

Simposia en konferensies

Referate gelewer tydens die Afdeling Biologie van die Suid-Afrikaanse Akademie vir Wetenskap en Kuns se jaarkongres, 19-20 Junie 1990, Universiteit van Pretoria

Omgewingsfaktore en Fitoplanktonproduksie in die Vaalrivier by Balkfontein

J.M. van Blerk & A.J.H. Pieterse

Departement Plantkunde en Genetika, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

Die Vaalrivier word as die belangrikste rivier in Suid-Afrika beskou vanweë die konsentrasie van ekonomiese aktiwiteit in veral die sentrale gedeeltes van die opvanggebied. Hierdie studie is te Balkfontein naby Bothaville, waar die OVS-Goudveldwaterraad water uit die Vaalrivier onttrek, onderneem. Slik wat onder in die suiweringsaanleg se sedimentasietenks versamel, word uitgepomp en tesame met die filterterugwaswater in sliksdamme buite die aanleg gestort. Die bowater uit die sliksdamme word na die Vaalrivier teruggevoer. 'n Ondersoek na die invloed van hierdie slikswater op die fisiese, chemiese en biologiese aspekte van die Vaalrivier is onderneem.

Die Vaalrivier is bekend as 'n troebel rivier. Maksimum troebelhede van so hoog as 302 NTE is as gevolg van die vloed in Februarie 1989 waargeneem. Secchiskyflings het tussen 7,5 en 71 cm (gemiddeld 31 cm) gewissel. Primêre produksiebepalings dui op 'n vlak fotiese sone van ongeveer 0,84 m met oppervlak foto-inhibisie en maksimum produksie (P maks) op 0,125 m.

Die opgeloste suurstofkonsentrasie het tussen 5,7 en 15,2 mg/l (gemiddeld 9,7 mg/l) gewissel. In die invloeipluim van die slikswater is effens laer konsentrasies (gemiddeld 9,5 mg/l) aangetref, moontlik as gevolg van die laer algkonsentrasies en die afbraak van organiese materiaal in die slikswater.

Die slikswater was as gevolg van die toevoeging van kalk tydens die suiweringsproses goed gebuffer en het 'n hoër alkaliniteit en meer stabiele pH as die rivierwater vertoon.

'n Algopbloei met 'n maksimum chl *a*-konsentrasie van 350 µg/l is in die winter waargeneem. Die chl *a*-konsentrasie het 'n laagtepunt tydens die vloed in die somermaande bereik — 'n negatiewe korrelasie tussen die chlorofil- en

troebelheidsgegewens gee 'n aanduiding dat ligindringing algroei in die sisteem beperk.

Vir die grootste deel van die studieperiode het die slikswater laer SiO₂- en PO₄-konsentrasies as die rivier vertoon en dit het waarskynlik nie tot die verryking van die sisteem met óf SiO₂ óf PO₄ gelei nie.

Die NH₄-konsentrasie in die slikswater was deurgaans gemiddeld 344 µg/l hoër as dié van die Vaalrivier as gevolg van die afbraak van organiese materiaal in die sedimentasietenks en sliksdamme. N/P-verhoudings laer as 5 is vir die Vaalrivier bereken, wat beteken dat stikstof die groei beperkende voedingstof is. Daar kan verwag word dat die terugvoer van ammoniumryke slikswater na die Vaalrivier tot 'n verryking van die sisteem stroomaf van die inlaat sal lei. Van Julie tot September was die Vaalrivier se vloeitempo laag en het die slikswater 9% van die vloei in die Vaalrivier uitgemaak. Die slikswater het tydens hierdie tyd die NH₄-konsentrasie in die invloeipluim met 100 µg/l verhoog en was die chl *a*-konsentrasie stroomaf van die inlaatpunt gemiddeld 12 µg/l hoër as stroomop daarvan.

Die invloed van die slikswater kan opgesom word as dat dit verantwoordelik is vir die invoer van NH₄ na die Vaalrivier en dat hierdie NH₄ tot 'n toename in chl *a*-konsentrasie stroomaf van die inlaatpunt lei. Die slikswater vertoon die grootste impak as die rivier stadig vloei of stilstaan, maar geen invloed is waarneembaar as die rivier in vloed is nie, weens die geringe persentasie (0,02%) wat die slikswater van die vloei in die rivier uitmaak.

Chl *a*-konsentrasie in die Vaalrivier word dus hoofsaaklik deur ligindringing en ten tye van lae vloei en groter deursigtigheid deur voedingstofkonsentrasie, veral stikstof, bepaal.

Die invloed van mangaan en koper op die groei van *Cosmarium*- en *Cyclotella*-spesies uit die Vaalrivier

A.R. Schmidt & A.J.H. Pieterse

Departement Plantkunde en Genetika, Posbus 339, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Bloemfontein 9300

Die Vaalrivier is uit 'n ekonomiese oogpunt gesien die belangrikste rivier in die Republiek van Suid-Afrika. Die rede hiervoor is geleë in die feit dat bykans die helfte van die land se bevolking in die Vaalrivier se opvanggebied woon, en 'n groot persentasie hiervan van water uit dié rivier vir

huishoudelike gebruik afhanklik is. Die opvanggebied maak ook die vernaamste industriële, mynbou- en voedselproduserende gebied in die RSA uit. Vanweë die herhaalde en intense benutting van die water en omdat alle afvalwater weer in die rivier gestort word, word die rivier verryk

en besoedel en kom algopbloei dikwels voor.

Alhoewel alge sekere swaarmetale as mikro-elemente vir groei nodig het, kan hoë konsentrasies swaarmetale die groei en fotosintese van alge inhibeer. Koper (Cu) en mangaan (Mn) verteenwoordig swaarmetale wat besoedeling in die Vaalrivier veroorsaak. Vir hierdie ondersoek na die invloed van swaarmetale op algsorte uit die Vaalrivier is Cu gekies, aangesien dit alggroei in dié rivier kan beïnvloed en aangesien dit ekologies een van die belangrikste swaarmetale is. Daarbenewens word CuSO_4 ook dikwels by die beheer van oormatige alggroei gebruik. Die hoofbron van Mn in die Vaalrivier is hoofsaaklik uraanmyne in die opvanggebied, en dit is bekend dat Mn probleme in die suiwering van rivierwater veroorsaak. Om hierdie rede is die invloed van Mn ook ondersoek. Die Cu-konsentrasie in die boonste waterlae is soms so hoog soos $5\text{--}10 \mu\text{g}/\ell$, terwyl Mn by konsentrasies so hoog soos $607\text{--}8700 \mu\text{g}/\ell$ in sekere gebiede in die rivier voorkom.

In die natuur word die laagste vlak in die voedselketting deur fitoplankton beslaan. As alggroei in die rivier dus deur swaarmetale geaffekteer word, sal die swaarmetale na hoër trofiese vlakke oorgedra word, en mag hierdie vlakke ook vergiftig word.

Twee algsorte wat verskeie probleme in die Vaalrivier veroorsaak (onder andere in watersuiweringsaanlegte), is vir hierdie studie gekies. Hierdie algsorte is *Cyclotella meneghiniana* en *Cosmarium laeve* var. *distantum*.

Standaardkultuurmetodes is gedurende die ondersoek gebruik. Die alge is in 250 ml syarm-Erlenmeyerflesse in GBGII-voedingsmedium gekweek. Groei is in terme van toename in troebelheid met behulp van 'n Klett-Summerson-foto-elektriese kolorimeter met 'n 450 nm filter (groen) bepaal. Al die groei-eksperimente is by sowel deurlopende (24h:00h) as onderbroke (15h:09h) beligting uitgevoer. Die groeitempo (μ), verdubbelingstyd (t_d) en finale opbrengs is vir al die behandelings bepaal. Die duur van die sloeren eksponensieële fases by die verskillende behandelings is uit die grafieke afgelei.

Tydens die behandeling met Cu het *Cosmarium laeve* tot by konsentrasies van $1\ 000 \mu\text{g}/\ell$ Cu gegroei, terwyl *Cyclotella meneghiniana* slegs tot by $200 \mu\text{g}/\ell$ Cu gegroei het.

Die feit dat *Cosmarium laeve* groei by $1\ 000 \mu\text{g}/\ell$ Cu vertoon, dui op 'n weerstandigheid teen Cu. Hierdie weerstandigheid hef egter nie die invloed van Cu op die finale opbrengs op nie, aangesien daar 'n afname in die finale opbrengs met toenemende Cu-konsentrasies voorkom. Tydens die eksperiment was dit duidelik dat *Cosmarium laeve* groot hoeveelhede slymagtige uitskeidings produseer. Hierdie uitskeidings mag moontlik die Cu bind (chelatêer) om sodoende die algselle teen die toksisiteit van die Cu te beskerm.

Cyclotella meneghiniana het minder sensitief vir Mn as *Cosmarium laeve* vertoon, aangesien daar nie 'n afname in die finale opbrengs van *Cyclotella meneghiniana* met toenemende Mn-konsentrasies voorgekom het nie. By *C. laeve* het daar 'n afname in die finale opbrengs met toenemende Mn-konsentrasies voorgekom.

Die resultate van hierdie studie het aangetoon dat Mn en Cu by hoë konsentrasies (ongeveer $500\text{--}1\ 000 \mu\text{g}/\ell$) groei inhibeer en dus giftig vir alge is. Die finale opbrengs van albei algsorte het 'n groter afname met toenemende Cu-konsentrasies as met toenemende Mn konsentrasies vertoon. Cu het dus 'n groter toksisiteit as Mn vir die betrokke algsorte aangedui. Albei die algsorte het verskillend op die Cu- en Mn-behandelings gereageer.

Die twee algsorte het ook verskillend op verskillende Mn:Cu-verhoudings gereageer. By *Cosmarium laeve* was dit duidelik dat die invloed van Mn en Cu sinergisties op mekaar kon inwerk. *Cyclotella meneghiniana* het 'n antagonistiese werking tussen Mn en Cu aangetoon. Aangesien *Cyclotella* nie sensitief vir Mn is nie en Mn in oormaat tydens hierdie eksperiment toegedien is, kon die Mn dus die giftigheid van Cu ophef.

Die resultate van die Mn:Cu-eksperiment het aangetoon dat die giftigheid van een metaalioon deur 'n ander metaalioon beïnvloed kan word. Die meganisme van hierdie verskynsel kan aan sinergistiese of antagonistiese wisselwerkings toegeskryf word. Die wisselwerking tussen Mn en Cu hang van die sensitiwiteit van die algsort ten opsigte van Mn en/of Cu af. Die konsentrasies waaraan die selle vooraf blootgestel was, speel ook 'n rol by die bepaling van die tipe wisselwerking.

Fitoplankton in gesuiwerde Vaalrivierwater

A.J.H. Pieterse

Departement Plantkunde, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

Fitoplanktonsoorte vorm onder sekere omstandighede opbloei in die Vaalrivier, wat onder andere tot 'n verskeidenheid probleme by watersuiweringsaanlegte lei. Hierdie probleme behels onder meer die verkorting van filterlopie deur verstopping van sandfilters, die verstopping van verspreidingspype, weerstand teen sedimentering asook die gee van kleure, reuke en smake aan gesuiwerde water. In Suid-Afrika was tot onlangs betreklik min bekend oor dié toestande en besondere algsorte wat vir probleme verantwoordelik is.

Die doel van die ondersoek na fitoplankton in gesuiwerde Vaalrivierwater was om die voorkoms en vermindering

van algmateriaal in die watersuiweringsaanleg by Balkfontein (beheer deur die OVS-Goudveldwaterraad) na te gaan. Watereksemplare is in twee parallelle strome (chloor- en chloordioksiedgedoseer) versamel en ten opsigte van fitoplanktonbiomassa (chlorofil *a*-konsentrasie) en -spesiesamestelling, totale opgeloste stowwe en troebelheid ontleed. Watereksemplare is by die volgende punte versamel: rivierwater, na chloordosering, na chloordioksied-dosering, na sedimentering en na sandfiltrering.

Die hoeveelheid chemikalieë wat by die rivierwater gevoeg is om flokkulering en sedimentering aan te help is deur die troebelheid (gemeet in nefelometereenhede of

NTE's) van die rivierwater bepaal. Ferrichloried is teen konsentrasies van ongeveer 10 (NTE < 100) of 20 mg/l (NTE > 100) toegedien, 'n poliëlektroliet teen 1 (NTE < 100) of 2 mg/l (NTE > 100) en kalk teen 20 (NTE < 100) of 35 mg/l (NTE > 100). Chloor is deurlopend teen 'n konsentrasie van 4,5 mg/l by die gesuiwerde water gevoeg (nachlorering). By rivierwater met NTE-waardes groter as 100 is voorchlorering deur chloor en chloordioksied grootliks ondoeltreffend. Voorchlorering is daarom weggelaat wanneer die troebelheid van die rivierwater die 100 NTE-vlak oorskry het. Sulke toestande het tussen April en September en gedurende Januarie by die Balkfontein aanleg geheers sodat die behandelingstoestande van die twee strome (chloor- en chloordioksiedgedoseer) gedurende die studieperiode nie veel van mekaar verskil het nie.

'n Afname in die konsentrasie van opgeloste stowwe is in die aanleg aangetref, maar die konsentrasies het gedurende die studieperiode tussen 200 en 700 mg/l gewissel. Konsentrasies in die uitloeiwater het dié van die rivierwater redelik noukeurig gevolg, sodat afgelei kan word dat die suiweringsprosesse nie 'n oorheersende invloed op opgeloste stowwe uitgeoefen het nie. 'n Ongeveer honderdvoudige afname in troebelheid is deur die suiweringsproses bewerkstellig en geen direkte verband kon tussen die troebelheid van die rivier- en die gesuiwerde water geïllustreer word nie.

'n Ongeveer tienvoudige afname in die chlorofil *a*-konsentrasie (maatstaf van fitoplanktonbiomassa) is gedurende die studieperiode gehandhaaf. Die chlorofil *a*-konsentrasie in die gesuiwerde water volg dié in die rivier-

water betreklik noukeurig. Die afleiding kan derhalwe gemaak word dat die behandelingsprosesse wat by Balkfontein toegepas word, gesuspenseerde lewlose materiaal (weerspieël deur troebelheidswaardes) op 'n ander wyse as gesuspenseerde lewende materiaal (weerspieël deur chlorofil *a*-waardes) beïnvloed.

