

REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE  
ACADEMIA ROMÂNĂ

COMITÉ DE RÉDACTION

Rédacteur en chef :

MIHAI BĂCESCU, membre de l'Académie Roumaine

Rédacteur en chef adjoint :

NICOLAE SIMIONESCU, membre de l'Académie Roumaine

Membres :

NICOLAE BOTNARIUC, membre de l'Académie Roumaine ; OLGA NECRASOV, membre de l'Académie Roumaine ; PETRU-MIHAI BĂNĂRESCU, membre correspondant de l'Académie Roumaine ; dr. IRINA TEODORESCU ; dr. RADU MEŞTER, secrétaire de rédaction.

La « Revue roumaine de biologie — Série de biologie animale » paraît deux fois par an. Toute commande de l'étranger sera adressée à ORION SRL, Splaiul Independenței 202 A, București 6, PO Box 74-19, Romania, Tx 11939 CBTxR, Fax (400) 424169.

Les manuscrits ainsi que toute correspondance seront envoyés à la rédaction. Les livres et les publications proposés en échange seront envoyés à : Institut de Biologie, Splaiul Independenței 296, 79651 București.

REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE

Série de biologie animale

Calea Victoriei 125

79717 București 22

Tél. 650 76 80

EDITURA ACADEMIEI ROMÂNE

Calea Victoriei 125

79717 București 22

Tél. 650 76 80

71/1469

REVUE  
ROUMAINE  
DE BIOLOGIE

Biol. Inv. 93

SÉRIE DE BIOLOGIE ANIMALE

TOME 37, N° 2

juillet — décembre 1992



23 130

SOMMAIRE

MIHAI BĂCESCU, <i>Javanisomysis gutzui</i> , n. sp., n. sp., mysidacé gré-gaire des eaux indonésiennes . . . . .	79
PETRU M. BĂNĂRESCU, Continents, ocean basins and freshwater zoogeography. I. Africa . . . . .	87
IORGU PETRESCU, <i>Leucon savulescui</i> n. sp. (Crustacea, Cumacea) from the Peru — Chile Trench . . . . .	97
E. NIȚU, <i>Cardioderus chloroticus</i> F. — W., a new species for the Romanian Fauna (Coleoptera, Carabidae Pogonidae) . . . . .	101
RODICA GIURGEA and IOANA ROMAN, Selenium and E vitamin effects upon glucose absorption of chicken jejunum . . . . .	103
J. MADAR, NIÑA ŠILDAN and G. FRECUȘ, Age-related dynamics of diaphragmatic glucose uptake and liver glycogen content in young Wistar rats after formalin-induced stress and treatment with <i>Phaseolus</i> and <i>Lupulus</i> extracts . . . . .	107
P. RÖTINBERG, SMARANDA KELEMEN, VIORICA RUSAN, VIOLETA NUTĂ and JENICA BULACOVSCHE, Selection of a total polyphenolic preparation with <i>in vitro</i> higher cytosatic potential. . . . .	113
I. NEACȘU and C. V. ZĂNOAGĂ, The influence of liposome-incorporated procaine on the membrane potential in high-potassium medium . . . . .	119
V. P. HEFCO, I. NEACȘU and A. OLARIU, The role of the paraventricular nucleus (PVN) on the organism's defense capacity . .	125
VIRGINIA POPESCU-MARINESCU, Les populations d' <i>Hypania invalida</i> (Grube) dans la zone Portile de Pier, avant et après la création du lac d'accumulation . . . . .	131
V. ZINEVICI and LAURA TEODORESCU, Conclusions sur l'évolution structurale et fonctionnelle du zooplankton lacustre du Delta du Danube, au cours des années 1975—1987 sous l'impact de l'eutrophisation . . . . .	141
DORINA NICOLESCU, Le rôle écologique du bactérioplankton dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques lacustres du Delta du Danube. 2. L'intervention de la microflore bactérienne planctonique dans la réalisation de la circulation de la matière . . . . .	149
<i>Matériel, provenance</i> : 1283 exemplaires dont 844 femelles juvéniles et 91 avec le marsupium à peine visible (donc 67% puis 34% d'adults (35%)	
REV. ROUM. BIOL. — BIOL. ANIM., TOME 37, N° 2, P. 77—158, BUCAREST, 1992	

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. ANIM., TOME 37, N° 2, P. 77—158, BUCAREST, 1992

REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE

88

SÉRIE DE BIOLOGIE ANIMALE

TOM. 37, N° 2

REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE ANIMALE

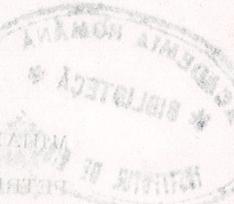
Rédacteur en chef adjoint :

NICOLAE SIMIONESCU, membre de l'Academie Roumaine

Membre

SOMMAIRE

TOME 37, N° 2



- CONTENUTUL
- 1. NICOLAE SIMIONESCU, membre de l'Academie Roumaine
  - 2. Mihail PETRESCU, membre de l'Academie Roumaine
  - 3. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 4. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 5. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 6. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 7. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 8. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 9. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 10. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 11. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 12. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 13. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 14. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 15. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 16. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 17. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 18. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 19. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 20. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 21. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 22. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 23. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 24. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 25. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 26. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 27. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 28. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 29. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 30. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 31. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 32. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 33. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 34. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 35. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 36. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 37. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 38. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 39. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 40. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 41. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 42. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 43. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 44. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 45. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 46. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 47. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 48. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 49. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 50. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 51. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 52. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 53. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 54. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 55. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 56. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 57. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 58. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 59. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 60. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 61. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 62. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 63. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 64. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 65. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 66. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 67. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 68. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 69. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 70. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 71. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 72. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 73. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 74. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 75. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 76. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 77. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 78. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 79. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 80. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 81. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 82. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 83. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 84. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 85. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 86. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 87. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 88. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 89. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 90. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 91. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 92. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 93. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 94. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 95. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 96. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 97. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 98. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 99. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 100. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 101. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 102. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine
  - 103. Nicolae NEGRASOV, membre de l'Academie Roumaine

REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE

Série de Biologie animale

Calea Victoriei 128

1971 București 22

Tél. 650 26 80

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. ANIM., TOME 37, N° 2, P. 79—86, BUCURESTI, 1992

JAVANISOMYSIS GUTZUI, n.sp., n. sp.

MYSIDACÉ GRÉGAIRE DES EAUX INDONÉSIENNES

There is described a new sub-genus, *Javanisomysis*, which is included provisionally in the *Anisomysis* polymorph genus, in which in the meantime there were gathered 30 taxa. This sub-genus is characterised by a rigid pleopod IV ♂; widened towards simpod, in rest cylindrical, ending with 2 phanera which are different in comparison with another representatives of the hybrid genus. Hundreds of representatives of this new taxon originate in a gregarious group of little transparent mysidacea which were under the surface, in a coast area of Indonesian Pari Island with the water of 1 m deep. The five pleopodes of female and of the other 4 ♂ are reduced to some heavily visible little plates. The type species of sub-genus *Javanisomysis* is just *J. gutzui*, for the moment the unique species of this new taxon.

***Javanisomysis* n. sp.**

Espèce type : *Javanisomysis gutzui* n.sp.

**Diagnose.** Mysidacé faisant partie du groupe abérant *Anisomysis*; il diffère de toutes les espèces entassées dans ce genre par la morphologie à part du IV<sup>e</sup> pléopode mâle. Celui-là est totalement dépourvu d'endopodite et l'exopodite rigide sans autre articulation que celle sousapicale qui sépare clairement un 2<sup>e</sup> article minuscule terminal qui supporte un phanère épineux, doublé d'un autre inséré au but du long article.

La femelle a cinq paires de minuscules pléopodes ; les pléopodes II—V de la même forme que les pléopodes I, II, III et V du ♂. Telson court, ligniforme.

Les yeux globuleux pédonculés la cornée phosphorescente.

Le 2<sup>e</sup> article du palp mandibulaire foliacé.

**Etymologie :** genre nommé d'après le lieu de capture — Mer d'Java, associé au genre *Anisomysis* l.s.

Genre : féminin.

***Javanisomysis gutzui* n. sp.**

(Fig. 1A—N et Fig. 2A—G).

**Diagnose.** Petit mysis néotonique et grétaire, parfaitement transparent à l'exception des yeux phosphorescents.

Le IV<sup>e</sup> pléopode mâle sans trace d'endopodite et l'exopodite rigide, aplati dorso-ventralement dans son tiers proximal ; partie qui finit par une apophyse externe aiguë (fig. 1J) continuée par une partie cylindrique ; celle-ci présente à son extrémité la seule articulation fonctionnelle de l'exopodite, séparant un minuscule article apical. Cet article porte un forte soie, flanquée par une autre plus fine sous-apicale, les deux armés d'épinules. Les ♀ ont deux paires d'oostégites et cinq de petits pléopodes.

**Matériel, provenance :** 1253 exemplaires dont 844 femelles œuvées et 91 avec le marsupium à peine vidé (donc 63%, puis 345 ♂ adultes (35%)

et 2% femelles juv. et préadultes. Ce matériel a été capturé dans la mer d'Java, près d'Ile Pari, à 35 km NE de la ville de Jakarta le 14 mars 1991.

*Derivatio nominis.* Espèce dédiée à Modest Guju, chef de la section des invertebrés du Musée d'Hist. naturelle « Grigore Antipa » participant à l'expédition indonésienne du Musée et qui a collecté ces mysidacés.

*Holotype* ♂ déposé dans la collection de crustacés de ce Musée (n° 750); *allotype* ibid (n° 751), 510 paratypes ♂ ♀, ibid (nr. 752) et 25 autres paratypes figurent dans la collections du Musée Zoologique de Bogor, Indonésie.

*Description.* Mysidacé de petite taille (3,5—4,5 mm); corps (Fig. 1A) grêle au tégument lisse et parfaitement transparent à l'exception de la cornée. La carapace laisse libre le dernier thoracomère; sa partie rostrale se présente comme une ligne légèrement courbe qui descend vers sa zone élargie et dantelée (flèche, Fig. 1B).

Les pléomères lisses; les trois proximaux sont  $\pm$  de la même longueur, le IV<sup>e</sup> est le plus court tandis que le VI<sup>e</sup> égal en longueur avec les deux précédents pris ensemble (Fig. 1A, I).

Le telson (Fig. 1G) court, ligniforme et deux fois plus court que le VI<sup>e</sup> pléonite et que l'exopodite uropodal; il est orné dans son tiers distal de 12 + 2 + 12 lames, en tout et en moyenne 25 lames dont deux un peu plus longues, apicales.

Le complexe caudal (Fig. 1F) ressemble bien à celui de *Anisomysis levi* Băcescu (1973), mais il en diffère par un telson à nombre réduit de lames (15 par rapport à 25), dont quatre apicales par rapport à deux.

*Les antennes* (Fig. 1B, C). Les antennules ont une base forte et le flagelle externe, le plus fort, dépasse la longueur du corps. Son lobe mâle dépasse un peu l'article qui le supporte et présente une longue rangée de soies sur sa face interne. L'antenne a l'endopodite deux fois plus court que l'écailler (l'exopodite); celle-ci est ornée de soies plumeuses de deux côtés et légèrement courbe vers l'extérieur; elle est trois fois plus longue que large; sa lame se rétrécit vers l'apex; son article apical aigu dépasse l' $A_1\varphi$  et atteint le bout du lobe ♂ (Fig. 1B).

*Yeux* globuleux suffisamment pédunculés pour que la cornée puisse dépasser les côtes de la carapace; dirigés frontalement, ils couvrent presque le 3<sup>e</sup> article de l' $A_1$  (Fig. 1B). La cornée est phosphorescente, virant du noir à l'argenté si l'on change de direction de la lumière qui frappe ces mysidacés.

Les pièces buccales du type *Anisomysis levi* Băcescu; les mandibules (Fig. 1D, E) ont le 2<sup>e</sup> article du palpe foliacé, presque deux fois plus long que le dernier (rapport 7,5 : 3,6); il présente une gibosité interne (flèche, Fig. 1D) muni de 4 soies plumeuses et le bord extérieur, presque droit, présente 9—10 soies pareilles. Le 3<sup>e</sup> article a plusieurs courtes soies et deux phanères plus longs; un courbé vers l'extérieur, l'autre, qui dépasse un peu la longueur de l'article, pauvre en barbules, se dresse justement en avant, comme une sabre. La fig. 2 F représente la maxillipède I. *Les péréiopodes*, leur taille décroît vers la partie caudale; ils sont 6—articulés; le dernier article étant divisé en 2 chez les pattes thoracicum postérieurs seulement, tandis que chez les antérieurs l'articulation est absente (Fig. 2 D et E).

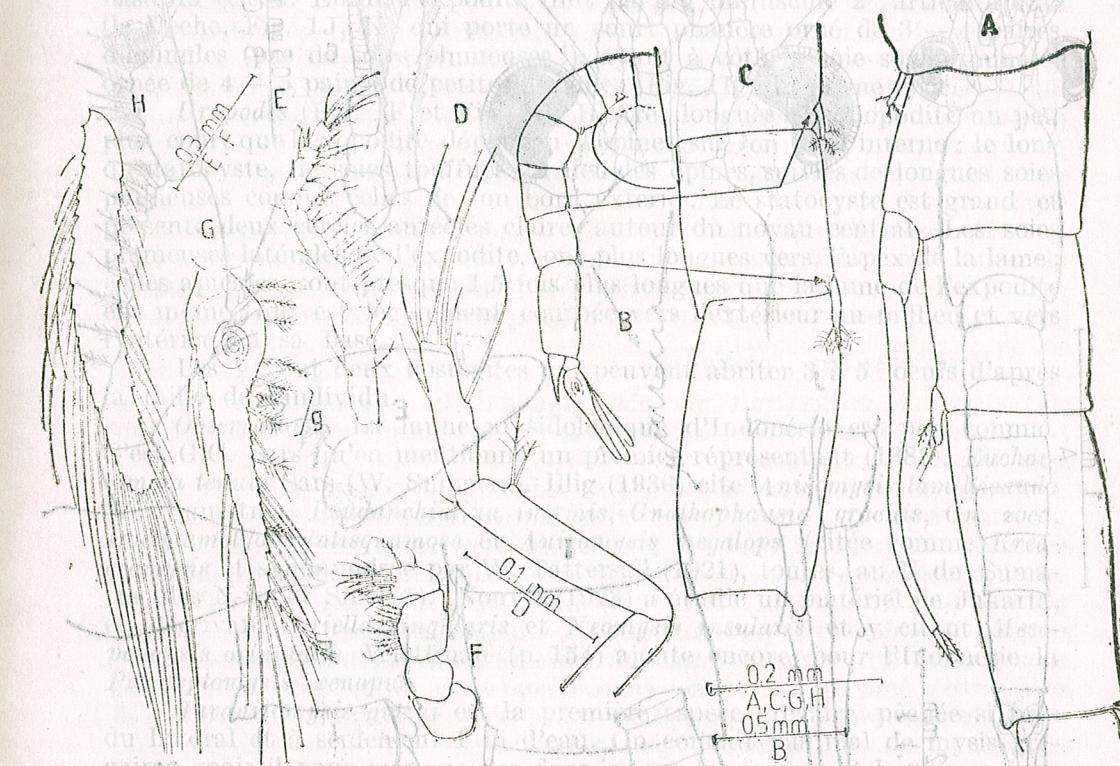


Fig. 1. — *Javanisomysis gutzui* n. sg., n. sp., A, mâle, vu d'en haut; B, partie céphalique d'un autre ♂; flèche, la dentelure du bord latéro-frontal de la carapace; C, l'antenne, ♂; D, la mandibule et son palpe (flèche, sa gibosité), ♂; E, la partie masticatrice symétrique, ♂; F, complexe caudal, ♂; G, telson, ♂; H, abdomen, ♂; I, 4 pléomères, ♂; J, pléopode IV, ♂; K, ibid., partie apicale; L, M, pléopodes I et II, ♂; N, pléopode V, ♂.

Leurs griffes dactylaires sont très fines et dépassées en longueur et en épaisseur par les trois soies paradactylaires (Fig. 2 D).

*Pléopode.* Cinq paires de pléopodes chez la femelle (Fig. 2 B, C) de *Javanisomysis gutzui*; elles sont de courtes plaques visibles seulement à un fort grossissement; la première paire (Fig. 1 L) est bilobée, les autres allongées (Fig. 1 M); toutes pourvues de courtes soies plumeuses.

*Les pléopodes*, I, II, III et V du mâle (Fig. 1 N) sont comme II—V de la ♀ (Fig. 1 M et 2 A), tandis que le IV<sup>e</sup> a une structure à part, unique parmi les espèces de la tribu Mysini, d'où notre espèce fait partie (Fig. 2 A, 1 H). En dehors du fait qu'il est totalement dépourvu d'endopodite, son exopodite est une sorte de bâtonnet rigide, lui manquant les deux articulations qui se divisent en trois articles inégaux chez le genre *Anisomysis* 1. s. il atteint à peine la base du telson (Fig. 1 H, I et 2 A); sa partie proximale, à peine plus longue que le sympode et représentant 1/3 de la longueur de cet exopodite, finit vers l'extérieur par un prolongement aigu (Fig. 1 J, flèche), très caractéristique lui-même; au-delà de cette excroissance l'exopodite accuse un rétrécissement brusque en forme de bâtonnet

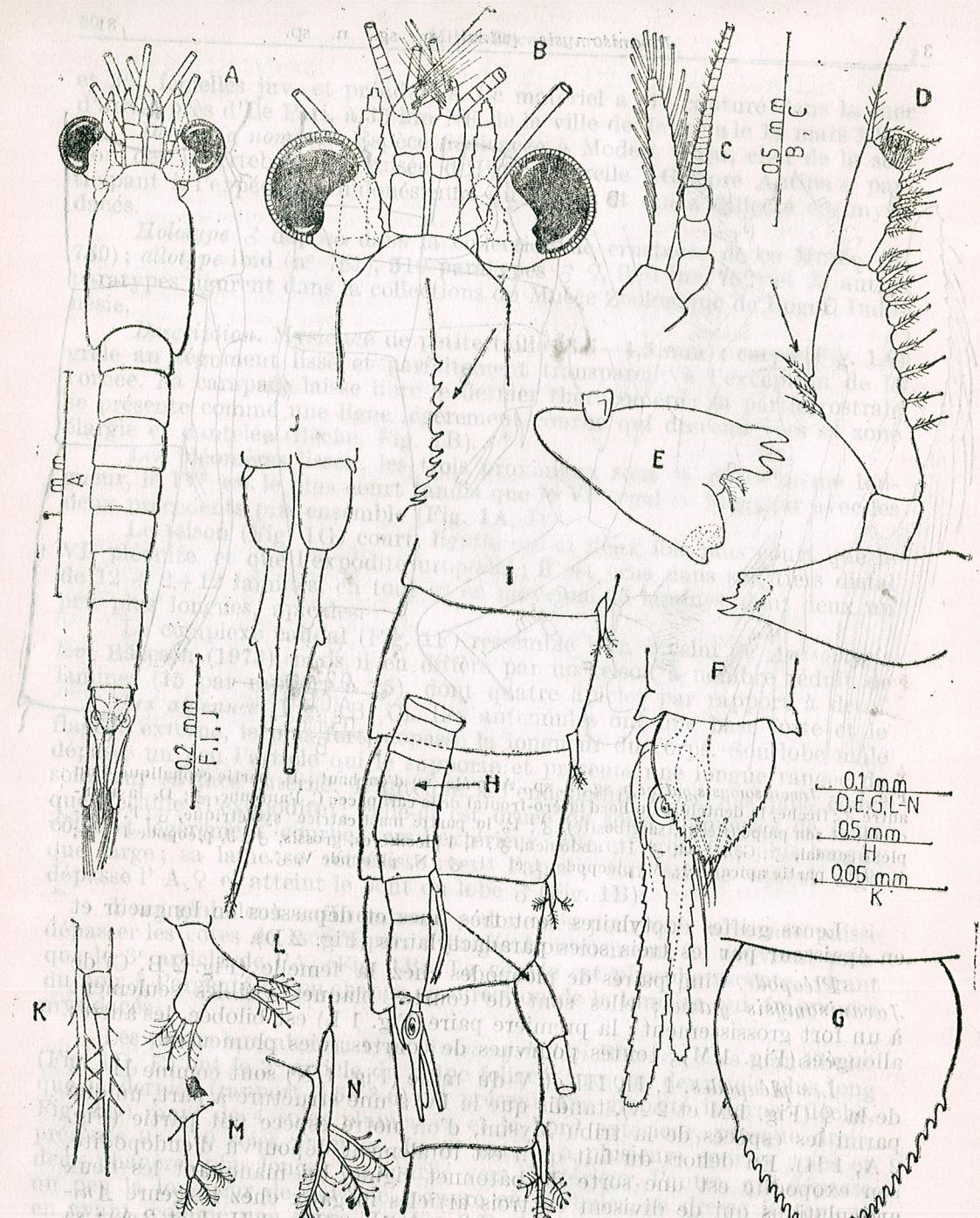


Fig. 2. — *Javanisomysis gutzui* n. sg., n. sp., (A = ♂; B = H = ♀): A, position et formes des pléopodes III, IV et V, ♂; B, moitié distale d'un ♀; C, position et tailles des pléopodes IV et V, ♀; D, partie distale du péréiopode V; E, péréiopode II, F, maxillipède I; H, exopodite de l'uroponde; G, son exopodite; g, soies touffues.

cylindrique. Légèrement courbe, qui n'arrive que rarement jusqu'à la base du telson. Enfin, l'exopodite finit par un minuscule 2<sup>e</sup> article apical (la flèche, Fig. 1J, K) qui porte un court phanère orné de 3—4 paires d'épinules (pas de soies plumeuses !), ayant à côté la soie sousterminale, ornée de 4—5 paires de petites épines (Fig. 1K) du même type.

*Uropodes* (Fig. 1F et Fig. 2G, H) très longues; l'endopodite un peu plus court que l'exopodite dépourvu d'épines sur son bord interne: le long du statocyste, de soies touffues au lieu des épines, suivies de longues soies plumeuses comme celles de son bord externe. Le statocyste est grand et présente deux cercles auréolés claires autour du noyau central. Les soies plumeuses latérales de l'exopodite, sont plus longues vers l'apex de la lame; celles apicales sont presque 1,5 fois plus longues que la lame de l'exopodite elle-même, qui est légèrement courbée vers l'extérieur au milieu et vers l'intérieur à sa base.

Les ♀ ont deux oostégites qui peuvent abriter 3 à 5 œufs d'après la taille de l'individu.

*Observations.* La faune mysidologique d'Indonésie est peu connue. C'est G.O. Sars qu'en mentionne un premier représentant (1883), *Euchaeomera tenuis* Sars (W. Sumatra). Illig (1930) cite *Anisomysis lamellicauda* (W. Sumatra), *Psudanchialina inermis*, *Gnathophausia gracilis*, *Gn. zoea*, *Dactylamblyops latisquamosa* et *Anisomysis megalops* (citée comme *Kreamomysis* et synonymisée par W. Tattersall (1921), toutes, au N. de Sumatra (îles Nias et Siberut). Nouvel (1973) a étudié un matériel de Jakarta, en décrivant *Siriella singularis* et *Neomysis insularis* et y citant *Mesopodopsis orientalis* Wietman (p. 154) ajoute encore pour l'Indonésie la *Paraleptomysis xenopus*.

*Javanisomysis gutzui* est la première espèce gréaire péchée si près du littoral et à seulement 1 m d'eau. On connaît pas mal de mysis grégaires, mais il nous manque des données sur les formes et les dimensions de pareilles aggrégations et surtout des informations quantitatives sur les populations respectives.

#### Remarques morphologiques, affinités

*Javanisomysis gutzui* fait partie du tribe Mysini, indiquant une parenté avec certaines espèces d'*Anisomysis*, sous genre *Anisomysis*, type *A. pelagica*. Il en diffère clairement surtout par la morphologie du IV<sup>e</sup> pléopode mâle; celui-ci est représenté seulement par l'exopodite uniarticulé et rigide, sans trace d'exopodite puis il n'est pas cylindrique qu'au delà d'une zone proximale aplatie dorso-ventralement et finissant avec une excroissance aiguë à sa partie externe. Un endopodite réduit a été signalé à un grand nombre d'espèce d'*Anisomysis*, mais il est représenté, in extremis, au moins par quelque courtes soies lissées (*A. jimai* Nakazawa, *A. levi* Băcescu etc.). Leur exopodite est toujours flexible grâce à deux articulations. En plus, l'exopodite de *J. gutzui* a clairement un minuscule article apical, fourni d'un phanère épineux (pas avec soies).

C'est le moment de rappeler que la présence de cet article a été l'objet qui a soullevé des discussions. Certains auteurs ont affirmé qu'il ne s'agit pas là d'un article, mais de la partie proximale (la trame fortement grossie), du phanère respectif; il est figuré comme tel pour certaines espèces décrites par N. I, ornée de soies (d. ex. *A. biparticulata* ou lisse et fines) ou non figurée du tout clairement; la soie à épine est figurée pour l'*A. vasseuri* Le-

doyer 1973, *A. incisa* Tattersall 1936, *A. hispida* Pillai 1976, *A. kunduchi-*  
*ana* Băc. etc.

Lors d'une révision attentive du genre *Anisomysis* l. s., on doit observer de près la présence ou le manque de cet article (possibilité qu'on ne doit pas exclure sans une minutieuse observation). Quoi qu'on dise, sa présence, la microstructure de l'armature de son phanère et du phanère juxtaposé, partant directement de bout de l'exopodite, peuvent compter dans l'établissement exact de l'appartenance systématique de certaines espèces.

Il est possible que la vie dans des agglomérations riches en individus ait conduit à la réduction des pléopodes ♀ et ♂ à l'allongement des uropodes ; les battements synchrones des complexes caudaux étant suffisants pour la propulsion lente d'aggregats de *J. gutzui* ou pour fuir l'attaquant.

#### Remarques éco-éthologiques

Une fois vu les traits morphologiques de la *J. gutzui*, il faut s'arrêter un peu sur la phosphorescence et le grégariisme de cette espèce pélagique de petite profondeur.

On sait que presque 90% des animaux abyssaux jauissent d'une propriété à part, la luminescence ou la lumière vive, qu'ils peuvent la produire ou l'éteindre à leur gré. Par contre, sont rares les animaux pélagiques littoraux qui aient la capacité de produire la lumière ; en échange, un bon nombre ont des yeux qui peuvent luir noir ou couleur d'argent, d'après l'incidence du rayon lumineux qui les touchent ; on trouve mal des travaux sur la luminescence des Crustacés — amplement étudiée et décrite même chez un mysidacé, *Gnathophausia* (Illi 1905) — mais sont rares les données sur la phosphorescence. Voyons comment se présente-t-il ce phénomène chez *Javanisomysis gutzui*.

En regardant au microscope binoculaire un lot dans un cristallisoir illuminé d'en bas, on ne voit que les yeux argentés de ces mysis parfaitement transparents. En éclairant le cristallisoir d'en haut, on voit les mêmes yeux en noir d'anthracite. J'ai répété l'expérience et j'ai obtenu les mêmes reflets rapides (presque instantanés) de la couleur des cornées. Lorsqu'on voit les cornées en couleur d'argent, presque la même couleur est reflétée par l'estomac et l'intestin du Mysidacé, donc leur contenu est également phosphorescent. Cette différence de couleur de la cornée nous montre la grande importance, comme agent physique, de la lumière sur la vie des mysis. Mais — si le phototrophisme et son influence sur les migrations verticales, même chez les mysidacés — est bien étudié on s'est arrêté très peu sur le phosphorescence de ces crustacés.

Nous sommes convaincus que beaucoup d'autres mysis grégaires et nectoniques littorales (parmi les mysini et les Leptomysini surtout) sont phosphorescentes, mais la plupart des chercheurs — y comprises l'auteur de l'article eux — n'ont pas eu l'occasion de surprendre ce phénomène.

C'est curieux qu'on ne l'a pas observé chez un proche parent de notre espèce, chez *Anisomysis mixta australis* (Zimmer 1918), dans les expériences de laboratoire, d'O. Brien et Ritz 1988, 116, p. 265 (Escape responses of gregarious Mysids, J. exp. mar. Biol.), mais on peut vérifier s'il s'agissait des espèces phosphorescentes parmi les mysis littorales de petite profondeur (représentants des tribus *Mysini* et *Leptomysini* — *Misidium* p.

ex. *Leptomysis* et autres espèces pélagiques grégaires) même sur les individus gardés dans des anciennes collections.

Nous avons examiné une espèce typique du sous-genre *Anisomysis*, appartenante à *J. gutzui*, *Anisomysis levii* que nous avions étudié en 1973. Les quelques exemplaires présentaient des yeux couleur argent ; sitôt changée la direction du rayon lumineux (illuminé d'en bas), les cornées ont reflété sur place une couleur brun-foncé, presque noire. Donc le même résultat que chez *A. gutzui*, mais réalisé après vingt ans ! C'est un argument de plus sur la parenté de *J. gutzui* avec d'autres *Anisomysis* l. s.

Donc la phosphorescence, en tant que facteur physique, persiste même après la mort des sujets, tandis que la luminescence, comme facteur biologique et le photocopisme n'agissent plus une fois morts.

Grégariisme. *J. gutzui* est une espèce typiquement grégaire de petite profondeur. Par opposition avec la phosphorescence, on trouve beaucoup plus de travaux sur les agglomérations des mysis grégaires. Pour en savoir donc plus sur le grégariisme, on peut consulter le volume de Mauchline<sup>1</sup>, notre intention étant de présenter seulement quelques observations qu'on a fait sur place sur la *J. gutzui* et avancer quelques idées sur le rôle de l'instinct grégaire chez cette espèce.

A l'avenir on doit étudier par comparaison le comportement des espèces grégaires avec les yeux phosphorescents et des celles dépourvues de phosphorescence.

En dépit du grand nombre de *J. gutzui* qu'avait formé le petit agrégat observé, il paraît qu'il conservait en général sa forme et approximativement sa position, quoi que balancé par les ondulations des vagues. C'était possible parce que les individus du conglomérat semblent en quelque sorte « liés » entre eux par les longs flagelles des antennes. Cette supposition a été confirmée par le fait que lorsqu'on sort un exemplaire mort (depuis peu de temps) du lot — celui-là tire après lui 2—3 autres individus ; on a l'impression qu'entre les mysis s'étend un réseau de fins fils — les flagelles — eux-mêmes tout à fait transparents.

