., IJIRI S., YAMAUCHI K., Fisheries Science, **61**: 478, 1995.
88. FARVARD P., FARVARD-SERENO C., J. Submicrosc. Cytol., **1**: 91, 1969.
89. GURAYA S. S., The Cell and Molecular Biology of Fish Oogenesis, Karger, Basel, 86, 1986.
90. SCRIPCARIU D., MEŞTER R., Rev. Roum. Biol. Biol. Anim., **31**: 47, 1986.
91. WANG J. J., TANG P. C., CHAO S. H., CHENG H. J., MA H-Y., LIAO Y. D., Cell Tissue Res., **280**: 259, 1995.
92. SCRIPCARIU D., MEŞTER L., MARINESCU F., MEŞTER R., Rev. Roum. Biol. Biol. Anim., **32**: 17, 1987.

93. MEŞTER R., SCRIPCARIU D., MEŞTER L., Rev. Roum. Biol. Biol. Anim., **37**: 13, 1992.
94. HANOCQ, KIRSCH-VOIDERS J., HANOCQ QUERTIER J., BALTUS E., STEINERT C., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **69**: 1322, 1972.
95. PEREZ L. E., CALLARD I. P., Comp. Biochem. Physiol., **103B**: 699, 1992.
96. BIDWELL, KROLL K. J., SEVERUD E., DOROSHOV S. I., CARLSON D. M., Gen. Comp. Endocrinol., **83**: 415, 1991.
97. MAITRE J. L., GUELLEC C. LE, DERRIEN S., TENNISWOOD M., VALOTAIRE Y., Can. J. Biochem. Cell Biol., **63**: 982, 1985.
98. HARA A., HIRAI H., Comp. Biochem. Physiol., **59B**: 339, 1978.
99. SHIBATA N., YOSHKRUMY M., NAGAHAMA Y., Develop. Growth. Differ., **35**: 115, 1993.
100. SEMAN K., WALLACE R. A., J. Exp. Zool., **266**: 441, 1983.
101. CARNEVALI O., BELVEDERE P., J. Exp. Zool., **259**: 18, 1991.
102. NATH P., SUNDARAY B. I., Gen. Comp. Endocrinol., **43**: 148, 1981.
103. HAMAZACHI T. S., IUCHI I., YAMAGAMI K., J. Exp. Zool., **242**: 333, 1987.
104. OLLEVIER I. F., COVENS M., Ann. Soc. R. Zool. Belg., **113**: 326, 1983.
105. PLACK P. A., PRITCHARD D. J., FRASER N. W., Biochem. J., **121**: 847, 1971.
106. COPELAND P. A., THOMAS P., Comp. Biochem. Physiol., **91B**: 17, 1988.
107. LEE K. B. H., LIM E. H., LAM T. J., DING J. L., J. Exp. Zool., **264**: 100, 1992.
108. EMMERSON B. K., PETERSEN I. M., Comp. Biochem. Physiol., **54B**: 443, 1976.
109. DING J. L., HEE P. L., LAM T. J., Comp. Biochem. Physiol., **93B**: 363, 1989.
110. KISHIDA M., ANDERSON T. R., SPEKER J. L., Gen. Comp. Endocrinol., **88**: 29, 1992.
111. KISHIDA M., SPEKER J. L., Fish Physiol. Biochem., **12**: 171, 1993.
112. WALLACE R. A., Biochem. Biophys. Acta., **74**: 505, 1963.
113. MONTROZI M., FALCHUK K. H., VALEE B. L., Biochemistry, **34**: 10851, 1995.

Primit în redacție
la 19 septembrie 1996

Facultatea de Biologie,
Universitatea București,
Splaiul Independenței, nr. 91–95.

RÁKOSY LÁSZLÓ, *Die Noctuiden Rümäniens (Lepidoptera: Noctuidae)*, Staphia-Linz, 1996,
648 p., 900 fig., 651 hărți de distribuție, 30 planșe color.

Specialist în studiul lepidopterelor, cunoscut atât în țară cât și în străinătate, dr. Rákosy László a reușit ca rezultatele a 15 ani de cercetări laborioase să le finalizeze într-o lucrare monografică referitoare la lepidopterele noctuide din România. Lucrarea se remarcă atât prin abordarea exhaustivă a noctuidelor cât și prin concizie. Prezintă mai întâi un scurt istoric al cercetărilor lepidopterologice în România, cu datele biografice a celor mai de seamă cercetători în domeniu. Pentru a interpreta răspândirea speciilor de noctuide pe teritoriul României, autorul descrie principalele tipuri de habitate, a căror diversitate ecologică se reflectă în bogăția de specii existente în țara noastră. Doctor Rákosy prezintă aspecte ecologice și biogeografice, referitoare la răspândirea speciilor în diferite tipuri de ecosisteme și regiuni geografice din România, în funcție de cerințele lor ecologice.