Gesuiwerde water van die chloor- en chloordioksiedstrome het 'n redelik groot verskeidenheid fitoplanktonsoorte (35 en 32 onderskeidelik) bevat. Die fitoplanktonsoorte wat in die gesuiwerde water voorgekom het, was ook in die rivierwater aanwesig, sodat die afleiding gemaak kan word dat die algkwaliteit van die rivierwater die algkwaliteit van die gesuiwerde water bepaal.

Die volgende algsorte het gereeld in die gesuiwerde water voorgekom en was ook teen die hoogste konsentrasie daarin aanwesig:

Diatoom: *Cyclotella meneghiniana*.

Groenalge: *Carteria fornicata*, *Chlamydomonas bicocca*, *Monoraphidium arcuatum*, *M. circinale*, *M. minutum*, *Oocystis lacustris*, *Scenedesmus intermedius*, *S. opoliensis*.

Blougroenalg: *Microcystis flos-aquae*.

Hierdie soorte moet as probleemsoorte beskou word en was, met die uitsondering van die *Carteria*- en *Chlamydomonas*-soorte, in die vorm van baie klein selle in die gesuiwerde water aanwesig. *Microcystis flos-aquae* het deurgaans 'n belangriker onderdeel van die gesuiwerde water as van die rivierwater uitgemaak. Hieruit kan afgelei word dat die konsentrasie van dié algsoort in 'n mindere mate as die ander deur die suiweringsprosesse beïnvloed word, of dat dié algsoort in die suiweringsaanleg vermeerder.

Proteïen- en iso-ensiemprofiele van *Strelitzia*-spesies

P.E. Henning, J.G.C. Small & A.J. van der Westhuizen

Departement Plantkunde en Genetika, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

Die genus *Strelitzia* word verteenwoordig deur twee stamlose groeivorms en drie groeivorms met stamme.

Die stamlose spesie, *S. reginae*, kom kuslans langs voor vanaf Patensie tot by Zoeloeland, terwyl *S. juncea* op verskeie plekke noordwes van Uitenhage voorkom. Van die drie spesies met stamme kom *S. alba* voor in 'n klein gebied tussen George en Humansdorp en *S. caudata* word gevind in Oos-Transvaal en in Noord- en Oos-Swaziland. *S. nicolai* word aangetref van die ooste van die Kaapprovinsie deur Natal en Zoeloeland tot in Mosambiek en tot by die oostelike berge van Zimbabwe.

Plante van *S. reginae* wat in die veld aangetref word, verteenwoordig 'n groot verskeidenheid van blaargroottes en -vorms. Die sg. biesieagtige ("juncaceous") groeivorm van *Strelitzia* word nie as deel van die variasie beskou nie, aangesien dit 'n eiesoortige morfologiese entiteit is wat in uitgebreide stande in die Uitenhage- en Port Elizabeth-omgewings voorkom. Daar is reeds voorgestel dat *S. juncea* as 'n afsonderlike spesie beskou word. Alhoewel taksonome blykbaar ooreenstem oor die klassifikasie van die drie groter spesies, heers daar verskillende sienings ten opsigte van die klassifikasie van die stamlose spesies. Twee stamlose spesies, nl. *S. reginae* en *S. parvifolia*, is ook reeds

beskryf, maar *S. reginae* geniet meer erkenning. *S. reginae* en *S. juncea* is ook reeds voorgestel.

S. reginae sluit dan alle groeivorms met 'n prominente blaarlamina in, terwyl *S. juncea* die groeivorm is waarvan die blaarskyf baie gereduseerd of totaal afwesig is. Dit is egter duidelik dat *S. parvifolia* nie bestaansreg as spesie het nie, aangesien navorsing getoon het dat dit 'n hibried is tussen *S. reginae* en *S. juncea*.

Denaturerende SDS PAGE is uitgevoer met die embryo's en endosperm van al vyf spesies. Die endospermjelle is met Coomassieblou gekleur waarna 'n silwerkleuring op dieselfde jelle gedoen is. Silwerkleuring is ook op jelle gedoen wat nie vooraf met Coomassieblou gekleur is nie. Alhoewel die silwerkleuring 'n baie groter verskeidenheid bande opgelewer het, was daar by sowel Coomassieblou- as silwergekleurde jelle geen verskille wat die aantal bande of patroon van skeiding betref nie.

Jelle van die embryo's se proteïenekstrakte is ook met Coomassieblou en silwer gekleur. In die geval van *S. reginae* en *S. juncea* is daar duidelike verskille wat die twee as groep van die drie groter spesies onderskei. Hier kom duidelik twee of drie bande voor wat nie by die kouliese groep teenwoordig is nie. Die res van die patroon is deur

gaans dieselfde.

Alkoholdehidrogenase (ADH) is uit sowel die endosperm as embryo's apart geïsoleer. Bepalings van die ADH-aktiwiteit het getoon dat die endosperm byna geen ADH bevat nie. Die embryo's daarenteen het hoë ADH-aktiwiteit getoon en nie-denaturerende PAGE is daarmee uitgevoer. Daar was weer eens duidelike verskille wat die akouliese en kouliese groepe onderskei. *S. reginae* en *S. juncea* het kwantitatief verskil, maar dit is duidelik dat beide tien iso-ensieme bevat met dieselfde patroon van skeiding. *S. caudata* verskil duidelik van *S. alba* en *S. nicolai*. Laasgenoemde twee het ook dieselfde hoeveelheid iso-ensieme met 'n kwantitatiewe verskil.

Uit die literatuur blyk dit dat esterases dikwels in twee hoofgroepe tydens PAGE skei (nie-denaturerend). Ekstrakte is gemaak van die embryo's, endosperm, plantwortels en stingels. Die patroon tydens PAGE van die embryo's en wortels was identies en daarom is besluit om weer eens met die embryo's te werk. Hier kan nie soos in die geval van bv. *Daucus* twee hoof groepe onderskei word nie, maar slegs die "2de" of B-groep. Dit toon weer eens geen verskil tussen die twee kleiner spesies nie. *S. caudata* is ook hier duidelik kwalitatief onderskeibaar van *S. alba* en *S. nicolai*. Laasgenoemde twee verskil kwantitatief.

Alhoewel die proteïenprofile van die endosperm van al

vyf die spesies geen verskille uitwys nie, word daar by die profile van die embryo's duidelik onderskei tussen die stamlose groeivorms en dié met stamme, deurdat *S. reginae* en *S. juncea* drie onderskeibare bande bevat. Daar is egter geen onderlinge onderskeid by enige van die twee groepe nie ten spyte van twee verskillende kleuringstegnieke wat verskillende bande uitgewys het. Die ADH iso-ensieme onderskei weer eens duidelik tussen die twee hoofgroepe, maar hier word *S. caudata* ook onderling in die kouliese groep onderskei. Die ander twee *S. alba* en *S. nicolai*, verskil kwantitatief, maar die aantal iso-ensieme is dieselfde. In die geval van *S. reginae* en *S. juncea* vertoon dieselfde patroon met tien iso-ensieme wat kwantitatief verskil. Die ADH iso-ensiepatroon maak dit moontlik om tussen die sade van verskillende spesies te onderskei. In die geval van die esterases word *S. caudata* weer duidelik van die res onderskei en vertoon *S. alba* en *S. nicolai* slegs kwantitatiewe verskille. Die akouliese groep se esterases is identies.

Dit is dus duidelik dat daar tot dusver nog net kwantitatiewe verskille tussen *S. reginae* en *S. juncea* aange- toon is, met kwalitatiewe ooreenkomste wat al die vorige taksonomiese voorstelle in 'n mate ondersteun. Die drie kouliese spesies is ooreenkomstig die bestaande klas- sifikasie gevind.

'n Model vir kiemingsbeheer van *Citrullus lanatus*-sade

G.P. Potgieter & F.C. Botha

Departement Plantkunde en Genetika, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

Sade van die Cucurbitaceae is ideale studiemateriaal om die regulering van koolhidraatmetabolisme te ondersoek. Hierdie weefsel verander binne 96 uur van 'n vetokside- rings- na 'n koolhidraatoksideringsmetabolisme na 'n glukoneogenese tipe metabolisme. Tydens saadkieming is die koolhidraatoksideringsmetabolisme van belang en word koolhidrate soos sukrose en raffinose afgebreek om in die energiebehoefte van die weefsel te voorsien. Tydens saailinggroeï egter is glukoneogenese vanaf reserwe lipiede belangrik. Vir hierdie twee prosesse om doeltreffend te funksioneer is dit nodig dat daar streng beheer op hierdie siklusse uitgeoefen moet word ten einde die ontstaan van futiele siklusse te voorkom.

Benewens die veranderinge in die metabolisme is die Cucurbitae verder interessant omdat daar 3 kiemingsbeheer- meganismes is, naamlik 'n lig- en waterspanningsgevoel- ighed sowel as 'n primêre rustoestand. As daar aanvaar word dat die metabolisieveranderinge vir kieming nood- saaklik is, kan die afleiding gemaak word dat al drie hier- die beheermeganismes moontlik hul invloed uitoefen deur die koolhidraatmetabolisme te verander.

Dit is bekend dat die liggevoeligheid van hierdie negatiefotoblastiese sade (donkerkiemers) van *Citrullus lanatus* onder fitochroombeheer is. Die beheermeganisme wat die tipiese rooi-verrooilig-omkeerbaarheid van 'n fitochroombeheerde sisteem toon, is ook 'n tipiese lae- energie reaksie (LER). Hoë Pfr-vlakke is 'n voorvereiste vir kieming. Die negatief fotoblastiese kiemers kan in die

afwesigheid van lig hoë Pfr-vlakke bereik, aangesien hier- die tipe sade in die droë toestand reeds hoë vlakke van Meta- Rb besit. Daar kan dus afgelei word dat fitochroom waar- skynlik 'n regulerende rol in koolhidraatmetabolisme speel.

'n Interessante eienskap van hierdie sade is dat dit bene- wens die testa ook 'n saadvlies besit wat onder die testa geleë is. Dit is bekend dat verwydering of beskadiging van die saadvlies alle beheersisteme op kieming ophef.

Die postulaat vir kieming wat in hierdie studie onder- soek word, is dat hierdie sade van 'n sukrolise tipe metabo- lisme, gekoppel aan etanolfermentasie, afhanklik is. Verder dat laasgenoemde tipe metabolisme van hoë Pfr-vlakke af- hanklik is en dat verwydering van die saadvlies of die be- heer op hierdie tipe metabolisme ophef of 'n alternatiewe metabolisme aktiveer wat tot kieming aanleiding kan gee.

Daar is 'n skerp toename in die ATP-vlakke by *C. lanatus*-sade tydens inkubering in die donker by sowel die intakte (kontrole) as sade waarvan die saadvlies verwyder is. Sodra die kiemwortel verskyn, kom daar 'n verdere skerp toename in ATP-vlakke voor. Hierdie hoër ATP- produksie kan moontlik aan die hoër energiebehoefte van die groeiende radikula tydens saailinggroeï gekoppel word.

Die suurstofopnametempo tydens die kiemingsperiode van die kontrolesade is dieselfde in sowel lig as donker toestande ($\pm 4 \text{ nmol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{saad}^{-1}$). Sodra die kiem- wortel egter na ongeveer 24 uur by die donkergeïnkubeer- de sade verskyn, vind daar 'n skerp toename in die suur- stofopnametempo plaas. Hierdie verhoogde suurstofop-

name kan moontlik met die verhoogde suurstofbehoefte van die groeiende radikula verbind word. By die liggeïnkubeerde sade vind geen kieming plaas nie en die suurstofopnametempo bly tydens die 72 uur inkubering konstant. Sodra die saadvlies egter verwyder word, vind daar onmiddellik 'n toename in suurstofopnametempo plaas en lei dit tot die verskyning van die radikula.

Die RK-waarde tydens die kieming van kontrolesade in die donker van gemiddeld 1,6 dui op 'n tipiese glikolitiese-en-fermentasietipe metabolisme. Sodra die kiemwortel na kieming verskyn, daal die RK-waarde na 0,6 wat op 'n lipiedtipe metabolisme dui. Aangesien *C. lanatus*-sade lipiedryk is, kan verwag word dat lipiedafbraak tydens saailinggroei hoog sal wees. Dit is duidelik dat die metabolisme van dié sade tydens kieming en saailinggroei verskil. Daarteenoor handhaaf die kontrolesade onder ligtoestande, waar geen kieming voorkom nie, vir die volle 72 uur 'n RK-waarde van 0,6, wat tiperend vir lipiedmetabolisme is. Word die beheer op kieming egter opgehef deur die saadvlies te verwyder, is die RK-waarde vir die sade wat onder sowel lig as donker toestande gehou is, dieselfde as dié van die kontrolesade onder ligtoestande.

'n Model om saadkiemingsbeheer te verklaar is saamgestel. Volgens die model is sade tydens imbibering in die donker van 'n glikolitiese-en-fermentasietipe metabolisme afhanklik om in die energiebehoefte van die kiemings-

metabolisme te voorsien. Weens die suurstofbeperkende eienskappe van die saadvlies word waarskynlik hipoksiese toestande tydens kieming in die saad gehandhaaf. ATP-produksie deur substraatvlakfosforilering is onder dié toestande moontlik, mits gereduseerde NAD^+ -vlakke gehandhaaf kan word. Etanolfermentasie bied 'n meganisme waarvolgens $\text{NADH} + \text{H}^+$ geheroksideer kan word. Sodra kieming voltooi is en die kiemwortel deur die saadvlies skeur, word die beperking op suurstofopname opgehef en verander die metabolisme na 'n tipiese lipiedmetabolisme.

Verder is die glikolitiese-en-fermentasietipe metabolisme onder fitochroombeheer, aangesien geen kieming by liggeïnkubeerde intakte sade moontlik is nie.

Hierdie fitochroombeheer op kieming kan opgehef word deur die saadvlies te verwyder. Wanneer die saadvlies verwyder word, word die beperking op suurstofopname opgehef en verander die metabolisme tydens kieming van 'n glikolitiese-en-fermentasietipe na 'n lipiedtipe ongeag of lig teenwoordig is al dan nie. Dié sade is waarskynlik van lipiedoksidering afhanklik vir energievoorsiening vir die kiemingsproses, deur oksidatiewe fosforilering in die mitochondrion. Die beperking op lipiedmetabolisme en oksidatiewe fosforilering is suurstofvoorsiening. Dié beperking op suurstofopname by intakte sade word opgehef deur die saadvlies te verwyder.