Notre collègue, Modest Guțu, qui a capturé cette espèce phosphorescente, nous a raconté : « Cette mysis grégaire formait une dense agglomération globuleuse d'une trentaine de centimètres de diamètre juste au-dessous de la fine pellicule superficielle ; je l'y ai pu détecter seulement par la trahison des mille points noirs mobiles (reconnus ultérieurement comme des cornées des yeux de ce mysidacé) ; j'ai sorti 1350 individus, avec un filet à mailes denses de cet agrégat à peine mobile, qui ondulait au moment de la capture ; il se trouvait entre deux eaux — près d'une digue où la profondeur ne dépassait pas 60 cm ».

La raison de pareils comportements des espèces grégaires n'est pas non plus bien élucidée ; il est sûr que l'instinct grégaire a conduit ces espèces vers la transparence complète du corps à l'exception de l'organe phosphorescent ; elles se sauvent plus facilement des attaquants d'en haut, en les égarant par les jeux de mille et cent points lumineux.

Si l'agglomération est attaquée d'en bas, la transparence parfaite du corps et les reflets argentés des yeux projetés vers le ciel (de *J. gutzui* p.

<sup>1</sup> Mauchline John, « The Biology an Mysids and Euphausiids », vol. 18 des « Advances on Marine Biology, London 1988 », pp —160 —186 (« Behaviour »).

ex.) empêche l'attaquant de saisir un certain individu, facilitant en même temps l'éloignement de l'agrégrat du secteur dangereux

Il est aussi possible — et nous avons toujours eu en vue les mysis qui vivent près du littoral — que les aggrégations aident les populations englobées dans de pareils agrégats à résister aux vagues y déferlant et aux jeux des marées mieux que les individus isolés en facilitant à la fois l'approche des sexes et favorisant la reproduction des espèces respectives.

Reçu le 15 janvier, 19

*Musée d'Histoire Naturelle « Grigore Antipa »  
Bucarest, Kiseleff 1*

# CONTINENTS, OCEAN BASINS AND FRESHWATER ZOOGEOGRAPHY

## ZOOGEOGRAPHY

## I. AFRICA

PETRU M. BĂNĂRESCU

The distribution pattern of primary freshwater lineages in tropical/southern Africa demonstrates closer ties between the eastern and western slopes of the continents than with southern Asia or South America, infirming the opinion that the distribution of continental lineages corresponds to ocean basins rather than with continents; on the contrary, the distribution of peripheral freshwater animals is consistent with this opinion.

In his books (9, 10) and in several papers L. Croizat expressed the opinion that the major distribution "tracks" of continental lineages of animals and plants cross oceans and that the classical biogeographic realms — Neotropical, Ethiopian, etc. — are fictions, the ranges of lineages corresponding to ocean basins rather than to present-day continents. His views have been adopted by several panbiogeographers and vicariance biogeographers, i.o. by Parenti (32), who supports Croizat's views based on the distribution of two freshwater (actually euryhaline) lineages of fishes of the peripheral division: Phalostethidae and the goby subfamily Sicydiinae.

Zoologists became aware, more than 80 years ago, that numerous continental (terrestrial and primary freshwater) lineages range in two or more continents separated by oceans; v. Ihering (20, 21) explained these distributions by former land-bridges and Jeannel (23) by continental drift.

The clue of the problem is to determine whether the fauna and flora from one slope of a continent have closer ties with those from the other slope of the continent or with those present on the opposite side of the ocean, in another continent.

Africa is the most adequate continent for investigating the problem. It lies between South America and southern Asia and has been intimately connected with both in pre-drift times, the separation having been determined by the fragmentation of plates and the appearance of the Atlantic and Indian oceans. Africa is drained by numerous rivers, some flowing westwards, into Atlantic Ocean, opposed to South America, others eastwards, into the Indian Ocean.

Analyzing the distribution patterns of freshwater lineages, one must distinguish between true continental groups (aquatic insects, primary freshwater fishes, crustaceans and molluscs), whose evolution took place exclusively in freshwater, and peripheral ones, whose not too remote ancestors colonized the inland waters from the sea. Panbiogeographers and vicariance biogeographers usually do not accept the distinction between primary, secondary and peripheral freshwater animals, because this distinction is based on dispersal abilities, dispersal being the pet-

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. ANIM., TOME 37, № 2, P. 87—96, BUCAREST, 1992

aversion of the supporters of these two biogeographical schools. I can not accept their viewpoint.

The inland water fauna of Africa comprises many lineages shared with southern Asia and absent from South America, others only shared with South America and others shared with both continents.

Shared with south Asia (or also with other areas of Eurasia) and absent from South America are six families of primary freshwater fishes — Cyprinidae (subfamilies Rasborinae and Cyprininae), Cobitidae, Notopteridae, Channidae, Mastacembelidae, Anabantidae — one of primary freshwater mussels (Unionidae), one family (Bythiidae) and two subfamilies (Bellamyinae, Paludominae) of primary freshwater prosobranchiates, the pulmonate genus *Pettanecytus* and several genera of caddis flies (*Dipseudopsis*, *Stenopsyche*, *Hyalopsyche*, *Ecnomus*).

Eight genera of rasborine cyprinids are present in Africa : one shared with south Asia (*Raiamas*, 16 African species, all in the west : 11) and seven endemic ones. Six of these are interrelated, building the neoboline group, which is the sister of *Raiamas*; the group consists of three pairs of sister genera, two pairs comprising a western and an eastern member (19). The last endemic genus, *Opsaridium* (five western and four eastern species) is closest to six southern and eastern Asian genera, being more distantly related to the neoboline/*Raiamas* group (18). Clearly, the endemic eastern African members of the subfamily are more closely related to the western African than to the Asian genera, while the only genus shared with Asia and the endemic African genus having closest Asian ties (*Opsaridium*) comprise more western than eastern African species (Area cladogram of the African rasborines : Fig. 1).

Fig. 1. Area cladogram of the African Rasborinae.

Fifteen genera of Cyprininae are presently accepted in tropical southern Africa (11). The largest is *Barbus*; however, none of the more than 270 described tropical African *Barbus* species does actually belong to the European/Mediterranean *Barbus* s. str.; they build several endemic African genera, some of which are close to the southern Asian *Puntius*, others to *Tor*. Shared with Asia are *Labeo*, disjunctly distributed in southern Asia and Africa (36 described western and 26 eastern African species in 1984 : 11) and *Garra*, with a continuous distribution from China to western Africa. The latter comprises ten African species (four eastern, four western, one on both slopes of the continent and one in extreme eastern Africa and in the Arabian Peninsula : 15 ; 11). All belong to a species group also in western Asia, being more distantly related to the southern and eastern Asian species (15).

Twelve genera of Cyprininae are endemic to Africa. The largest, *Varicorhinus*, has about 27 western, two eastern and two southern species (11); eight small genera are western African, two monotypic, hypogean

ones eastern African, one endemic to the western slope of south Africa (11). Hence, similarly to the Rasborinae, the Cyprininae are better represented on the western slope of Africa, in spite of their Asian ties.

A single species of Cobitidae lives in tropical Africa (lake Tana, eastern slope). It belongs to a monotypic, still undescribed genus of Noemacheilinae, bearing some similarity with two western Asian genera (1).

Notopteridae has two monotypic genera in Africa (western slope : 11); they are interrelated, having more distant ties with the Asian genus of the family (38). Confined to the western slope and the Nile is also the only African genus of Channidae (*Parachanna*), the two others are Assian. Both African genera of Anabantidae (*Ctenopoma*, 26 species, all western, two also in the Zambezi basin, eastern slope but only in the more western headwaters) and *Sandelia*, southern African are interrelated, the Asian genus being more distinct (1). Interrelated also are both African genera of Mastacembelidae (*Coecomastacembelus*, predominantly western, *Afromastacembelus* predominantly eastern, but with widely overlapping ranges : 11); the Asian genera belong to another subfamily. Finally, the only African genus of Channidae, *Parachanna*, is restricted to the western slope (11); it may be the sister of the South and East Asian *Ophiocephalus*.

The mussel family Unionidae comprises five genera in tropical/southern Africa : *Unio* shared with Europe (one species in eastern, another isolated in southern Africa) and four endemic tropical African genera : *Coeleatura*, with numerous western species and one in Limpopo River basin (eastern slope of southern Africa) and three genera endemic to the lakes of the Zaire River basin, again on the western slope (24). Two of these four genera are placed (40) in the same subfamily with several southern Asian ones.

Bythiidae is a widely distributed eastern hemisphere family, also in Australia. It comprises seven African genera : four western, two eastern, one (*Gabiella*) on both slopes and in western Asia (40 ; 7). Their sister relationships are not known; most are probably closest to the southern Asian genera; however, *Gabiella* bears certain similarity with the only Australian genus of the family.

The snail subfamily Bellamyinae of Viviparidae has a "palaeotropical" distribution from Africa to Australia/New Guinea. Two genera are present in Africa : *Neothauma*, endemic to lakes Tanganyika and Malawi and *Bellamya* shared with southern Asia and Australia. The latter comprises about 18 species in eastern and western Africa (40 ; 7); their relationships seem not to have been studied.

Four genera of Pleuroceridae live in Africa : *Lavigeria* (lake Tanganyika, western slope but eastern half of the continent, related to an East Asian genus and three genera having southern Asian ties ; one of them is confined to the western slope, the two others seem to comprise more eastern than western species (27 ; 40 ; 7).

Asian ties also occur in both African families of freshwater crabs : the endemic Potamonautidae (two small exclusively western genera and a large one throughout the continent, with more western than eastern species (3), which is related to three Asian families (4), and Gecarcinucidae, disjunct in western and southern Africa, Madagascar and southern Asia (4). In distance, the differences between African and Asian members of similar lineages are smaller than those between African and South American ones.

The caddis fly genus *Stenopsyche* comprises many species in southern, High and East Asia and a single one in western African (36); the three other caddis fly genera shared with southern Asia include more species on the western than on the eastern slope of Africa<sup>1</sup>.

Shared exclusively by Africa and South/Central America are two lineages of primary freshwater fishes: the family Lepidosirenidae (in Africa lives *Protopterus*, with three western and one eastern species : 11) and the large order Characiformes, with three African and eleven American families; according to Géry (14) there is no family shared by both continents; the African genera former in Characidae belong to a distinct family, Alestidae, considered the sister of Characidae. Alestidae includes 13 genera on the western slope of Africa, a monospecific one on the eastern one and four on both slopes (14 ; 11). The second African family of the order has 19 western genera and one with six western and four eastern species, while the monospecific Hepsetidae is western, too (11).

The endemic African mussel family Mutelidae is the sister of the South American Mycetopodidae; it has three genera: one on the western slope, two with more western than eastern species (24).

Shared exclusively with South America are also:

- a genus of sphaeriid mussels, *Eupera*, with five African species (two western, two eastern, one on both slopes (24);

- the pulmonate genus *Biomphalaria*, with more western than eastern African species (40 ; 13 ; 7);

- a family of freshwater sponges, Potamolepidae, with two African genera, until now only recorded from the western slope (6);

- the blepharicerid genus *Elporia*, with most described species in southern, fewer in western Africa, not yet recorded from the eastern slope and one species in warm-temperate South America (16);

- a genus of hydropsychid caddis flies, *Leptonema*, also in Madagascar, Central America and the Antilles. The African species (most western, fewer eastern) are interrelated; they have closer ties with the species from Madagascar than with the American ones (12).

More significant are the lineages shared both with southern Asia and South America, since they allow to use three areas cladograms.

Lineages of primary freshwater fishes displaying such a distribution are: Osteoglossidae, Nandidae and the order Siluriformes.

The only African genus of Osteoglossidae, *Heterotis*, present on the western slope and in the Nile, is closer to the South American *Arapaima* than to the south Asian/Australian *Scleropages* (28).

The two African genera of Nandidae (both western) are closer to one another and to the Asian *Nandus* than to the South American genera (39).

Six families of Siluriformes are present in Africa: three endemic, three only shared with Asia.

<sup>1</sup> A primary freshwater genus from South Africa, *Mesamphisopus* (Isopoda, Phreatoicidae) displays another type of "trans-Indian Ocean" distribution; according to an older classification (30) it is closest to a genus of south-western Australia, according to a new one (Dr. Knott, in litt., December 1980) it is related to a genus from south-western and to one of northern Australia.

Endemic are: Malapteruridae (western slope and the Nile) with no close relatives, Amphilidae, sister of the Asian Sisoridae (two western African genera and three on both slopes, with more species on the western one), and Mochokidae, related to three South American families (8), comprising six western African genera and three on both slopes of the continent, with much more western than eastern species (11).

Shared with Asia are Schilbeidae (four western African genera, three on both slopes with more western species), Clariidae (eight western African genera, one eastern, two on both slopes, again with more western species) and Bagridae. The later belongs to a superfamily also comprising two south Asian families, a North American and a South American one (8). Since the African genera are ascribed to a family also in Asia, it means they have closer south Asian than South American ties. 19 genera are present in the continent, all endemic (11): 11 are western, one lives in the south, a single one is exclusively eastern (the monospecific *Pardiglanis* from Somalia, one is western and southern, while five are shared by the western and eastern slope, including more western species (11). 12 of the 13 genera known in 1966 are ascribed to exclusively African subfamilies (22), a single one to a subfamily also in south Asia: *Bagrus* (= *Porcus*), with seven western and three eastern species. The only endemic east African genus, *Pardiglanis*, described later (33), is closest with *Clarotes*, which comprises two western and one eastern African species (11); hence, it has closer western African than Asian ties.

Shared by South/Central America, Africa, Madagascar and southern Asia also is the superfamily Aplocheiloidei of the secondary freshwater Cyprinodontiformes : 31; it has one American family and another shared by Africa, Madagascar and southern Asia.

The only family of primary freshwater prosobranchiates shared by Africa, South America and southern Asia is Pilidae, with four genera in Africa: two exclusively western, *Lanistes* on both slopes (fossil also in western Asia) and *Pila* on both slopes of Africa and in Asia; three other genera are American. There are no data about the sister-relationships of the genera; it would be important to know if the endemic western African genera are closer to the South American or to the pan African and Asian ones.

Present in the three continents are also the two families of bathynellacean Crustacea. The four African genera of Parabathynellidae known in 1974 (others have been described later) are closer to three South American ones and with the only genus from Madagascar than to the southern Asian genus (37). Closer South American ties have also the three African genera of Bathynellidae, all confined to the southern third of the continent: one is shared with warm-temperate South America, the two others are related to a Chilean genus (39).

Following conclusions derive from this analysis of the distribution patterns of continental freshwater animals from Africa.

(1) Africa shares more exclusive lineages with southern Asia than with South America; accepting that taxonomic rank corresponds to genetic distance, the differences between African and Asian members of shared lineages are smaller than those between African and South American ones.

(2) Within lineages shared with either south Asia or South America and present on both slopes of Africa, the eastern African members are more closely related with the western African than with the Asian ones and the western African more closely related with the eastern African than with the South American ones. This fact, clearly demonstrated in the preceding pages infirms the assertions of Croizat (9, 10) and Parenti (32) according to which the ranges of continental lineages corresponds to ocean basins rather than to continents.

(3) Most lineages shared with south Asia are present on both slopes of Africa (Cobitidae being the most notable exception); many are even restricted to the western one. The number of western African species in these lineages is usually higher than that of eastern ones. It is worth mentioning however that the occurrence of a lineage in southern Asia and western Africa obligatorily implies its former presence also in eastern Africa, followed by later extinction.

(4) Within the lineages present in the three continents and in Africa on both slopes, the closest affinities are between western and eastern Africa; the African members are usually closer to the Asian than to the South American ones (exceptions: Osteoglossidae, Bathynellidae, Parabathynellidae). The South American members are taxonomically the most distant. (Fig. 2).

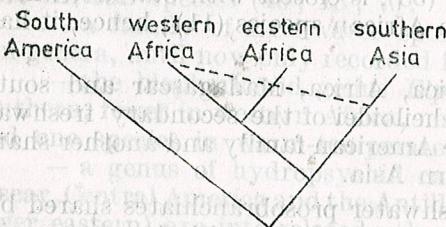


Fig. 2. — Area cladogram of the primary freshwater fauna of Africa.

These date are consistent with the earlier isolation of South America from the tropical fragment of Gondwanaland, the separation of India from Africa took place later. After the complete isolation of Africa, faunal exchanges between the river basins of the western and eastern slope have been possible, but not exchanges with other continents.

The distribution patterns and relationships of the African freshwater animals belonging to the "peripheral division", i.e. having a comparatively recent marine origin differ much from those of the primary freshwater ones. There are strong differences between the eastern and the western African faunas of peripheral animals.

The eastern African one has clear Indo-West Pacific marine ties. Numerous species have a wide distribution, also in southern Asia or even the Pacific isles; some are euryhaline, living also in salt water (a few spawn however also in pure fresh water); others have been recorded only from freshwater, but their wide distribution proves transmarine dispersal abilities. Such species are: many tens of fishes (six anadromous *Anguilla*, two *Kuhlia*, seven syngnathids, numerous gobies: (11), the snails *Neritina pulligera* and *Thiara amarula*: 7, 40), several atyid and palaemonid prawns (*Antecaridina lauensis*, *Palaemon concinus*, species of *Caridina*, *Neocaridina*, *Macrobrachium*: 42; 17), at least five amphipods (1). Several eastern

African endemics, restricted or apparently restricted to freshwater, belong to Indo-West Pacific genera including marine, euryhaline or exclusively freshwater species: five fishes (four gobies and one *Arius*), prawns of the genera *Caridina* and *Macrobrachium* (42; 17), mussels of the genus *Corbicula* (50), snails of the genera *Clea* (Buccinidae, one east African and two south Asian subgenera: 40), *Thiara*, *Melanoides* (Thiaridae), *Assiminea*, *Eussoia* (Assimineidae) (40; 7). Present in eastern, and absent from western Africa also are some hypogean genera of peracarids belonging to Tethyan, mainly eastern Tethyan lineages: *Stenasellus* (also in Europe and southern Asia, absent from the Caribbean area), *Acantastenellasellus* (endemic; an offshoot of the preceding), *Monodella* (also in the Caribbean and circum Mediterranean area, eventually also in southern Asia), *Skotobaena* (endemic, of a Mexican-circum-Mediterranean lineage), *Protocerberus* and *Afrocerberus* (endemic south-eastern African, possibly related to a Mexican genus: 41, 26).

The western African fauna of peripheral animals has closest ties with the tropical Atlantic marine and with the eastern South American freshwater one. Typical in this respect: the prawn genus *Atya* (two freshwater western African species, two shared with eastern South America, the others American, none marine: 15); two exclusively western African and eastern South American genera of donacid mussels (*Iphigenia* strictly freshwater, *Egeria* marine: 40); the prawn subfamily *Euryrhynchinae* (two western African genera, another in eastern South America: 17, 36) and the family *Alpheidae* (a freshwater genus in western Africa, another comprising freshwater species in western Africa and in Mexico; the other members of the family marine: 35) and a few subgenera of neritid snails (40). Marine Atlantic ties also have many peripheral fishes from western Africa, most euryhaline (11). The sister relationship of three fish genera, apparently confined to the freshwaters of western Africa (two monotypic little known ones and the gobiid *Kribia*: 11) have not been established.

Endemic to the underground fresh waters of west Africa are three genera of stenasellid isopods — *Metastenasellus*, *Magniezia*, *Parastenasellus* — unrelated to the eastern African *Stenasellus/Acanthostenasellus* group and showing a certain degree of similarity with the Mexican genera (G. Magniez, in litt., 15.X.1985). Hence, they may have marine Atlantic ties, too.

However, the west African inland water fauna also comprises some members of prevalently Indo-West Pacific lineages: 11 resident freshwater fish genera of clupeid fishes belonging to *Pelonulinae* (Mr. P. J. Whitehead, in litt., July 1971), four endemic genera of atyid shrimps of the *Caridella series* (5; 26) and four species of *Tetraodon* (pufferfishes: 11); the other members of these lineages are Indo-West Pacific and southern Asian, none living in the Atlantic Ocean basin outside western Africa. Restricted to the freshwaters of western Africa and southern Asia/Indonesia also is a genus of synbranchid fishes, *Monotretus*; the family *Synbranchidae* has a typical Tethyan distribution (1). It is worth mentioning that the comparatively few western African peripheral animals with Indo-West Pacific ties are more distantly related to the marine or southern Asian relatives than those with Atlantic/South American ties. This means they are older inhabitants of inland waters; their ancestors first

colonized continental waters of eastern Africa, dispersed by continental routes to western Africa (hence representing an intermediate category between peripheral and continental freshwater animals) and became later extinct from eastern Africa.

The general distribution pattern of the African peripheral freshwater lineages is, contrary to that of continental ones, consistent with Croizat's (9, 10) and Parenti's (32) views: the eastern African members are closer to the south Asian than to the western African ones, the latter being closest to the South American members (Fig. 3).

tropical tropical South  
eastern western America eastern western Indo.  
Pacific Pacific freshwater Atlantic Africa Africa West southern  
marine marine freshwater freshwater Pacific Asia  
freshwater

Fig. 3. — Area cladogram of the peripheral freshwater fauna of Africa.

The present-day distribution patterns of all freshwater lineages (continental and peripheral as well) has been greatly influenced by drastic extinctions in the east of the continent and survival of most lineages in the west.

#### REFERENCES

- Bănărescu P., 1990. *Zoogeography of Fresh Waters*, 1. Aula Verlag, Wiesbaden.
- Botoșaneanu L. (ed.), 1986. *Stygofauna Mundi*: Brill/Backhuys, Leiden.
- Bott R. 1955. Ann. Mus. Roy. Congo Belge, C. Zool., III, III, 1 (3): 209–352.
- Bott R. 1970. Abhandl. senckenberg. naturf. Ges., no. 526: 1–338.
- Bouvier E. L., 1925. *Recherches sur la morphologie, les variations, la distribution géographiques des crevettes de la famille des Atyidés*. Encyclop. Entomologique, (A), 4. Paris.
- Brien P. 1970. Sympos. Zool. Soc. London, 25: 163–186.
- Brown D. S., 1980. *Freshwater snails of Africa and their medical importance*. Taylor & Francis, Ltd. London.
- Chardon M. 1967. Ann. Soc. Roy. Zool. Belgique, 97: 35–58.
- Croizat L. 1958. *Panbiogeography*, 1, 2a, 2b. Published by the author, Caracas.
- Croizat L. 1962. *Space, Time, Form: the biological synthesis*. Published by the author, Caracas.
- Daget J., Gosse J. — P., Thys van d. Audenaerde, D. F. E. 1984–1986. *Checklist of the Freshwater Fishes of Africa*, 1–2. ISNB, Bruxelles, MRAC Tervuren, ORSTOM Paris.
- Flint O., McAlpine J. F., Ross H. H. 1987. Smithsonian Contr. Zool. 450: 1–193.
- Freeratt V., Peake J. (eds.) 1978. *Pulmonates*, 2 Academic Press, London – New York.
- Géry, J. 1977. *Characoid fishes of the world*. T. F. H. Inc., Neptune.
- Hobbs H. H., Hart, C. W. 1982. Smithsonian Contr. Zool., 364: 1–143.
- Hogue Ch. L. 1975. Family Blephariceridae: In: *Catal. Diptera of the Americas south of the United States*, 8. 1–8.12.

- Holthuis L. B. 1950. *Siboga Exped. Monogr.*, 39 a: 1–268.
- Howes G. J. 1980. Bull. Brit. Mus. nat. Hist. (Zool.) 37 (3): 139–198.
- Howes H. J. 1984. Bull. Brit. Mus. nat. Hist. (Zool.) 47 (3): 151–185.
- Ihering H. von. 1907. *Archheleis und Archinotis. Gesammelte Beiträge zur Geschichte der neotropischen Region*. Leipzig.
- Ihering H. von. 1927. *Die Geschichte des Atlantischen Ozeans*. G. Fischer, Jena.
- Jayaram K. C. 1966. Bull. Inst. Fondam. Afr. Noire, 28, A (3): 1064–1139.
- Jeannel R. 1942. *La genèse des faunes terrestres*. Presses Univ., Paris.
- Mandahl-Barth G. 1988. *Studies of African freshwater bivalves*. Danish Bilharziasis Laboratory, Charlottenlund.
- Menon A. G. K. 1964. Mem. Indian Museum, 14 (4): 173–260.
- Monod Th. 1975. *Mém. Mus. nat. Hist. nat. Paris (n. s.)* 88: 98–105.
- Morrison J. P. E. 1954. Proc. U. S. nat. Mus., 103 (325): 357–394.
- Nelson G. 1969. Amer. Mus. Novit., no. 2394: 1–37.
- Nelson J. 1976. *Fishes of the world*. 2nd edit., John Wiley & Sons, New York.
- Nicholls G. E., 1943. Papers a. Proc. Roy. Soc. Tasmania 1942: 1–145.
- Parenti L. R. 1981. Bull. Amer. Mus. nat. Hist., 168 (4): 335–557.
- Parenti L. R. 1991. Austr. Syst. Bot., 4: 137–149.
- Poll M., Lanza B., Ramoli-Sass, A. 1972. Monit. zool. ital., N. S. suppl. — IV, No. 15: 327–345.
- Powell C. B. 1976. Rev. zool. afr. 90(4): 883–902.
- Powell C. B. 1979. Rev. zool. afr., 93 (1): 116–130.
- Schmid F. 1969. Canad. entomol., 101: 187–224.
- Schminke H. K., 1973. Microfauna d. Meeresboden, 24: 1–192.
- Schminke H. K., Wells, J. B. J. 1974. Arch. Hydrobiol., 73 (1): 122–129.
- Serban E., Coineau, N., 1975. Ann. Spéléol., 30 (1): 137–165.
- Starobogatov Ia. I. 1970. *Fauna molluskov i zoogeograficheskoe rajonirovaniye kontinentalnykh vodoemov zemnogo shara*. Nauka, Leningrad.
- Wägele J. W. 1983. Bull. zool. Mus. Univ. — Amsterdam, 9 (8): 65–74.
- Woltereck E. 1937. Intern. Rev. ges. Hydrobiol. Hydrogr. 34: 294–330.

Received April 7, 1992

Center of Taxonomic Zoology  
Bucharest, str. Frumoasă 31 B

*Material.* Holotype-adult male (dissected) from the eastern Pacific Ocean, Peru – Chile Trench, 10°07' S 80°07' W, 4661–4728 m depth, collected during the 15th campaign of R/V "Vema", st. 71, at 17. XII. 1958, is deposited in the collection of types (Crustacea) of the "Grigore Antipa" Museum of Natural History from Bucharest, with number 49.512/755.

Carapace (Fig. 1A–C) shows dorsally two rows each of 8 formed by 8 denticles towards the pereion. Those continue with 4 median bigger solitary denticles and with 4 double ones on the ocular lobe. Pseudorostrum, long (0.36 from the length of the carapace), has 2 teeth on its basis. The antero-ventral rounded and with teeth. Carapace (without pseudorostrum) represents 1/4 from the total length of the body. Pereion and pleon (Fig. 1 A) thin, with a glabrous tegument. Size: 4.42 mm.

Antennule (Fig. 1 D) has a peduncle with short articles. The accessory flagellum, 1-articulated, is a little shorter than the first article of the main flagellum.

Antenna (Fig. 1 E) has the main flagellum formed by 41 short articles.

Maxilliped III (Fig. 1 F) has the basipodite longer than the rest of the articles taken together. It presents two pinnated setae in the distal part. The process of the basipodite bears 4 feathered setae (2 of them broad).

*LEUCON SAVULESCU* n. sp. (CRUSTACEA, CUMACEA)  
FROM THE PERU—CHILE TRENCH

Pereopod I—V, the last one has a small pereopodite from all the pereopods. The rest of the pereopods I—IV have exopodites.

IORGU PETRESCU

On décrit une nouvelle espèce du genre *Leucon* : *Leucon savulescui* n. sp. de la Fosse Pérou-Chili.

Shortened the chelipodal palm (texos), the peduncle of the pedopodite (texos) two articulated short spikes are on the distal margin

From the large lot of Cumaceans collected during the campaigns of R/V "Vema" (1958—1962) and donated for study to the "Grigore Antipa" Museum of Natural History from Bucharest by dr. Meredith Jones (National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, U. S. A.) I identified a new species belonging to the genus *Leucon*, from the waters of the Pacific Ocean (Peru — Chile Trench). The present note belongs to an ample study of the Cumaceans from the surrounding waters of Southern America from which a note (3) appeared and another one is in press (*Travaux du Muséum d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa"*, vol. 32). A very distinguished physician and entomologist, renowned Romanian specialist in Coleoptera.

*Leucon savulescui* n. sp.

*Remarks*

(Fig. 1A — K)

*Diagnosis.* Carapace with a dorsal ridge formed by 8 pairs of denticles situated in two parallel rows towards the pereion, 4 median bigger, solitary denticles and 4 double ones on the ocular lobe.

*Description of the male*

*Material.* Holotype-adult male (dissected); type locality — Eastern Pacific Ocean, Peru — Chile Trench, 10°07' S 80°57' W, 4661—4723 m depth, collected during the 15th campaign of R/V "Vema", st. 71, at 11. XII. 1958, is deposited in the collection of types (Crustacea) of the "Grigore Antipa" Museum of Natural History from Bucharest, with number 49.512/755.

Carapace (Fig. 1A—C) shows dorsally two rows each of it formed by 8 denticles towards the pereion. Those continue with 4 median bigger solitary denticles and with 4 double ones on the ocular lobe. Pseudorostrum, long (0,36 from the length of the carapace), has 2 teeth on its basis. The antero-ventral rounded and with teeth. Carapace (without pseudorostrum) represents 1/4 from the total length of the body. Pereion and pleon (Fig. 1 A) thin, with a glabrous tegument. Size: 4.42 mm.

Antennule (Fig. 1 D) has a peduncle with short articles. The accessory flagellum, 1-articulated, is a little shorter than the first article of the main flagellum.

Antenna (Fig. 1 E) has the main flagellum formed by 41 short articles.