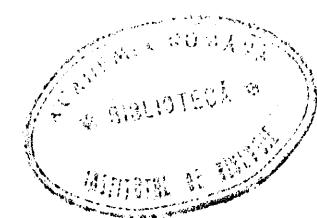
Caracterele morfologice ale noctuidelor sunt descrise într-un capitol separat. Se acordă o atenție deosebită cunoașterii particularităților morfologice ale exoscheletului toracic, armăturii genitale, morfologiei oului și chetotoxiciei larvare. Cu toate că se face o descriere generală a morfologiei noctuidelor și în acest capitol sunt prezentate aspecte inedite, observate de autor.

De o deosebită valoare științifică este partea de sistematică, unde sunt descrise 670 specii de noctuide, dintre care 650 specii există în fauna României (peste 50% din fauna de noctuide a Europei). Se caracterizează fiecare gen și specie, folosindu-se o diagnoză bazată pe morfologia armăturii genitale descrisă de autor pe baza cercetărilor personale. Sunt luate în considerare și alte caractere morfologice, care se pot observa și în planșele cu fotografiile color ale speciilor, de o excelentă calitate. Descrierile morfologice cu valoare taxonomică sunt completate cu aspecte referitoare la biologia speciilor. Dintre cele 650 specii de noctuide descrise în lucrare, 7 specii sunt noi pentru știință.

Lucrarea elaborată de dr. Rákosy László este o lucrare de referință, indispensabilă pentru specialiștii din domeniul lepidopterelor noctuide și foarte utilă și altor biologi interesați de lumea fluturilor.

NICOLAE TOMESCU

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 sunt complete cu alte rubrici ca: 1. Viață științifică, ce cuprinde unele manifestări științifice din domeniul biologiei (congrese, simpozioane, consfătuiri etc.); 2. Recenziile unor cărți de specialitate apărute în țară și peste hotare.

Autorii sunt rugați să-și prezinte articolele în dublu exemplar, de preferință pe o imprimantă laser, culese la două rânduri. Conținutul articolelor va fi imprimat pe dischete, în limbajul „Word 6.0”. Mărimea caracterelor va fi conform uzanțelor revistei: — 11/13 pentru textul propriu-zis; 12/14 pentru titlul articolelor; 9/11 pentru anexe (tabele, bibliografie, explicația figurilor, note) și pentru rezumatul în limba engleză, care va fi plasat la începutul articolului. Este obligatoriu ca pe dischete să fie specificat numele fișierelor în care se află articolul. Materialul grafic va fi trimis pe dischetă, scanat, cu aceeași specificație. În absența unui scanner, materialul grafic va fi executat în tuș, pe calc. Tabelele și ilustrațiile vor fi numerotate cu cifre arabe. Trebuie evitată repetarea acelorași date în text, tabele și grafice. Bibliografia, tabelele și explicația figurilor vor fi imprimate pe pagini separate. Aranjarea bibliografiei se va face conform uzanțelor revistei: citarea alfabetică și cronologică a numelui și inițialei autorilor (cu majusculă); titlul cărților (italic) sau al revistelor (prescurtat conform uzanțelor internaționale); volumul (bold); numărul (în paranteză); paginile precedate de „.”; anul apariției.

Exemplu:

1. BELDIE, AL., *Flora și vegetația Munților Bucegi*, Edit. Academiei, 678 p., 1967.
2. POPESCU MARINESCU VIRGINIA, Rev. roum. biol., Biol. anim., 31 (1), 73–80, 1986.

Mentionăm că prescurtările pentru cuvintele *editură* și *colaboratori* sunt: *edit.* și respectiv *colab.*

Citarea bibliografiei în text se va face prin cifre arabe și numerotare consecutiv în ordinea apariției.

Textul lucrărilor, inclusiv bibliografia, explicația figurilor și tabelele nu trebuie să depășească 7 pagini.

Responsabilitatea asupra conținutului articolelor revine în exclusivitate autorilor.