Verandering in Pirofosfaat: D-fruktose 6-fosfaat-1-fosfotransferase-aktiwiteit en -konsentrasie gedurende kieming van *C. lanatus*-saadlobbe

A. Botha & F.C. Botha

Departement Plantkunde, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

Gedurende kieming van lipiedryke sade is glukoneogenese beperk, terwyl glikolise en die OPP-weg oorheersend plaasvind. Dit wil voorkom asof die verlenging van die radikula 'n groot toename in glikolise en glukoneogenese in saad van spesies van die Cucurbitaceae tot gevolg het.

Fruktose-6-fosfaat + $\text{P}_i \xrightleftharpoons{\text{Mg}^{2+}}$ Fruktose-1,6-bisfosfaat + P_i

Die omskakeling van fruktose-6-fosfaat (F-6-P) na fruktose-1,6-bisfosfaat (F-1, 6-P₂) word algemeen beskou as een van die belangrikste reaksiestappe tydens die regulering van koolhidraatmetabolisme. Pirofosfaat: D-fruktose-6-fosfaat 1-fosfotransferase (PFP) is 'n sitosoliese ensiem wat die omskakelingsreaksie kataliseer. Na die ontdekking van PFP in plante is die kinetiese eienskappe van PFP reeds in 'n wye verskeidenheid van plante ondersoek. Uit die data is dit duidelik dat die aktiwiteit van PFP bykans volledig afhanklik van die teenwoordigheid van fruktose-2, 6-bisfosfaat is. Die funksionele rol van die ensiem *in vivo* is egter nog onbekend, daar is egter voorgestel dat 'n hoë PFP-aktiwiteit 'n aanduiding van weefsel is wat primêr by die afbraak van sukrose betrokke is. Dit is egter nie in alle gevalle

geldig nie, aangesien die PFP-aktiwiteit in saadlobbe van *Citrullus lanatus* en endosperm van *Ricinus communis* (albei sukrosesintetiserende weefsel) hoog is. Ander funksies wat aan PFP gekoppel word, is die handhawing van 'n ewewig tussen die heksosesfosfaat/triosefosfaatpoele, die regulering van die sitosoliese P_i -vlakke en voorsiening van 'n adenilaatomweg vir glikolise tydens fosfaattekorte.

Daar word beweer dat daar twee molekulêre vorme van PFP bestaan en dat die aktiwiteit van die vorme van die dissosiasie/assosiasie van PFP afhang. Die dissosiasie/assosiasie van PFP word deur Fru-2, 6-P₂ en P_i gereguleer. Ander outeurs het twee vorme, 'n heterotameer (2 α 2 β) en 'n homodimeer (2 β), vanuit koringssaailinge geïsoleer waarvan die kinetiese eienskappe en molekulêre massas verskil. Hulle voer aan dat die klein vorm nie as gevolg van proteolise van die groot vorm ontstaan het nie, maar moontlik 'n iso-ensieme van PFP is.

Baie min is nog oor die beheer van PFP-vlakke in weefsel bekend. Dit wil egter voorkom asof die toename in PFP-aktiwiteit na kieming nie slegs as gevolg van die aktiveering van die bestaande PFP-proteïen is nie, maar die direkte gevolg van 'n toename in proteïenkonsentrasie. Verder is

dit bekend dat die radikula 'n belangrike rol in die uiting van die PFP-gene speel, aangesien die verwydering van die radikula voor inkubering die toename in PFP-aktiwiteit en -konsentrasie beperk. Die verwydering van die radikula gedurende inkubering het 'n skerp afname in PFP-aktiwiteit en -konsentrasie tot gevolg. Verder is aangetoon dat die verhoging in aktiwiteit tydens kieming waarskynlik die gevolg van 'n hormonale sein is wat van die radikula afkom. Dit is ook bekend dat die uiting van die PFP-gene suurstofafhanklik is, aangesien anoksie en hipoksie 'n toename in PFP-aktiwiteit en konsentrasie grootliks beperk.

Totale PFP-aktiwiteit sowel as spesifieke aktiwiteit neem skerp toe na verskyning van die radikula. Die aktiwiteit piek na 84 uur van inkubering en neem dan na 'n drempelwaarde af. Die toename in PFP-aktiwiteit val saam met die piek in glukoneogenese.

PFP kom as isovorme in *C. lanatus*-saadlobbe voor. Die PFP-isovorme verskil in lading en kan dus met behulp van ioonuitruilingschromatografie van mekaar geskei word. Die pieke elueer onderskeidelik by 0,14 M KCl (piek 1) en 0,18 M KCl (piek 2). Die bydrae van die pieke tot die totale PFP-aktiwiteit verander gedurende kieming en saailingvestiging, van grootliks piek 1 PFP-aktiwiteit na grootliks piek 2 PFP-aktiwiteit.

Die isovorme verskil nie net ladings in nie, maar ook in affiniteit vir PPI. Piek 1 PFP se affiniteit is nege keer hoër as dié van piek 2 PFP-aktiwiteit.

Proteïenkladanalise van ru-ekstrakte van *C. lanatus*-saadlobbe toon dat PFP in die weefsel twee polipeptiedkettings bevat. Die verhouding van die subeenhede (gebaseer op immunologiese kruisreaktiwiteit) verander van oorheersend α na β gedurende die verloop van die inkuberingsperiode. PFP-aktiwiteit van *C. lanatus* varieer ook in die verskillende plantdele. Dit wil voorkom asof die β -subeenheid in die meeste weefsels en veral in sterk gedefinieerde swelpuntweefsel teenwoordig is; lg. is ook die weefsel met die hoogste spesifieke PFP-aktiwiteit.

Uit die studie wil dit voorkom asof daar 'n differensiële geenuiting van PFP by *C. lanatus* is. Die verhoogde piek 1 PFP-aktiwiteit val saam met grootliks α -geenuiting gedurende die periode met hoë sukrosesintese tempo's. Dit is dus interessant dat die PFP-vorm (piek 1) met die hoogste affiniteit vir PPI gedurende die periode dominant is. PFP is waarskynlik in die weefsel vir die voorsiening van PPI om sukroseafbraak na sukrosesintese te handhaaf, verantwoordelik. Daar kan dus verwag word dat wanneer 'n periode van hoë sukroseafbraak in die weefsel voorkom, piek 2 (lae affiniteit vir PPI) en bestaande uit β -subeenhede oorheersend sal voorkom.

Die invloed van suurstofspanning op mitochondriale proteïene van emrionale assies van *Pisum sativum* L.

K. Kemp & J.G.C. Small

Departement Plantkunde en Genetika, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

Alle meersellige organismes het O_2 nodig om te kan leef. Hoërplante is geen uitsondering op hierdie reël nie. Die O_2 word vereis vir die verskaffing van metaboliese energie tydens die afbraak van voedingstowwe deur die mitochondrions.

Vorige navorsers het gevind dat daar 'n merkbare toename in die koers van suurstofopname in ertjiesade tydens ontkieming is en dat daar 'n duidelike korrelasie tussen die waterinhoud en suurstofopname in die vroeë stadiums van ontkieming was. Soos wat imbibisie verder verloop, word die mitochondrion ryk aan proteïene en lipiede, en raak biochemies funksioneel.

Daar is aangetoon dat wanneer ryssaailinge anaerobies ontkiem is, die respiratoriese aktiwiteit tot op 'n sekere lae vlak ontwikkel en dan konstant gebly het. Die mitochondrions uit hierdie saailinge was goed gekoppel, maar die suurstofopname was laag.

Die ultrastruktuur van mitochondrions is na 48 uur duidelik gedifferensieer, selfs onder anaerobiese toestande, en vorige navorsers het getoon dat anaerobiese skynbaar nie 'n groot invloed op die strukturele ontwikkeling het nie.

Die invloed van anaerobiose of suurstofspanning op die ontwikkeling van mitochondrions in ertjiesaadassies is on-

bekend en het gelei tot die huidige studie.

Proteïenprofile van gesuiwerde mitochondrions geïsoleer uit aerobies- en anaerobiesbehandelde assies het getoon dat daar na 24 uur inkubering duidelike verskille in die proteïensamestelling bestaan. Die proteïenprofile van die mitochondrions van stikstofbehandelde assies het nie verander nie, terwyl dié van die lugbehandelde assies getoon het dat nuwe proteïene gesintetiseer word, en andere afgebreek word.

Daar bestaan duidelike verskille in die aktiwiteite van die ensieme uit saadassies wat in lug en stikstof geïnkubeer is. Ensieme uit mitochondrions van saadassies wat in lug geïnkubeer is, was hoër as dié van ensieme uit stikstofmitochondrions.

Sade is in sikloheksimied of chloramfenikol geïnkubeer om vas te stel of die verskille in ensiemaktiwiteit tussen lug- en stikstofmitochondrions as gevolg van remming van sintese of inaktivering was. Die sikloheksimiedbehandeling het 'n kleiner remmingsinvloed op die ensieme gehad as chloramfenikol. Daar is afgelei dat die invloed van die stikstofbehandeling op die ensieme veral as gevolg van remming van proteïensintese is en in 'n mindere mate as gevolg van inaktivering van die ensieme.

Protoplast isolering van *Parthenium argentatum* (Guayule)

I.A. Trautmann & J.H. Visser

Departement Plantkunde, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch 7600

In die soeke na genetiesverbeterde, siekteweerstandbiedende variëteite met hoë rubberproduserende en klimaat-aanpasbare eienskappe is die gebruik van weefselkultuur-tegnieke vir die *in vitro*-vestiging van hierdie plant opnuut onder die soeklig geplaas. Tydens hierdie studie is metodes vir die isolering van protoplaste vanuit blaarmesofil, *in vitro* gekweekte lootmateriaal, kalluskulture en tweedefasekalluskulture, ontwikkel. Faktore wat protoplastopbrengs beïnvloed, nl. die inkuberingsperiode, die konsentrasie van die osmotikum en die voorafbehandeling van skenker-materiaal, is ook ondersoek.

In vitro gekweekte lootmateriaal, kallas en tweedefasekalluskulture het die hoogste protoplastopbrengs na 6 uur inkubering gelewer, terwyl 'n langer inkubering (10-12 uur) in die geval van blaarmesofil nodig was. Hierdie tendens kan toegeskryf word aan die baie dik selwande van die blaarmateriaal.

In die bepaling van die optimale osmotikumkonsentrasie is gevind dat 70 g.dm⁻³ mannitol beter resultate in die geval van blaar- en lootmateriaal gelewer het. Hoër en laer konsentrasies het egter tot die bars of spontane versmelting van die protoplaste gelei. 'n Konsentrasie van 80 g.dm⁻³ mannitol is egter optimaal in die geval van protoplaste vanuit kallasumateriaal geïsoleer. Hoër en laer konsentrasies het dieselfde effek as in die geval van blaar- en lootmateriaal gehad. Baie hoë protoplastopbrengste vanuit tweedefasekallusmateriaal is met 'n osmotikum van 120 g.dm⁻³ gevind.

Die gebruik van FDA in die bepaling van die persentasie lewenskragtige protoplaste het egter tot swak kleurreaksies gelei. Dit is egter in die literatuur bekend dat die graad van esteraseaktiwiteit weerspieël word in die mate waartoe fluoreseen akkumulêr. Lae esterasevlakke in lewenskragtige protoplaste van Guayule was dus moontlik vir hierdie verskynsel verantwoordelik.

Tydens die ondersoek was dit duidelik dat voorafbehandeling van skenker-materiaal 'n voorvereiste vir hoë protoplastopbrengste was. Die protoplastopbrengs vanuit blaarmateriaal en tweedefasekallusmateriaal was beter na 'n 24-uur donker of 16-uur donker/8h 4° C voorafbehandeling en 'n 8-uurensieminkubering. In die geval van *in vitro* gekweekte lootmateriaal het 'n 24-uur donker voorafbehandeling baie goeie resultate gelewer, terwyl isolerings vanuit kallasumateriaal optimaal was na 'n 24-uur lig voorafbehandeling. Verklarings vir die voorafbehandelingsvereiste sluit die volgende in:

- 1) Donker voorafbehandeling lei tot verlaagde styselvlakke met 'n gepaardgaande toename in die stabiliteit van die protoplaste en
- 2) blare vervaardig dunner selwande met lae konsentrasies pektaat onder toestande van lae ligintensiteit.

Alhoewel suksesvolle metodes vir die isolering van Guayule-protoplaste ontwikkel is, word aandag tans aan die toestande wat tot verdere ontwikkeling en organogenese lei, geskenk.

Hoë temperatuurinhibering van slaaisaadontkieming

C. Schultz & J.G.C. Small

Departement Plantkunde en Genetika, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

Slaaisaadontkieming word by hoë temperature geweldig onderdruk; dit staan bekend as *termoïnhibering*. By hierdie hoë temperature neem die sade se *liggevoeligheid* toe. By middelmatig hoë temperatuur (30° C) hef O₂ termoïnhibering op, maar dit gebeur nie by baie hoë temperature (35° C) nie.

Daar is gevind dat 'n kombinasie van hormone en CO₂ termoïnhibering ophef. Bewyse dat die induksie van hitteskokproteïene (HSPs) hoëtemperatuurtoeransie bewerkstellig, is ook reeds gevind.

HITTESKOK is 'n spanningstoestand wat gewoonlik deur 'n skielike toename van 10° C in die normale groeitemperatuur veroorsaak word. Hierdie skielike toename veroorsaak 'n verandering in transkripsie- en translingspatrone van proteïensintese asook die sintese van 'n klein hoeveelheid spesifieke proteïene, nl. HSPs.

In die huidige studie is daar bepaal of O₂ in kombinasie met hormone termoïnhibering kan ophef. Daar is gepoog

om vas te stel of die heilsame invloed van hierdie behandelings bloot aan verhoogde suurstof en dus respiratoriese invloed te wyte is, en of die sintese van spesifieke proteïene ter sprake is.

Die doel van hierdie studie was dus om te ondersoek of:

- a) O₂ alleen of in kombinasie met hormone termoïnhibering kan ophef;
- b) die O₂-invloed of O₂ gekombineer met hormone primêr op respirasie lê, d.w.s. of dit aerobiese respirasie stimuleer;
- c) die O₂-behandeling, asook die kombinasie met hormone, proteïensintese stimuleer;
- d) 'n spesifieke proteïen gesintetiseer word om ontkieming by hoë temperature teweeg te bring; en
- e) proteïensintese vir ontkieming noodsaaklik is.