Maxilliped III (Fig. 1 F) has the bazipodite longer than the rest of the articles taken together. It presents two pennated setae in the distal part. The process of the bazipodite bears 4 feathered setae (2 of them bro-

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. ANIM., TOME 37, N° 2, P. 97 — 100, BUCAREST, 1992

REFERENCES

- Bărescu P., 1980. *Zoogeography of Fresh Waters*, 1. Akademie Verlag, Wiesbaden.
- Botosaneanu L. (ed.), 1926. *Synopsis Mundus*. Brill/Baedeker, Leiden.
- Bott R., 1955. Ann. Mus. Roy. Congo Belge, G. Zool., III, III, 1 (3): 209—362.
- Bott R., 1970. Abhandl. Senckenberg. Naturf. Ges., no. 526, 1—338.
- Bouvier E. L., 1928. Recherches sur la morphologie, les variations, la distribution géographique des crevettes de la famille des Atyidae. Encyclop. Entomologique, (A), 4. Paris.
- Diven P., 1970. *Sympos. Zool. Soc. London*, 25: 163—186.
- Diven P. S., 1980. *Freshwater shrimps of Africa and their medical importance*. Taylor & Francis, Ltd., London.
- Charlier M., 1967. Ann. Mus. Roy. Zool. Belgique, 97: 35—58.
- Groizat L., 1958. *Panbiogeography*, 1, 2a, 2b. Published by the author, Caracas.
- Groizat L., 1962. *Space, Time, Form: the biological synthesis*. Published by the author, Caracas.
- Daget J., Gosse J., van der Aa den Engerda, D. V. L., 1984—1986. *Checklist of the Freshwater Fishes of Africa*, 1—2. ISBN: Bruxelles, MRAC-Tervuren, ORSTOM, Paris.
- Finst O., McAlpine J. F., Ross H. H., 1987. Smithsonian Contr. Zool. 450: 1—193.
- Fretter V., Peake J. (eds.), 1978. *Pelagicones*. Academic Press, London — New York.
- Géry J., 1977. *Characoid fishes of the world*. T. F. H. Inc., Neptune.
- Hobbs H. H., Hart G. W., 1982. Smithsonian Contr. Zool. 364: 1—143.
- Hogue Ch. L., 1975. Family Eleotriidae. In: *Catalogue of the Americas south of the United States*, 8, 1—3, 12.

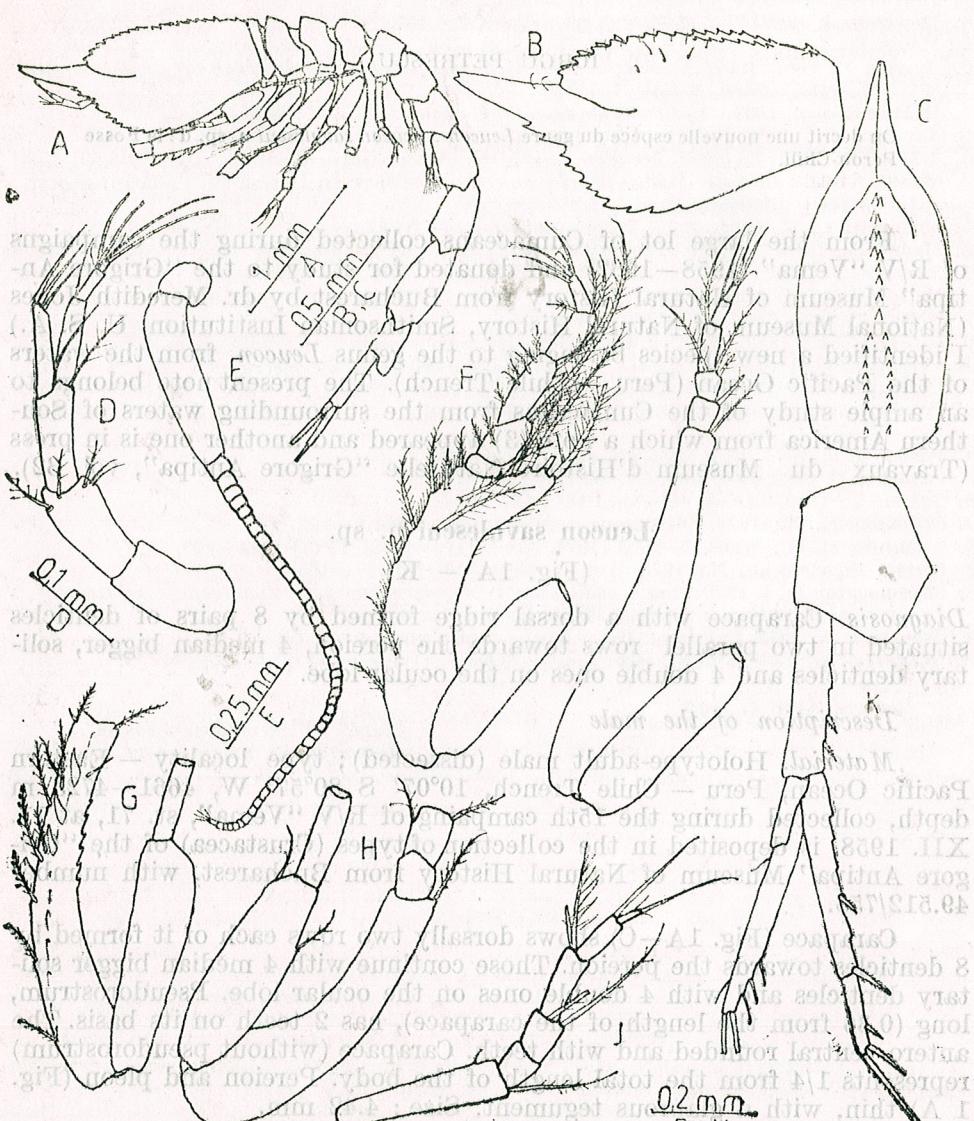


Fig. 1. — *Leucon savulescui* n. sp. Holotype ♂.  
A, body, lateral view; B, carapace, lateral view; C, carapace, dorsal view; D, antennule; E, antenna; F, maxilliped III; G, pereopod I; H, pereopod II; I, pereopod III; J, pereopod V; K, uropod.

ken). Carpopodite shows a strong tooth on the inner margin. Dactilopodite, shorter than the propodite, has 5 simple apical setae.

Pereopod I (Fig. 1 G) is broken. The bazipodite shows characteristically three strong teeth in the distal extremity of its median ridge.

Pereopods II (Fig. 1 H) and IV are broken.

Pereopod III (Fig. 1 I) very long, has the longest bazipodite from all the pereopods. The rest of the articles are short. Pereopods I—IV have exopodites.

Pleopods (Fig. 1 A), two pairs, are common for the genus.

Uropods (Fig. 1 K) have peduncles subequal with pleotelson, but shorter than the uropodal rami (exopodite/peduncle = 1.4; endopodite peduncle = 1.65); two pectinated short spines are on the inner margin (others are broken). Exopodite, a little shorter than the endopodite (1 : 1.1), has two apical setae, broken and three simple and shorter ones on the inner margin. Endopodite has a long proximal article (proximal article/distal article = 2.6). The proximal article shows two pectinated spines on the inner margin, the distal spine is longer (the rest of the spines are broken). The distal article of endopodite has two pectinated spines on the inner margin, a terminal spine, longer than the other ones and an apical pennated seta, longer than the spine and broken.

*Derivatio nominis.* The species is dedicated to the memory of Nicolae A. Săvulescu, distinguished physician and entomologist, renowned Romanian specialist in Coleoptera, as a pious homage.

#### Remarks

This species presents a unique character within the genus: the dorsal denticulation of the carapace. For the moment, based only on one species with such a feature we cannot say exactly if it belongs to a new subgenus or not. The other characters generally correspond to those of the subgenus *Crymoleucon* according to Watling's delimitation (5) (long accessory flagellum of antennule and the endopodite ended by a pennated seta and a spine). Antennule resembles those of *Leucon (Crymoleucon) sagitta* Zimmer, 1909 from the Southwestern Atlantic and from the subantarctic waters (6), *L. (C.) septemdentatus* Zimmer, 1902 (SW Atlantic), and *L. (Epileucon) socius* (Bishop, 1981) (1). Pereopod I of this species is similar with those of *L. (L.) nasica orientalis* Lomakina, 1952 from the NW Pacific (2) *L. (E.) socius*, but the teeth of the bazipodite are stronger. Without ventral teeth on the fifth pereionite like in the species of the subgenus *Epileucon*. Uropods are like those of *L. (C.) septemdentatus*, but with thinner rami and with a different number of spines and setae and of *L. (E.) longirostris* (Sars, 1871) (4) and *L. (E.) socius*, but with a different number of spines and setae, too. Of course, this species is more related with the species from the cold waters of SW Atlantic.

The entomophagous in which the specimen was found:  
*Tachys fulvicollis* Dej. (halophilous); *Bembidion (Lophus) quadrinotatum* Germ. (halophilous);  
*L. (euryhaline) (Bembidiidae)* REFERENCES  
*Pogonistes rufogenuis* Dej. (halophilous) (Pogonidae); *Dicheirotrichus obsoletus* (Harpalidae);

1. Bishop J. D. D., 1981, Phi. Trans. Roy. Soc. London, **291**, 1052, 353–409.
2. Lomakina N. B., 1952, Trudy Zool. Inst. Akad. Nauk SSSR, **12**, 155–170.
3. Petrescu I., 1991, Revue roum. Biol., Sér. Biol. Anim., **36**, 1–2, 15–20.
4. Sars G. O., 1871, K. Svensk. Vet. Akad. Handl., **9**, 13, 50.
5. Watling L., 1991, Journ. Crust. Biol., **11**, 4, 569–582.
6. Zimmer C., 1909, Wiss. ergeb. Schwed. Südpolar., **56**, 3, 1–31.

Received, February 3, 1992

“Grigore Antipa” Museum of Natural History  
Bucharest ~ Kiseleff 1

**CARDIODERUS CHLOROTICUS F.-W., A NEW SPECIES  
FOR THE ROMANIAN FAUNA (COLEOPTERA,  
CARABOIDAEA, POGONIDAE)**

To the previous page  
to the next page

ROICA GIURGĂ and IOANA ROMAN

Key to the beetles to which the species belongs

The effect of Selenium (0.3 mg/kg of fodder) and E. vitam (125 mg/kg of fodder) on the performance of broiler chickens

Among numerous beetles collected between 1950 and 1955 by Dr. Nicolae Săvulescu from Lacu Sărăt (southeastern Romania), the author determined a specimen of *Cardioderus chloroticus* F.-W. (fam. Pogonidae).

On the basis of the morphological characters of the species described below, we can conclude that it is a new species.

Kryzhanovskyi considered probable the occurrence of *Cardioderus chloroticus* F.-W. in eastern Romania, without other specification (6), but this recording from Lacu Sărăt (1 ♂, 22.05.1955, leg. N. Săvulescu) represents a precise data which certifies the existence of the species in the Romanian fauna.

The range of this monotypic genus covers only the southeastern Europe and western Asia. This halobiont species was until now recorded from the Balkan (and from eastern Bulgaria), the Caucasus, Turkmenia, Kazakhstan, Altai (2).

11 18 31

Chickens aged 6 days post-eclosion 2351 2980 294 810 + 113

Chickens aged 14 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 21 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 28 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 35 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 42 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 49 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 56 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 63 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 70 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 77 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 84 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 91 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 98 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 105 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 112 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 119 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 126 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 133 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 140 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 147 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 154 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 161 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 168 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 175 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 182 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 189 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 196 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 203 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 210 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 217 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 224 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 231 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 238 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 245 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 252 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 259 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 266 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 273 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 280 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 287 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 294 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 301 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 308 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 315 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 322 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 329 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 336 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 343 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 350 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 357 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 364 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 371 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 378 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 385 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 392 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 399 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 406 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 413 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 420 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 427 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 434 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 441 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 448 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 455 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 462 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 469 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 476 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 483 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 490 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 497 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 504 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 511 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 518 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 525 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 532 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 539 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 546 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 553 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 560 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 567 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 574 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 581 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 588 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 595 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 602 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 609 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 616 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 623 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 630 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 637 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 644 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 651 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 658 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 665 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 672 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 679 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 686 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 693 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 699 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 706 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 713 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 720 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 727 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 734 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 741 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 748 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 755 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 762 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 769 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 776 days post-eclosion 1148 175 48 100,5 + 229,82

Chickens aged 78

The taxonomical position of *Cardioderus* among the other genera of *Pogonidae* from this geographic region is given in the next key :

Key to the genera of *Pogonidae* from eastern Europe and western Asia

- 1(6) The lateral walls of prothorax and metathorax are smooth or very finely and rarely punctate.
- 2(3) Head without supraorbital grooves; body is flavotestaceous, without metallic irisation ... *Cardioderus* Dejean, 1828

(with 1 sp : *C. chloroticus* F-W., male genitalia, fig. 1.)

- 3(2) Head with supraorbital grooves; body completely or partially metal coloured.

- 4(5) Median tooth of mentum shorter than its laterally lobes  
*Pogonus* Nicolai, 1882

- 6(1) The lateral walls of the pro- and metathorax, strongly and densely punctate  
*Bedeliolus* Semenov, 1900  
(with 2 species : *B. vigil* Semenov, in Turkmenia and northern Iran and *B. rambouseki* Jedlicka in central Iran)

#### REFERENCES

1. Arion G., Panin S., 1928, *Prodromul faunei entomologice din România, Coleoptera (Cicindelidae, Carabidae)*, Edit. „Bucovina”, București.
2. Hicke F. und Wrase D. W., 1988, Deutsche Entomol. Z., N. F., 35, 1-3.
3. Ienișteau M. Al., 1938, *Die Cicindeliden und Carabidenfauna Bessarabiens auf Grund Ihrer Erforschung bis 1938*, Chișinău.
4. Ienișteau M. Al., 1986, Y. E. S. Quarterly, vol. 3(2), 13-38, Michigan State University.
5. Krijanovskiy O. L., 1965, *Opredelitel nasekomykh Evropeiskoy chasti S. S. S. R.*, II, Nauka, Moskva-Leningrad.
6. Krijanovskiy O. L., 1983, *Fauna S. S. S. R., Jestokokrylye*, I (2), p. 246, Nauka, Leningrad.

Received January 9, 1992

“Emil Racoviță” Speleological Institute  
Bucharest, Str. Frumoasa

#### SELENIUM AND E VITAMIN EFFECTS UPON GLUCOSE ABSORPTION OF CHICKEN JEJUNUM

RODICA GIURGEA and IOANA ROMAN

The effect of Selenium (0.2 mg/kg of fodder) and E vitamin (79.2 mg/kg of fodder) administration in the fodder, upon jejunum capacity of glucose absorption, was tested in Cornish-Rock chickens aged 5 or 21 days at the beginning of the experiment. The modification in jejunum and glucose absorption are dependent on age of chickens and duration of the treatment.

The intestinal absorption of glucose was studied under various aspects: the protein nutrition (9, 17, 25), hormonal pattern influences (16, 19) age-related differences (4, 11). A previous work, in our laboratory, has shown some effects of thiourea (7), thyroid hormones (5, 6, 7) both adm-

Table 1

1C-D glucose intestinal absorption (DPM/g tissue)

Sacrifications (days)	3	11	18	31
Chickens aged 5 days	C	2351±525	2980±262	2521±163
post-eclosional life	Se	-38.96	-48.17*	+41*
	SeE	-37.69	-61.74*	+4.69
				+229.82*
Sacrifications (days)	7	13	21	28
Chickens aged 21 days	C	7465±1276	6250±1067	1827±262
post-eclosional life	Se	-0.20	+145.89*	+34.62
	SeE	-24.98	+144.67*	-39.67
				+6.87

In C group mean values ± standard error ( $\bar{x} \pm SE$ ): in Se and SeE groups percentage differences versus C group. \* — statistical significance ( $p < 0.05$ ). Other explanations in the text.

Michel R. L., Whitehead G. K., Heaney R. K., 1969, J. Am. Vet. Med. Ass. 155, 50.

nistered in the fodder, as well as of protein composition of the fodder and its methionine supplementation, upon glucose and leucine absorption. We studied too glucose and leucine absorption in 5-day-old chickens which received Selenium (0.3 mg/kg of fodder) and E vitamin (120 mg/kg of fodder) in their fodder (8). Because those data did not show any modifications in glucose intestinal absorption, in the present work we carried out our experiments using smaller doses for both Selenium and E vitamin.

#### MATERIAL AND METHODS

Experiments were conducted on broiler Cornish-Rock chickens, which entered the experimental period on the 5th or 21st day of their post-eclosional life. They were purchased from a commercial hatchery at the

age of one posteclosional day. Fodder and water were given *ad libitum* and the housing conditions approximated those in avian farms. The chickens were distributed into three experimental groups, for both ages: control group (C), Selenium treated group (Se), Selenium and E vitamin group (SeE). Both organic Selenium and E vitamin (Huhtamäki Oy Novamed) were administered in a dose of 0.2 and 79.2 mg/kg fodder, respectively. The treatments lasted for 18 days (5-day old chickens) or 21 days (21-day old chickens), then the chickens received only the normal fodder; proper to their age. The chickens were sacrificed by decapitation after a previous fasting period of 16 hours, after 3, 11, 18 and 31 days (the last sacrifice was performed ten days after treatment cessation) for younger chickens; or 7, 13, 21 and 28 days (the last sacrifice was performed 7 days after treatment cessation), for older chickens, after the beginning of the experiment. A 4–5 cm portion of the jejunum was immediately sampled, everted, rinsed and ligatured ("everted intestinal sac"), (19, 26). Krebs-Henseleit saline containing 5 mM glucose was introduced in the sac before making the second ligature. It was incubated in a stoppered vial containing 3 ml previously oxygenated saline (as above, but containing 10 mM glucose) to which either  $^{14}\text{C}$ -D-glucose (Radioisotope Production Center, Institute for Physics and Nuclear Engineering, Măgurele, Bucharest) was added. Incubation was performed in a thermostated ( $40 \pm 0.2^\circ\text{C}$ ) shaking bath, for one hour. Then, the intestinal sacs were rinsed, blotted and opened, and the fluid of each sac was sampled, its volume measured, and used integrally for liquid scintillation determination of its radioactivity (in a BF-5000/300 type spectrometer, Berthold, Wildbad FRG, using Bray's scintillation mixture). The portion between the two ligatures of each intestinal sac was weighed. The results were expressed as disintegrations per minute (dpm), in the internal fluid of the sac per g of wet intestinal tissue. Statistical processing of the results included the control of homogeneity of mean values by Chauvenet's criterion, aberrant values being eliminated, and comparison of the means (experimental versus control group) using Student's "t" test. The differences were considered statistically significant for  $p = 0.05$ .

#### RESULTS AND DISCUSSION

Selenium and E vitamin are important anti-oxidant agents in the organism (20) as a biologically active component of the enzyme glutathione peroxidase (18, 22). Selenium is an essential element for the animal organism (3, 15, 23). The associated administration of Selenium and E vitamin being frequently utilised in animal husbandry (12, 20, 21, 24). Our results show that administration of Selenium and Selenium + E vitamin induces modifications of absorption of intestinal glucose, depending on the duration of treatment and age of chicken (Table 1). In younger chickens a 11-day treatment with Selenium or Selenium + E vitamin caused, in both groups, decreases of intestinal glucose absorption, but when those treatments lasted for 18 days there occurred increases in this hexose absorption (statistically significant in group Se). In older chickens a 13-day treatment with Selenium or Selenium + E vitamin caused in both groups a significant increase of intestinal glucose absorption. After

treatment cessation, which lasted for 10 days for younger chickens and 7 days for older chickens, all groups of both ages evinced increases of intestinal glucose absorption. It is well known that Selenium and E vitamin modify cell membrane glucose permeability (10, 24). It is established too that Selenium influences thyroid hormones level (1, 2), and these hormones interfere with intestinal absorption of glucose. Previous data showed that the inhibition of the thyroid function by thiourea caused a decrease in jejunum glucose absorption (5, 6, 7). Some data concerning the effects of Selenium and E vitamin deficiency showed important modifications at the intestinal level with the appearance of dispersed haemorrhages (13, 14).

In conclusion, the Selenium and Selenium + E vitamin treatment influenced glucose absorption in the chicken jejunum. The degree of those influences depended on age of chickens and duration of treatment. Seven or ten day after the treatment cessation we found an important increase in jejunum glucose absorption. In our opinion, these modification may be a consequence of membrane permeability or/and thyroid function.

Elsewhere we pointed out that the age of young Wistar rats is a major condition factor in the development of modifications of carbohydrate metabolism (7, 8, 13, 14). On the other hand, our

- Arthur, J. R., Morrice, P. C., Beckett, G. J., 1988, Res. Vet. Sci., **45**, 122.
- Beckett, G. J., Nicol, F., Proudfoot, D., Dyson K., Loucaides G., Arthur J. R., 1990, Biochem. J., **266**, 743.
- Behne D., Hilmert H., Seheid S., Gessner H., Elger W., 1988, Biochim. Biophys. Acta, **966**, 12.
- Bogner P. H., Haines I. A., 1964, Am. J. Physiol. **267**, 37.
- Giurgea R., Wittenberger C., 1986, Rev. Roum. Biol., **31**, 135.
- Giurgea R., Wittenberger C., 1987, Rev. Roum. Biol., **32**, 57.
- Giurgea R., Wittenberger C., 1988, Rev. Roum. Biol., **33**, 113.
- Giurgea R., Roșioru C., 1991, Rev. Roum. Biol., **36**, 93.
- Hargis P. H., Creger C. R., 1980, Poultry Sci., **59**, 1499.
- Hoekstra W. G., 1975, Fed. Proc., **34**, 2083.
- Imondi A. R., Bird F. H., 1966, Poultry Sci., **45**, 142.
- Kivela S. L., Maepaa P., Nissinen A., Alphan G., Punsar S., Enlung H., Puska R., 1989, Internal. J. Vit. Nutr., Res., **59**, 373.
- Kinnaird P. J., 1965, Vet. Proc., **23**, 45.
- Michel R. L., Whitehar C. K., Heahey K. K., 1969, J. Am. Vet. Med. Ass. **155**, 50.
- Narayanaswami V., Sies H., 1990, Free. Rad. Res. Comms., **10**, 237.
- Negoescu I., Constantinescu A., Heltianu C., 1971, *Biochimia hormonilor tiroidieni*. Ed. Acad., Bucharest.
- Okumura J., Mori S., 1979, Br. Poult. Sci., **20**, 421.
- Perona G., Schiavon R., Guidi G. G., Veneri D., Minuz P., 1990, Thromb. Haemost., **64**, 312.
- Petcu C., 1971, *Absorbția apelor și a unor electrolifi la nivelul intestinului sub influența Vasopresinei*. Doctoral paper, Bucharest.
- Poll E., Feteanu M., Dumitriu F., 1965, *Contribuții la studiul repartitiei Se<sup>75</sup> în ţesuturi la găină*. USSM, București.
- Rebar A. H., Vanvleet F. J., 1977, Poultry Sci., **56**, 797.
- Rotruck J. T., Pope A. L., Canther H. E., Swanson A. B., Hafeman D. G., Hoekstra W. G., 1973, Science, **179**, 588.
- Schwarz K., Foltz C. M., 1957, J. Am. Chem. Soc., **79**, 3292.
- Tappel A. L., 1974, Am. J. Clin. Nutr., **27**, 960.
- Tasaki I., Takahashi N., 1966, J. Nutr., **88**, 359.
- Wilson T. H., Wiseman G., 1954, J. Physiol., **123**, 116.

Received October 3, 1991

The Biological Research Institute  
Cluj-Napoca  
Republicii nr.48

age-related differences in intestinal glucose absorption in young chickens were observed after 10 days of treatment with Selenite or Selenite + Vit. E. In older chickens, a 13-day treatment with Selenite or Selenite + Vit. E did not cause any significant changes in intestinal glucose absorption. After a 13-day treatment with Vit. E or Selenite + Vit. E, the intestinal glucose absorption was significantly increased in both groups. In older chickens, a 13-day treatment with Vit. E + Selenite + Vit. E caused a significant increase in intestinal glucose absorption. After a 13-day treatment with Vit. E + Selenite + Vit. E, the intestinal glucose absorption was significantly increased in both groups.

## AGE-RELATED DYNAMICS OF DIAPHRAGMATIC GLUCOSE UPTAKE AND LIVER GLYCOGEN CONTENT IN YOUNG WISTAR RATS AFTER FORMALIN-INDUCED STRESS AND TREATMENT WITH *PHASEOLUS* AND *LUPULUS* EXTRACTS

J. MADAR, NINA ȘILDAN and G. FRECUS

The diaphragmatic glucose uptake and the liver glycogen content were investigated after acute stress-induction, in 30-, 45- and 60-day-old male Wistar rats, as well as after treatment with *Phaseolus* and *Lupulus* hypoglycemic extracts on the back-ground of stress-induction. It was found that in 60-day-old animals after formalin stress the diaphragmatic glucose utilization is reduced (-25.05%), and in 30-, 45-, and 60-day-old animals the liver glycogen content is increased (+375, +407 and +25%, respectively). The treatment with hypoglycemic plant extracts, on the basis of stress-induction, counteracted the inhibition of diaphragmatic glucose uptake in the case of 60-day-old animals (with 20%), and diminished the stress-elicited enhancement of liver glycogen content in the 30-day-old animals.

Elsewhere we pointed out that the age of young Wistar rats is a major condition factor in the stress-elicited modifications of carbohydrate metabolism (7), (8), (13), (14), (15), (16), (17), (18). On the other hand, our recent data suggest the conclusion that the stress-induced hyperglycemia, muscular insulin resistance and thymolysis in young rats are strongly age-related (9), and the suppressive effects of treatment with *Phaseolus* and *Lupulus* extracts upon these parameters depend on the age of the individuals (9), (10), (11). Taking into consideration the above establishments and the fact that in the modifications of the carbohydrate metabolism homeostasis in white rats the liver and striated muscles essentially participate (4), (5), (6), (23), (24), in this study we present the dynamics of the diaphragmatic glucose utilization and of the liver glycogen content in various age-groups of young rats, after acute stress stimulus and following the administration of hypoglycemic *Phaseolus* and *Lupulus* extracts on the background of stress-induction.

### MATERIAL AND METHODS

For the experiments young male Wistar rats were used. The animals were reared in our laboratory stockfarm and maintained under standardized bioclimatic and feeding conditions, the age of the individuals being 30, 45 and 60 days at the time of sacrifice.

The above age-series were divided into the following groups:

- Groups of 30-, 45- and 60-day-old normal rats;
- Groups of 30-, 45- and 60-day-old stressed rats;
- Groups of 30-, 45- and 60-day-old stressed rats treated simultaneously with *Phaseolus* and *Lupulus* hypoglycemic extracts.

The stress-induction was performed by subcutan injection of daily doses of 0.25 ml formaline solution ("Chemapol", 2%) per 100 g b.w., for 5 days, before experiments. The atomized hypoglycemic extract of *Phaseolus*

REV. ROUM. BIOL. → BIOL. ANIM., TOME 37, N° 2, P. 107 - 112, BUCAREST, 1992  
of about 30 days.

*Phaseolus* (fructus sine semenibus) and *Lupulus* (strobuli), prepared and purchased by "Sintofarm" — Bucharest, was administered by gastric gavage, in daily doses of 25+25 mg per 100 g b. w., before feeding of animals (a. m.) and after stress-stimulus, respectively, drinking water being provided *ad libitum*.

24 hrs after cessation of the treatments and following a fasting period of 16–18 hrs, the animals were sacrificed by cervical dislocation and sectioning of carotids.

The isolated hemidiaphragms were incubated for 2 hrs in 1.0 ml glucose-containing Krebs-Henseleit solution (300 mg% p. a. glucose, "Merck"; pH = 7.4; gaseous phase = 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>; temperature of 37.6° C), using an original device (5) (and our procedure (5), (6), (7), (9), (17), (18)). The initial and postincubation content of glucose in the incubation medium was determined enzymatically, using Test-Combination-Glucose Kit ("Boehringer", GmbH, Mannheim), according to Werner and coworkers (25). The rate of glucose uptake by the hemidiaphragms was calculated and expressed as microgram/100 mg fresh tissue for 2 hrs.

The glycogen content of the liver was determined with the method of Montgomery (19) and expressed in mg%.

Data are expressed as means  $\pm$  S. E. for the number of observations. Probabilities (P) of chance differences between groups were calculated according to Student's *t* — test, the differences at P<0.05 being considered statistically significant.

#### RESULTS AND DISCUSSION

From the data summarized in table 1 it results that the rate of "in vitro" glucose uptake by the hemidiaphragms of 30- and 45-day-old normal rats is quantitatively similar, while in 60-day-old animals this phenomenon is significantly reduced.

After acute formalin-induced stress, in the case of 30- and 45-day-old rats the rate of diaphragmatic glucose uptake remains unchanged against the corresponding normal values, while in 60-day-old animals the rate of this process is diminished with 25.05% (P<0.01) vs. the controls. This modification suggest the conclusion that during postnatal ontogeny of white rats the age of 60 days is a critical condition stage in the stress-evoked inhibition of muscular glucose utilization. In this connexion these data well agree with our earlier observation (6), that the hyperglycemic effect of formalin stress-stimulus in 60-day-old rats is associated with the reduction of insulin secretion in response to hyperglycemia stimulus, with the decrease of blood glucose penetration into the peripheral tissues and with the appearance of insulin resistance at the level of skeletal muscles, considered as major consumers of circulating glucose in this species (5), (6), (23), (24).

When acute stress-induction is associated with simultaneous administration of *Phaseolus* and *Lupulus* extracts, in 30+ and 45+day-old animals the rate of diaphragmatic glucose utilization is not appreciably affected vs. the corresponding stressed groups, while in 60-day-old individuals these plant extracts significantly counteract the inhibitory effect

CONCLUSIONS

Table 1

Glucose uptake by isolated hemidiaphragms of 30-, 45- and 60-day-old male Wistar rats under normal conditions (N), after acute stress-induction (S), as well as after treatment with *Phaseolus* and *Lupulus* hypoglycemic extracts on the background of stress-induction (S+PL)

Age of animal	microgram glucose uptake by 100 mg tissue for 2 hrs		
	N	S	S+PL
30 days	83.33 $\pm$ 10.31 (8)	72.57 $\pm$ 2.26 (8) —12.91% <sup>a</sup> P>0.25% <sup>a</sup>	76.41 $\pm$ 2.29 (8) —8.30% <sup>a</sup> P>0.50 <sup>a</sup> +5.29% <sup>b</sup> P>0.25 <sup>b</sup>
45 days	82.20 $\pm$ 5.32 (8)	81.51 $\pm$ 2.99 (8) —3.78% <sup>a</sup> P>0.50 <sup>a</sup>	77.40 $\pm$ 2.07 (8) —5.84% <sup>a</sup> P>0.25 <sup>a</sup> —4.54% <sup>b</sup> P>0.25 <sup>b</sup>
60 days	56.15 $\pm$ 4.55 (8)	40.96 $\pm$ 2.14 (8) —25.05% <sup>a</sup> P<0.01 <sup>a</sup>	49.15 $\pm$ 2.06 (8) —12.47% <sup>a</sup> P>0.05 <sup>a</sup> +20.00% <sup>b</sup> P<0.01 <sup>b</sup>

Results are expressed as mean  $\pm$  S. E. Number of experiments is given in parentheses. <sup>a</sup> Per cent differences and <sup>b</sup> P calculated vs. the corresponding normal values and <sup>b</sup> vs. the values obtained in stressed groups.

of stress situation upon this phenomenon (—20.0; P<0.01). On this basis it is pertinent to assume that, at this critical postnatal stage, the "insulin-like" and "antistress" effects of *Phaseolus* and *Lupulus* extracts upon muscular glucose utilization are realized by reduction of the antiinsulin action of stress-induced corticosterone and catecholamine excess. In fact, we reported earlier that in 60-day-old stressed rats, *Phaseolus* and *Lupulus* extracts simultaneously with the reduction of stress-evoked hyperglycemia and muscular insulin-resistance counteract the stress-elicited thyrolysis (10), (11), this phenomenon being a direct expression of the circulating glucocorticoid excess in white rats (20), (21), (22).

The dynamics of liver glycogen content, given in table 2, shows that under normal conditions, following a fasting period of 16–18 hrs, this parameter is surprisingly reduced, but evinces an increasing tendency with advancement in age of the animals. The age-related normalizing tendency of the liver glycogen content is well correlative with the beginning of the functional maturation of insulin secretory mechanism after weaning of young rats, when they are switched from a high fat, high protein milk diet, to a high carbohydrate containing rat food (1), i. s. after weaning period of about 30 days.

*Table 2*  
Liver glycogen content in 30-, 45- and 60-day-old male Wistar rats under normal conditions (N), after acute stress-induction (S) and after treatment with *Phaseolus* and *Lupulus* hypoglycemic extracts on the background of stress-induction (S+PL)

Age of animals	mg % liver glycogen		
	N	S	S+PL
30 days	143±3.69 (8)	680±30.60 (8) +375.52% <sup>a</sup> $P<0.001^a$	418±8.86 (8) +192.31% <sup>a</sup> $P<0.001^a$ -38.53% <sup>b</sup> $P<0.01^b$
45 days	333±8.89 (17)	1688±43.91 (14) +406.91% <sup>a</sup> $P<0.001^a$	1812±31.50 (13) +444.14% <sup>a</sup> $P<0.001^a$ +7.35% <sup>b</sup> $P<0.05^b$
60 days	592±14.68 (13)	740±18.93 (13) +25.00% <sup>a</sup> $P<0.001^a$	696±30.84 (11) +17.57% <sup>a</sup> $P<0.01^a$ -5.95% <sup>b</sup> $P>0.10^b$

Results are expressed as mean ± S. E. Number of experiment is given in parentheses.<sup>a</sup> Per cent differences and P calculated vs. the corresponding normal and<sup>b</sup> vs. the values obtained in the stressed groups.

After formalin-induced acute stress, in the 30-, 45- and 60-day-old age-groups of rats, the liver glycogen content exhibits a significant age-related enhancement vs. the corresponding normal values (+375%,  $P<0.001$ ; +407%,  $P<0.01$ ; and +25%,  $P<0.01$ ; respectively). This fact strongly reflects the well known hepatic glycogenetic and glycogenolytic effects of stress-induced corticosterone excess associated with hyperglycemia (10), (11) and thymolysis (2), (3), (10), (11), (13), (21), during these postnatal ages.

The association of stress-induction with simultaneous administration of *Phaseolus* and *Lupulus* extracts, only in the case of 30-day-old rats reduces the stress-evoked elevation of liver glycogen content (-38.53%,  $P<0.01$ ), while in 45- and 60-day-old animals it does not affect this parameter. We have recently observed that in the above age-groups of young rats the extracts of *Phaseolus* and *Lupulus* markedly reduced the stress-induced hyperglycemia and thymolysis (10), (11). On this basis, it is possible that in the normalising effects of these hypoglycemic plant extracts upon the stress-elicited hyperglycemia, the reduction of stress-induced hepatic glucose over-production (12), as a consequence of stress-elicited catecholamine and corticosterone excess, is essentially incriminated.

## CONCLUSIONS

In 60-day-old male Wistar rats acute formalin stress-stimulus markedly reduces the rate of diaphragmatic glucose utilization, and significantly enhances the liver glycogen content, in 30-, 45- and 60-day-old rats, in a direct manner with advancing in age of the animals.

The treatment of animals with *Phaseolus* and *Lupulus* hypoglycemic extracts on the background of stress-induction, in the case of 60-day-old individuals, counteracts the stress-elicited inhibition of diaphragmatic glucose utilization, and diminishes the stress-elicited inhibition of diaphragmatic glucose utilization, and diminishes the stress-elicited glycogen deposition in the liver of 30-day-old individuals.

In a previous paper, we pointed to the cytostatic and antifibrotic action of a total polyphenolic fraction separated and purified from an overall vegetal extract obtained from *Azadirachta indica* plant (8).

1. Blázquez E., Lipshaw L. A., Blázquez M., Foa P. P., 1975, Pediat. Res., **9**, 17-25.
2. Dorsey T. L., Munck A., 1962, Endocrinology, **71**, 605.
3. Greengard O., Weber G., Singh BI. L., 1963, Science, **140**, 160.
4. Korec R., 1967, *Experimental Diabetes Mellitus in the Rat*, Publishing House of the Slovak Acad. Sci., Bratislava, pp. 5-149.
5. Madar J., 1966, *Studies of the role of adrenal cortex on the carbohydrate metabolism in white rats*, Doctoral thesis, University of Cluj, Romania, p. 10-180.
6. Madar J., Gozariu L., Sildan N., Barabas E., Ilonca A., 1985, in *Pathological Models in Toxicological Studies*. Ed. Industrial Head-Office for Drugs and Cosmetics, Bucharest-Romania, p. 26-34.
7. Madar J., Grosu M., Sildan N., Ilonca A., 1988, Rev. roum. Biol., Sér. Biol. anim., **32** (2), 107-111.
8. Madar J., Rusu V. M., Sildan N., Ilonca A., 1989, Rev. roum. Biol., Sér. Biol. anim., **34**, (1), 15-19.
9. Madar J., Sildan N., Frecuș G., 1992, St. cerc. biol., Seria biol. anim. (Under Press).
10. Madar J., Sildan N., Frecuș G., Ilonca A., 1991, St. cerc. biol., Seria biol. anim. (Under Press).
11. Madar J., Sildan N., Frecuș G., Ilonca D., 1991, Bul. Soc. Naț. Biol. Cel., nr. 19, p. 58.
12. Madar J., Sildan N., Rusu V. M., Ilonca A., 1988, Bul. Soc. Naț. Biol. Cel., nr. 15, p. 82.
13. Madar J., Sildan N., Ilonca A., 1987, St. cerc. biol., Seria biol. anim., **39** (1), 59-63.
14. Madar J., Sildan N., Ilonca A., 1988, St. cerc. biol., Seria biol. anim., **40**, (2), 121-126.
15. Madar J., Sildan N., Ilonca A., 1985, St. cerc. biol., Seria biol. anim., **37** (2), 134-138.
16. Madar J., Sildan N., Ilonca A., 1989, Acta diabetol. rom. nr. 15, 37-39.
17. Madar J., Sildan N., Ilonca A., Pora E. A., 1979, Rev. roum. Biol. Sér. Biol. anim. **24** (2), 141-144.
18. Madar J., Sildan N., Ilonca A., Pora E. A., 1982, St. cerc. biol., Seria biol. anim. **34** (2), 115-119.
19. Montgomery R., 1957, Arch. Biochem. Biophys., **67**, 378-386.
20. Pora E. A., Toma V., 1969, Ann. Endocrinol. (Paris), **30**, 519-531.
21. Ringler I., Haynes J., 1962, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **8**, 606.
22. Sildan N., 1983, *Cercetări comparative asupra fiziologiei timusului*, Teză de doctorat, Universitatea „Babeș-Bolyai” Cluj-Napoca.
23. Wallberg-Henriksson H., 1987, Acta Physiol. Scand., Suppl. **564**, 7-71.
24. Wallberg-Henriksson H., Hollozsy J. O., 1985, Amer. J. Physiol. (Cell Physiol. 18), **249**, C 233-C 235.
25. Werner W., Rey G. H., Wielinger H., 1970, Z. analyt. Chem., **252**, 224.

Received January 18, 1992

At 24, 48 and 72 hours of cultures development, the medium was discarded from the layer was washed with TBS and subjected to fraction (6), (7).

## SELECTION OF A TOTAL POLYPHENOLIC PREPARATION

WITH IN VITRO HIGHER CYTOSTATIC POTENTIAL

P. ROTINBERG, SMARANDA KELEMEN, VIORICA RUSAN  
VIOLETA NUTĂ \* and JENICA BULACOVSCHEI \*

The *in vitro* action of some total polyphenolic preparations on HeLa cell cultures development was investigated. The significant modification of the protein synthesis, considered as an expression of the cytostatic activity of the products tested by us, allowed the selection of a cytostatic agent with a higher inhibitory effect (PA<sub>2</sub> III). This will be included in the "*in vivo*" screening circuit on tumor-bearing animals in order to evaluate its cancerostatic action.

In a previous paper, we pointed to the cytostatic and antitumoral action of a total polyphenolic preparation, separated and purified from an overall vegetal extract obtained from *Asclepias syriaca* plant (8).

In order to obtain a product with higher and constant antitumoral potential, we investigated the activity of some different polyphenolic preparations on the HeLa cell cultures evolution in an *in vitro* primary stage.

In the present work, the resultd of the "in vitro" testing of the inhibitory effect on the HeLa human cancer cells development induced by the PA<sub>1</sub>, PA<sub>2</sub>, PA<sub>2I</sub>, PA<sub>2II</sub>, PA<sub>2III</sub> polyphenolic preparations are exposed.

## MATERIALS AND METHODS

The investigated polyphenolic preparations were separated and purified from crude alkaline vegetal extracts, obtained either from *Asclepias syriaca* whole plant ( $PA_1$  and  $PA_2$ ), or from different morphological components in various states of vegetation ( $PA_2I$  from stems;  $PA_2II$  from July harvested leaves and  $PA_2III$  from October harvested leaves).

It should be mentioned that the PA<sub>2</sub> preparations were obtained from the initial extract after the removal of the hemicellulosic compound.

The cytostatic action was assessed "in vitro" by comparative follow-up of the total protein dynamics during the evolution of the control and treated HeLa cell cultures, as expression of the cell protein biosynthesis level.

The test tubes were inoculated with  $1 \times 10^5$  cells. After 24 hours the culture medium was replaced with a medium containing 1.5 mg/ml of PA polyphenolic preparation. At 24, 48 and 72 hours of cultures development, the medium was discarded from the test tubes and the cell layer was washed with TFS and subjected to total protein determination (5), (7).

Five culture tubes were used for each type of culture and time interval and the statistical analysis was performed using Student's "t" test (12).

The evaluation of the cytostatic action was made by the percentage estimation of the inhibitory effect of the cell cultures development illustrated by the decrease of total protein level.

The cytostatic effect was assessed by comparative analysis of our values with the reference ones (50%) imposed by the selection criteria of antitumoral substances established by the screening programs of the Cancer Chemotherapy National Institute of the U.S.A. (4), (10) for this preliminary step.

### RESULTS

(8) The experimental results obtained in the "in vitro" testing of the PA<sub>1</sub> and PA<sub>2</sub> preparations action on the HeLa cell cultures development as compared to controls, are included in Fig. 1.

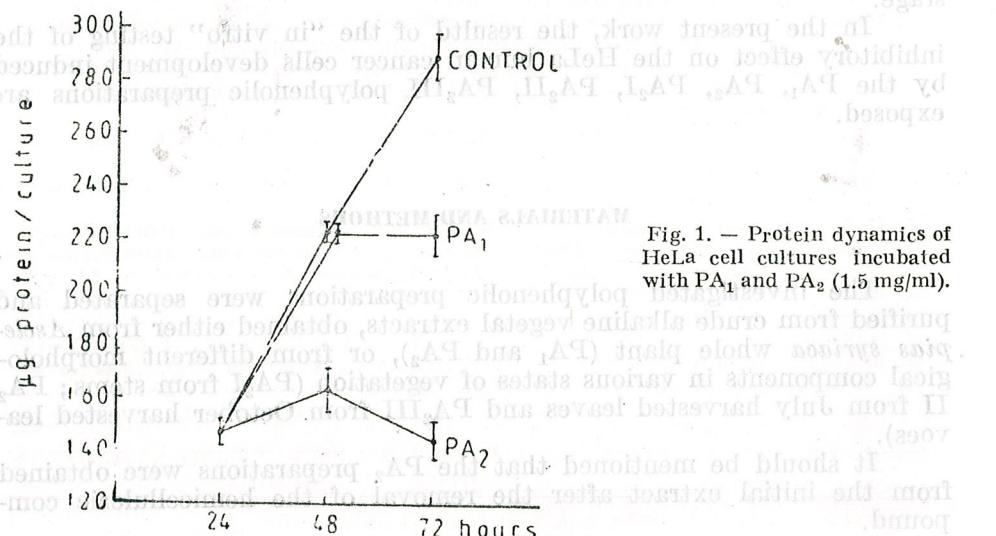


Fig. 1. — Protein dynamics of HeLa cell cultures incubated with PA<sub>1</sub> and PA<sub>2</sub> (1.5 mg/ml).

It is observed that the total protein dynamics registered during the evolution of the cultures incubated with PA<sub>2</sub> reveals significant decreases of protein concentrations. These allow us to estimate an inhibition of their development of 28.3% at 48 hours and of 50.0% at 72 hours.

Conversely, the PA<sub>1</sub> preparation induced a slight cytostatic effect expressed by a 28.3% decrease of the protein value only at 72 hours interval from cultures evolution.

In another experiment, illustrated by Fig. 2, the cytostatic effect of the PA<sub>2</sub>I, PA<sub>2</sub>II and PA<sub>2</sub>III polyphenolic preparations was tested.

It can be seen that the protein dynamics of the PA<sub>2</sub>I incubated cultures did not differ significantly from that of the controls, revealing a reduced inhibitory activity on the cultures development of 16.9% and 18.3%, respectively.

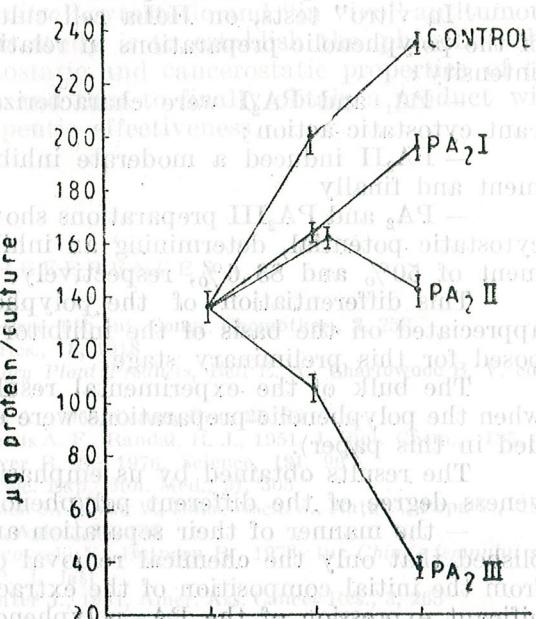


Fig. 2. — Protein content of HeLa cell cultures treated with PA<sub>2</sub>I, PA<sub>2</sub>II and PA<sub>2</sub>III (1.5 mg/ml).

A moderate cytostatic activity characterized the PA<sub>2</sub>II preparation, the incubated cultures presenting decreases of 19.1% and 39.4% respectively, in the protein concentrations.

On the contrary, the protein dynamics of the PA<sub>2</sub>III preparation treated cultures illustrated a very strong and significant ( $p<0.001$ ) cytostatic action both at 48 hours and 72 hours, the decreased protein values reflecting an inhibition of the cultures development of 80.2% and 83.6% respectively, as compared to the controls.

### DISCUSSION

Searching for natural products with antineoplastic activity represents at present a major concern in the general effort of the struggle against the cancerous disease.

The multitude of substances with supposed antitumor action, the possibility of a direct pursuit of the cytostatic effect, the short time of investigation, the necessity of some small amounts of substances, the positive correlation between the "in vitro" cytostatic action and the "in vivo" antitumoral effect, registered in the case of many tested substances, imposed the utilization of an "in vitro" test on malignant cell

cultures of human origin (KB, HeLa) as a primary screening for the preliminary selection of those potential cytostatics (1), (2), (4), (6), (10), (11), (13).

In the present paper a prescreening for the selection of some active cancerostatic compounds is reported.

"In vitro" tests, on HeLa cell cultures, allowed the classification of the polyphenolic preparations in relation to induced cytostatic effect intensity:

— PA<sub>1</sub> and PA<sub>2</sub>I were characterized by a slight and nonsignificant cytostatic action;

— PA<sub>2</sub>II induced a moderate inhibition of the cultures development and finally

— PA<sub>2</sub> and PA<sub>2</sub>III preparations showed a very high and significant cytostatic potential, determining an inhibition of the cultures development of 50% and 83.6%, respectively.

This differentiation of the polyphenolic preparations has been appreciated on the basis of the inhibitory value of reference (50%) imposed for this preliminary stage.

The bulk of the experimental results presented here was similar when the polyphenolic preparations were retested (the data are not included in this paper).

The results obtained by us emphasized that the cytostatic effectiveness degree of the different polyphenolic preparations depends of:

— the manner of their separation and purification. It can be established that only the chemical removal of the hemicellulosic structures from the initial composition of the extracts was correlated with the significant expression of the PA<sub>2</sub> polyphenolic preparations cytostatic action. This effect is probably due either to the consecutive increase of the active biological phenol concentration or to consecutive relieving of the functional groups which were coupled with the hemicellulosic structures (3), (9). Thus, the difference between the cytostatic potentials of the PA<sub>1</sub> and PA<sub>2</sub> can be explained;

— the vegetal morphological substratum submitted to extraction and separation of the polyphenolic preparations and of its physiological state. The highest "in vitro" cytostatic efficiency was registered in the case of PA<sub>2</sub>III preparation — obtained from autumn harvested *Asclepias syriaca* leaves (in October) — comparatively with that of preparation PA<sub>2</sub>I (isolated from stems) and PA<sub>2</sub>II (separated from summer harvested leaves, in July) and PA<sub>2</sub> (obtained from entire plants). In relation to the physiological state of the leaves — they represent the main residence of the phenolic substances synthesis, utilization and accumulation — the seasonal functional involvement of the phenolic type structures in cell metabolism (in some synthesis and in cell energetics) is different, leading, probably, to the extraction of some various concentrations of them, with inherent consequences on "in vitro" cytostatic activity degree.

The reproducibility, stability, statistic significance of the cell cultures inhibition as well as the high intensity of the induced effect and its rapidity allow the characterization of the PA<sub>2</sub>III polyphenolic preparation as cytostatic agent. From this point of view it represents a pro-

duct of maximum interest in the perspective of future investigations on its "in vivo" antitumoral action, on animals bearing various experimental tumoral lines.

Also, the fractionation of the polyphenolic extracts is necessary for the separation and identification of the structures of phenolic type, in order to estimate their "in vitro" cytostatic and "in vivo" antitumoral activities. The purpose of this study is to establish the phenolic substances responsible for the cytostatic and cancerostatic properties of the PA<sub>2</sub> polyphenolic preparation, and thus to finally obtain a product with maximum cancerostatic therapeutic effectiveness.

normal Ringer solution, concomitantly with the action induced by an increase of K<sup>+</sup>, and after the instillation of membrane depolarization by K<sup>+</sup> — induced depolarization is reduced by 2.5 mM free proline, remaining almost unmodified by the liposomes — incorporated proline, as well as by the liposomes without anesthetic. Depolarization in normal Ringer is delayed by the two propanes, both under the action of the incorporated K<sup>+</sup> and on its application in normal Ringer, membrane depolarization through K<sup>+</sup> — liposome — incorporated propanes, concomitantly with the action induced by an increase of K<sup>+</sup>.

#### REFERENCE S

1. Auersperg M., Krasovec M., 1970, Proc. 6th Int. Congr. Chemother., **2**, 253
2. Eagle H., Foley G., 1978, Cancer Res., **38**, 1018
3. Harborne J. B., 1980, In: *Secondary Plant Products*, Bell E. A., Charlwood B. V. eds., New York, 329
4. Leiter J., Abbot B. J., Schepartz S. A., 1965, Cancer Res., **25**, 20
5. Lowry H. O., Rosebrough N. J., Lewis A. F., Randal, R. J., 1951, J. Biol. Chem., **195**, 265
6. Nelson — Rees. W. A., Fladermeyer R. R., 1976, Science, **191**, 96
7. Oyama V., Eagle H., 1956, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **91**, 305
8. Rotinberg P., Simionescu C., Kelemen S., Rusan V., Bulacovschi J., Nuță V., Popa V., 1991, Rev. Roum. Biol. — Biol. Anim., **36**, 135
9. Rozmarin G., Simionescu C., Bulacovschi V., Butnaru R., 1973, In: *Chimia lemnului și a celulozei*, Litografia I. P. I. Iași
10. Schepartz S. A., MacDonald M., Leiter J., 1961, Amer. Ass. Cancer Res., **3**, 265
11. Schepartz S. A., 1971, Cancer Chemother. Rep., **2**, 3
12. Snedecor G. W., 1968, In: *Metode statistice aplicate în agricultură și biologie*, Ed. Did. Ped., București
13. Thayer P., Gordon M., MacDonald M., 1971, Cancer Chemother. Rep., **2**, 27

Received February 4, 1992

Biological Research Institute,

Iași, Bd. Copou 20 A

\* Institute of Macromolecular Chemistry "P. Poni"  
Iași, Aleea Grigore Ghica Vodă 41 A

Also, attention has been paid to the influence of the propanes on the action, as membrane models, of the cytostatic agents, as well as on the effects of the propanes incorporated into liposomes on the membrane potential in normal external medium (32).

The present paper discusses the influence of 2.5 mM free proline, or incorporated into liposomes, upon cell membrane depolarization, in a medium of increased K<sup>+</sup>, on simultaneously applying the two agents, as well as on depolarization performed in normal external medium, along with the anesthetic's action, when applied after depolarization through K<sup>+</sup> occurred.

The influence of propanes incorporation into liposomes consisting of lecithin, and the effects of liposomes without anesthetic, as well, have been comparatively studied, under the same conditions applied in experiments with free anesthetic.

agoltegișoare și urmăriți logaritmică până la leucină cu acizană. Totodată — liposomă — urmărește rezistență potențială de 10% în măsuri (no. 11), (13). Vizualizarea efectelor polifenolice pe calea membranăi celulare, din punct de vedere al activității lor, este deosebit de dificilă, deoarece nu există metode specifice care să permită separarea efectelor de celelalte compozante ale polifenolilor. Totuși, rezistența de la 10% a membranăi celulare este deosebit de bună și poate fi obținută doar prin adăugarea de la 10% a liposomelor, care au proprietăți lipofile și sunt capabile să formeze la limită o membrană lipofilică. Astfel, cytostatic action se menține și se intensifică în urma liposomelor.

— PA<sub>1</sub> induce o moderată inhibiție a culturilor de levant și finală.

— PA<sub>2</sub> și PA<sub>3</sub>III preparațiiile sărăcăiesc într-o modă foarte similară, determinând o inhibiție a culturilor de levant de 80% și 83,62% respectiv.

This differentiation of the polyphenolic preparations has been appreciated on the basis of their cytostatic activity. It is important to note that the preliminary results obtained by us (1970, 1971, 1972, 1973, 1974) are in accordance with those of other authors (1970, 1971, 1972, 1973, 1974).

The bulk of the experimental results presented here was similar when the polyphenolic extract was obtained from the leaves of *Aesculus hippocastanum* L. (1970, 1971, 1972, 1973, 1974).

The results obtained in the present paper — the difference between the cytostatic activity of the extract obtained from the leaves of *Aesculus hippocastanum* L. and the one obtained from the leaves of *Aesculus syriaca* L. — the weaker of their cytostatic activity — can be explained by the following factors: the seasonal variation of the concentration of the active biological phenol concentration in the leaves, reflecting the functional groups which were coupled with the membrane structures (3), (9). Thus, the difference between the cytostatic potentials of the PA<sub>1</sub> and PA<sub>3</sub> can be explained.

— the seasonal or botanical substratum subjected to extraction and its physiological state, the degree of its ripeness and of its physiological state. The highest *in vitro* cytostatic efficiency was registered in the case of PA<sub>3</sub>III preparation — obtained from autumn harvested *Aesculus syriaca* leaves (in October) — comparatively with that of preparation PA<sub>1</sub> (isolated from stems) and PA<sub>3</sub>II (separated from summer harvested leaves, in July) and PA<sub>2</sub> (obtained from entire plants). In relation to the physiological state of the leaves — they represent the main residence of the phenolic substances synthesis, utilization and accumulation — the seasonal functional involvement of the phenolic type structures in cell metabolism (in some synthesis and in cell energetics) is different, leading, probably, to the extraction of some various concentrations of them, with inherent consequences on "in vitro" cytostatic activity degree.

The reproducibility, stability, statistic significance of the cell cultures inhibition as well as the high intensity of the induced effect and its rapidity allow the characterization of the PA<sub>3</sub>III polyphenolic preparation as cytostatic agent. From this point of view it represents a pro-

## THE INFLUENCE OF LIPOSOME-INCORPORATED PROCAINE ON THE MEMBRANE POTENTIAL IN HIGH-POTASIUM MEDIUM

The simultaneous application of free procaine (having a hyperpolarizing effect in Nernst solution) and increased K<sup>+</sup> reduces the (K<sup>+</sup>-induced depolarization) (procaine incorporated into liposomes) (13, 14).

I. NEACȘU and C. V. ZĂNOAGĂ

The influence of 2.5 mM procaine — either free or incorporated into liposomes from lecithin — on the membrane depolarization of the striated fibre of frog sartorius muscle has been followed in Ringer solution with 30 mM K<sup>+</sup>, as well as in normal Ringer solution, concomitantly with the action induced by an increased K<sup>+</sup>, and after the installation of membrane depolarization by K<sup>+</sup>. K<sup>+</sup>-induced depolarization is reduced by 2.5 mM free procaine, remaining almost unmodified by the liposome — incorporated procaine, as well as by the liposomes without anesthetic. Repolarization in normal Ringer is delayed by the free procaine, both under its action simultaneous with that of the incorporated K<sup>+</sup> and on its application in normal Ringer after membrane depolarization through K<sup>+</sup>. Liposome — incorporated procaine strongly inhibits, in both cases, repolarization. Liposomes having no agent delay repolarization, yet their effect is much weaker than of those with procaine, especially on the membrane previously depolarized through K<sup>+</sup>. The results evidence the intensification of the action and prolongation of the duration of procaine's effects on its incorporation into liposomes.

Several investigations have emphasized the procaine properties as local anesthetic and membrane stabilizer (17), (18), (20), as well as some aspects of its interaction with membrane proteins and lipids (1), (15), (17), (21), (22), along with its effects upon the ionic channels and upon the ions' action at the level of cell membrane (2), (11), (18), (20). Also, procaine has been shown as inducing a slight membrane hyperpolarization, in normal conditions (1), (17), reducing the rate and amplitude of membrane depolarization through an increased external K<sup>+</sup> (1), (17); it may partially reverse depolarization, on its administering after the installation of the K<sup>+</sup> effect (18).

Also, attention has been paid to local anesthetics-liposome interaction, as membrane models (2), (13), their importance in various medical researches having been pointed out too (2), (8). In a previous paper, we studied the effects of the procaine incorporated into liposomes on the membrane potential in normal external medium (12).

The present paper discusses the influence of 2.5 mM free procaine, or incorporated into liposomes, upon cell membrane depolarization, in a medium of increased K<sup>+</sup>, on simultaneously applying the two agents, as well as on depolarization performed in normal external medium, along with the anesthetic's action, when applied after depolarization through K<sup>+</sup> occurred.

The influence of procaine's incorporation into liposomes consisting of lecithin, and the effects of liposomes without anesthetic, as well, have been comparatively studied, under the same conditions applied in experiments with free anesthetic.

## THE INFLUENCE OF INORGANIC CATIONS ON THE MEMBRANE POTENTIAL IN HIGH-POTENTIAL MUSCLES

### MATERIALS AND METHODS

Experiments have been performed on frog (*Rana ridibunda*, Pall.) sartorius muscle (4–6 muscles from different animals, in each experimental series) in normal Ringer solution (NR) with pH = 7.2 (bicarbonate buffer). 2.5 mM procaine HCl (Merck) has been solved in NR or Ringer with increased K<sup>+</sup> (30 mM) prepared by equimolar replacement of KCl for NaCl. The liposomes have been prepared from lecithin solved in ethyllic ether and then introduced in NR solution or Ringer with 30 mM K<sup>+</sup>, either containing procaine or not, and thermostated at 55°C. Lecithin has been extracted from the yolk of fresh eggs, according to the method of Singleton et al. (1965) (19). The membrane potential has been measured by applying the technique of glass intracellular microelectrodes. Statistic calculation of data have been performed by *t* Student test.

### RESULTS

Increase of the K<sup>+</sup> concentration in the Ringer solution, from its normal values of 2.5 mM to 30 mM, induces a rapid and ample membrane depolarization, an amplitude of 48.07 mV being recorded, after 60 minutes (from 90.81 mV to 42.74 mV, p < 0.001) (Fig. 1—D) followed by a slow returning to the value of normal resting potential (NRP) in NR.