Daar is gevind dat ontkieming by 25° C sowel in die lig

(L), as in die donker (D) plaasvind, terwyl geen ontkieming by 35° C L en D voorkom nie, al word hormone bygevoeg. Wanneer die hormone egter met O₂ gekombineer word, vind ontkieming plaas.

O₂ gekombineer met hormone lewer redelike ontkieming by 35° C L en D. GA₃ lewer die swakste, en kinetien (K) en etileen (E) die beste resultate. Kinetien is vir verdere ondersoekes gekies.

As gevolg van die maandelike stimulering van respirasie deur O₂ bestaan die moontlikheid dat dit aan 'n CO₂-invloed te wyte kan wees.

Verdere navorsing het getoon dat daar geen werklike verskil met/sonder KOH is nie; dus kan dit nie aan CO₂ toegeskryf word nie, maar aan 'n werklike O₂-invloed.

Die vraag is dus of slaaisaad HSPs induseer. Die resultate toon dat daar inderdaad 3 HSPs deur *Grand Rapids* geïnduseer word.

Nuwe proteïene word deur O₂+K by sowel 25 as 35° C geïnduseer. By 35° C word addisionele proteïene gesintetiseer, wat moontlik met hoëtemperatuurontkieming verband hou.

Wat proteïensintese-remstowwe betref, is gevind dat chlooramfenikol (c) nie so 'n sterk remmer soos sikloheksimid (s) is nie.

Wanneer: O₂ bygevoeg word, word c-remming opgehef;
K bygevoeg word, word s-remming opgehef;
O₂ en K bygevoeg word, word totale c- en s-remming opgehef.

Samevattenderwyse dus die volgende:

1. O₂ in kombinasie met hormone, hef termoinhibering op.
2. Meer proteïenbande word in die geval van O₂ en K gevorm, wat daarop dui dat O₂ en K inderdaad nuwe proteïene induseer.
3. Daar word wel HSPs gevorm wanneer sade aan hoë temperatuur (hitteskok) blootgestel word.
4. Sitosoliese proteïensintese is noodsaaklik vir ontkieming, maar in 'n mate ook organel-proteïensintese.
 - O₂+ K vervang die proteïensintesebehoefte
 - K vervang die sitosol-proteïensintesebehoefte
 - O₂ vervang die organel-proteïensintesebehoefte.
5. Proteïensintese word sterk in organelle deur sikloheksimid geïnduseer.

Die aanvanklike hipotese dat ontkieming wel proteïensintese benodig, maar dat proteïensintese deur O₂+Kinetien vervang kan word, word gestaaf.

Pogings vir die daarstelling van morfogenese uit kallus van *Phaseolus vulgaris* L.

E.G. Groenewald & A.J. van der Westhuizen

Departement Plantkunde en Genetika, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

Die verbetering van die peulplant *Phaseolus vulgaris* L., 'n belangrike verbouingsgewas, d.m.v. genetiese manipulasies van enkelselle en gevolglike regenerasie van getransformeerde plante kon nog nie behaal word nie a.g.v. die afwesigheid van geskikte regenerasieprosedures. Sover vasgestel kan word, het nog net een groep navorsers, in 1976, daarin geslaag om morfogenese uit kallusweefsel van boontjies te verkry. Slegs 0,5% van hulle kalluskulture het in plantjies ontwikkel. Dit verteenwoordig egter 'n onaanvaarbare opbrengs.

Die doel van hierdie studie was om regenerasie van plantjies uit kallusweefsel te bewerkstellig. Eerstens is daar gepoog om morfogenese uit boontjiekalluskulture wat van Israel verkry is, te bewerkstellig. Genoemde kulture was ongeveer drie jaar oud en is gekweek op vaste Murashige-en-Skoog-medium (MS-medium), wat die volgende groeireguleerders bevat het: 2,4-D (2,4-dichlorofenoksieasynsuur), 0,5 mg l⁻¹; 4-CPA (4-chlorofenoksieasynsuur), 20 mg l⁻¹; NTA (nitriloasynsuur), 40 mg l⁻¹ en KIN (kinetien), 0,1 mg l⁻¹. In hierdie studie is hierdie kalluskultuur op MS-medium en die volgende groeireguleerders gekweek, nl. 2,4-D in konsentrasies wat gewissel het tussen 0,2 mg l⁻¹ en 2 mg l⁻¹ en NAA (naftaleenasynsuur) in konsentrasies wat gewissel het tussen 0,2 mg l⁻¹ en 2 mg l⁻¹. Genoemde groeireguleerders (ouksiene) is toegedien in kombinasie met die volgende sitokiniene, nl. KIN wat gewissel het tussen 0,5 mg l⁻¹ en 30 mg l⁻¹ en BA (bensieladenien) 0,5 mg l⁻¹. Redelike goeie kallusgroei is met al die verskillende behandelings verkry, maar ongelukkig was daar geen ontwikkeling

van wortels of stingels nie.

'n Verdere studie is uitgevoer met radukalas van boontjies, wat soos volg verkry is. Boontjiesade is met 70% EtOH en 3,5% (m/v) natriumhipochloriet, gesteriliseer, waarna die aseptiese sade vir drie uur in steriele gedistilleerde H₂O, geweek is. Die radikula is asepties verwyder en op verskillende agarmedia geplaas. Die volgende behandelings waar MS-medium in kombinasie met verskillende ouksiene en sitokiniene gebruik is, is toegepas. Die ouksiene wat in kombinasie met sitokiniene gebruik is, is die volgende, nl. 2,4-D 0,2 tot 1 mg l⁻¹; NAA 1 mg l⁻¹ en PIC (Picloram; 4-amino-3, 5, 6-trichloro-2-piridienkarboksiesuur, 0,02 tot 1 mg l⁻¹). Die sitokiniene toegedien is KIN 0,5 tot 1 mg l⁻¹; BA 0,5 mg l⁻¹ en 2iP(2-isopentenielenien) 0,5 mg l⁻¹.

Wortelvorming is waargeneem slegs by kallusse op media wat 2,4-D en KIN of 2iP bevat het. Swak kallusgroei en geen wortelvorming is verkry wanneer 2,4-D met NAA en PIC vervang is. Geen stingelvorming is by enige van die behandelings waargeneem nie.

Die medium wat sekere navorsers in 1976 gebruik het om morfogenese met boontjies te verkry, is uitgetoets, maar geen morfogenese kon verkry word nie.

Indien KNO₃ en NH₄NO₃ van die Murashige-en-Skoog-medium met ammoniumsitraat as stikstofbron vervang is, is geen kallusgroei waargeneem nie.

Hierdie studie word met ander kombinasies van ouksiene en sitokiniene verder voortgesit in 'n poging om sowel stingel as wortelvorming te verkry.

Lokalisering en gedeeltelike karakterisering van nuklease-aktiwiteit in assies van *Phaseolus vulgaris* L. tydens ontkieming

A.J. van der Westhuizen & S. du Plessis

Departement Plantkunde en Genetika, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

Groei en ontwikkeling van die embrionale assie tydens ontkieming word onder andere deur 'n hoë omset in nukleïensure gekenmerk. Nukleolitiese ensieme (hoofsaaklik RNases) uit verskeie ontkiemende sade en saailinge met die uitsondering van boontjies, is al bestudeer en blyk 'n belangrike rol tydens ontkieming te speel. Inligting oor die spesifieke rol wat nukleases tydens ontkieming in die algemeen speel, is dikwels teenstrydig. In die lig hiervan en weens die algehele gebrek aan inligting oor die aktiwiteit en spesifisiteit van nukleases in ontkiemende sade van *Phaseolus vulgaris* is hierdie studie uitgevoer. Nie net behoort die lokalisering en karakterisering van nuklease-aktiwiteit by te dra tot 'n beter begrip van die betrokkenheid van nukleases by ontkieming nie, maar behoort daar ook aan ons behoefte vir inligting, wat spruit uit ons oogmerk om boontjies te transformeer, voldoen te word.

Verskillende segmente van die assie is met gereelde tidsintervalle oor 'n ontkiemingsperiode van 96 uur ondersoek. Die nuklease-aktiwiteit (RNase en DNase) was in alle gevalle die hoogste in die groeipuntgedeeltes van die embrionale assie. Tydens die vroeë stadiums van ontkieming (1 en 12 uur) het die nuklease in die groeipunt van die radikula 'n voorkeur vir DNase-aktiwiteit in teenstelling met die RNase-voorkeur van die nuklease in die plumula vertoon. Hierdie DNase-aktiwiteit het tydens die 12-uurontkiemingsperiode 'n duidelike voorkeur vir dubbelstring (ds) DNA gehad. Na 96 uur het die nuklease-aktiwiteit in die radikula drasties toegeneem en was dit oorheersend 'n RNase-aktiwiteit. Die nuklease in die plumula het na 96 uur nie meer 'n duidelike RNase-voorkeur vertoon nie. Hierdie resultate illustreer die verandering in nukleïensuurkatabolisme na 12 ure van ontkieming wat ons tydens vroeëre studies ook waargeneem het. Die nuklease in verskillende segmente van die embrionale assie het vir bepaalde ontkiemingsperiodes grotendeels dieselfde basis-

voorkeur (U>A>S>G) vertoon. Die unieke basisvoorkeur (S>A>U>G) tydens die 12-uur ontkiemingsperiode dui moontlik weer eens op die verandering in nukleïensuurkatabolisme tydens hierdie stadium. Die nuklease in die verskillende segmente van die embrionale assie het tydens vergelykbare ontkiemingsstadia dieselfde RNase-iso-ensiemsamestelling gehad. Ses iso-ensieme kon tydens die vroeë stadiums (1 en 12 uur) van ontkieming onderskei word, waarvan vier met die verloop van ontkieming verdwyn het. Tydens latere stadiums (48 en 96 uur) van ontkieming kon slegs drie RNase-iso-ensieme, waarvan een nuut was, onderskei word. Hierdie resultate ondersteun die indruk wat geskep is, nl. dat die ontkiemingsperiode van ongeveer 12 uur 'n omskakelingspunt vir 'n veranderende nukleïensuurkatabolisme is.

Die subcellulêre verspreiding van RNase- en DNase-aktiwiteite is ook by 'n bepaalde ontkiemingsperiode ondersoek. Die mitochondriale en ribosomale fraksies het onderskeidelik die hoogste RNase- en DNase-aktiwiteite gehad. Die nuklease in die verskillende subcellulêre fraksies het egter verskillende voorkeure vir enkel- en dubbelstring DNA-substrate gehad, terwyl die basisvoorkeur (U>A>S>G) dieselfde was, en ooreengestem het met die ongefraksioneerde weefsel van dieselfde ontkiemingsperiode.

Opsommenderwys blyk die embrionale assies van die 12-uurontkiemingsperiode die geskikste vir transformasiedoeleindes te wees weens die lae nuklease-aktiwiteit. Alhoewel die totale nuklease-aktiwiteit tydens alle stadiums van ontkieming die hoogste in die groeipunte van die assie was, het die substraatvoorkeure van die nukleases in die verskillende dele soms radikaal met verloop van ontkieming gevarieer. Heelwat aanduidings dat die 12-uurontkiemingsperiode waarskynlik 'n omskakelingspunt in die nukleïensuurkatabolisme van assies verteenwoordig, is gevind.

Regulering van koolhidraatmetabolisme in *Selenastrum minutum*

F.C. Botha

Departement Plantkunde en Genetika, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

Wanneer *Selenastrum minutum*-kulture wat onder stikstofbeperkende toestande gekweek is, in die donker aan stikstof blootgestel word, vind daar 'n dramatiese verandering in metabolisme plaas. Die verskaffing van stikstof lei tot 'n stimulering van respirasie en stikstofassimilering deur glutamiensintase en glutamiensuursintase. Al die koolstofskelette wat vir die assimilering nodig is, is afkomstig van styselhidrolisering. Om so 'n doeltreffende koolstofvloei vanaf stysel na die Krebs siklus te verseker is dit noodsaaklik dat enige terugvloei (glukoneogenese) verhoed moet word.

Een van die waarskynlikste punte vir regulering is die omskakeling tussen fruktose-6-fosfaat en fruktose-1, 6-bisfosfaat. By plante is drie verskillende ensieme vir hierdie omskakeling verantwoordelik, naamlik: fruktose-1, 6-bisfosfatase (FB Pase, EC 3.1.3.11, D-fruktose-1, 6-bisfosfaat 1-fosfohidrolase), fosfofruktokinase (PFK, EC 2.7.1.11, ATP: D-fruktose-6-fosfaat 1-fosfotransferase) en die pirofosfaat afhanklike fosfofruktokinase (PFK, EC 2.7.1.90, PPi: D-fruktose-6-fosfaat 1-fosfotransferase).

Onmiddellik na die toediening van stikstof aan die kul-

ture neem die fosfo-enolpirodruiwesuurvlakke skerp af, terwyl die pirodruiwesuur- en fruktose-1, 6-bisfosfaatvlakke toeneem. Tydens die assimilering van die toegediende stikstof neem die verhouding van fruktose-1, 6-bisfosfaat en fruktose-6-fosfaat skerp toe, wat duidelik aantoon dat die fosfofruktokinase stap geaktiveer en die glukoneogenese reaksie gerem is. Daar is ook tydens hierdie fase 'n kortstondige toename in fruktose-2, 6-bisfosfaatvlakke en 'n daling in ATP-vlakke.

In teenstelling met wat algemeen aanvaar word, besit *S. minutum* twee isoensieme van FB Pase. Hierdie isoensieme is gedeeltelik gesuiwer en kineties gekarakteriseer. Een van die ensieme toon die tiperende eienskappe van outotrofiëse FB Pase wat normaalweg met die plastiede van hoër plante geassosieer is. Hierdie ensiemaktiwiteit word waarskynlik *in vivo* deur gereduseerde tioredoksien gereguleer. Laasgenoemde word deur die ligreaksies van die chloroplas gereduseer. Glukoneogenese in die chloroplast in die donker is dus onmoontlik.