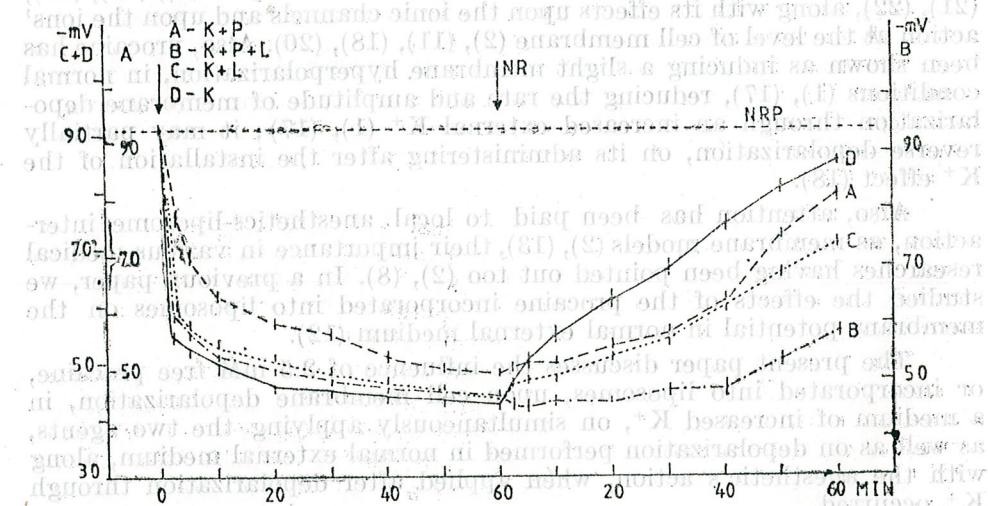


Fig. 1. — The effects of the agents on the membrane depolarization in the simultaneous administering of 30 mM K<sup>+</sup> and repolarization in NR. A = free procaine (2.5 mM) and 30 mM K<sup>+</sup>, B = 2.5 mM procaine and 30 mM K<sup>+</sup> incorporated into liposomes, C = K<sup>+</sup> — liposomes without drug, D = depolarization by 30 mM K<sup>+</sup> without liposomes and repolarization in NR, NRP = normal resting potential, NR = normal Ringer. The data represent mean value ± SEM from 25–50 measurements; see text.  $p$  = see the text.

The simultaneous action of the 2.5 mM free procaine (having a hyperpolarizing effect in NR) (1), (12), and of the increased K<sup>+</sup> reduces the installation rate and the amplitude of membrane depolarization (43.04 mV, after 60 minutes; from 91.96 mV to 48.92 mV, p < 0.001) (Fig. 1—A). Also, procaine inhibits membrane repolarization in NR, a 11.11 mV (p < 0.001) depolarization being recorded after 60 minutes, as compared with only 5.77 mV (p < 0.001) in experiments without procaine.

On procaine's (2.5 mM) incorporation into liposomes together with 30 mM K<sup>+</sup>, depolarization is not different from that recorded in experiments with high-K<sup>+</sup> medium, without procaine and liposomes (Fig. 1—D); yet, a strong inhibition of repolarization in NR, without drug and liposomes (Fig. 1—B) is observed.

Incorporation into liposomes of the increased K<sup>+</sup>, without procaine, does not alter the K<sup>+</sup>-induced depolarization (Fig. 1—C), yet determines a slower repolarization in NR, as compared with the experiments without liposomes, with or without procaine (Fig. 1—A and D, respectively).

Another series of experiments followed the effect of procaine and liposomes on their application after membrane depolarization through K<sup>+</sup>. Through its action on the already depolarized membrane, the free procaine (2.5 mM) induces only a slight potential recovery, followed by blocking of repolarization (Fig. 2—A). On washing the muscles with NR without procaine, repolarization is re-installed, yet more slowly, as compared to that in experiments without procaine (Fig. 2—D). On procaine's incorporation into liposomes, similar effects with those recorded in experiments with free procaine are observed in the first stage; nevertheless, on washing the muscle fibre with NR, a blocking of repolarization occurs (Fig. 2—B).

Liposomes without procaine determine only a slight delay in the repolarization of the membrane depolarized through K<sup>+</sup> while, in their removal from the medium, total recovery of NRP occurs (Fig. 2—C).

### DISCUSSIONS AND CONCLUSIONS

A series of papers have revealed that the specific effects of local anesthetics are mainly obtained through their interaction with the membrane's proteins, resulting in the inhibition of Na<sup>+</sup> channel and, consequently, blocking of the propagation of the action potential (7), (17), (18), (21), (22). At the same time, the importance of the interaction of such agents with membrane phospholipids has been rendered evident, as to the blocking of the Na<sup>+</sup> channel (15), (20), control of the activity of Na<sup>+</sup>—K<sup>+</sup> pump and active transport (14), determination of hyperpolarization and membrane stabilization (1), (18), as well as to its depolarization through an increased external K<sup>+</sup> (11).

On the other hand, the value of the membrane potential depends significantly on the gradient and on the K<sup>+</sup> flow through the membrane, so that, on increasing the external K<sup>+</sup> concentration, decreasing of the equilibrium potential of this ion and, consequently, membrane depolarization occur, according to Nernst's equation (4), (6), (16), (24). Also, the importance of the K<sup>+</sup>:Ca<sup>2+</sup> ratio from the extracellular medium has been pointed out for the value of the membrane potential, which is modified

in favour of K<sup>+</sup> — if K<sup>+</sup> concentration increases — having a depolarizing effect (11), (18), by the interaction of K<sup>+</sup> with membrane phospholipids, antagonistically to Ca<sup>2+</sup> (11).

Such interactions are involved, too, in the process of membrane depolarization recorded in our experiments performed with increased external K<sup>+</sup>, explaining this depolarization.

The results obtained show that procaine induces specific action on the membrane of the muscle fibre, not only during the development of the action potential but also during the membrane's resting state. Under such circumstances, the membrane depolarized through an increased external K<sup>+</sup> evinces a structural and functional state similar to that of the membrane depolarized during the development of the action potential, when it is crossed by the outwards current of the intracellular K<sup>+</sup> (1).

The free procaine reduces membrane depolarization through high-K<sup>+</sup> and opposes repolarization in NR. The liposome-incorporated procaine has stronger and more persistent effects. It is nevertheless observed that free procaine influences more strongly the depolarization phase, while liposome-incorporated procaine as well as the liposomes without agents have stronger effects on the repolarization phase in NR. At the same time, it is observed that incorporation of the anesthetic into liposomes intensifies its specific action, especially as to the pronounced inhibition of repolarization, which is indicative of a strong stability of the structure characteristic for the depolarized membrane (Fig. 1—B and 2—B).

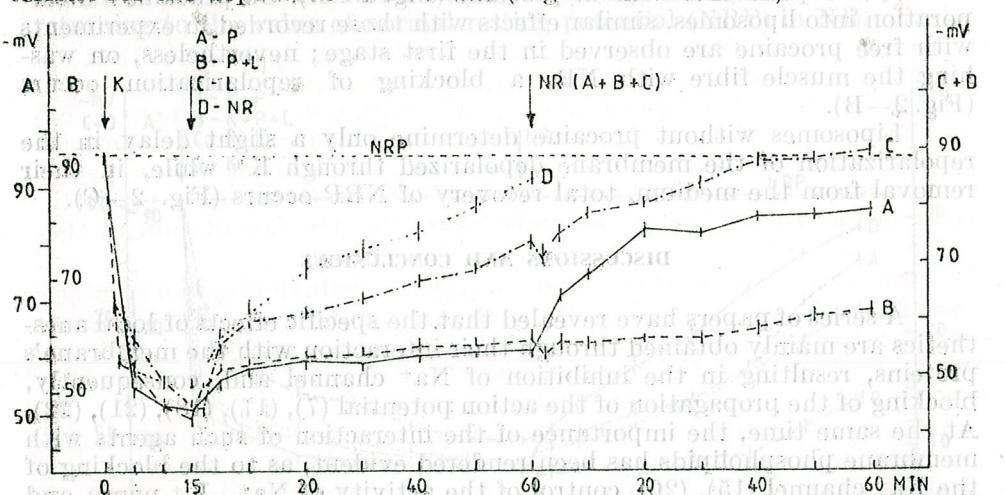


Fig. 2. The effect of 2.5 mM free procaine (A), procaine incorporated into liposomes (B) and liposomes without anesthetic (C) on the repolarization of the membrane depolarized by free 30 mM K<sup>+</sup>; D = repolarization in NR without agents. For other explanations, see Fig. 1.

A series of investigations have shown that, under the action of an increased K<sup>+</sup>, a certain asymmetry is manifested between the rate of depolarization installation and that of the normalization of the membrane potential of the striated muscle fibre, which is due to its rectification properties (6), (9), (16). Our experiments point out that procaine intensifies the mem-

brane's rectification properties — a similar action to that of the Ca<sup>2+</sup> ion (16). Such effects are even more pronounced through the incorporation of procaine into the liposomes, which involves a thorough modification of the membrane's fluidity in these conditions (5), (9), (15).

Another interesting aspect of the bioelectrical effects of free and liposome-incorporated procaine may be observed when comparing the experimental data with the values calculated with Nernst's equation. Studies performed on various cell types have shown that the measured values of the membrane potential evidence a certain deviation from those calculated with Nernst's equation (4), (6), (9), (16), (24). If considering the equilibrium potential of K<sup>+</sup>, on admitting a K<sup>+</sup> intracellular concentration of 139 mM (24) and an extracellular value of 30 mM (in our experiments with high-K<sup>+</sup>), the membrane potential calculated with Nernst's equation should reach a value of -38.62 mV, which means a 4.12 mV more reduced values than the measured one (-42.74 mV). On reducing the amplitude of membrane depolarization by K<sup>+</sup>, the free procaine increases the deviation of the potential's measured value compared with the calculated one, on considering the equilibrium potential of K<sup>+</sup> for its external concentration of 30 mM (-38.62 mV) as compared to the measured value of -42.74 mV in the absence of procaine, and of -48.92 mV, respectively, in its presence, the initial normal potential being of -90.81 mV and -91.96 mV, respectively. Liposome-incorporated procaine, and the liposomes without agents, as well, do not evidence such an effect, although strongly influencing membrane repolarization.

The effects of procaine recorded during membrane depolarization have to be joined with those manifested during its repolarization, which is indicative of the complexity of the anesthetic's actions. These effects reflect the agent influence both on the membrane structure and fluidity (5), (9), and on the ionic flows through the membrane (4), (9), (23) and the specific interaction between K<sup>+</sup> and membrane phospholipids involved in the depolarization process (11).

Experiments having employed liposome-incorporated procaine led to the conclusion that the data obtained represent an effect of the anesthetic's incorporation into liposomes and not a simple summing up of these separated effects of the two agents (12). The substances incorporated into liposomes may be transported within the living cell through characteristic processes occurring between liposomes and the cell, such as adsorption, endocytosis, fusion or lipidic transfer (8). Mention must be made of the fact that, under conditions similar with those applied in our experiments, the penetration of the liposomes through the membrane of frog striated muscle fibre has been revealed by electron-microscopy (3). The liposomes, being constituted of lecithin, induce modification of the ratio between the membrane's phospholipids and the membrane properties and, at the same time, of the procaine's mode of action (5), as well as the specific interaction between the K<sup>+</sup> ion and membrane phospholipids, resulting in the membrane depolarization (11).

At the same time, it is worth mentioning that liposomes assure protection of the incorporated procaine and maintenance of a certain ratio between the cationic and the anionic form of the anesthetic, with specific effects both on the external and the internal membrane surface (1), which

may induce intensification and prolongation — in time — of the effects of the incorporated agent, as observed, too, in our experiments (12).

Also, it has been shown that, between the phospholipidic bilayer of liposomes and the incorporated anesthetic, certain interactions do appear, resulting in a liposome-procaine system with characteristic properties, among which an electrical charge of its own (5), (10), that may interfere with the membrane potential (12). Such a situation causes a complex interaction between the liposome-procaine system and the structure and electrical properties and permeability of the cell membrane, which is evident, too, by the intensification and persistence of liposome-incorporated procaine specific effects, as observed, too, in our previous experiments (12). At the same time, the observation may be made that such liposome-local anesthetics (or other agents having similar effects) systems may be considered as means of membrane fluidity (microviscosity) correction, if modified by certain affections (2), (5).

#### REFERENCES

1. Agrigoroaci St., Neacșu I., 1977, Rev. Roum. Biol. — Biol. Anim., **22**, 155.
2. Benga G., Holmes R. P., 1984, Prog. Biophys. Molec., Biol., **43**, 196.
3. Brăiloiu E., Covic A., Brănișteanu D. D., Zosin A., Neștiianu V., 1988, Bul. Soc. Nat. Biol. Cel., **15**, 122.
4. Bures J., 1967, *General Electrophysiology of Cells and Tissues*, in: *Electrophysiological Methods in Biological Research*, J. Bureš, M. Petráň, J. Zachar eds., Chapter III, pp. 271—280, Third revised edition, Academia Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague.
5. Chapman D., Benga G., 1984, *Biomembranes Fluidity. Studies of Model and Natural Biomembranes*, in: *Biological Membranes*, D. Chapman ed., Vol. 5, pp. 1—56, Acad. Press, London.
6. Hodgkin A. L., Horowitz P., 1959, J. Physiol. (London), **148**, 127.
7. Inoue P., Frank G. B., 1962, J. Pharmacol. Exp. Therap., **136**, 190.
8. Leucuță S. E., *Release Pharmaceutical Systems with Controlled Rate and of Target Transport* (in Romanian), Ed. Medicală, Bucharest.
9. Mobley B. A., Page E., 1971, J. Physiol. (London), **215**, 49.
10. Národa J., Balgavý P., Gawrisch K., Cižmárik J., 1983, Gen. Physiol. Biophys., **2**, 457.
11. Neacșu I., Agrigoroaci St., 1981, Rev. Roum. Biol. — Biol. Anim., **26**, 91.
12. Neacșu I., Uglea C. V., Zănoagă C. V., Bâră I. I., 1992, Rev. Roum. Biol. — Biol. Anim., **37**, 27.
13. Papahadjopoulos D., 1970, Biochim. Biophys. Acta, **211**, 467.
14. Petrov A. G., Mircevoca L., 1986, Gen. Physiol. Biophys., **5**, 391.
15. Račansky V., Béderová E., Pisková L., 1988, Gen. Physiol. Biophys., **7**, 217.
16. Schoffeniels E., 1967, *Cellular Aspects of Membrane Permeability*, Pergamon Press, Oxford, London, Edinburgh, New York, Toronto, Sydney, Paris, Braunschweig.
17. Seeman P., 1972, Pharmacol. Rev. **24**, 583.
18. Shanes A. M., 1958, Pharmacol. Rev., **10**, 59.
19. Singleton W. S., Gray M. S., Brown M. L., White J. J., 1965, J. Amer. Oil Chem. Soc., **42**, 53.
20. Stolc S., 1988, Gen. Physiol. Biophys., **7**, 177.
21. Taylor R. E., 1959, Amer. J. Physiol., **196**, 1071.
22. Thesleff S., 1956, Acta Physiol. Scand., **37**, 335.
23. Woodbury J. W., 1960, *The Cell Membrane: Ionic and Potential Gradients and Active Transport*, in: *Medical Physiology and Biophysics*, T. C. Ruch and J. F. Fulton eds., pp. 29—68, W. S. Saunders Co., Philadelphia.
24. Zachar J., Zacharová D., Henček M., 1964, Physiol. bohemoslov., **13**, 117.

Received February 18, 1992

Institute for Biological Research  
Iași. Bd. Copou 20 A,

#### THE ROLE OF THE PARAVENTRICULAR NUCLEUS (PVN) ON THE ORGANISM'S DEFENSE CAPACITY

V. P. HEFCO, I. NEACȘU and A. OLARIU

In the male rats, mechanical lesion of the PVN induces a significant decrease in the number of leukocytes, lymphocytes and basophils, which is maintained for the whole 4 — week duration of the experiment. Eosinopenia and neutrophilopenia are maintained for 2 weeks post-operatively, while monocytopenia is maintained only 1 week post-operatively. In the female rats, the sense of changes is generally the same as that observed in the males, yet the degree of modifications is more reduced. The recorded changes are attributed to the endocrine and vegetative nervous systems modifications induced by the PVN lesion.

The paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) is known to be involved in the integration and regulation of a variety of neuroendocrine and autonomic functions (9). The magnocellular components of the nucleus have been identified as synthesizing and secreting oxytocin and vasopressin, that are released from nerve terminals in the neurohypophysis (9). The parvocellular components of the PVN contain neurones which secrete corticotropin-releasing hormone (CRH) (5), thyrotropin-releasing hormone (TRH), (5), PHI-27 (9), a neuropeptide from secretin family (9), vasoactive intestinal peptide (VIP) (5), somatostatin, dopamine and a variety of opiate-like peptides (9). These substances are released into the hypophyseal portal vessels from axon terminals within the neurohaemal zone of the median eminence and regulate anterior pituitary secretory activity. In addition, oxytocin and vasopressin are widely believed to act as central neurotransmitter/neuromodulator substances (5), (9) and electrophysiological evidence also suggest neurotransmitter-like actions of CRH, TRH, somatostatin and other neuropeptides synthesized within the PVN (7), (9), (10), (11).

Almost every known endocrine substance directly affects both the nervous and immune systems, once known that a constant interaction does exist between them in all studied vertebrates. The continuous interactions among the nervous, endocrine, and immune systems was named neuroimmunomodulation or "NIM" (3).

Among the endocrines known to have a direct effect on one or more immune function are: the adrenal and sexual steroids, thymosin (s), prolactin, growth hormone, melatonin, the catecholamines, serotonin, and many of the other neurotransmitters and neurally-active polypeptides. All of these have negative feed-back loops to the central nervous system, especially, via the hypothalamus and the pituitary (3).

Anatomical studies have demonstrated the presence of efferent projections to the PVN arising from the septal and bed nuclei and preoptic area (9). Also, PVN is connected with the brainstem and spinal cord (1), (12). These types of connections may influence a variety of autonomic and endocrine functions, such as those controlling the activity of various endocrine glands, metabolic rate, the organism's defense, etc. (3).

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. ANIM., TOME 37, No2, P. 125 — 130, BUCAREST, 1992

The present study was therefore undertaken in order to further clarify the role of PVN on the organism's defense function, mediated cellulary, which has been evidenced by the number of total leukocytes and the varieties of leukocytes.

#### MATERIAL AND METHODS

Male Wistar rats weighing about 250 g and female rats of about 210 g, maintained at constant temperature and Mac Collum's standard diet were used. The PVN lesions were performed with a rotating knife, described earlier (4), designed to make an inverted cone-shaped lesion centered on PVN. For sham operations the knife was lowered 5 mm below the surface of the brain and not rotated. Leukocytes counting has been done microscopically on employing a hemocytometer, while the leukocyte formula has been determined by applying the May Grünwald-Giemsa coloration method. Blood was sampled from the tail vein, after 18-hours fasting. The results were analysed statistically using Student's t-test.

#### RESULTS

Experimental data are presented in Table 1. In the male rats, mechanical lesion of the PVN induces a significant decrease in the number of leukocytes, lymphocytes and basophils, which is maintained for the whole 4-week duration of the experiment. Eosinopenia and neutrophilopenia is maintained for 2 weeks postoperatively, while monocytopenia is maintained only 1 week. In the female rats, the sense of modifications is generally the same as that recorded in the males, yet the degree of modification is more reduced.

#### DISCUSSION

In the PVN some ten subnuclei had been distinguished, which were disparate in cell composition, neuropeptide and neurotransmitter contents, as well as in their projections and the nerve fibers supply (1), (9), (11). The vast afferent and efferent connections of the PVN testify to the importance of its role in homeostatic functions.

It is generally accepted that the immune system, although regulated to a large extent by intrinsic cellular and humoral events, is sensitive to signals generated in the nervous and endocrine systems. This assumption is supported by two lines of experimental evidence: first, that spontaneous or induced alterations in the neuroendocrine system may cause functional modifications of immune reactivity (8); and, second, that the membranes of various lymphoid cells contain receptor sites for many hormones (8), neuropeptides (8) and substances, such as the autacoids released under stressful and inflammatory reactions.

Table 1

Changes of the total number of circulating leukocytes and of leukocytic formula after PVN lesion. Number of rats in each group was 8. Values are  $M \pm S.E.$  So = sham-operated; L = lesioned rats; D = days post-operatively; NS = non-significant.

Groups		Total number of leukocytes	Neutrophils	Eosinophils	Basophils	Lymphocytes	Monocytes
Male 7D	SO.	13,167 $\pm$ 407	6,599 $\pm$ 299	34.55 $\pm$ 3	36.8 $\pm$ 3.9	7.633 $\pm$ 377	100.6 $\pm$ 10.6
	L.	11,387 $\pm$ 471	5,125 $\pm$ p < 0.01	24 $\pm$ 3	30 $\pm$ 4	5,656 $\pm$ 392	31.1 $\pm$ 6
Male 14D	SO.	13,722 $\pm$ 362	4,007 $\pm$ 472	578 $\pm$ 22	30 $\pm$ 2.2	9,610 $\pm$ 544	175 $\pm$ 34
	L.	11,288 $\pm$ 443	2,845 $\pm$ 218	502 $\pm$ 24	19.8 $\pm$ 2	6,846 $\pm$ 623	157 $\pm$ 16
Male 21D	SO.	13,950 $\pm$ 312	3,544 $\pm$ 395	523 $\pm$ 61	34 $\pm$ 1.7	11,990 $\pm$ 646	180 $\pm$ 22
	L.	12,398 $\pm$ 541	2,956 $\pm$ p < 0.05	423 $\pm$ 369	23 $\pm$ 63	7,447 $\pm$ 613	230 $\pm$ 17
Male 30D	SO.	12,900 $\pm$ 451	2,764 $\pm$ 195	427 $\pm$ 59	38 $\pm$ 4.4	11,027 $\pm$ 654	194 $\pm$ 38
	L.	11,537 $\pm$ p < 0.05	2,751 $\pm$ 359	461 $\pm$ 90	26 $\pm$ 1.5	7,417 $\pm$ 451	170 $\pm$ 24
Female 14D	SO.	10,625 $\pm$ 400	3,413 $\pm$ 268	407 $\pm$ 55	23 $\pm$ 2.3	6,131 $\pm$ 564	188 $\pm$ 25
	L.	8,890 $\pm$ 290	2,878 $\pm$ p < 0.05	122 $\pm$ 214	17 $\pm$ 15	5,592 $\pm$ 373	195 $\pm$ 28

The dorsal medial parvocellular components of the PVN represents the major source of CRH (11). Some neurones in PVN contain CRH and arginine-vasopressin (11). The PVN lesion diminishes the ACTH and corticosterone hypersecretion, usually occurring after intensive stressful or hypothalamic stimulation (6). The lymphopenia appeared under stressful action, was attributed to adrenal hyperfunction and thymus and spleen involution (3). Decrease of the total number of leukocytes and of most components forming leukocytic formula, evidenced in our experiments, can not be attributed to hyperfunction of the adrenal gland, as, according to our results too (4), the PVN lesion induces a gradual decrease on the hypothalamo-pituitary-adrenal gland activity.

The thyroid gland is also involved in regulating leukopoiesis, hyperfunction of the thyroid gland being accompanied by eosinophilia and lym-

phocytosis, while hypothyroidism is characterized by leukopenia. Leukopenia, observed in our experiment, can not be attributed to a reduced thyroid activity, as, although PVN secretes TRH (9), the indirect tests, based on metabolic rate, indicate an increased thyroid activity 2 weeks post-operatively, which is followed by activity diminishing (personal data). A stimulating effect upon leukopoiesis is also exerted by androgens, growth hormone and prolactin. The structure of prolactoliberin has not been established yet, nevertheless, a prolactoliberin-like action has been attributed to some peptides, i.e. VIP (5), oxytocin (5), TRH (5), and PHI-27 (5), all of which can be identified in the porthypophyseal blood vesel. The neurones of the PVN secrete most of these neuropeptides, reaching the porthypophyseal blood vesel (9). Kiss et al. (5) have observed that PVN lesions significantly decreased the suckling induced rise of prolactin levels, without affecting the basal level of prolactin. It is also possible that, in our experiments, too, the effect of exogenous and/or endogenous stimuli, acting continuously upon immune system by means of CNS, may have diminished prolactin secretion, which might partially contribute to leukopoiesis reduction.

PVN secretes somatostatin (9), so that, probably, its lesion intensifies STH secretion. Diminution of leukopoiesis, evidenced in our experiments, can not be attributed to STH, as the STH intensifies leukopoiesis, mainly by stimulating T lymphocytes proliferation.

As to the endogenous opioid peptides, most investigators consider that  $\alpha$ -endorphin, as well as Met- and Leu-enkephalins but not  $\beta$ -or  $\gamma$ -endorphins, were potent suppressors of antibody production as well as intensifiers of tumor growth (2). In our experimental conditions, global decreases of leukopoiesis can not be attributed, most probably, to the hypersecretion of morphine-like substances, because, after the PVN nucleus lesion, known as secreting enkephalins, too (9), the concentration of opioid peptides is expected to be diminished.

Arginine-vasopressin, that may replace IL<sub>2</sub> function as to the production of  $\gamma$ -interferon, has no influence on thymocyte proliferation (2).

VIP may induce synthesis and release of a suppressor factor that inhibits mitogen-induced proliferative response of T but not B lymphocytes (2). VIP was shown to inhibit the egress of small lymphocytes out of popliteal lymph nodes. As VIP is synthesized by PVN, too, lymphocytopenia can not be attributed to this peptide.

Recently, a great number of data have been collected, attesting that the organism's defense function may be regulated by CNS, too, through other mechanisms than the humoral ones. For example, it has been demonstrated that lesion of the anterior hypothalamus, causes an increase of the T lymphocytes even in the hypophysectomized rats (3). The direct connection between CNS and the leukocytopoietic tissues might be exerted, too, by a direct nervous way. A direct link between the CNS and immunocompetent tissues has been suggested by the demonstration of nerve endings, in the thymus, spleen, and lymph nodes (3). The thymus receives direct innervation from the nucleus ambiguus (3).

The PVN nucleus may influence the parasympathetic and sympathetic function through its connection with the dorsal vagal nucleus as

well with the sympathetic preganglionic neurons located in the thoracic spinal cord (1, 12). PVN lesion enhances the activity of the vagus nerve and reduces that of the splanchnic nerve (12). As stated by Benetato et al. (3), stimulation of the sympathetic hypothalamic areas by means of UV rays causes an increase in the number of circulating leukocytes. Leukopenia, observed in our experiments, might be due mainly to diminution of the sympathetic tonus and increase of the parasympathetic one.

Without denying the role played by the hypothalamus on the organism's defense function by means of the endocrine system, our data suggest that the hypothalamus may modulate the immune function by a direct nervous link, too, if considering its regulatory role upon autonomic nervous system. This could also explain the prolonged manifestation of leukopenia, induced by PVN lesion, in the absence of corticoadrenal hyperfunction. These findings taken with the presence of adrenergic and cholinergic receptors on the lymphocyte surface (3), further support the possibility of a direct link between the CNS and the organism's defense system.

Cases of immunodeficiency may appear, too, as a result of malnutrition (8). Yet, they have not contributed to leukopenia, registered in our experiments, because, in our experimental conditions, carbohydrate metabolism does not suffer big modifications (personal data).

As a conclusion, the assertion may be made that PVN increases the defense organism's capacity. The recorded modifications are not to be attributed to the changes occurring in carbohydrate metabolism, yet to those recorded in the endocrine and automic nervous systems, respectively.

Victoria Cuza et coll. (4), C. Beaterina Popescu et coll. (9), I. Marinescu (13), (14), (15), R. Bussey (16), V. Zineviciu comme élément composant des zoocénènes du floue.

#### REFERENCES

1. Akhmedov I. G., Exp. Clin. Endocrinol., **88**, 129, 1986
2. Blalock J. E., Physiol. Rev., **69**, nr 1, 1989
3. Fredrikson R. (Ed): *Neuroregulation of autonomic, endocrine and immune system*. Martinus Nijhoff Publ. Boston, Dordrecht, Lancaster, 329–341; 367–388, 1986
4. Hefco V., Jitaru P., St. cerc. Biol. — Zool., **41**, 67, 1989
5. Kiss J. Z., Kanyicsk B., Nagy C. Y., Endocrinology, **119**, 870, 1986
6. Makara G. B., Stark E., Kapoos G., Antoni F. A., Am. J. Physiol., **250**, E 319, 1986
7. Mor G., Saphier D., Feldman S., J. Neurosci. Res., **17**, 452, 1987
8. Nelson D. S. (Ed), *Natural immunity*. Acad. Press, Sydney, San Diego, N. Y., pp. 306–337; 440–465, 1989
9. Saphier D., Feldman S., Brain Res. Bull., **17**, 743, 1986
10. Saphier D., Feldman S., Brain Res. Bull., **26**, 863, 1991
11. Swanson L. W., Sawchenko P. E., Annu. Rev. Neurosci., **6**, 269, 1983
12. Yoshimatsu H., Niijima A. et al., Brain Res., **503**, 147, 1984

Received March 3, 1992

"Al. I. Cuza" University

Faculty of Biology

Iași, Bd. Copou 20 A

phocéenne, while *Hypania invalida* is characterized by the presence of pentapeptides (1, 2). The tentacles of the hydroid *Hydrocina polycarpa* contain thyrocalcitonin-like peptides (3). A similar peptide has been isolated from the brain of the fish *Channa argus* (4). The peptide is based on the sequence of the *hyponothalamic* peptide of the *hyponothalamus* (5). The peptide is secreted in the anterior pituitary of the teleostean fish *Carassius auratus* (6).

The possibility of a similar mechanism of growth regulation in the *Hypania invalida* has been suggested by the fact that the species has been found in the same area as the *PVN nucleus* (7). In our experiments, we have shown that the *PVN nucleus* is involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida* (8). The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*. The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*.

The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*. The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*.

The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*. The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*. The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*.

Arginine-vasopressin, that may replace the function of the *PVN nucleus*, has no influence on the production of  $\gamma$ -interferon.