Die ander isovorm wat 'n hoër affiniteit vir die substraat fruktose-1, 6-bisfosfaat as die plastiedvorm het, word veral deur fruktose-2, 6-bisfosfaat en AMP gereguleer. Hierdie eienskappe is tiperend van hetrotrofiëse plant- en dier-FB Pase. Daar word dus aanvaar dat hierdie isovorm in die sitosol van *S. minutum* voorkom. Die toename in fruktose-2, 6-bisfosfaat en AMP tydens stikstofassimilering rem dus waarskynlik sitosoliese glukoneogenese.

Geen PFP-aktiwiteit is in *S. minutum*-selle teenwoordig

nie. Met 'n monospesifieke IgG gerig teen aartappel PFP as peiler kon ook geen kruisreaktiewe polipeptiede in ru-ekstrakte van *S. minutum* in proteïenkladanalises gevind word nie. Daar is verder ook net een isovorm van PFK in hierdie spesie teenwoordig. *S. minutum* besit dus, in teenstelling met hoër plante, slegs 'n volledige glikolitiese weg in die plastiede.

Die plastiedvorm van PFK van *S. minutum* is volledig gesuiwer en die kinetiese, immunologiese en fisiese eienskappe is bepaal. Die ensiem bevat slegs een soort subeenheid met 'n molekulêre massa van 72 000 dalton. Die kleinste metaboliese vorm van die ensiem is 'n homotetrameer van ongeveer 300 000 dalton. In die gesuiwerde vorm kom die ensiem egter in verskillende geaggegreerde vorme voor; die grootste vorm het 'n molekulêre massa van meer as 5 000 000 dalton. Die proteïen vertoon groot immunologiese verwantskap met plastied- en sitosol-PFK sowel as PFP van hoër plante. Dit dui daarop dat die ensiem waarskynlik 'n primitiewe vorm van fosfofruktokinase is.

Die *S. minutum*-PFK word deur 'n verskeidenheid metaboliete wat fosfo-enolpirodruiwesuur, ATP, sitroensuur, malaat, *a*-ketoglataaraat en 3-fosfogliseriensuur insluit, gereguleer. Die invloed van al hierdie verbindings word deur anorganiese fosfaat opgehef. *In vivo* is die daling in fosfoenolpirodruiwesuur en ATP met die gepaardgaande toename in anorganiese fosfaat waarskynlik die belangrikste reguleerders van die ensiem.

Die uiting van PFP-aktiwiteit in selkulture van *Phaseolus vulgaris*

S. du Plessis & F.C. Botha

Departement Plantkunde en Genetika, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

Anders as die diersel beskik die plantsel oor drie verskillende ensieme wat fruktose-6-fosfaat na fruktose-1, 6-bisfosfaat in die glikolitiese weg kan omskakel. Hierdie ensieme is die ATP-afhanklike fosfofruktokinase (PFK: EC 2.7.1.11), fruktose-1, 6-bisfosfatase (FBPase: EC 3.1.3.11) en 'n PPI-afhanklike fosfofruktokinase (PFP: EC 2.7.1.90). PFP, anders as PFK en FB Pase, kataliseer die omkeerbare omskakeling van fruktose-6-fosfaat na fruktose-1, 6-fosfaat. Fruktose-2, 6-bisfosfaat aktiveer die PFP-ensiem in sowel die glikolitiese as die glukoneogenese rigting, maar het geen invloed op plant-PFK nie en is 'n baie sterk remmer van sitosoliese FB Pase. Volgens reeds verkreë resultate wil dit voorkom asof PFP uit twee vorme bestaan. Die groot vorm is 'n heterotetrameer bestaande uit twee subeenhede met molekulêre massas van onderskeidelik 60 en 67 kilodalton. Die kleiner vorm is 'n homodimeer met 'n molekulêre massa van 60 kilodalton. Die groot polipeptied staan bekend as die α -subeenheid en die kleiner polipeptied as die β -subeenheid. Die presiese rol van die α - en β -subeenhede in die *in vivo*-funksie van PFP is nog onbekend.

Alhoewel PFK tradisioneel as die belangrikste ensiem in die omskakeling van fruktose-6-fosfaat na fruktose-1, 6-bisfosfaat beskou word, het onlangse navorsing getoon dat die PFP-aktiwiteit, in al die weefsel wat ondersoek is, hoër as dié van PFK was.

Die selkulture het 'n groeisyklus van ongeveer 20 dae. Die sloerfase duur vanaf dag 0 tot dag 8. Vanaf dag 8 tot dag 12 volg die eksponensieële groeifase waartydens die selle vinnig vermeerder. Vanaf dag 16 tot dag 20 neem die groeitempo drasties af en die stasionêre groeifase word na 20 dae bereik.

'n Toename in PFP-aktiwiteit kom voor tydens die verloop van die groeisyklus. Die hoogste aktiwiteit, op 'n varsmassabasis, kom voor gedurende die eksponensieële groeifase (dag 12). Daarna daal die aktiwiteit skerp tydens die stasionêre fase. Die totale proteïenkonsentrasie volg dieselfde patroon as die verandering van PFP-aktiwiteit, maar bereik reeds op dag 8 'n piek. Die totale RNA-konsentrasie bereik 'n piek op dieselfde tydperk as die totale proteïenkonsentrasie.

As die verhoogde PFP-aktiwiteit bloot die gevolg van 'n verhoogde totale sintese is, kan daar verwag word dat die spesifieke aktiwiteit konstant sal bly. Die teendeel is egter gevind. Wanneer PFP-aktiwiteit op 'n proteïenbasis uitgedruk word (spesifieke aktiwiteit), is die induksie nog duideliker. Hoewel die spesifieke aktiwiteit van PFP toeneem, bestaan daar steeds die moontlikheid dat die verhoging in PFP-aktiwiteit bloot die gevolg van aktivering van 'n reeds bestaande ensiem is. Om dus te bepaal of die verandering in PFP-aktiwiteit wel aan 'n verhoogde geenui-

ting te wyte is, is die PFP-proteïenkonsentrasie met behulp van 'n monospesifieke serum bepaal. Die konsentrasie PFP-proteïen neem sigbaar met verloop van die groeisyklus toe. Dit bereik 'n piek gedurende die eksponensiële groeifase. Dit volg dus dieselfde patroon as die PFP-aktiwiteit.

Daar vind dus met verloop van die groeisyklus 'n toename in die totale konsentrasie RNA en gevolglik ook in die totale konsentrasie proteïene plaas. PFP-aktiwiteit neem ook toe met verloop van die groeisyklus, maar bereik sy

piek later as in die geval van die totale proteïenkonsentrasie. Daar is reeds vasgestel dat die verandering in PFP-aktiwiteit nie die aktivering van bestaande ensiem verteenwoordig nie. Aangesien dit ook nie die gevolg van 'n toename in totale transkripsie of translasing is nie, vind regulering van die ensiem waarskynlik op geëwvalk plaas. Dit wil dus voorkom asof PFP-aktiwiteit die gevolg van selektiewe uiting van die PFP-geen is. Verdere proewe is daarop gerig om die aspek volledig te ondersoek.

Die opsporing van prostaglandien $F_{2\alpha}$ in prokariotiese organismes met behulp van radio-immuno-essaïering

G.H.J. Krüger

Departement Plantwetenskappe, Potchefstroomse Universiteit vir CHO, Potchefstroom 2520

E.G. Groenewald

Departement Plantkunde en Genetika, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Bloemfontein 9300

P.J. Botes

Departement Mikrobiologie, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Bloemfontein 9300

Prostaglandiene (PG) is hormoonagtige verbindings wat in selmembrane voorkom en 'n rol by vele biochemiese en fisiologiese prosesse speel. Hulle kom algemeen in die diere ryk voor. Sedert 1973 is hulle ook in hoër plante asook in die rooi-alg, *Gracilaria lichenoides*, ontdek. Heel onlangs kon ons die voorkoms van $PGF_{2\alpha}$ in drie verskillende Suid-Afrikaanse briofiete aantoon, naamlik die lewermos, *Marchantia parvifolia*, en die mosse *Brachyeteium implicatum* en *Amblysteteium serpens*. Dit blyk dat $PGF_{2\alpha}$ die prostaglandien is wat die algemeenste in plante voorkom. Prostaglandiene is fisiologies aktief in plante. Freimanis het bevind dat prostaglandiene membraanpermeabiliteit ten opsigte van K^+ in *Nitella flexilis* in die teenwoordigheid van Ca^{++} bevorder. Daar is aanduidings dat prostaglandiene moontlik 'n rol by blomvorming in *Pharbitis nil* speel. Daar is ook aangetoon dat prostaglandiene donkergeïnduseerde (skotonastiese) en liggeïnduseerde (fotonastiese) blaarbewegings by *Cassia fasciculata* versnel. Daar is nog nooit vantevore aangetoon dat prostaglandiene in prokariotiese organismes voorkom nie. Sianobakterieë (blougroenalge), net soos bakterieë, besit 'n prokariotiese selstruktuur. Sianobakterieë is verder uniek daarin dat hulle 'n chlorofilgebaseerde, suurstofproduserende fotosintetiese apparaat besit wat ingebou is in 'n prokariotiese selsisteem. Die moontlike voorkoms van prostaglandiene ($PGF_{2\alpha}$), omdat dit redelik algemeen in hoër plante voorkom in 'n bakterium (*Pseudomonas* sp.) twee eensellige sianobakterieë (*Anacystis nidulans* en *Microcystis aeruginosa*) en 'n filamentagtige sianobakterium (*Anabaena variabilis*) is dus ondersoek. Die langkettingvetsuurinhoud van die proeforganismes is ook bepaal om die verband daarvan met die voorkoms van $PGF_{2\alpha}$ aan te toon. Alle bepalinge is uitgevoer op gevriesdroogde selmateriaal wat verkry is vanaf aksieniese kulture wat onder gekontroleerde toestande gekweek is.

Ekstraksie en bereiding van die vetsuurmetielesters is uit-

gevoer volgens 'n beproefde metode. Die metielesters is gaschromatografies bepaal en geïdentifiseer met behulp van bekende standaarde. Vetsure met twee en meer dubbelbindings word as poli-onversadigde vetsure beskou.

$PGF_{2\alpha}$ is geëkstraheer volgens 'n gewysigde metode wat vir hoër plante gebruik word. Die ekstrakt is gedeeltelik gesuiwer met behulp van 'n aantal faseskeidings. $GF_{2\alpha}$ is uit die só verkreeë ekstrakt geïsoleer en met behulp van dunlaagchromatografie (sillikagel) gesuiwer. Hierdie stap word as baie belangrik beskou vir die betroubare bepaling van $PGF_{2\alpha}$. Die $PGF_{2\alpha}$ -merker (standaard) is sigbaar gemaak met behulp van jodiumdamp waarna die ooreenstemmende silikaband afgeskraap is. $PGF_{2\alpha}$ is hieruit geëkstraheer en bepaal deur middel van radio-immuno-essaïering (RIA) met behulp van 'n reagensstel van "Clinical Assays". Laasgenoemde is gebaseer op monoklonale teenliggaampies wat spesifiek is vir $PGF_{2\alpha}$.

Die gaschromatografiese analise van die proefmateriaal het die voorkoms van vetsure in die bereik van C14:0 tot C20:0 aangetoon. Van hierdie is C18:1 (oleïensuur), C18:2 (linoleïensuur) en C18:3 (linoleïensuur) indirekte biogenetiese voorlopers van prostaglandiene (soos aangetoon in diere). Die *Pseudomonas* sp. en *A. nidulans* het slegs C18:1 bevat, terwyl *A. variabilis* en *M. aeruginosa* al drie bevat het. Opmerklik het *M. aeruginosa* ook C20:0 bevat. RAI het aan die lig gebring dat al die organismes $PGF_{2\alpha}$ bevat het in konsentrasies wat wissel van 93,7 tot 225,5 pgg^{-1} droëmassa. *Anacystis nidulans* het die laagste konsentrasie bevat. Dit was opvallend dat *M. aeruginosa*, wat die vetsuur C20:0 (aragidiensuur) bevat het, alhoewel dit nie 'n voorloper van $PGF_{2\alpha}$ is nie, die hoogste konsentrasie $PGF_{2\alpha}$ bevat het. Die konsentrasie van $PGF_{2\alpha}$ wat in *Kalanchoe blossfeldiana* bepaal is, was 1 ngg^{-1} vars massa en die konsentrasie wat in *Pharbitis nil* bepaal is, was 28,2 ngg^{-1} vars massa. Dit blyk dus dat die waardes verkry vir blomplante, heelwat hoër is as die waardes wat ons verkry het vir

prokariotiese organismes.

Die ontdekking van PGF_{2α} ook in prokariotiese organismes, wat grootliks van eukariotiese organismes ten opsigte van membraangebonde insluitsels verskil, suggereer dat ook ander prostaglandiene in hulle opgespoor sal word.

Dit wil dus voorkom asof prostaglandiene 'n bestanddeel is van die selmembrane van alle lewende organismes. Hierdie suuragtige, hormoonagtige verbindings vervul moontlik 'n onmisbare rol in die struktuur en ingewikkelde funksies van alle membrane.

Erodium incarnatum word oorgeplaas na die genus *Pelargonium*

J.J.A. van der Walt

Departement Plantkunde, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch 7600

H.J.T. Venter & R. Verhoeven

Departement Plantkunde en Genetika, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Bloemfontein 9300

Die genus *Erodium* word gekenmerk deur aktinomorfe blomme, vyf onvergroeide, vrugbare meeldrade en vyf nektarkliere wat afwisselend met die basisse van die vyf kroonblare op die blombodem voorkom. Verskeie uitheemse *Erodium*-spesies word as onkruid in Suid-Afrika aangetref. *Erodium incarnatum* (L.f.) L'Hérit. wat in die Suidwes-Kaap voorkom, is die enigste inheemse spesie van die genus. *E. incarnatum* is 'n halfstruik wat 'n hoogte van 0,2 m bereik. Sy blare is enkelvoudig, hulle vertoon onbehaar en die blaarrand is variërend ingesny. Die bloeiwyse is 'n valsskerm bestaande uit vier tot vyf blomme. Die vyf kroonblare is min of meer ewe groot en daarom vertoon die blomme aktinomorf. Vyf vrugbare meeldrade en vyf staminode is basaal vergroei om 'n meeldraadsuil te vorm. In sommige blomme kom daar 'n vlak holte in die blombodem teenoor die agterste kelkblaar voor, maar geen nektarieë is waargeneem. Die stuifmeelkorrels van *E. incarnatum* is sferies en trikolporaat, met 'n retikulaatstriate tektum. Die somatiese chromosoomgetal is $2n = 40$ en die chromosome is relatief klein. Kenmerke soos die aanwesigheid van 'n meeldraadsuil en die afwesigheid van nektarkliere het die vermoede laat ontstaan dat *E. incarnatum* foutiewelik

in die genus *Erodium* geklassifiseer is. Hierdie vermoede is versterk met die ontdekking van 'n natuurlike hibried tussen *E. incarnatum* en *Pelargonium patulum* Jacq. Hierdie hibried wat intermediêre blomkenmerke besit, kom simpatries saam met twee vermeende ouerspesies in Viljoenspas naby Grabouw voor.

Daar is besluit om *E. incarnatum* oor te plaas na die genus *Pelargonium*; die korrekte naam vir die spesie is *P. incarnatum* (L'Hérit.) Moench. *P. incarnatum* se groeivorm, blaarstruktuur, sekere blomkenmerke, stuifmeelmorfologie en basiese chromosoomgetal stem ooreen met dié van die seksie *Campylia* (Sweet) DC. van *Pelargonium*, en daar is tot die gevolgtrekking gekom dat dit in hierdie seksie geplaas behoort te word. Ooreenkomste in die blomstruktuur van *P. incarnatum* en *P. cotyledonis* (L.) L'Hérit. van die seksie *Isopetalum* (Sweet) DC., word aan konvergente ewolusie toegeskryf.

Filogeneties word *P. incarnatum* as 'n gevorderde spesie beskou, nieëntstaande die aktinomorfe blomme en swak ontwikkelde "nektarbuis". Die aktinomorfe blomme is vermoedelik 'n sekondêre ontwikkeling en die "nektarbuis" is waarskynlik besig om te degenerer.

'n Voorlopige ondersoek na die moontlike swaarmetaalbesoedeling van die Olifantsrivier in die Nasionale Krugerwildtuin

M. Kruger, J.H.J. van Vuren & H.H. du Preez

Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Johannesburg 2000

Die bolope van die Olifantsrivier lê in 'n intensiewe steenkoolontginningsarea, terwyl die Phalaborwa Mynkompleks die moontlikheid van swaarmetaalbesoedeling verhoog. Vanuit 'n bewaringsoogpunt is die Olifantsrivier die belangrikste rivier in die sentrale streek van die Nasionale Krugerwildtuin, aangesien dit die enigste standhoudende rivier van dié streek is. Swaarmetaalbesoedeling sal dus 'n direkte nadelige invloed op sowel die akwatiese as terrestriële ekosisteen hê.

'n Voorlopige ondersoek is geloods om die bewaringstatus van die rivier te bepaal en sewe verteenwoordigende lokaliteite is binne die Wildtuin vasgestel, een in die Selatirivier en 'n lokaliteit voor die samevloei van die

Olifants- en Selatiriviere.

Water- en sedimentmonsters is by elke lokaliteit versamel en vir swaarmetaalkonsentrasies ontleed. *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) is as indikatorspesie gebruik en spier-, kieu-, lewer- en gonadeweefsel is gedissekteer, waarna swaarmetaalkonsentrasies bepaal is.

Uit die waterkwaliteitsanalise wat vir elk van die onderskeie lokaliteite uitgevoer is, blyk dit duidelik dat die pH van die Olifantsrivier alkalies is en dus sal dit 'n natuurlike buffereffek met skielike pH-verandering toon. Die konduktiwiteit van die water toon 'n geleidelike daling stroomaf. Die konduktiwiteitswaardes in die Selatirivier is egter buitengewoon hoog, wat die gevolg van mynbouaktiwiteit

in die Phalaborwa omgewing is. Die turbiditeitswaardes neem toe stroomaf en kan waarskynlik toegeskryf word aan die toenemende slikladings wat ontstaan. Die totale alkaliniteit bestaan hoofsaaklik uit bikarbonate (HCO_3^-) en spesifiek CaCO_3 wat verantwoordelik is vir die hoë hardheidwaardes. Die toksisiteit van die swaarmetale word tot 'n groot mate verlaag as gevolg van die hoë waterhardheid. Die hoë konsentrasie van ione kan toegeskryf word aan die teenwoordigheid van mynbou-afvloeiings in die water.

Koper en mangaan toon hoë konsentrasies in die water, sediment en weefseltipes. Koper biokonsentreer hoofsaaklik

in die lewer. Die lewer speel 'n belangrike rol by die opname en stoor van metale en het ook 'n detoksifiserende effek op metale. Mangaan biokonsentreer hoofsaaklik in die kiewe, hoewel relatief hoë konsentrasies in die gonades voorkom. As gevolg van die hoë pH presipiteer mangaan op die kiewe. Die teenwoordigheid van mangaan kan die respiratoriese funksie van die kiewe nadelig beïnvloed, wat kan lei tot die benadeling van ander fisiologiese reaksies.

Dit blyk dus dat daar wel swaarmetale in hoë konsentrasies in die Olifantsrivier voorkom.

Morfologie van die kliere geassosieerd met die labiaalstekels van *Argulus japonicus* Thiele, 1900 (Crustacea: Branchiura)

C. Baker & A. Oldewage

Navorsingseenheid vir Akwatiese en Terrestriële Ekosisteme, Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Johannesburg 2000

Argulus japonicus is 'n ektoparasiet van varswatervisse en is reeds in getalle van meer as 'n duisend per gasheer aangetref. Hierdie organisme is ryklik van kliere in die sefaloon, oppervlakkig in die karapaks en geassosieerd met die spysverteringskanaal en geslagstelsels, voorsien. Na die bestudering van histologiese sneë en grafiese rekonstruksies is daar gevind dat 'n groot verskeidenheid klierselle in die karapaks van *A. japonicus* saamgegroepeer is om oneweredige kliermassas in die anteriorgedeelte van die karapaks te vorm. Drie kliermassas is in die gebied tussen die mediaanog en die maksillas gevind, van dorsaal na ventraal op verskillende vlakke geleë.

Die kliere by die basis van die mediaanog bestaan uit 'n mediane en twee laterale kliermassas wat onderling verbind is deur middel van buise wat met chitien uitgevoer is. Mikroskopiese dun buise wat met chitien uitgevoer is, kom verspreid in die klierselle van sowel die mediane as die laterale kliermassas voor en vloei uiteindelik saam in twee buise om dié kliermassa aan die kliere by die basis

van die maksillas te verbind.

Die kliere by die basis van die maksillas is ook in 'n mediane en twee laterale kliermassas gedifferensieer. Die membraanomringde mediane kliermassa besit 'n fyn netwerk mikrobuisies wat verenig om 'n gesamentlike buis wat met chitien uitgevoer is, te vorm. Hierdie buis is op sy beurt weer met die proboscisklier in verbinding.

Die proboscisklier bestaan uit twee kliermassas, met anterolaterale buise. Sekreet vanaf die kliermassas word deur hierdie twee buise na die labiaalstekels gevoer. Die samestelling van die sekreet is egter nie gedurende die huidige studie ondersoek nie.

Gedurende voeding word die sekreet waarskynlik deur die labiaalstekels in die bukkaalholte van die proboscis afgeskei, waar dit moontlik behulpsaam is met gedeeltelike eksterne vertering, voordat voedsel bv. mukus, bloed en epiteelselle, in vloeibare vorm in die spysverteringskanaal opgesuig word.

Die anatomie en morfologie van die spysverteringskanaal van *Chonopeltis australis* (Crustacea: Branchiura)

E. Knight & A. Avenant-Oldewage

Navorsingseenheid vir Akwatiese en Terrestriële Ekosisteme, Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Johannesburg 2000

Chonopeltis australis is 'n ektoparasiet op varswatervis in die Oranjeriviersisteem. Ten einde vas te stel op welke wyse *Chonopeltis australis* voed, is die spysverteringskanaal gemikrotomeer en grafies gerekonstrueer. Uit die rekonstruksie blyk dit dat die spysverteringskanaal uit 'n mondholte, farinks, esofagus, krop, middelderm en rektum bestaan. Hierdie bevinding is in ooreenstemming met dié by *Dolops ranarum* en *Argulus japonicus*.

In die mondholte kom twee mandibels voor. Die mandibels is sekelvormig gekrom en dra op die konveksgedeelte

drie tot vier rye tandjies, terwyl 'n dubbele ry stekeltjies op die konkavgedeelte voorkom. Die mondholte gaan oor in die farinks. Die farinks is 'n ronde buis uitgevoer met 'n dik chitienlaag; die onderliggende epiteelselle is verleng en vakuole is aanwesig. Die farinks word omring deur bundels gestreepte spiere. Die esofagus gee posterior oorsprong aan 'n tregtervormige instulping wat die krop anterior binnedring. Die tregtervormige instulping eindig oop in die krop. Dit is ook in vorige studies so aangetref by *Dolops ranarum*, *Dolops longicauda* asook by *Argulus japonicus*.

Die epiteel van die esofagus is ook bedek met 'n chitienlaag. Waar die esofagus die krop binnedring, is die krop met silinderepiteel uitgevoer. Gestreepte spierlae is ventraal van die krop aanwesig. 'n Oorgangsonse is verder posterior geleë en is uitgevoer met sowel kubus- as silinderepiteel. Twee vertakkings van die spysverteringsdivertikula sluit anterolateraal by die krop aan. Die divertikula vertak verder in die karapaks in en word deur klierweefsel omring. In die gedeelte waar die divertikula by die krop aansluit, is vakuole aanwesig. Vakuole word egter nie verder posteriorwaarts in die spysverteringsdivertikula aangetref nie. 'n Vernouing skei die krop van die middelderm. Die middelderm is met kolfvormige epiteelselle uitgevoer. Twee tipes selle kan onderskei word, naamlik kolfvormige

selle met a) vakuole en b) kerne in die apeks wat in die lumen voorkom. Die teenwoordigheid van vakuole in die kolfvormige selle kan op die absorpsie van voedsel dui. Die rektum is uitgevoer met 'n chitienlaag en daar kom meerlagige epiteel met vakuole voor.

Die aanwesigheid van die bundels spiere om die farinks kan daarop dui dat die farinks as 'n suigpomp funksioneer en sodoende die voedsel in die mondholte insuig sodat dit deur die mandibels afgesny kan word. Die voedsel beweeg deur die esofagus tot in die krop. Die aanwesigheid van kliere en die spysverteringsdivertikula dui daarop dat vertering in die krop plaasvind. In die middelderm vind absorpsie van nutriënte plaas.

Die invloed van mangaanbesoedeling op die hematologie en koolhidraatmetabolisme van *Tilapia sparrmanii* (Cichlidae)

V. Wepener, J.H.J. van Vuren & H.H. du Preez

Navorsingseenheid vir Akwatiese en Terrestriële Ekosisteme, Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Johannesburg 2000

Die rivier- en spruitsisteme van die Witwatersrand word toenemend aan die uitvloeï van industriële en mynbougebiede blootgestel. Dit is veral hoë konsentrasie swaarmetale wat tot die besoedeling van hierdie watermassas bydra. Tydens omvattende ekologiese studies van die Elsburgspruitsisteem is gevind dat die konsentrasies van mangaan in die water en sediment buitensporig hoog is. Hierdie verskynsel het gepaard gegaan met 'n verlies aan akwatiese lewe. 'n Ondersoek is derhalwe geloods om te bepaal wat die effek van hoë mangaankonsentrasies op die fisiologie van waterorganismes, met spesifieke verwysing na visse, is.

Om die invloed van mangaanbesoedeling op die fisiologie van varswatervis te bepaal, is daar gekonsentreer op die veranderinge wat mangaan in die hematologie en koolhidraatmetabolisme veroorsaak. Hematologiese parameters soos die aantal wit- en rooibloedselle, hemoglobienkonsentrasie, gemiddelde korpuskulêre volume (GKV) en delta-aminolevulinsuurdehidrase (ALA-D) aktiwiteit is bestudeer. Om die effek van mangaan op die koolhidraatmetabolisme te bepaal is die bloedglukosevlakke en die aktiwiteite van piruvaatkinase (PK), isositraatdehidrogenase (IDH) en glukose-6-fofaatdehidrogenase (G6P-DH) in die plasma bepaal.

'n Toetsorganisme, *Tilapia sparrmanii*, is in 'n deurvloeiende sisteem aan 'n hoë konsentrasie mangaanchloried blootgestel. Die korttermyn- (96 uur) en langtermynblootstellings (4 weke) is onder gekontroleerde toestande (pH 7,4; $24 \pm 1^\circ \text{C}$ en 12:12; L:D) uitgevoer. Na afloop van elke blootstellingstydperk is bloed getrek en is die hematologiese en koolhidraatmetaboliese analises uitgevoer. Die mangaanblootstellingsgroepe se waardes is statisties met die waardes van onbesoedelde vis vergelyk.

Die aantal wit- en rooibloedselle, die hemoglobienkonsentrasie en die GKV van die korttermynblootstellingsgroep het beduidend vanaf die kontrolewaardes gedaal, terwyl die ALA-D aktiwiteit beduidend toegeneem het. Die bloedglukose van die korttermynblootstellingsgroep het in

vergeelyking met die kontrolegroep gestyg, terwyl die PK-aktiwiteit ook toegeneem het. Sowel IDH- as G6P-DH-aktiwiteite het egter afgeneem. Die hematologiese en metaboliese parameters van die langtermynblootstellingsgroepe het nie statisties beduidend van die kontroleblootstellingsgroepe verskil nie.

Die daling in die witbloedseltellings dui daarop dat mangaan die inhibering van leukopoiëse tot gevolg het. Dit veroorsaak dat die visse vatbaarder vir bakteriese siektes is. Die daling in die rooibloedseltellings en die hemoglobienkonsentrasies kom as gevolg van hemolise van die rooibloedselle en interne bloeding voor. Die toename in ALA-D-aktiwiteit dui daarop dat daar 'n toename in eritropoiëse is, maar dit is nie genoegsaam om die verlies van die rooibloedselle deur hemolise en bloeding op te hef nie. Daar word gevolglik onvolwasse eritrosiete uit die milt en die nier vrygestel en dit word in die afname van die GKV weerspieël. Die vis verkeer dus onder suurstofspanning, wat tot weefselhipoksia kan lei.