The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*. The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*.

The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*. The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*. The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*.

The results obtained indicate that the *PVN nucleus* may be involved in the regulation of the growth of the *Hypania invalida*.

## LES POPULATIONS D'*HYPANIA INVALIDA* (GRUBE)

DANS LA ZONE PORTILE DE FIER, AVANT ET APRÈS  
LA CRÉATION DU LAC D'ACCUMULATION

VIRGINIA POPESCU-MARINESCU

In the paper there are shown data illustrating the evolution of populations in the ponto-caspian relict *Hypania invalida* in the Portile de Fier area during 1942—1986. In this respect, up to 1968, before the damming of the Danube in the Romanian sector, this species was represented by a small number of copies. After the formation of the dam lake, the respective polychete has extended its proliferation area and the density as well as the biomass have increased, the maximum development being reached in 1972.

Le polychète ampharétide *Hypania invalida* (Grube), ponto-caspien connu antérieurement de la Mer noire, des lagunes de Dniestr, Dniépre, Boug, Bérésansk, de la Mer d'Azov aux embouchures du Don et de la Mer Caspique du delta de Volga (7), (8), a été signalé aussi dans le secteur roumain du Danube du Canal Filipoiu en 1935, puis de Dniestr en 1936 par C. Motaş et M. Băcescu (7) ; le dernier l'a trouvé de même dans le Danube dans la zone des Cazane en 1942 (1), (2), (3). Ultérieurement, on a effectué des études détaillées sur le répandissement et la biologie de cette espèce sur le matériel des différents secteurs danubiens, du delta et de l'avant-delta par Virginia Popescu-Marinescu (10), (11), (12), P. Kothé (6) et E. Weber (18). Victoria Cure et collab. (4), (5), Ecaterina Popescu et collab. (9), Virginia Popescu-Marinescu (13), (14), (15), B. Russev (16), V. Zinevici (17) l'ont citée comme élément composant des zoocénoses du fleuve.

En poursuivant l'évolution des populations d'*Hypania invalida* de la zone Portile de Fier on constate que la densité de ce polychète était réduite entre 1942—1968, avant le barrage du fleuve dans le secteur roumain. C'est ainsi que M. Băcescu avait signalé en 1942 (1), (2), (3) pendant les dragages faits à Dubova à la sortie de Cazane, à une profondeur de l'eau de 35 m, parmi les composants de la zoocénose peu d'exemplaires d'*Hypania invalida* auprès d'un autre composant relique ponto-caspienne, *Manayunkia caspica*. Plus tard, en 1958 et 1959, Ecaterina Popescu et collab. (9) aussi les dragages qualitatifs (exécutés sur une longueur de plusieurs mètres en profil longitudinal) dans les conditions d'un courant d'eau élevé (2,9 km/s, à Orșova) sur un faciès pierreux, aux profondeurs de 4 jusqu'à 70 m, entre le km 969 et 957, on a trouvé un nombre variable de polychètes de 5 à 19 ex/épreuve ; toujours au km 957 dans la même période, sur le faciès sablonneux aux profondeurs de 3—7 m, ont déterminé de 1 à 14 ex/épreuve ; et sur le faciès sablonneux-boueux, aux profondeurs de 5—7 m seulement 1 ex/épreuve. Ces chiffres, rapportés au total des organismes de la cénose benthique nous indique une variation du pourcentage détenu par les polychètes de 0,04 à 0,49 %. Nos déterminations ont établi que les polychètes respectifs appartiennent entièrement à l'espèce *Hypania invalida*.

Les seules données quantitatives portant sur cette espèce de la zone Portile de Fier, avant la création du lac d'accumulation sont celles mentionnées par Virginia Popescu-Marinescu (11), (12), (14). Ainsi, montre-t-elle l'auteur qu'en 1968, dans le Danube au km 967, à la confluence de la rivière Mraconia à une profondeur de 1-2 m, vers le bord, sur un faciès pierreux-sabloneux, *Hypania invalida* a eu une densité de 3 ex/m<sup>2</sup> (0,36%) et une biomasse de 0,003 g/m<sup>2</sup>, tandis qu'au km 960 à la confluence de la rivière Eșelnița, ont été atteints 9 ex/m<sup>2</sup> et 0,01005 g/m<sup>2</sup>. Il faut souligner qu'avant le barrage du fleuve, la salinité de l'eau dans la zone Portile de Fier n'avait pas dépassé 20-30 % Cl.

Les modifications produites au niveau des conditins du milieu du Danube, surtout à la suite de la création des lacs de barrage, ont été poursuivies de changements dans la structure des zoocénoses benthales. Par exemple, la baisse de la vitesse du courant d'écoulement de l'eau, le dépôt des suspensions y compris l'extinction de la surface couverte par le faciès boueux dans le lit du fleuve, ont conduit, en outre, au développement des populations des polychètes dulgaquicoles. En ce sens, dans les secteurs danubiens supérieurs, allemand et autrichien, l'existence de l'espèce *Hypania invalida* a été possible pour la première fois au km 2250 (sur le matériel collecté en 1958) et puis dans les lacs de Jochenstein km 2004-2203 (6) et Ybbs-Persenbergs km 2062-2060 (18).

Dans le présent lac d'accumulation de Portile de Fier, *Hypania invalida* a augmenté son aire de répandissement de Moldova Veche jusqu'en amont de Gura Văii (tableau 1). La diffusion plus large dans cette zone par rapport à la période antérieure au barrage du fleuve a été possible parce que *Hypania invalida* vit dans des eaux douces, aux profondeurs variables dans le secteur roumain du Danube entre 0,5 et 70 m, elle est eurytype (en se retrouvant sur le faciès boueux, boueux-sabloneux, sablonneux, avec détritus végétal, pierreux) en préférant néanmoins le substrat boueux. C'est grâce à tout cela que s'est produit le grand développement en tant que densité et biomasse de l'espèce dans le lac d'accumulation où le courant de l'eau a baissé sous 0,5 m/s et le faciès dominant est devenu celui boueux autant dans la zone des bords et des anciens trous des rivières (les bords inondés de nouveau) que sur le médial ou dans le centre (l'ancien chenal fluvial) (12), la salinité de l'eau ne se modifiant pas d'une manière significative. Ces affirmations sont soutenues par des données concrètes qui attestent la présence de l'espèce *Hypania invalida* dans le lac Portile de Fier (tableau 1) dans une aire plus étendue à partir même de la première année après l'inondation complète de la zone, une densité, en 1971, de 5444 ex/m<sup>2</sup> et une biomasse de 4,355 g/m<sup>2</sup> sur le profil Cerna et de 20 ex/m<sup>2</sup> et 0,016 g/m<sup>2</sup> sur le profil Bahna, donc nettement plus grands qu'ayant le barrage du fleuve.

Mais, c'est à peine dans le deuxième année après l'inondation de la zone, qu'on a enregistré les valeurs maximales de l'entièrre période analysée, c'est-à-dire en 1972, lorsqu'on a entrepris aussi les recherches les plus approfondies qui avaient compris presque l'entièrre surface du lac (tableau 1). Alors, sur le faciès boueux du profil Bahna, au milieu, *Hypania invalida* a constitué 77,40 % (le 6 juin) de la biomasse de la zoocénose benthale, sur le profil Cerna, au milieu, 77,30 % (le 8 mars), sur le profil Mraconia à l'intermédiaire (entre le centre et le bord), 38,0 % (le 9 mars) et au milieu,

Tableau 1

La présence de l'espèce *Hypania invalida* dans le Danube, dans la zone Portile de Fier, pendant les années 1942-1986

L'année	Profil													
	Moldova Veche km 1052	Berzasca km 1018	Munteana km 1009	Dubova km 972			Mraconia chenal km 967	Mraconia ancienne bouche de rivière	Eșelnița km 960	Orșova km 957	Cerna chenal km 954	Cerna ancienne bouche de rivière	Bahna chenal km 950	Bahna ancienne bouche de rivière
1942	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1958	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1959	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1968	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1971	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1972	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1973	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1974	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1975	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1978	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1981	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1982	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1985	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1986	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

38,80 % (le 21 novembre), sur le profil Munteana, au bord 78,40 % (le 23 novembre); sur le faciès glaiseux-boueux sur le profil Berzasca, dans la zone intermédiaire, entre le bord et le centre, 50, 30%-(le 9 mars); sur le faciès sablonneux-pierreux-boueux, sur le profil Eșelnița, au centre, 83,30 % (le 8 juin) (5). Ces pourcentages attestent l'agglomération des polychètes dans la zone centrale du lac et dans celle intermédiaire, entre le centre et le bord, donc les anciennes zones inondées et moins dans celles couvertes de nouveau par l'eau. Les données quantitatives du profil Mraconia, en 1972, viennent appuyer cette affirmation par les valeurs de la densité numérique et celle de la biomasse, que *Hypania invalida* a atteint dans l'ancien chenal, avec une moyenne de 1560 ex/m<sup>2</sup> et 1,363 g/m<sup>2</sup>, par rapport à l'ancienne zone de versement de la rivière Mraconia (où il n'y avait pas de polychètes avant le barrage) dont la moyenne était de 3 ex/m<sup>2</sup> seulement et 0,012 g/m<sup>2</sup> et le maximum de 10 ex/m<sup>2</sup> et 0,008 g/m<sup>2</sup>.

La figure 1 présente les valeurs moyennes de la densité numérique de la biomasse réalisées par *Hypania invalida* en 1972 en différents endroits du lac Portile de Fier, se sont inscrites entre les limites à partir de 659 jusqu'à 24479 ex/m<sup>2</sup> et de 5,302 à 21,677 g/m<sup>2</sup>. On observe que les plus élevées valeurs moyennes de la densité numérique ont été celles du profil Cerna, où l'on a trouvé d'ailleurs les quantités maximales pendant l'année 1972, à savoir : 69720 ex/m<sup>2</sup> (selon V. Zinevici, 17). En ce qui concerne la biomasse, les valeurs moyennes par profil, les plus élevées, ont été réalisées en Munteana, mais la valeur maximale a été enregistrée aussi

à Cerna, de 130, 440 g/m<sup>2</sup>. Nous regrettons de ne pas pouvoir utiliser les valeurs de biomasse indiquées par V. Zinevici (17) parce que, selon cet auteur, le poids moyen d'un exemplaire est d'environ 2 — 100 fois plus grand que celui réel.

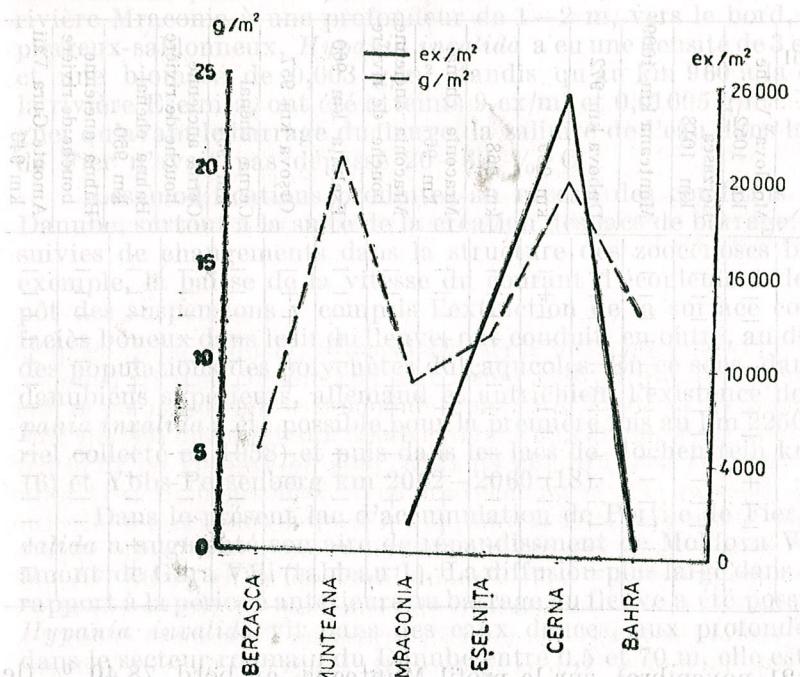


Fig. 1. — Variation de la densité numérique ( $\text{ex}/\text{m}^2$ ) et de la biomasse ( $\text{g}/\text{m}^2$ ) de l'espèce *Hypania invalida* dans le lac Portile de Fier, en 1972 (moyennes annuelles par profil).

En 1973, sur le profil Mraconia, la situation s'était maintenue semblable à celle de 1972, avec la seule différence que les chiffres obtenus sont un peu plus élevés, de manière qu'on a trouvé dans l'ancien chenal danubien, en moyenne 1992 ex/m<sup>2</sup> et 1,876 g/m<sup>2</sup>, tandis que dans l'ancienne zone de versement de la rivière Mraconia, vers le bord, 11 ex/m<sup>2</sup> et 0,054 g/m<sup>2</sup>.

Au cours des années suivantes, 1974, 1975, et 1978, les études portées sur le zoobenthos, y compris sur les polychètes de la zone Portile de Fier, ont été moins approfondies, c'est pourquoi on se résume à la présentation, dans le tableau 1, de l'existence de l'espèce *Hypania invalida* dans le lac d'accumulation.

Après 10 ans de la création du lac Portile de Fier, c'est-à-dire en 1981 et 1982, dans la composition de la faune benthale se sont produites des modifications plus lentes par rapport à celles de 1971—1972, ayant la tendance vers un certain équilibre de la structure des zoocénoses. Pendant les dernières années nos recherches se sont limitées au profil Mraconia (tableau 1) où *Hypania invalida* se trouvait encore parmi les éléments domi-

nants de la faune benthonique. C'est ainsi que ce polychète, constant dans toutes les épreuves, avait atteint une fréquence de 100 %. En ce qui concerne la densité, la biomasse, les chiffres moyens par profil, dans la zone de l'ancien chenal danubien ont été de 10686 ex/m<sup>2</sup> (6,65 %) et 13,007 g/m<sup>2</sup> (0,72 %) en 1981 et de 8148 ex/m<sup>2</sup> (7,91 %) et 7,852 g/m<sup>2</sup> (0,27 %) en 1982 (13). Réparties par zones du profil étudié, en 1981, au bord, les moyennes de la densité numériques et de la biomasse de l'espèce *Hypania invalida* se sont situées à 16698 ex/m<sup>2</sup> (10,014 %) et 20,339 g/m<sup>2</sup> (0,58 %) avec un maximum de 26367 ex/m<sup>2</sup> (37,80 %) et 15,555 g/m<sup>2</sup> (3,50 %) et un minimum de 3571 ex/m<sup>2</sup> (2,93 %) et 3,151 g/m<sup>2</sup> (0,10 %). Au centre du lac, la moyenne de la densité numérique et de la biomasse a été de 4675 ex/m<sup>2</sup> (3,02 %) et 5,676 g/m<sup>2</sup> (6,38 %) avec un maximum de 11220 ex/m<sup>2</sup> (3,89 %) et 8,751 g/m<sup>2</sup> (8,79 %) et un minimum de 255 ex/m<sup>2</sup> (0,39 %) et 0,214 g/m<sup>2</sup> (0,00 %). Dans la zone de l'ancien verissement de la rivière Mraconia, la moyenne avait inscrit 1293 ex/m<sup>2</sup> (5,45 %) et 0,692 g/m<sup>2</sup> (0,08 %), avec un maximum de 3878 ex/m<sup>2</sup> (7,57 %) et 2,0757 g/m<sup>2</sup> (0,08 %) au bord, et au centre une moyenne de 255 ex/m<sup>2</sup> et 0,272 g/m<sup>2</sup> avec un maximum de 765 ex/m<sup>2</sup> et 0,816 g/m<sup>2</sup>.

En 1982, la densité autant que la biomasse des populations d'*Hypania invalida* ont été plus baissées qu'en 1981. En ce sens, nous donnons comme exemple le bord du lac, avec les moyennes de 12406 ex/m<sup>2</sup> (10,04 %) et 11,726 g/m<sup>2</sup> (0,42 %), les maximum de 19839 ex/m<sup>2</sup> (18,81 %) et 24,021 g/m<sup>2</sup> (1,79 %) et les minimum de 5865 ex/m<sup>2</sup> (6,99 %) et 3,274 g/m<sup>2</sup> (0,13 %). Vers le centre du lac, les moyennes de 3889 ex/m<sup>2</sup> (4,71 %) et 3,978 g/m<sup>2</sup> (0,14 %) sont relativement rapprochées aux maximum de 6171 ex/m<sup>2</sup> (6,08 %) et 5,355 g/m<sup>2</sup> (0,80 %). Une baisse brusque de l'effectif des populations d'*Hypania invalida* a été relevée dans la zone de l'ancienne bouche de la rivière Mraconia, où autant au bord qu'au centre, les chiffres moyennes de 17 ex/m<sup>2</sup> et 0,020 respectivement 0,170 g/m<sup>2</sup> sont éloquents.

Dans les figures 2 et 3 on présente la variation mensuelle de la densité numérique et de la biomasse du polychète *Hypania invalida* du profil Mraconia, dans l'ancien chenal danubien en 1981 et 1982. A la suite de leur analyse et des données antérieurement présentées il résulte que pendant la période respective dans les conditions d'un certain équilibre dans la structure des zoocénoses benthoniques, les populations d'*Hypania invalida* ont été plus riches dans les zones du bord que dans celles du centre autant dans l'ancien chenal danubien que dans l'ancienne bouche de verissement de Mraconia, situation inverse par rapport à celle de 1972. D'autre part, la densité numérique et la biomasse des populations de ce polychète en 1981 et 1982 ont été plus grandes qu'en 1972.

Au cours des années 1985 et 1986, nos recherches se sont étendue de nouveau dans les trois profils: Mraconia, Cerna et Bahna. En se rapportant à l'année 1986 (15) dans l'ancien chenal danubien sur le profil Mraconia, les données moyennes de 1454 ex/m<sup>2</sup> (1,77 %) et 1,555 g/m<sup>2</sup> (0,12 %) ainsi que celles du bord de 2856 ex/m<sup>2</sup> (2,83 %) et 3,077 g/m<sup>2</sup> (0,26 %) et 51 ex/m<sup>2</sup> (0,08 %) et 0,032 g/m<sup>2</sup> (0,002 %) du centre, ainsi qu'à la fréquence de 33 % seulement, on constate que les populations d'*H. invalida* ont diminué dans la mesure de l'intensification du processus de colmatage du lac, l'effectif des populations d'*H. invalida* a diminué parce que, quoiqu'euryt-

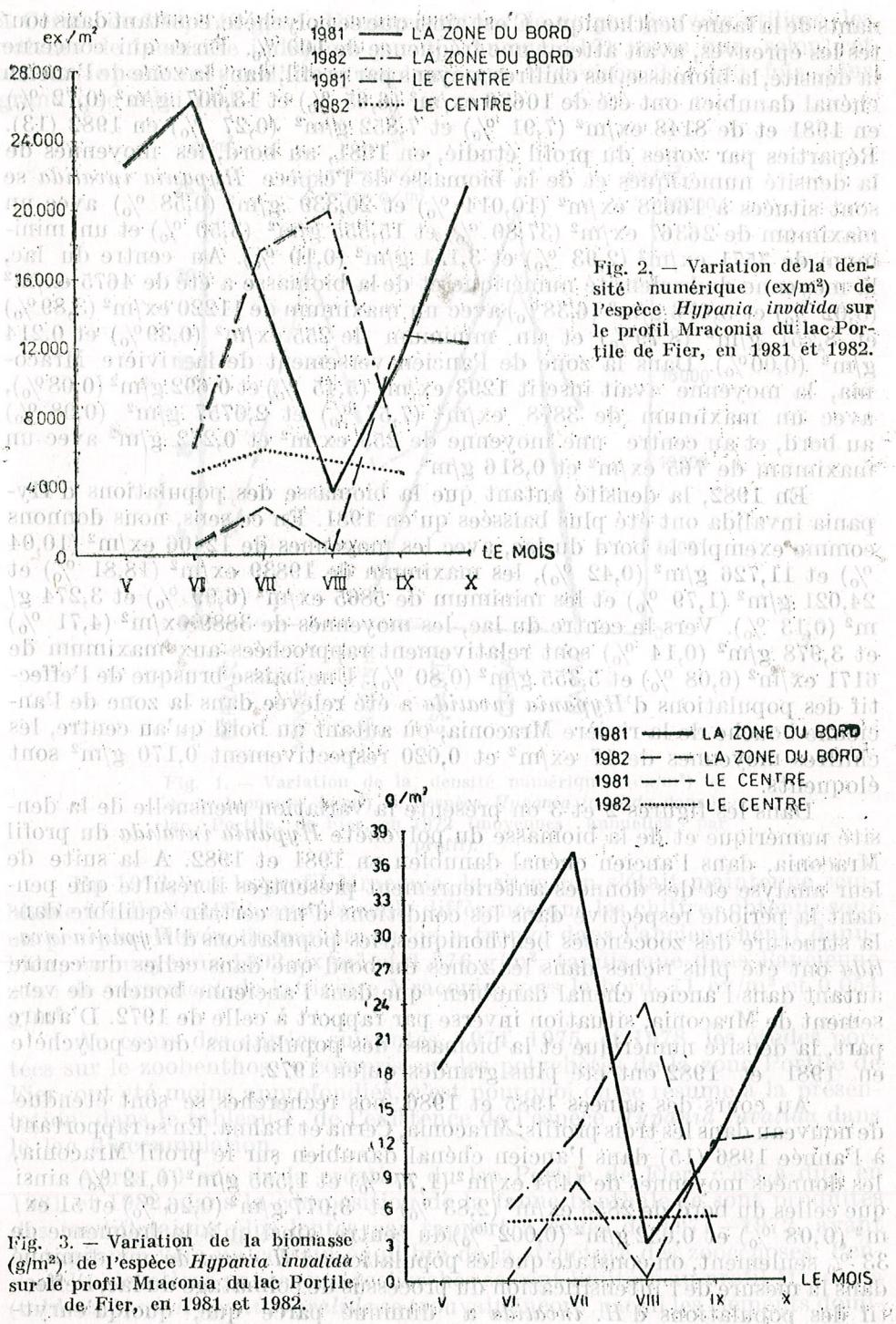


Fig. 3. — Variation de la biomasse ( $\text{g/m}^2$ ) de l'espèce *Hypania invalida* sur le profil Miaconia du lac Portile de Fier, en 1981 et 1982.

poe, prépondérante pélophile, elle est quand même comme toutes les reliques ponto-caspientes, oxyphile.

Year	ex (g/m²)	ex2 (g/m²)
1968	11.0	11.0
1970	11.2	11.2
1972	11.5	11.5
1974	11.8	11.8
1976	12.0	12.0
1978	12.2	12.2
1980	12.5	12.5
1982	12.0	12.0
1984	11.5	11.5
1986	11.5	11.5

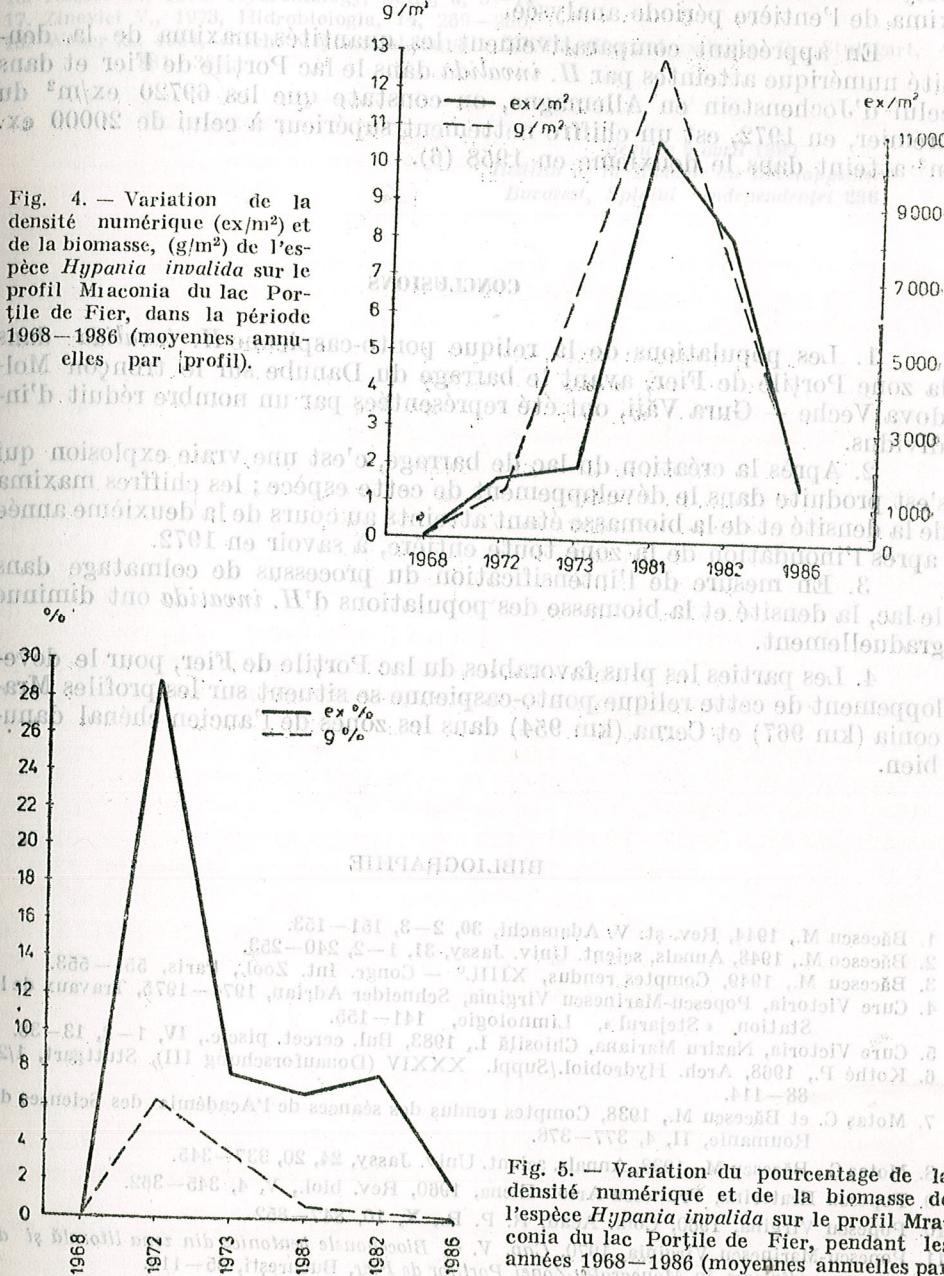


Fig. 5. — Variation du pourcentage de la densité numérique et de la biomasse de l'espèce *Hypmania invalida* sur le profil Mraconia du lac Portile de Fier, pendant les années 1968—1986 (moyennes annuelles par profil).

le profil Mraconia de l'ancien chenal danubien, les quantites les plus elevees ont ete trouvées en 1981; le pourcentage le plus eleve par rapport au total des individus de la zoocénose benthonique a été enregistré pourtant en 1972, lorsque dans le lac d'accumulation de Portile de Fier les polychetes ont occupé la place principale, en atteignant les valeurs maxima de l'entière période analysée.

En appréciant comparativement les quantités maxima de la densité numérique atteintes par *H. invalida* dans le lac Portile de Fier et dans celui d'Jochenstein en Allemagne, on constate que les 69720 ex/m<sup>2</sup> du premier, en 1972, est un chiffre nettement supérieur à celui de 20000 ex/m<sup>2</sup> atteint dans le deuxième en 1958 (6).

### CONCLUSIONS

1. Les populations de la relique ponto-caspienne *H. invalida* dans la zone Portile de Fier, avant le barrage du Danube sur le tronçon Molova Veche — Gură Văii, ont été représentées par un nombre réduit d'individus.
2. Après la création du lac de barrage, c'est une vraie explosion qui s'est produite dans le développement de cette espèce; les chiffres maxima de la densité et de la biomasse étant atteints au cours de la deuxième année après l'inondation de la zone toute entière, à savoir en 1972.
3. En mesure de l'intensification du processus de colmatage dans le lac, la densité et la biomasse des populations d'*H. invalida* ont diminué graduellement.
4. Les parties les plus favorables du lac Portile de Fier, pour le développement de cette relique ponto-caspienne se situent sur les profils Mraconia (km 967) et Cerna (km 954) dans les zones de l'ancien chenal danubien.

### BIBLIOGRAPHIE

1. Băcescu M., 1944, Rev. st. V. Adamachi, **30**, 2—3, 151—153.
2. Băcescu M., 1948, Annals. scient. Univ. Jassy, **31**, 1—2, 240—253.
3. Băcescu M., 1949, Comptes rendus, XIIIL<sup>e</sup> — Congr. Int. Zool., Paris, 551—553.
4. Cure Victoria, Popescu-Marinescu Virginia, Schneider Adrian, 1974—1975, Travaux de la Station « Stejarul », Limnologie, 141—155.
5. Cure Victoria, Naziru Mariana, Chiosilă I., 1983, Bul. cercet. piscic., **IV**, 1—2, 13—38.
6. Kothé P., 1968, Arch. Hydrobiol./Suppl. XXXIV (Donauforschung III), Stuttgart, 1/2, 88—114.
7. Motaș C. et Băcescu M., 1938, Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences de Roumanie, II, 4, 377—378.
8. Motaș G., Băcescu M., 1938, Annals. scient. Univ. Jassy, **24**, 20, 337—345.
9. Popescu Ecaterina, Prunescu-Arión Elena, 1960, Rev. biol., V, 4, 345—362.
10. Popescu Virginia, 1969, Com. Acad. R. P. R., X, 10, 847—852.
11. Popescu-Marinescu Virginia, 1970, Cap. V. C. Biocenozule bentonice din zona litorală și de adâncime, în Monografia Zonei Portilor de Fier, București, 85—110.

### CONCLUSIONS SUR L'ÉVOLUTION STRUCTURALE ET

9 *Hypania invalida* (Grube) dans la zone Portile de Fier 139

12. Popescu-Marinescu Virginia, 1980, Trav. Mus. Hist. nat. « Gr. Antipa », **XXI**, 131—138.
13. Popescu-Marinescu Virginia, 1987, 26. Arbeitstagung der IAD, Passau/Deutschland, 147—150.
14. Popescu-Marinescu Virginia, 1986, Rev. roum. biol., Série biol. anim., **31**, 1, 73—80.
15. Popescu-Marinescu Virginia și Diaconu Ion, 1989. St. cerc. biol., Seria biol. anim., **41**, 1, 71—76.
16. Russev B., 1976, Hydrobiology, Sofia, **3**, 3—19.
17. Zinevici V., 1973, Hidrobiologia, **14**, 269—280.
18. Weber E., 1964, Arch. Hydrobiol./Suppl. XXVII (Donauforschung I), Stuttgart, 4, 381—385.