Die toename in die bloedglukose vlakke is 'n reaksie op spanningshormone soos kortisol, adrenalin en noradrenalin en deur glikogenolise word lewerglikogeen na bloedglukose omgesit. Indien die spanningstoestand sou aanhou, sal uitputting plaasvind. Die toename in PK-aktiwiteit dui op 'n verhoging in glikolise-aktiwiteit, maar die sitroensuursiklus se aktiwiteit word egter geïnhibeer soos deur die afname in IDH-aktiwiteit weerspieël is. Die inhibering van G6P-DH-aktiwiteit dui ook daarop dat die pentosefosfaatweg se werking geïnhibeer word. Die inhibering van die dehidrogenases kan dus tot 'n inhibering van die oksidatiewe fosforilasie lei.

Aangesien die langtermynblootstellingsgroep nie veel van die kontrolegroep verskil het nie, het daar 'n mate van aanpassing by mangaanbesoedeling voorgekom. Hierdie aanpassing van die proeforganisme is moontlik deur die produksie van detoksifiserende metallothioniene en gereduseerde glutatioon bewerkstellig.

In die verlede is mangaan nie as 'n toksiese metaal beskou nie, maar tydens hierdie toksikologiese studie is egter gevind dat die metaal anemia, leukopenia en hiperplisemia by *T. sparrmanii* veroorsaak wat tot 'n mortaliteitsyfer van

75% gelei het. Enige toevoeging van 'n vreemde stof tot ons watermassas moet as 'n bedreiging vir die akwatiese lewe beskou word.

'n Ekologiese ondersoek na die bio-akkumulering van sink, yster en mangaan in die varswaterkrap *Potamonautes warreni* (Calman)

V.E. Steenkamp, H.H. du Preez & H.J. Schoonbee

Navorsingseenheid vir Akwatiese en Terrestriële Ekosisteme, Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Johannesburg 2000

Die besoedeling van natuurlike varswaterbronne is 'n algemene probleem wat in ontwikkelende gebiede voorkom. Toename in bevolkingsdigtheid – met 'n gepaardgaande toename in industriële ontwikkeling en mynbouaktiwiteite, soos byvoorbeeld in die Pretoria-Witwatersrand-Vereeniging-gebied (PWV-gebied) – het 'n drastiese invloed op natuurlike varswaterbronne. Die Natalspruitriviersisteem is 'n goeie voorbeeld hiervan. Benewens mynbou- en industriële afval is daar ook op verskeie plekke in die nabyheid van die strome in die Natalspruitsisteem rioolsuiweringswerke geplaas, vanwaar die behandelde aflope – wat hoogs geminneraliseerd en ryk aan organiese stowwe is – in die water van die sisteem vrygestel word. Selfs varswaterbronne buite die PWV-gebied, soos die Bronkhorstspruitriviersisteem naby Delmas, en die Nootgedachtam by Morula Sun, kan nadelige uitvloeiels ontvang wat moontlik die ekologie van hierdie gebiede kan beïnvloed.

Makro-invertebrate, soos krappe, is veral geskik vir die bepaling van die vlak van besoedeling, aangesien die organismes swaarmetale baie makliker bio-akkumuleer as byvoorbeeld visse. Die varswaterkrap *Potamonautes warreni* is as toetsorganisme gebruik, aangesien hierdie spesie 'n belangrike komponent is van die ekosisteme van die boppe van die Natalspruitriviersisteem, die Bronkhorstspruitrivier-sisteem en die Nootgedachtam.

Die sink-, yster- en mangaaninhoud van die karapaks, kiewe, gonades, spysverteringsklier en knyperspier van krappe wat tydens Januarie 1990 by die onderskeie lokaliteite versamel is, is met behulp van atoomabsorpsie-spektrofotometrie (SpectrAA-10) bepaal.

Hoë konsentrasies mangaan, sink en yster is in die weef-

sel en organe van die krappe wat in die Natalspruitsisteem versamel is, gevind. Die hoogste mangaankonsentrasie ($800,2 \pm 77,0 \mu\text{g/g}$) is in die karapaks gevind, terwyl die hoogste sinkkonsentrasie ($603,3 \pm 489,9 \mu\text{g/g}$) in die spier gevind is. In die kiewe is 'n hoë ysterkonsentrasie ($255,4 \pm 37,8 \mu\text{g/g}$) gevind. Heelwat laer mangaan- en sinkkonsentrasies is in die weefselmonsters van krappe wat in die Bronkhorstspruitriviersisteem en die Nootgedachtam versamel is, gevind. In die karapaks is 'n mangaankonsentrasie van $210,7 \pm 10,6 \mu\text{g/g}$ en $167,2 \pm 18,1 \mu\text{g/g}$, en in die kiewe is 'n sinkkonsentrasie van $61,6 \pm 3,3 \mu\text{g/g}$ en $72,2 \pm 4,5 \mu\text{g/g}$ respektiewelik gevind. Die ysterkonsentrasie in die kiewe van die krappe wat in die Bronkhorstspruitriviersisteem versamel is, is $417,4 \pm 43,3 \mu\text{g/g}$, en die van die krappe wat in die Nootgedachtam versamel is, is $395,9 \pm 45,2 \mu\text{g/g}$.

Uit die resultate is dit duidelik dat die verskillende weefsels en organe die sink, yster en mangaan verskillend bio-konsentreer. Daarom moet die metaalkonsentrasie in die onderskeie organe bepaal word, eerder as in die organisme in die geheel. Hierdie voorlopige ondersoek bevestig dan ook verder dat krappe geskik is vir gebruik in besoedelingstudies. Die data wat verkry is, kan gebruik word om die mate van besoedeling in die Natalspruitriviersisteem, die Bronkhorstspruitriviersisteem en die Nootgedachtam, te bepaal. Die hoogste konsentrasies van hierdie drie metale kom oor die algemeen voor in die krappe wat in die Natalspruitriviersisteem versamel is. Die tendens kan dan ook verwag word, aangesien die sisteem uitvloeiels ontvang vanaf die PWV-gebied, wat ryk is aan industriële en mynbouafval.

Die effek van voeding op die roetinesuurstofverbruik van die grasgarnaal, *Penaes monodon*

H.H. du Preez

Navorsingseenheid vir Akwatiese en Terrestriële Ekosisteme, Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Johannesburg 2000

Die grasgarnaal *Penaes monodon* is een van die belangrikste garnaalspesies wat kommersieel in die Republiek van China geproduseer word. Die suksesvolle produksie van *P. monodon* is hoofsaaklik te danke aan die navorsing wat deur verskeie wetenskaplikes by die Tungking Mariene

Laboratorium in Taiwan, onderneem is. Alhoewel verskeie aspekte van die biologie en die uiteindelijke kommersiële produksie van die grasgarnale bestudeer is, is die effek van voeding op die roetinesuurstofverbruik van die garnale nog nie ondersoek nie. 'n Studie is gevolglik onderneem om

die invloed van voeding op die roetinesuurstofverbruik van die graskarnaal te bestudeer om sodoende die energieverlies as gevolg van voeding te bereken.

Graskarnale van verskillende groottes (1,6 tot 9,8 g lewendemassa) is vanuit die uitgroeidamme by die Tungkan Mariene Laboratorium versamel en onder beheerde laboratoriumtoestande aangehou. Groepe graskarnale is vir 'n periode van 14 dae by 'n watertemperatuur van 28° C, maar met verskillende soutgehaltes (5‰, 15‰, 45‰), geakklimatiseer. Na die akklimatiseringsperiode is die roetinesuurstofverbruik van individuele graskarnale in 'n deurloeiopolarografiese sisteem gemeet. Nadat die roetinesuurstofverbruik van die graskarnale vir 'n periode van 42 uur gemonitor is, is hulle 2,6 tot 4,5 g lewendemas-graskarnaalstertvleis (graskarnaalstertvleis = 20,5 kJ.g⁻¹ droë massa) gevoer.

Die roetinesuurstofverbruik van die graskarnale het aanvanklik gevarieer, maar na 'n tydperk van 6 tot 10 uur het dit gestabiliseer. Hierdie aanvanklike variasie in roetinesuurstofverbruik kan toegeskryf word aan hanteringstres en die tydperk om by die respirometerkamers aan te pas. Voeding het gelei tot 'n drastiese toename (tot 512%, gemiddelde = 115 ± 90%). Hierdie toename is veroorsaak deur 'n toename in swem en ander verwante aktiwiteite soos bv. die skeur van voedsel, vertering, absorbering en die bio-

chemiese omskakeling van die voedsel wat geabsorbeer is. Die roetinesuurstofverbruik van die graskarnale het egter weer die voorvoedingsvlakke na 'n tydperk van 6 uur bereik.

Die energieverlies geassosieer met voeding het gevarieer tussen 2,4 tot 19,5% van die voedselenergie wat ingeneem is. Hierdie groot variasie kan toegeskryf word aan die voedingsgedrag van die graskarnale. Nadat die voedsel in die respirometerkamers geplaas is, het party van die graskarnale relatief stil gesit en vreet, terwyl ander baie aktief rondgeswem het terwyl hulle gevreet het. Die aktiwiteit geassosieer met voeding het gevolglik die waarde wat vir die energieverlies geassosieer met voeding vir individuele graskarnale bereken is, drasties beïnvloed. Ten spyte van die groot variasie in die energieverlies geassosieer met voeding is daar geen statisties beduidende verskille ($p < 0,005$) waargeneem tussen die waardes bereken vir graskarnale wat by die verskillende soutgehaltes (5‰, 15‰, 45‰) geakklimatiseer is nie.

'n Relatiewe groot gedeelte van die voedselenergie wat deur die graskarnale ingeneem word, gaan dus as gevolg van voeding verlore. Die toename in die roetinesuurstofverbruik gedurende voeding beklemtoon die belangrikheid van genoegsame opgeloste suurstof in produksiedamme wanneer die karnale gevoer word.

'n Ekologiese ondersoek na eutrofikasietoestande in die Floridameer, Roodepoort, met spesiale verwysing na die biologiese beheer van onderwatermakrofiete deur gebruik te maak van die Sjinese graskarp, *Ctenopharyngodon idella* (Vol.)

A. Venter, H.J. Schoonbee & H.H. du Preez

Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Johannesburg 2000

Afloopwater vanaf nywerheidsgebiede tesame met behandelde riool wat riviersisteme bereik, beskik oor hoë ladings minerale asook stikstof- en fosfaatbevattende nutriënte wat 'n direkte invloed uitoefen op die eutrofikasietoestande in die geaffekteerde damme, riviere en mere. Een van die gevolge hiervan is die oormatige groei van waterplante wat onder meer die opelugontspanningsgebruike van sodanige watermassas ernstig bedreig.

Floridameer, in die Roodepoortse munisipale gebied, word die afgelope aantal jare reeds geaffekteer deur eutrofikasie wat verantwoordelik is vir ernstige probleme van oormatige groei van die onderwatermakrofiete *Potamogeton pectinatus*, *Lagarosiphon muscoides* en *L. major*. In die oorweging van 'n geskikte beheerprogram is die aanwending van herbisiede en die meganiese beheer van die onderwaterplante om praktiese redes nie in aanmerking geneem nie. As biologiese beheeragens is die Sjinese graskarp, *Ctenopharyngodon idella*, wat daarvoor bekend is dat dit by uitstek 'n waterplantvoeder is, oorweeg in die beheerprogram van hierdie onderwatermakrofiete. Om te verhoed dat die graskarp moontlik in die meer kan aan-teel, is gebruik gemaak van steriele triploïde vis. As deel van die navorsingsprogram word ondersoek gedoen na die

moontlike oorsake van die verryking van die meer aan die hand van die bestudering van die fisies-chemiese toestande by geselekteerde lokaliteite. Die bentiese makro-invertebraatfauna word ook ondersoek om die lokaliteite te bepaal waar die nutriënte die meer mag binnekom. Om die effek van die graskarp op die stand van die waterplante te monitor word daar op 'n gereelde basis kwantitatiewe versamelings gemaak van die onderwatermakrofiete by 'n verskeidenheid van versamellokaliteite in die meer.

Resultate verkry binne die eerste vier maande na inplasing van die graskarp in die meer, toon reeds 'n merkbare afname in die digtheid en voorkoms van *P. pectinatus*, *L. muscoides* en *L. major* en dit is reeds moontlik dat kano- en seiljagvaart op die meer hervat kan word. In die rehabiliteringsprogram wat gevolg word, word daar nou daarop gelet dat die stand van die onderwatermakrofiete op 'n bepaalde vlak beheer word sodat daar steeds voldoende voedsel sal wees vir plantvretende watervoëls soos die bleshoender, *Fulica cristata*, en die kolgans, *Alopothen aegyptiacus*, wat tans by die meer voorkom. Die behoud van 'n sekere groei van onderwatermakrofiete in die meer is ook noodsaaklik as broei-habitat vir hengelvisssoorte soos die skerptandbaber, *Clarias gariepinus*, en die Europese karp, *Cyprinus carpio*.

'n Biochemiese en morfologiese ondersoek van *Tilapia guinasana*, *T. rendalli* en *T. sparrmanii*

S. Oosthuizen, F.H. van der Bank & J.T. Ferreira
Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Johannesburg 2000

Tilapia guinasana kom voor in die Otjikoto-meer en in die Guinas-sinkgat wat in die noordelike deel van Namibië geleë is. Die spesie toon groot morfologiese ooreenkomste met *T. sparrmanii* wat vroeë ten opsigte van die geldigheid van *T. guinasana* as 'n spesie laat ontstaan het. *Tilapia guinasana* vertoon polichromatisiteit en daar word vermoed dat *T. guinasana* 'n bevolking van *T. sparrmanii* is wat deur isolasie en gebrek aan predasie in staat was om alle tekens van helderkleurigheid te behou. Trewavas.

Tilapia guinasana word bedreig deur *Oreochromis mossambicus* wat in die Otjikoto-meer vrygelaat is en wat teen 'n geweldige tempo voortplant en al die beskikbare nesareas domineer. Verder is daar ook die gevaar van die afloop van insekdoders, aangesien die omgewing om die Guinas intensiewer met water vanuit die meer bewerk en besproei word. As gevolg van genoemde bedreigings en ook die kontroversie wat bestaan aangaande die geldigheid van *T. guinasana* as spesie, was verdere studie dus noodsaaklik om die taksonomiese status van hierdie spesie vas te stel.