Les causes complexes de nature anthropique, qui consistent en augmentations de la quantité d'azote et de phosphore dans les eaux du bassin danubien, déterminent, à partir de 1970, des modifications successives du niveau de trophie des écosystèmes lacustres du Delta du Danube, de manière que pendant une décennie, soit parallèle à l'entièvre gamme comprise entre le stade de mésotrophie et celui de hypertrophie. Pour les producteurs primaires, les nouvelles conditions trophiques sont favorables à la fraction capable de refaire rapidement des quantités accrues de nutriments; il s'en suit qu'il se produit, à partir de 1981 une forte réduction du stock des macrophytes submersibles en même temps avec une prolifération massive des algues planctoniques, ce qui déclanche le phénomène de « floraison des eaux ». La diminution du stock des macrophytes submersibles a pour effet la baisse de la hétérogénéité ambientale, aussi que la modification de la gamme des principaux paramètres du milieu, mais il faut mentionner que les importantes modifications structurelles des producteur primaires, qui se déclenchent dans le contexte des conditions hydrologiques favorables de l'année 1981, visent surtout les lacs ayant des profondeurs au-dessus de 1,8—2 m. En échange, dans les lacs dont les profondeurs sont inférieures aux niveaux ci-dessus mentionnées, lorsque la transparence de l'eau est peu influencée par les variations du débit hydrologique, les macrophytes submersibles déterminent encore, dans une grande mesure, les caractéristiques de la production primaire.

Certainement, toutes ces mutations marquent l'évolution structurale et fonctionnelle du zooplankton. Notre travail présente les principales conclusions issues de l'analyse d'un ample matériel, concernant les modifications intervenues dans le cadre des consommateurs planctoniques.

### MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les recherches portant sur l'évolution structurale et fonctionnelle des consommateurs planctoniques se sont déroulées pendant 13 ans, et

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. ANIM., TOME 37, N<sup>o</sup> 2, p. 131—145, BUCUREȘTI, 1992

# CONCLUSIONS SUR L'ÉVOLUTION STRUCTURALE ET FONCTIONNELLE DU ZOOPLANCTON LACUSTRE DU DELTA DU DANUBE, AU COURS DES ANNÉES 1975—1987 SOUS L'IMPACT DE L'EUTROPHISATION

V. ZINEVICI et LAURA TEODORESCU

A partir de 1981, d'importantes mutations visent la structure taxonomique, l'abondance numérique, la biomasse et la productivité zooplanctonique des écosystèmes lacustres du Delta du Danube. Elles concordent avec toute une série de changements intervenus dans la structure trophique des consommateurs planctoniques et sont engendrées par la dynamique ascendante (de méso-eutrophie à hypertrophie) de l'état de trophie écosystémique.

Des causes complexes de nature antropique, qui consistent en augmentations de la quantité d'azote et de phosphore dans les eaux du bassin danubien, déterminent, à partir de 1970, des modifications successives du niveau de trophie des écosystèmes lacustres du Delta du Danube, de manière que pendant une décennie, soit parcourue l'entièvre gamme comprise entre le stade de méso-eutrophie et celui de hypertrophie. Pour les producteurs primaires, les nouvelles conditions trophiques sont favorables à la fraction capable de refaire rapidement des quantités accrues de nutriments ; il s'en suit qu'il se produit, à partir de 1981 une forte réduction du stock des macrophytes submersibles en même temps avec une prolifération massive des algues planctoniques, ce qui déclanche le phénomène de « floraison des eaux ». La diminution du stock des macrophytes submersibles a pour effet la baisse de la hétérogénéité ambientale, aussi que la modification de la gamme des principaux paramètres du milieu, mais il faut mentionner que les importantes modifications structurales des producteur primaires, qui se déclenchent dans le contexte des conditions hydrologiques favorables de l'année 1981, visent surtout les lacs ayant des profondeurs au-dessus de 1,8—2 m. En échange, dans les lacs dont les profondeurs sont inférieures aux niveaux ci-dessus mentionnées, lorsque la transparence de l'eau est peu influencée par les variation du débit hydrologique, les macrophytes submersibles déterminent encore, dans une grande mesure, les caractéristiques de la production primaire.

Certainement, toutes ces mutations marquent l'évolution structurale et fonctionnelle du zooplancton. Notre travail présente les principales conclusions issues de l'analyse d'un ample matériel, concernant les modifications intervenues dans le cadre des consommateurs planctoniques.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les recherches portant sur l'évolution structurale et fonctionnelle des consommateurs planctoniques se sont déroulées pendant 13 ans, en

REV. ROUM. BIOL. — BIOL. ANIM., TOME 37, N°2, P. 141—148, BUCAREST, 1992

1975—1987. Dans le lac Portile de Fier, dans la zone de l'ancien chenal danubien, deux espèces de Zooplankton ont été trouvées en 1981 : le pourcentage de *H. invadida* atteint 60% au total des deux espèces, alors que l'autre espèce (*H. inornata*) atteint 40%. Les deux espèces ont occupé la place principale, en atteignant des valeurs maximales de l'entièvre période analysée. Ainsi, dans le lac Portile de Fier, dans lequel d'après les données de 1972, on constate que les 69720 ex/m<sup>3</sup> du lac d'Jocheinstein en Allemagne, on constate que les 69720 ex/m<sup>3</sup> du lac Portile de Fier, en 1981, sont supérieurs à ceux de 20000 ex/m<sup>3</sup> atteints dans le lac Portile en 1972.

## CONCLUSIONS

1. Les populations de la relique ponto-caspienne *H. invadida*, dans la zone Portile de Fier, avant le barrage du Danube sur le tronçon Moldova Veche — Gura Vâii, ont été représentées par un nombre réduit d'individus.

2. Après la création du lac de barrage, c'est une vraie explosion qui s'est produite dans le développement de cette espèce ; les chiffres maxima sont atteints au cours de la deuxième année après l'inondation de la zone toute entière, à savoir en 1972.

3. En mesure de l'intensification du processus de colmatage dans le lac, la densité et la biomasse des populations d'*H. invadida* ont diminué graduellement.

4. Les parties les plus favorables du lac Portile de Fier, pour le développement de cette relique ponto-caspienne se situent sur les profiles Aronica (km 967) et Cerna (km 954) dans les zones de l'ancien chenal danubien.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Băcescu M., 1944, Rev. st. V. Adamachi, 39, 2—3, 151—163.
2. Băcescu M., 1948, *Animals. scient. Univ. Jassy*, 31, 1—2, 249—252.
3. Băcescu M., 1949, Comptes rendus, XIII<sup>e</sup> — Congr. Int. Zool., Paris, 551—553.
4. Cure Victoria, Popescu-Marinescu Virginie, Schneider Adrian, 1974—1975, *Travaux de la Station "Stejarul". Limnologie*, 141—155.
5. Cure Victoria, Naziru Mariana, Chioști I., 1983, *Bul. cercet. naționale*, IV, 1—2, 13—38.
6. Kothé P., 1968, *Arch. Hydrobiol./Suppl. XXIV (Quauftersung III)*, Stuttgart, 1/2, 88—114.
7. Motă G. și Băcescu M., 1938, *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences de Roumanie*, II, 4, 377—378.
8. Motă G., Băcescu M., 1938, *Animals. scient. Univ. Jassy*, 24, 20, 337—345.
9. Popescu Ecaterina, Prunescu-Ariu Elena, 1960, *Rev. biol.*, X, 4, 345—362.
10. Popescu Virginia, 1969, *Com. Acad. R. P. R.*, X, 10, 847—852.
11. Popescu-Marinescu Virginie, 1970, Cap. V. C. Biocenosele bentonice din zona litorală și de adâncime, în *Monografia Zonelor Portilor de Fier*, București, 85—110.

11 écosystèmes lacustres représentatifs du Delta du Danube, en nécessitant le prélevage et l'usinage de 1650 épreuves. On a poursuivi la dynamique spatiale et temporelle du zooplancton pour chaque écosystème à part, et par catégories d'écosystèmes, ceux-ci différenciés en fonction du type prédominant de producteur primaire (macrophytique ou planctonique). Dans la catégorie des écosystème avec des producteurs primaires prédominants du type macrophytique on a inclus les écosystèmes Iacub (dans les conditions de l'année 1975), Roșu (1975—1978), Porcu (1976—1978), Puiu (1977—1978), Merhei et Matița (1980), Bogdaproste et Băclănești (1982—1986) et Rosuleț (1987). Dans la catégorie des écosystèmes avec des producteurs primaires prédominants de type planctonique on a inclus les écosystèmes : Isacova et Babina (1982—1986), Merhei (1981—1983), Matița (1981—1986), Puiu (1983), et Roșu (1982—1987).

Le nombre des stations de prélèvement : cinq, dans les lacs grands et moyens, trois, dans ceux petits. L'intervalle de temps entre deux prélevements consécutifs : 1 mois. Le nombre des expéditions de prélèvement effectuées au cours d'un cycle annuel : 7—10.

Le prélèvement des épreuves a été réalisé à l'aide d'une bouteille Patalas-Schindler, à une capacité de 5 l. Pour chaque épreuve on a filtré, conformément aux méthodes usuelles, 50 l eau prélevée par colonne. Pour les estimations gravimétriques, exprimées en  $\mu\text{g}/\text{l}$  substance sèche, on a utilisé des valeurs moyennes /individu, différencierées par espèce, sexe et classes de dimension, provenues de la littérature spécialisée. La productivité, exprimée en  $\mu\text{g}/\text{l}/24 \text{ h}$  substance sèche, a été déterminée par des méthodes spécifiques pour chaque groupe d'organismes : Galkowskaja (pour les rotiphères), Ilkowska-Stankzykowska (pour les larves végétalières de lamélibranchiées), Winberg, Pecen et Suškina (pour copépodes et cladocères). Le temps du renouvellement de la biomasse, exprimé en jours, a été mis en évidence à l'aide du coefficient  $B/P_{24h}$ , en soustrayant d'abord, de la biomasse totale, les valeurs des éléments (taxons, stades de développement) pour lesquelles on n'a pas effectué de déterminations.

La présentation détaillé des données obtenues a été réalisé dans un groupement de travaux portant sur l'analyse différenciée des principaux aspects de la dynamique structurale et fonctionnelle du zooplancton lacustre (1), (2), (3), (4), (5), (6). La nécessité de l'obtention d'une image d'ensemble concernant cet ample processus évolutif nous a suggéré l'idée de l'élaboration d'une étude de synthèse qui réunit, dans une forme concentrée, les principales conclusions qui se détachent de l'analyse de l'entier matériel étudié.

La présentation concrète de cette idée est illustrée dans ce travail.

#### RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Dans les conditions d'un abondant développement des producteurs primaires du type macrophytique, le zooplancton lacustre du Delta du Danube se caractérise par un large spectre taxonomique, dans lequel on identifie 454 composants (fig. 1). La baisse de la hétérogénéité du milieu, dans les conditions de la diminution — même de la disparition parfois

— des macrophytes submersibles et de la prolifération massive du phytoplancton, produit d'importantes modifications structurales au niveau des consommateurs secondaires à la suite desquelles le spectre taxonomique réduit de plus de 53 %, comprenant seulement 213 composants [1], (fig. 1).

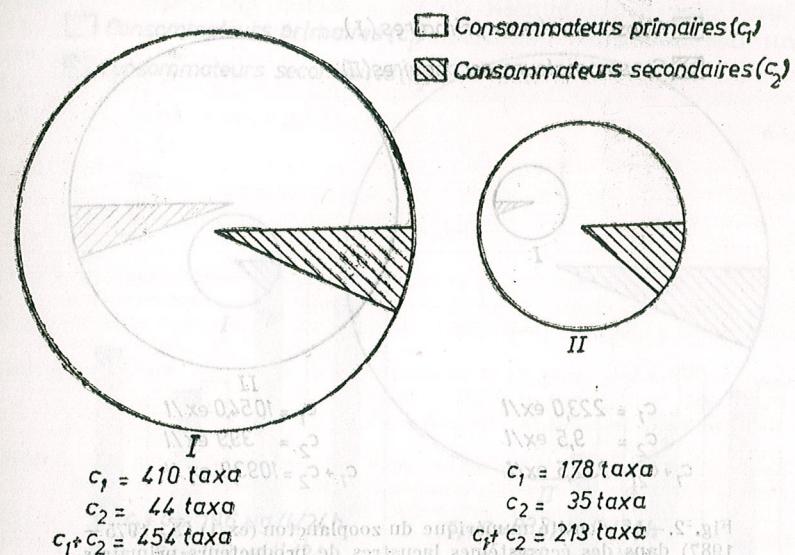


Fig. 1. — L'amplitude du spectre taxonomique du zooplancton dans des écosystèmes lacustres de producteurs primaires du type macrophytique (I) et dans ceux de producteurs primaires du type planctonique (II).

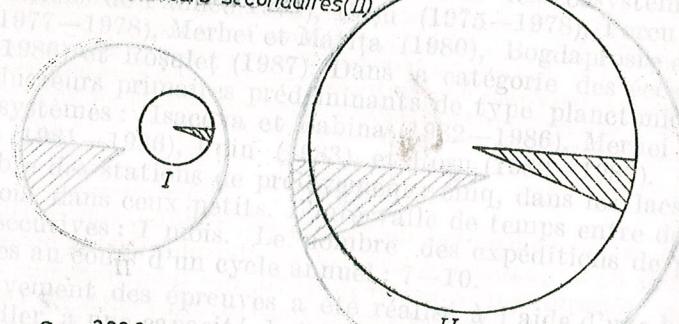
La réduction du spectre taxonomique concerne surtout les formes occidentales et accessoires comme fréquence et dans une moindre mesure, celles constantes. Comme suite, dans les conditions mentionnées de baisse de la hétérogénéité du milieu et de reduction de la diversité taxonomique, la proportion des éléments constants dans la structure taxonomique du zooplancton présente une évolution ascendante, de 11,41 % dans les écosystèmes lacustres de producteurs primaires de type macrophytique à 20,19 % dans ceux ayant des producteurs primaires planctoniques, ce qui est démonstratif pour la tendance de redressement de l'équilibre écologique du sous-système planctonique au niveau des nouvelles relations écologiques, par les mécanismes structural-taxonomiques.

Du total des 498 éléments zooplanctoniques identifiés dans le zooplancton des écosystèmes lacustres du Delta du Danube, 285 sont spécifiques exclusivement aux écosystèmes de producteurs primaires de type macrophytique, 44 à ceux de producteurs primaires de type planctonique, le reste (169) étant des formes communes pour les deux types d'écosystèmes. La structure écologique de la première catégorie de taxa est déterminée surtout par les éléments macrophytiques (macrophytobes et macrophytophiles). La deuxième comprend surtout des éléments eu-planctoniques et planctonophiles et la dernière, des espèces ayant de large valences écologiques [1].

Dans l'évolution écosystémique, la densité numérique du zooplancton augmente 4,7 fois (de 232,5 exemplaires/l dans les écosystèmes de producteurs primaires du type macrophytique à 1093,9 ex/l dans ceux de producteurs primaires du type planctonique) [6] (fig. 2). En même temps,

**Consommateurs primaires (I)**

**Consommateurs secondaires (II)**



$$c_1 = 223,0 \text{ ex/l}$$

$$c_2 = 9,5 \text{ ex/l}$$

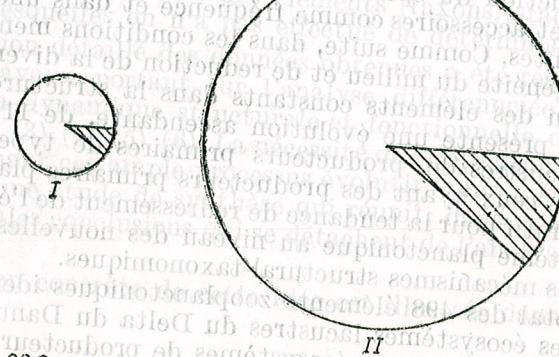
$$c_1 + c_2 = 232,5 \text{ ex/l}$$

$$c_1 + c_2 = 1093,9 \text{ ex/l}$$

Fig. 2. — La densité numérique du zooplancton (ex/l) ( $\bar{X}_a$  1975—1987) dans des écosystèmes lacustres de producteurs primaires du type macrophytique (I) et dans ceux de producteurs primaires du type planctonique (II).

**Consommateurs primaires ( $c_1$ )**

**Consommateurs secondaires ( $c_2$ )**



$$c_1 = 99,6 \mu\text{g/l}$$

$$c_2 = 14,6 \mu\text{g/l}$$

$$c_1 + c_2 = 114,2 \mu\text{g/l}$$

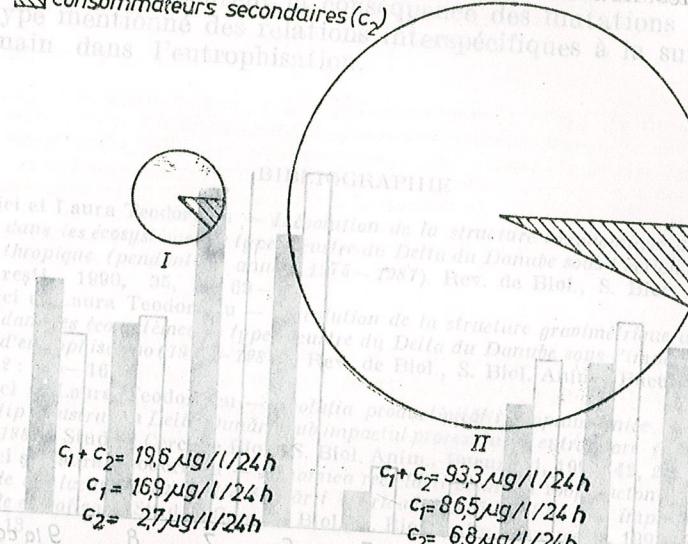
$$c_1 + c_2 = 789,8 \mu\text{g/l}$$

Fig. 3. — La biomasse zooplanctonique ( $\mu\text{g/l substance sèche}$ ) ( $\bar{X}_a$  1975—1987) dans des écosystèmes lacustres de producteurs primaires du type macrophytique (I) et dans ceux de producteurs primaires du type planctonique (II).

la biomasse augmente de 6,9 fois (de 114,2 à 789,8  $\mu\text{g/l}$ ) (fig. 3) et la productivité 4,8 fois (de 19,6 à 93,3  $\mu\text{g/l/24h}$ ) (moyennes multiannuelles) [2], [3], [6].

**Consommateurs primaires ( $c_1$ )**

**Consommateurs secondaires ( $c_2$ )**



$$c_1 + c_2 = 19,6 \mu\text{g/l/24h}$$

$$c_1 = 16,9 \mu\text{g/l/24h}$$

$$c_2 = 2,7 \mu\text{g/l/24h}$$

$$c_1 + c_2 = 93,3 \mu\text{g/l/24h}$$

$$c_1 = 86,5 \mu\text{g/l/24h}$$

$$c_2 = 6,8 \mu\text{g/l/24h}$$

Fig. 4. — La productivité zooplanctonique ( $\mu\text{g/l/24h substance sèche}$ ) ( $\bar{X}_a$  1975—1987) dans des écosystèmes lacustres de producteurs primaires du type macrophytique (I) et dans ceux de producteurs primaires du type planctonique (II).

Une caractéristique importante de l'évolution structurale et fonctionnelle du zooplancton est représentée par la tendance d'augmentation de la proportion des éléments dominants du point de vue numérique (16,74 % dans les écosystèmes de macrophytes submerses, 24,88 % dans ceux de phytoplancton), gravimétrique (16,74—20,19 %) ou productif (11,67—15,96 %) (moyennes multiannuelles). On apprécie que cette caractéristique du processus évolutif pourrait avoir, à un moment donné, des implications dans la tendance d'accentuation de l'état de labilité biocénotique, en influençant d'une façon négative la dynamique de l'équilibre biocénotique.

La dynamique temporelle de la densité numérique, de la biomasse et de la productivité, met en évidence un réel sens ascendant au cours des années présentant des pics remarquables entre 1981—1983 et l'un descendant, d'amplitudes réduites, au cours des années 1984—1987, de sorte que l'évolution, dans son ensemble pendant la période investiguée (1975—1987), soit ascendante [2], [3], [6].

Dans le processus d'évolution fonctionnelle du zooplancton, la vitesse du renouvellement de la biomasse présente une dynamique ascendante, ce qui est illustré par la diminution de 14,52 % de la durée de réci-

culation de la biomasse (de 9,92 jours dans les écosystèmes de macrophytes submerses, à 8,48 jours dans ceux de phytoplancton [4] (fig. 5). Dans les conditions de la dynamique ascendante de l'état de trophie écosystémique cette adaptation fonctionnelle représente une manière importante d'améliorer le rendement de valorisation des ressources nutritives au niveau des nouvelles conditions écologiques.

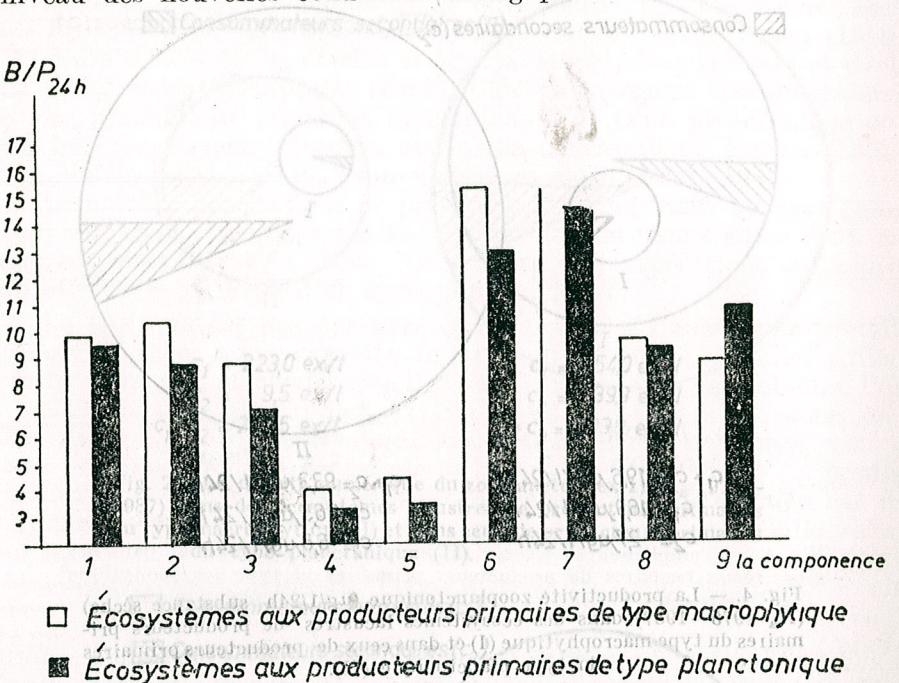


Fig. 5.—Le temps de renouvellement de la biomasse zooplanctonique ( $B/P_{24h}$ ) (X<sub>a</sub> 1975—1987) dans des écosystèmes de producteurs primaires de type planctonique : 1 — zooplankton total ; 2 — consommateurs primaires ; 3 — consommateurs secondaires ; 4 — rotiphères  $c_1$  ; 5 — rotiphères  $c_2$  ; 6 — copépodes  $c_1$  ; 7 — copépodes  $c_2$  ; 8 — cladocères  $c_1$  ; 9 — cladocères  $c_2$ .

Les accroissements successifs de l'état de trophie écosystémique (enregistrés dans les limites méso-eutrophie — hypertrophie) déterminent d'importantes modifications dans la structure des ressources nutritives des consommateurs planctoniques en entraînant, par conséquence, des mutations correspondantes dans leur structure et leur relations trophiques. Dans le processus de l'évolution écosystémique, jalonné par la régression des producteurs primaires de type macrophytique et la prolifération de ceux planctonique, la structure trophique du zooplankton (organisée dans deux niveaux, et dans les niveaux en 10 groupes spécialisés dans le captage différencié sous rapport des dimensions des particules nutritives) met en évidence la dynamique descendante dans le cas des groupes trophiques de type macroconsommateurs et ascendant, au cas des principaux groupes trophiques de type microconsommateurs [5] (Nous faisons la mention que les termes de micro- et macroconsommateurs se rapportent

aux dimensions des particules ingérées et non pas à la taille des consommateurs).

Tenant compte du fait que les relations trophiques représentent le principal mécanisme de la fonction d'autocontrôle écosystémique, nous considérons que les changements amples et complexes de nature structurale et fonctionnelle portant sur le zooplankton lacustre du Delta du Danube à partir de 1981 représentent la conséquence des mutations intervenues dans le type mentionné des relations interspécifiques à la suite de l'impact humain dans l'eutrophisation.

Cette étude fait partie d'un cycle de travaux sur l'apport de la microfaune bactérienne planctonique à la réalisation des principales fonctions des écosystèmes aquatiques bactériens du Delta du Danube — le flux énergétique [2], la circulation de la matière et l'autotrophie [3]. La fonction bactérienne planctonique dans la circulation de la matière est étudiée dans un travail futur par

1. V. Zinevici et Laura Teodorescu — *L'évolution de la structure taxonomique du zooplankton dans les écosystèmes de type lacustre du Delta du Danube sous l'action du facteur anthropique (pendant les années 1975—1987)*. Rev. de Biol., S. Biol. Anim., Bucureşti, 1990, 35, 1 : 69—81.
2. V. Zinevici et Laura Teodorescu — *L'évolution de la structure gravimétrique du zooplankton dans les écosystèmes de type lacustre du Delta du Danube sous l'impact du processus d'eutrophisation (1975—1987)*. Rev. de Biol., S. Biol. Anim., Bucureşti, 1990, 35, 2 : 155—167.
3. V. Zinevici și Laura Teodorescu — *Evoluția productivității zooplantonice în ecosisteme de tip lacustru din Delta Dunării sub impactul procesului de eutrofizare (perioada 1975—1987)*. Stud. și Cerc. de Biol., S. Biol. Anim., Bucureşti, 1990, 42, 2 : 157—165.
4. V. Zinevici și Laura Teodorescu — *Dinamica reciclării biomasei zooplantonice în ecosisteme de tip lacustru din Delta Dunării (perioada 1975—1987) sub impactul procesului de eutrofizare*. Stud. și Cerc. de Biol., S. Biol. Anim., Bucureşti, 1991, 43, 1—2 : 109—113.
5. V. Zinevici și Laura Teodorescu — *Evoluția structurii și relațiilor trofice ale zooplantonului în ecosisteme de tip lacustru din Delta Dunării (perioada 1975—1987) sub impactul procesului de eutrofizare*. Stud. și Cerc. de Biol., S. Biol. Anim., Bucureşti, 1991, 43, 1—2 : 115—120.
6. V. Zinevici, Laura Teodorescu — *Modification dans la structure numérique (densité, abondance relative, dominance) du zooplankton lacustre du Delta du Danube sous l'action du facteur anthropique (1975—1987)*. Hidrobiologia, Bucureşti, 1992, 20, 1 : 61—75.

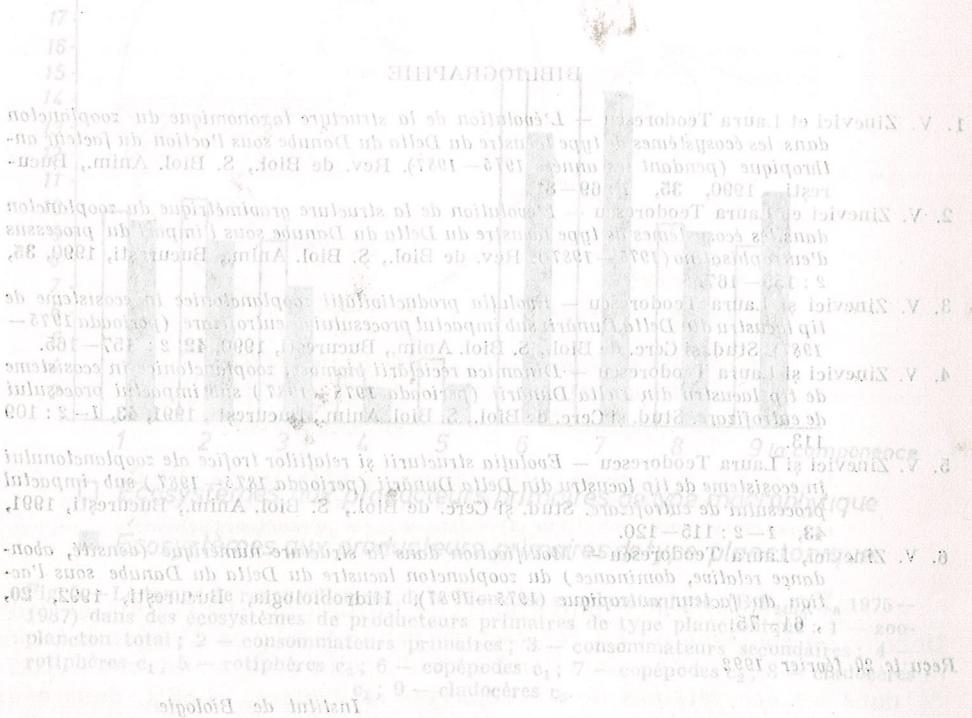
Reçu le 20 février 1992

La diversité des éléments nutritifs joue un rôle important dans les bactéries. Leur capacité considérable de synthèse, la disponibilité de certains éléments nutritifs et à la quantité des éléments nutritifs de l'environnement sont favorables à l'optimisation (tant dans l'utilisation des enzymes que des éléments nutritifs). La diversification des mécanismes enzymatiques et leur intensité métabolique « exceptionnelle » [9] sont autant de particularités qui font que les micro-organismes soient considérés comme l'une des voies majeures du circuit du carbone (tout particulièrement) et d'autres éléments principaux dans les écosystèmes aquatiques.

#### 2.1. LES PROCESSUS DE DÉGRADATION ET LA SYNTHÈSE BACTÉRIENNE

Par le processus de métabolisme, les bactéries détruisent les substances nutritives de l'environnement avec libération d'énergie, tout en

estimation de la croissance des groupes de zooplâncton dans les eaux submerges, à 8,48 jours dans ceux de phytoplancton [4] (fig. 1). Les modifications qui ont lieu dans le delta sont donc d'autant plus rapides que l'écoulement des eaux est plus intense et lorsque le taux de renouvellement des eaux est plus faible. La circulation de la matière dans les écosystèmes aquatiques du delta du Danube est donc très importante pour assurer la survie des espèces qui vivent dans ce bassin. En 1981, les observations ont montré que les modifications dans le cycle minéral dans le delta étaient assez rapides et se produisaient à une vitesse de 1 à 2 mois.

B/P  
24h

Les accroissements successifs de l'état de trophie écosystémique (enregistrés dans les limites méso-eutrophie — hypertrophie) déterminent d'importantes modifications dans la structure des ressources nutritives des consommateurs planctoniques en entraînant, par conséquence, des mutations correspondantes dans leur structure et leurs relations trophiques. Dans le processus de l'évolution écosystémique, jalonné par la régression des producteurs primaires de type macrophytique et la prolifération de ceux planctonique, la structure trophique du zooplâncton (organisée dans deux niveaux, et dans les niveaux en 10 groupes spécialisés dans le captage différencié sous rapport des dimensions des particules nutritives) met en évidence la dynamique descendante dans le cas des groupes trophiques de type macroconsommateurs et ascendante, au cas des principaux groupes trophiques de type microconsommateurs [5]. Nous faisons la mention que les termes de micro- et macroconsommateurs se rapportent

## 1. LE RÔLE ÉCOLOGIQUE DU BACTÉRIOPLANCTON DANS LE FONCTIONNEMENT DES ÉCOSYSTÈMES AQUATIQUES LACUSTRES DU DELTA DU DANUBE

## 2. L'INTERVENTION DE LA MICROFLORE BACTÉRIENNE PLANCTONIQUE DANS LA RÉALISATION DE LA CIRCULATION DE LA MATIÈRE

DORINA NICOLESCU

Cette étude fait partie d'un cycle de travaux sur l'apport de la microflore bactérienne planctonique à la réalisation des principales fonctions des écosystèmes aquatiques lacustres du Delta du Danube — le flux énergétique [2], la circulation de la matière et l'autoréglage. L'implication de la microflore bactérienne planctonique dans la réalisation de la circulation de la matière est mise en évidence tant par la capacité de dégradation et synthèse bactérienne que par l'intervention de groupes spécialisés de bactéries à certaines étapes du circuit biogéochimique des principaux éléments.

La fonction de circulation de la matière dans un écosystème consiste dans la circulation, grâce aux relations trophiques, des substances nutritives (inorganiques et organiques) — à partir de la nourriture consommée chez le consommateur —, apparaissant comme une résultante d'interactions dynamiques entre les composants de la biocénose et entre ceux-ci et le biotope. Ainsi, les chaînes trophiques représentent les voies principales du circuit biogéochimique.

Dans ce contexte, l'intervention des micro-organismes dans le circuit biogéochimique est due à leur métabolisme même, à toutes les réactions biochimiques impliquées dans leur activité biologique — prélèvement des éléments biogènes de l'environnement et la biosynthèse cellulaire, l'existence des deux voies métaboliques parallèles — de dégradation des différents composants de l'environnement (par des réactions génératrices d'énergie) et des biosynthèses cellulaires (par des réactions consommatrices d'énergie), étant donc une nécessité.

La diversité des éléments nutritifs utilisés par les bactéries, leur capacité considérable de synthèse, la disponibilité de s'adapter au type et à la quantité des éléments nutritifs de l'environnement selon le principe de l'optimisation (tant dans l'utilisation des enzymes que des éléments nutritifs) la diversification des mécanismes enzymatiques et leur intensité métabolique « exceptionnelle » [9] sont autant de particularités qui font que les micro-organismes soient considérés comme l'une des voies majeures du circuit du carbone (tout particulièrement) et d'autres éléments principaux dans les écosystèmes aquatiques.

### 2.1. LES PROCESSUS DE DÉGRADATION ET LA SYNTHÈSE BACTÉRIENNE

Par le processus de métabolisme, les bactéries détruisent les substances nutritives de l'environnement avec libération d'énergie, tout en

fournissant des composants à même d'être utilisés comme blocs de construction pour l'assemblage des macromolécules propres cellulaires dans le processus de synthèse. Ainsi, la microflore bactérienne planctonique des écosystèmes aquatiques du Delta du Danube (écosystèmes ayant un degré avancé de trophie) décompose et minéralise une grande partie de l'immense quantité de matière organique provenue par la mort de la composante biotique (notamment algues planctoniques et macrophytes submersibles) et à la suite de l'input.

Il est connu que les écosystèmes aquatiques lacustres du Delta du Danube [4] se caractérisent par de fortes « floraisons » d'algues (avec remplacement rapide des populations), dans certaines zones et périodes — un développement abondant des macrophytes submersibles avec un cycle plus long ou plus court de vie et un important input de matière organique et minérale dans les périodes d'inondations ; tout ceci induit le développement d'une riche microflore bactérienne planctonique décomposante, avec une intense activité métabolique.

La dégradation microbienne aérobie de la matière organique<sup>1</sup> des écosystèmes aquatiques lacustres du Delta du Danube a été étudiée pen-

Tableau 1

Taux de la dégradation bactérienne aérobie de la matière organique de la masse de l'eau dans les écosystèmes aquatiques lacustres — limites de variations, ( $\bar{x}$ ) — mg C org. oxydé/1/24h

Lac	Année	1977	1978	1979
Roșu	0,005—0,259(0,079)	0,064—0,260(0,084)	0,101—0,231(0,092)	
Puiu	0,021—0,293(0,089)	0,018—0,277(0,057)	0,073—0,416(0,109)	
Porcu	0,098—0,506(0,084)	0,064—0,305(0,110)	0,198	
	1980	1981	1982	
Matița	0,003—0,715(0,143)	0,005—1,626(0,181)	0,002—2,128(0,337)	
Merheiu	0,006—0,924(0,218)	0,006—2,577(0,314)	0,008—2,004(0,505)	
	1985	1986	1987	
Roșu	0,218—0,443(0,282)	0,024—0,740(0,110)	0,033—0,756(0,189)	
Isac(ova)	0,009—0,464(0,078)	0,090—1,271(0,218)		
Matița	0,014—0,383(0,232)	0,090—0,549(0,263)		
Babina	0,099—0,354(0,187)	0,026—0,213(0,081)		
Băclănești	0,235	0,110—0,143(0,128)		
Bogdaproste		0,227—0,463(0,305)		
Rosuleț		0,025—0,644(0,283)		
	1991			
Roșu	0,045—0,718(0,197)			
Matița	0,007—2,134(0,275)			
Merheiu	0,004—1,417(0,253)			
Porcu	0,000—0,314(0,237)			
Tătaru	0,055—0,996(0,315)			
Lopatna	0,216—1,405(0,425)			

\* moyenne géométrique annuelle

<sup>1</sup> La dégradation microbienne aérobie de la matière organique de la masse de l'eau a été estimée à partir des données sur le contenu bactérien en  $O_2$  déterminé par des expérimentations *in situ* (4), en appliquant la relation : 1 mg  $O_2/1$  correspond à 0,375 mg C/1.

dant la période 1977—1991 dans 14 écosystèmes du type lacustre, par étapes.

Du tableau 1 l'on constate que la dégradation microbienne aérobie dans la masse de l'eau a lieu à un taux situé dans des limites moyennes de : 0,057—0,198 mg C/1/24 h pendant la période 1977—1979 (à Roșu, Puiu Porcu) avec un maximum atteint dans la mare de Porcu de 0,506 mg/l/24 h (1977) : 0,143—2,128 mg C/1/24 h pendant la période 1980—1982 (dans les lacs Matița et Merheiu) avec un maximum atteint à Merheiu de 2,577 mg C/1/24 h (1981) ; 0,078—0,305 mg C/1/24 h pendant la période 1985—1987 avec un maximum atteint à Isac (ova) de 1,271 mg C/24 h (1986) et 0,000—2,134 mg C/1/24 h en 1991 avec un maximum atteint à Matița de 2,627 mg C/1/24 h. A remarquer que les limites des valeurs partielles sont très larges, l'action combinée de plusieurs facteurs y concourent : la température, la quantité d' $O_2$  dans la masse de l'eau, la source de carbone organique (exogène — la sécrétion des algues, le remplacement des populations d'algues, la chute de la macrovégétation), la limitation de l'activité métabolique microbienne pour les densités trop élevées de la microflore bactérienne même.

En général, les facteurs primordiaux qui déterminent l'intensité du métabolisme bactérien sont la quantité et la qualité de la substance organique provenue par voie autochtone (le développement exponentiel et le déclin rapide des populations d'algues et la fin du cycle de vie des macrophytes submersibles) ou par voie allochtope (en fonction de la période d'inondation).

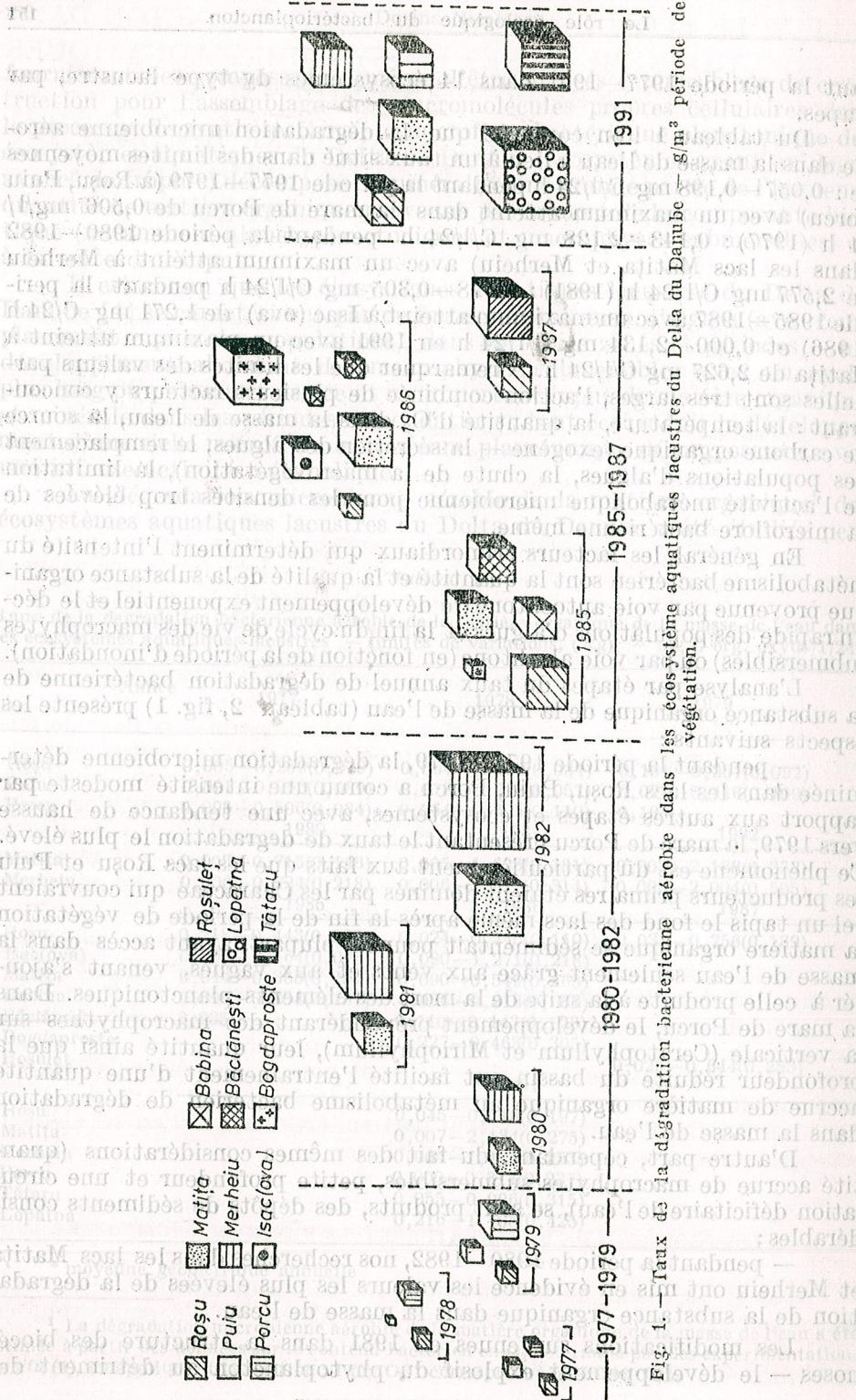
L'analyse par étapes du taux annuel de dégradation bactérienne de la substance organique de la masse de l'eau (tableau 2, fig. 1) présente les aspects suivants :

— pendant la période 1977—1979, la dégradation microbienne déterminée dans les lacs Roșu, Puiu, Porcu a connu une intensité modeste par rapport aux autres étapes et écosystèmes, avec une tendance de hausse vers 1979, la mare de Porcu présentant le taux de dégradation le plus élevé. Ce phénomène est dû particulièrement aux faits que les lacs Roșu et Puiu les producteurs primaires étaient dominés par les Characeae qui couvraient tel un tapis le fond des lacs même après la fin de la période de végétation la matière organique se sédimentait pour la plupart, ayant accès dans la masse de l'eau seulement grâce aux vents et aux vagues, venant s'ajouter à celle produite à la suite de la mort des éléments planctoniques. Dans la mare de Porcu, le développement prépondérant des macrophytes sur la verticale (Ceratophyllum et Myriophyllum), leur quantité ainsi que la profondeur réduite du bassin ont facilité l' entraînement d'une quantité accrue de matière organique au métabolisme bactérien de dégradation dans la masse de l'eau.

D'autre part, cependant, du fait des mêmes considérations (quantité accrue de macrophytes submersibles, petite profondeur et une circulation déficiente de l'eau), se sont produits, des dépôts de sédiments considérables ;

— pendant la période 1980—1982, nos recherches dans les lacs Matița et Merheiu ont mis en évidence les valeurs les plus élevées de la dégradation de la substance organique dans la masse de l'eau.

Les modifications survenues en 1981 dans la structure des biocénoses — le développement explosif du phytoplancton au détriment des



Degradiation bactérienne aérobic de la matière organique de la masse de l'eau dans les écosystèmes aquatiques lacustres du Delta du Danube — C organique oxydé/an (IV-X)

Lac	1977 g/m <sup>3</sup>	1978 t/lac	1978 g/m <sup>3</sup>	1979 t/lac	1979 g/m <sup>3</sup>	1980 t/lac	1981 g/m <sup>3</sup>	1982 t/lac
Roșu	16,59	547	17,64	706	19,32	676		
Puiu	18,69	411	11,97	263	22,89	549		
Porcu	17,64	345	23,10	37	941,58	83		
Matița	30,03	450	38,01	570	70,77	991		
Merhei	45,78	1.007	65,94	1.385	106,05	2.015		
				1985	1986	1987		
Roșu	59,22	2.132	23,10	901	39,69	1.230		
Isac(ova)	16,38	311	45,78	1.145				
Matița	48,72	731	55,23	994				
Babina	39,27	267	17,01	129				
Băclănești	49,35	163	26,88	116				
Bogdaproste			64,05	333				
Rosuleț					59,43	437		
							1991	
Roșu	41,37	1.177						
Matița	57,75	784,7						
Merhei	53,13	939,7						
Poreu	49,77	77,1						
Tătaru	66,15	≈ 21						
Lopatna	89,25	≈ 10,8						

macrophytes submersibles — ont induit une certaine dynamique de la microflore bactérienne planctonique (3) et une intensification de l'activité métabolique de dégradation ;

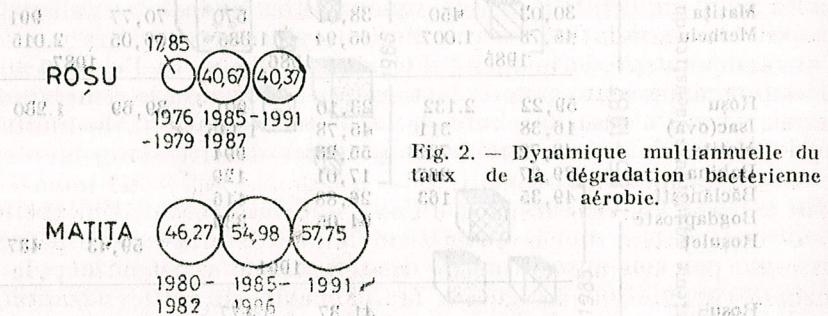
pendant la période 1985—1987, l'approche de 6 écosystèmes lacustres différenciés au point de vue des voies d'entrée de l'énergie dans l'écosystème (7) a permis, étant donné la plasticité du métabolisme bactérien, de supposer deux motivations quant au quantum de dégradation bactérienne aérobic de la matière organique dans la masse de l'eau :

a) son taux de dégradation est dû au fait que dans les lacs Roșu, Matița, Isac(ova) la quantité de carbone organique provient du phytoplancton à un pourcentage élevé de composants aisément dégradables (même des aminoacides) ;

b) dans les lacs Băclănești, Bogdaproste, Rosuleț, où le carbone organique provient pour la plupart des macrophytes submersibles ou de détritus au-dessous de l'île flottante (à un pourcentage élevé de composants plus difficilement dégradables et une vitesse de sédimentation supérieure), le taux de dégradation est dû à l'entraînement à partir des sédiments dans la masse de l'eau des restes organiques (partiellement dégradés) vu la profondeur réduite de ces lacs ;

en 1991 [6, 7], les données de référence obtenues dans les lacs Roșu, Matița, Merhei (où les producteurs primaires sont représentés pour la plupart par les algues planctoniques), dans les mares de Porcu, Lopatna

et Tătaru (où prédominent les macrophytes submersibles mosaïqués périodiquement par des développements d'algues), le taux de la dégradation bactérienne est plus élevé les mares de Lopatna et Tătaru. Un cas particulier le constitue la mare de Porcu où les micro-organismes choisissent, probablement, la voie, anaérobiose aussi dans le déroulement de leur métabolisme, vu les conditions d'hypoxie existantes dans certaines périodes ; — une comparaison entre les périodes 1977—1979, 1985—1987 et l'année 1991, dans le lac Roșu (fig. 2), met en évidence la hausse du taux de destruction bactérienne aérobiose dans la masse de l'eau parallèlement à la modification de la structure des producteurs primaires (disparition des Characeae et prédominance des algues planctoniques).



On peut dire que l'évolution dans le temps de la structure quantitative et surtout qualitative des biocénoses a engendré, à part l'évolution quantitative de la microflore bactérienne planctonique [3], aussi l'adaptation du métabolisme des associations bactériennes à la nature et à la diversité des éléments nutritifs de l'environnement, à la diversification des mécanismes enzymatiques bactériens par rapport à ceux-ci,

En ensemble, le rôle de « décomposant » de la microflore bactérienne est depuis longtemps reconnu. Cependant, la quantification globale de la dégradation de la matière organique de la masse de l'eau, grâce au bactérioplancton, réalisée pour la première fois en Roumanie à l'occasion de ces recherches, peut expliquer bien des phénomènes de l'évolution des écosystèmes aquatiques deltaïques. De la sorte, si l'on analyse 2 écosystèmes aquatiques du delta maritime (tableau 2), jeunes, au point de vue historique, à savoir le lac Roșu (le plus jeune) et la mare de Porcu, situé à des degrés différents d'eutrophie et ayant des superficies point du tout comparables (respectivement 1375 ha et 100 ha), le fait que grâce à l'activité microbienne une quantité de 547 (1977) — 2132 (1985) t. C.org./an et 34 (1977) — 83 (1979) t. C.org./an est oxydée dans la masse de l'eau justifie pourquoi ces écosystèmes (bien que caractérisés par une production primaire exceptionnelle) ne se sont pas colmatés au point de vue biologique. D'autre part, les producteurs primaires auraient épousé sous peu les éléments nutritifs existants dans l'écosystème (malgré l'apport permanent du Danube) si la microflore bactérienne dans les processus de minéralisation de la matière organique n'avait pas remis en circulation ces éléments nutritifs. Ce point de vue acquiert davantage du poids si nous nous retournons vers les lacs Matita et Merheiu (tableau 2), parmi les plus âgés

lacs deltaïques étudiés, où la dégradation microbienne oxydative dans la masse de l'eau aboutit dans les périodes de développement maximum des producteurs primaires planctoniques (1982) à 991 et respectivement 2015 t. C.org. oxydé/an.

Ce n'est, certes, qu'un aspect (bien qu'essentiel) de la dégradation microbienne, sans approcher les dégradations dans des conditions d'anaérobiose (qui peuvent apparaître pendant certaines périodes) tout comme, les dégradations qui ont lieu rapidement ou à des étapes historiques dans les sédiments.

Au début de l'étude nous avons montré que l'intervention de la microflore bactérienne dans la circulation de la matière se fonde sur la relation nourriture consommée — consommateurs ; le fait d'avoir détaillé l'aspect de dégradation microbienne de la matière organique est justifié par ceci qu'il représente l'une des voies du métabolisme bactérien dans la production d'éléments nutritifs et énergie pour les propres synthèses cellulaires, avec les résultats bénéfiques présentés pour l'écosystème — la remise en circulation des éléments nutritifs.

La biosynthèse des constituants cellulaires est conditionnée par la présence dans l'environnement d'une source adéquate d'énergie et de quantités convenables de composés ayant un poids moléculaire petit, utilisés comme précurseurs ou comme matériaux de construction dans la biosynthèse [9]. La grande variété des éléments nutritifs existants dans les écosystèmes aquatiques, inorganiques et organiques, résultats de la dégradation bactérienne, comme produits d'excrétion ou à la suite de processus chimiques, permet aux micro-organismes, grâce aux mécanismes de contrôle coordonateurs de la biosynthèse de chaque composant cellulaire, de mettre en ordre l'utilisation de ceux-ci selon le principe de l'optimisation. Ainsi, la présence dans l'environnement de saccharos, aminoacides détermine leur utilisation immédiate, les bactéries ne synthétisant que ce produit qui leur est nécessaire à un moment donné et qu'elles trouvent tel quel dans l'environnement ; ils sont produits par les micro-organismes à partir de petites molécules accessibles existantes dans l'environnement.

La nature des producteurs primaires, la structure quantitative et qualitative des algues planctoniques, la structure du zooplancton des écosystèmes lacustres du Delta du Danube, y compris la composition physico-chimique de l'eau ont déterminé l'évolution de la microflore bactérienne planctonique. Bo Riemann, 1982, montre qu'une grande importance dans le flux du carbone dans les écosystèmes aquatiques est détenue par la captation par les micro-organismes du carbone organique extracellulaire (EOC) produit par les algues planctoniques dans la période de croissance exponentielle, quoique ce ne soit qu'un processus mineur (environ 30%) par rapport à leur sénescence [5]. Il est à supposer que cet argument justifie une fois de plus les valeurs élevées des paramètres du bactérioplancton [2] dans les écosystèmes où la production primaire est assurée par le phytoplancton. Les bactéries utilisent d'une manière efficace les éléments nutritifs de l'environnement, le carbone ayant la majeure contribution dans la synthèse de la biomasse propre (50% du poids sec) ; d'ailleurs, les autres éléments principaux — l'azote et le phosphore — ont un taux de participation supérieur par rapport à d'autres organismes (res-

Budget des principaux éléments captés par biosynthèse au niveau du bactérioplancton des écosystèmes aquatiques lacustres, pendant la période de végétation (IV-X)									
Année	Eléments	Lac	C			N			P
			g/m <sup>3</sup>	t/an	g/m <sup>3</sup>	t/an	g/m <sup>3</sup>	t/an	
1977	Rosu	1,8	1,1	29	0,4	6	8,2	123	
	Piatra	1,3	2,9	35	0,2	6	5,5	218	
	Bahina	1,3	2,8	28	0,3	2	2,5	55	
	Băcănești	1,3	2	2	0,3	0,5	4,8	14,1	
	Bogdaprostei	4,2	8	1980					
1978	Rosu	6,5	1,9	29	0,4	6	8,2	123	
	Piatra	9,7	21,3	64	0,6	13	5,5	296	
	Bahina	4,2	2,9	35	0,2	6	2,5	4,2	
	Băcănești	4,2	8	1981					
1979	Rosu	12,6	45,4	3,8	136	0,8	27	5,0	197
	Iacova	3,6	1,1	1,1	20	0,2	4	9,7	242
	Mătia	10,5	15,8	3,2	47	0,6	10	11,8	211
	Bahina	8,4	57	2,5	17	0,5	3	3,6	27
	Băcănești	16,4	54	4,9	16	1,0	3	13,7	71
	Bogdaprostei	16,4	54	4,9	16	1,0	3	5,7	24
	Rosulet								
1980	Rosu								
	Iacova								
	Mătia								
	Bahina								
	Băcănești								
	Bogdaprostei								
	Rosulet								

Le calcul du budget des éléments au niveau du bactérioplancton a été fait à partir des données sur la production bactérienne planctonique, utilisant la relation :  $P = 0,08 D \text{ mg C}/1/2 \text{ lit}$  ( $D = \text{taux de la consommation-bactérienne d'oxygène dans la masse de l'eau}$ ) (5).

pectivement 10—15% et 3—5%). Donc, par sa qualité de « producteur » d'une biomasse propre, le bactérioplancton s'implique dans la circulation de la matière dans les écosystèmes aquatiques deltaïques, étant la base trophique préférentielle surtout du zooplancton filtrant ayant des dimensions <200  $\mu$ . La captation dans les processus de biosynthèse bactérienne des éléments C, N, P de l'environnement à un taux variant entre le lac Rosu (1979) et le lac Merheiu (1982) dans des limites de respectivement 2,7—23,0 g/C/m<sup>3</sup>/an ; 0,8—6,8 g N/m<sup>3</sup>/an ; 0,2—1,4 g P/m<sup>3</sup>/an, tout comme le budget de ces éléments nutritifs au niveau du compartiment bactérioplancton (tableau 3), constituent un potentiel qui ne saurait être négligeable au niveau des chaînons trophiques supérieurs (consommateurs), représentant une voie importante dans le circuit biologique de ces éléments.

Iolanta Ejsmont-Karabin et collab., 1983 [1] relève que la quantité d'azote et de phosphore du contenu bactérien est quelques fois plus élevée que leur nourriture (la matière organique provenue de la mort des algues) et, après satisfaction des besoins énergétiques, les bactéries continuent à capter l'azote et le phosphore minéral existant dans l'environnement. En même temps, le zooplancton ayant un contenu plus bas de ces éléments (2% — P et 10% — N sur le poids sec) et qui se nourrit de bactéries, après satisfaction des exigences énergétiques, doit excréter l'excès de nourriture sous forme minérale (postmétabolique) ; c'est une voie de régénération de ces éléments qui a lieu à un taux important dans le lac eutrophe.

Une recherche intégrée à l'esprit de cette analyse systémique du biotope deltaïque permet la quantification du budget d'éléments nutritifs au niveau de chaque compartiment des biocénoses, la mise en évidence des circuits biologique et biochimique.

On peut dire que les particularités essentielles du métabolisme bactérien confèrent à la microflore bactérienne planctonique des écosystèmes lacustres du Delta du Danube les deux qualités, à savoir de « décomposant » et « producteur », tout en constituant une voie majeure de la circulation du carbone et des autres éléments vitaux ; le fonctionnement du compartiment bactérioplancton, induit aussi en corrélation avec la structure et le fonctionnement des autres compartiments des biocénoses (notamment les producteurs primaires), détermine l'évolution du biotope deltaïque ainsi que la degré d'individualité de chaque écosystème aquatique composant.

#### BIBLIOGRAPHIE

- Ejsmont-Karabin, Iolanta, et al. Ekol. pol., 1983, 31, 3, 719—746.
- Nicolescu, Dorina, Rev. Roum. Biol. — Biol. anim., 1990, 35, 1, 83—87.
- Nicolescu, Dorina, Rev. Roum. Biol. — Biol. anim., 1990, 35, 2, 151—153.
- Nicolescu, Dorina, Rev. Roum. Biol. — Biol. anim., 1991, 36, 1—2, 115—117.
- Nicolescu, Dorina, Hidrobiologia, 1992, 20, Luc., 23—25.
- Nicolescu, Dorina, Analele St. ale Instit. « Delta Dunării », 1992, sous presse.
- Nicolescu, Nicolae, Analele St. ale Instit. « Delta Dunării », 1992, sous presse.
- Vădineanu, Angheluță, et al., Rev. Roum. Biol. — Biol. anim., 1987, 32, 2, 93—99.
- Zarnea, G., Tratat de microbiologie II, 1984, 474.

Reçu le 9 avril 1992

Institut de Biologie du Développement  
Bucarest, Splaiul Independenței 296

## AVIS AUX AUTEURS

La « Revue roumaine de biologie — Série de biologie animale » publie des articles originaux d'un haut niveau scientifique de tous les domaines de la biologie animale : taxonomie, morphologie, physiologie, génétique, écologie, etc. Les sommaires des revues sont complétés par d'autres rubriques, comme : 1. La vie scientifique, qui traite des manifestations scientifiques du domaine de la biologie : symposiums, conférences, etc.; 2. Compte rendus des livres de spécialité.

Les auteurs sont priés d'envoyer les articles, notes et comptes rendus dactylographiés à double interligne (31 lignes par page) en deux exemplaires.

La bibliographie, les tableaux et l'explication des figures seront dactylographiés sur pages séparées et les diagrammes exécutés à l'encre de Chine noire sur papier calque.

Les tableaux et les illustrations seront numérotés en chiffres arabes.

La répétition des mêmes données dans le texte, les tableaux et dans les graphiques sera évitée. Les références bibliographiques citées par ordre alphabétique comporteront le nom de l'auteur, l'année l'initiale du prénom, le titre de la revue abrégé conformément aux usances internationales, le tome, le numéro, la page.

Les travaux seront accompagnés d'un court résumé de 10 lignes au maximum, en anglais. Les textes des travaux ne doivent pas dépasser 7 pages (y compris les tableaux, la bibliographie et l'explication des figures).

La responsabilité concernant le contenu des articles revient exclusivement aux auteurs.