Tilapia guinasana, *T. rendalli* en *T. sparrmanii* is morfologies ondersoek. Die meristiese waardes van *T. guinasana* stem telkens meer ooreen met dié van *T. sparrmanii*, vergeleke met *T. rendalli* s'n. Morfometriese afmetings tussen *T. guinasana* en *T. sparrmanii* toon verskille tussen die twee spesies. Die opvallendste morfometriese verskil tussen die twee spesies is by die verhouding van die kopbreedte ten opsigte van die standaardlengte opgemerk. *T. guinasana* se kopbreedte is ongeveer 15,9% van die standaardlengte, terwyl dit by *T. sparrmanii* ongeveer 35,3% van die standaardlengte is.

Morfologiese kenmerke word beïnvloed deur omgewingsveranderinge en daarom is ook besluit op 'n biochemiese ondersoek, aangesien veranderinge in die omgewing byna geen uitwerking op die uitdrukking van biochemiese kenmerke het nie. Genetiese inligting word in die DNA-molekule gekodeer en word deur 'n reeks reaksies oorgedra na die struktuur van 'n proteïen. Om hierdie rede word die skeiding van proteïene en die strukturele studie daarvan as die eenvoudigste benadering tot taksonomiese probleme beskou. Elektroforese behels die migrasie en skeiding van proteïene en is as metode vir die biochemiese ondersoek gekies.

Die geenprodukte van drie-en-twintig lokusse is onder-

soek en spesieverskille is by ses lokusse opgemerk. By drie van hierdie lokusse het die migrasiekoers verskil vir al drie die spesies, terwyl die alleelmobiliteite by die oorblywende drie lokusse tussen een of twee spesies verskil het. Afwykings van die Hardy-Weinberg-verhoudings het by vier van hierdie lokusse voorgekom. Die heterosigositeit van elke spesie is bepaal. *Tilapia guinasana* toon die hoogste mate van heterosigositeit (0,1708), *T. sparrmanii* die tweede hoogste waarde (0,1293) en *T. rendalli* met die laagste waarde van 0,0893. Berekende heterosigositeitswaardes vir panmiktiese visbevolkings word as 0,05 voorspel. Die relatiewe hoë heterosigositeit, asook die afwykings van die Hardy-Weinberg-verhoudings kan toegeskryf word aan die klein steekproefgrootte ($n=15$) van elke spesie.

Die totale genetiese diversiteit van 'n elektroforetiese ondersoek kan in twee komponente verdeel word, naamlik die diversiteit binne 'n bevolking en die diversiteit tussen bevolkings. Die relatiewe geendiversiteit is bepaal en die hoë waarde wat daar tussen bevolkings gekry is, naamlik 61,4%, dui daarop dat aparte spesies ondersoek is.

Die genetiese afstand tussen die spesies is bereken en die genetiese afstand (0,347) tussen *T. guinasana* en *T. sparrmanii* val binne die interval wat kongeneriese spesies aandui. Die waarde van die genetiese afstand (0,448) tussen *T. rendalli* en die ander twee spesies val binne dieselfde interval.

Die meristiese verskille tussen *T. guinasana* en *T. sparrmanii* is onvoldoende om die twee spesies te identifiseer. Morfometriese verskille kan wel as uitkenningkenmerk dien, maar as gevolg van omgewingsplastisiteit is dit nie 'n baie betroubare metode nie.

Die verskille in mobiliteit wat by ses lokusse opgemerk is, toon duidelike spesieverskille tussen *T. guinasana*, *T. sparrmanii* en *T. rendalli*. Verder dui die hoë waardes vir die relatiewe genetiese diversiteit tussen bevolkings daarop dat aparte spesies ondersoek is. Die genetiese afstand wat tussen die drie spesies bereken is, dui ook op kongeneriese spesies.

Die resultate dui onomwonde daarop dat *T. guinasana* 'n geldige spesie is. As gevolg van die feit dat die voortbestaan van hierdie spesie bedreig word en vanweë die beperkte verspreiding daarvan, sal dringende bewaringsmaatreëls ondersoek moet word om uitsterwing te voorkom.

Die invloed van oefening op hemosianienfunksie

W.J. van Aardt

Departement Dierkunde, Potchefstroomse Universiteit vir CHO, Potchefstroom 2520

Twee krapsoorte (*Ocypode ceratophthalmus*, *Potamonautes warreni*) en 'n skerpioen (*Opisthophthalmus latimanus*) is op 'n trapmeul geoefen. Daarna is die suurstofverbruiksoers sowel as die *l*-laktaat (d-laktaat vir *O. latimanus*) en pH van die hemolimf gemeet en vergelyk met dieselfde waardes tydens die rustoestand. Die suurstofbindingseenskappe van hemosianien voor en na oefening is gemeet en vergelyk met hemosianien wat met 'n gelchromatografiese metode skoongemaak is. Die *l*-laktaatkonsentrasie in die hemolimf van *P. warreni* neem van 0,75 ($\pm 0,37$) mmol⁻¹ tot 9,63 ($\pm 2,1$) mmol⁻¹ toe na twintig minute se oefening. Dieselfde *l*-laktaatwaardes is verkry vir krappe wat in water geoefen is. Tydens oefening neem die pH-waarde van die hemolimf van 7,51 ($\pm 0,07$) tot 7,11 ($\pm 0,08$) af. Hierdie pH-afname verlaag die hemosianien se suurstofaffiniteit met 'n Bohr-faktor van -1,05, terwyl die kooperatiewiteit van hemosianien met suurstof van 3,0 na 3,7 toeneem. Gelchromatografie van hemosianien by *P. warreni* toon geen verskil ten opsigte van P₅₀-waardes met hemosianien wat natuurlik in hemolimf voorkom nie.

By 'n hardloopspoed van 13,3 cm sek⁻¹ het die ruiterskrap, *O. ceratophthalmus*, vir ten minste twee ure aaneengehardloop voordat moegheid ingetree het. Die MO₂-waardes vir geoefende krappe is ongeveer agt keer hoër (29,0 \pm 5,0 mmol⁻¹kg⁻¹h⁻¹) as dit vergelyk word met waardes by rustende krappe 3,5 \pm 0,4 mmol⁻¹kg⁻¹h⁻¹). Die *l*-laktaatkonsentrasie neem van 0,68 \pm 0,4 mmol⁻¹ tot 20,7 ($\pm 4,8$) mmol⁻¹ toe na 20 minute se oefening. In teenstelling hiermee daal die pH van 7,91 \pm (0,05) na 7,71

($\pm 0,08$). Vir rustende *O. ceratophthalmus* is die prebranchiale PO₂ (veneus) 35,9 ($\pm 5,6$) mmHg; totale CO₂-konsentrasie 22,6 ($\pm 2,6$), mmol⁻¹; hemosianienkonsentrasie 99,3 ($\pm 21,0$) mgml⁻¹ en die hemolimfsuurstofinhoud 4,11 ml O₂ per 100 ml hemolimf.

Groot verskille in die P₅₀-waardes vir hemosianien in natuurlike hemolimf en hemosianien na gelchromatografie is gevind. Hemosianien in natuurlike hemolimf het 'n laer affiniteit (P₅₀-waarde van 10 mmHg) vir suurstof as hemosianien na gelchromatografie (P₅₀-waarde van 1,3 mmHg).

Die suurstofverbruiksoers (MO₂) van volwasse *O. latimanus* is 4,2 ($\pm 0,8$) mmol⁻¹g⁻¹h⁻¹) by 25° C met 'n Q₁₀-waarde van 4,03 tussen 15° C en 25° C en 1,57 tussen 25° C en 35° C. Die pH van hemolimf afkomstig van rustende skerpioene is 7,43 ($\pm 0,09$) by 25° C. Die P₅₀ waarde van hemosianien afkomstig van natuurlike hemolimf is 22,3 mmHg by 25° C (pH 7,43) en 43,4 mmHg as 5% CO₂ by hemosianien gevoeg word (pH 7,30). Hemosianien na gelchromatografie het 'n baie hoër suurstofaffiniteit as hemosianien met natuurlike hemolimf. Hierdie verskil in affiniteit dui sterk daarop dat allosteriese modifiseerders in natuurlike hemolimf teenwoordig is wat suurstofhemosianienaffiniteit verlaag. Die oksigeneringswarmte (ΔH) van hemosianien tussen 15° C en 25° C is -50,8 kJmol⁻¹, terwyl dit tussen 25° C en 35° C -39,8 kJmol⁻¹ is. Die MO₂ en hemosianiensuurstofbindingresultate dui daarop dat die respirasiefisiologie van *O. latimanus* by hoë temperature onderdruk word.

Adenosientrifosfaatkonsentrasie van menslike sperme en spermotiliteit

D. du Toit, M.S. Bornman & D.J. du Plessis

Spermatologielaboratorium, Departement Urologie, Fakulteit Geneeskunde, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

Adeniennukleotiede is die hoofbron van chemiese energie wat deur sperme gebruik word. Adenosientrifosfaat (ATP) is die primêre bron wat beskikbaar is vir die spermflagellum om voorwaarts te beweeg. Die doel van die studie was om te bepaal of die ATP-konsentrasie korreleer met enige van die standaardparameters van 'n spermogram. Semenanalises is volgens WGO-standaarde uitgevoer op die semen van 170 pasiënte wat die Spermatologielaboratorium van die Departement Urologie besoek het. Die ATP-konsentrasie is bioluminometries bepaal en uitgedruk in fg/10⁶ sperme. Resultate is statisties verwerk volgens die Spearmanrangordekorrelasiekoëffisiënt.

Die statisties betekenisvolle negatiewe korrelasies tussen die gemiddelde ATP-konsentrasie en motiliteit (p=0,0015) asook voorwaartse progressie (p=0,0061) dui moontlik daarop dat sperme ATP kan genereer, maar dit nie vir kwalitatiewe of kwantitatiewe beweging kan aanwend nie. Die gemiddelde ATP-konsentrasie het statisties positief gekorreleer met die persentasie immotiele sperme (p=0,0033) en neig om negatief te korreleer met die persentasie 2+ motiele sperme (p=0,0848) en het die bogenoemde punt bevestig.

Dit is dus duidelik dat die ATP-konsentrasie gebruik kan word om addisionele inligting te verskaf oor die metaboliese status van die sperme.

Die moontlike rol van sialiensuur in manlike infertiliteit

D. du Toit, M.S. Bornman & D.J. du Plessis

Spermatologielaboratorium, Departement Urologie, Fakulteit Geneeskunde, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

Die term *sialiensuur* omvat alle N- en O-asetielneuramien-suurderivate wat uit biologiese materiaal geïsoleer word. Sialiensuur speel 'n belangrike rol in lewende selle, waarskynlik as gevolg van hulle perifere posisie in glikokonjugate wat ekstern op die selmembraan geïmposisioneer is. Sialiensuur maskeer eksterne antigene en gevolglik mag sialiensuur 'n moontlike rol in die ontwikkeling in outo-immuniteit teen sperme speel.

Die doel van die studie was om die seminale sialiensuur-konsentrasie met sperm morfologie en die teenwoordigheid van antisperm-antiliggame te korreleer.

Die studiegroep het bestaan uit 22 mans wat by die Spermatologie-eenheid van die Departement Urologie by die H.F. Verwoerd Hospitaal vir infertiliteit geëvalueer is. Die konsentrasie sialiensuur in sowel die seminale plasma

as op die sperme is bepaal en uitgedruk in mg/100 ml.

Die sialiensuurkonsentrasie in pasiënte met goeie semenparameters het 'n verhouding van 2:1 gehad. Pasiënte met 'n MAR-toets $\geq 75\%$ het hoër S.P. en lae konsentrasies gebonde sialiensuur op die sperme gehad (4,63:1). Pasiënte met minder as 5% morfologiese normale sperme het hoër konsentrasies in die S.P. gehad.

Die lae sialiensuurkonsentrasies op sperme van pasiënte met antisperm-antiliggame kon moontlik betrokke gewees het in die ontbloting van antigene en die gevolglike ontwikkeling van outo-immuniteit.

Die oorsaak van hoër sialiensuurwaardes in erge teratoospermie is nie duidelik nie. Die moontlike rol van sialidases in die stroping van sialiensuur vanaf die spermatozoale membraan word verder ondersoek.

Kliniese bevindinge by pasiënte met losgelate siliëre klossies (LSKs) in semen

M.S. Bornman, D. du Toit, M.H. Fourie, C. de Villiers-Smith, E.L. Kok & D.J. du Plessis

Spermatologielaboratorium, Departement Urologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

Losgelate siliëre klossies (LSKs) ontstaan wanneer die eindgedeeltes van trilhaarepiteelselle afskilfer. LSKs word algemeen in servikovaginale en respiratoriese selsmere gevind en is onlangs ook in die semen van infertiele mans waargeneem.

In hierdie studie is die siektebeeld en laboratoriumbevindinge van pasiënte met LSKs in semen met betrekking tot die moontlike oorsprong van die LSKs geëvalueer. By 81 infertiele mans is 'n volledige geskiedenis geneem en elke pasiënt klinies ondersoek. Semenmonsters is by die kliniek versamel en volgens standaardmetodes ondersoek. By 10 pasiënte met LSKs is epididimale funksie ondersoek deur die bepaling van sperm [ATP] en seminale alfa-glukosidase-aktiwiteit.

Van die pasiënte met LSKs het 52% gerook, 34% het verminderde testikulêre volume en 40% varikosele gehad. Evaluering van sperm morfologie het aangetoon dat die persentasie sitoplasmiese reste by hierdie pasiënte verhoog was. In die LSK-groep was die gemiddelde [ATP] betekenisvol hoër ($p=0,0009$), en die alfa-glukosidase laer

($p=0,0412$) as by kontroles.

Trilhaarepiteelselle kom in die manlike geslagstelsel voor in die ductuli efferentes, op die hoofsele van die epididimis en in die epiteelvoering van die vas deferens. Alhoewel die ductuli efferentes teoreties oorsprong aan die LSKs kon gegee het, maak die proses van epididimale deurgang wat 12 dae neem en die feit dat fagositose gedurende hierdie periode plaasvind, dit hoogs onwaarskynlik. Die enigste aanduiding van moontlike vasale oorsprong was twee pasiënte wat vasovasostomies na vorige sterilisasie gehad het.

Sperm [ATP] verminder gedurende epididimale deurgang en sperm maturasie en die hoër [ATP] kan dus aanduidend van ingekorte epididimale funksie wees. Dieselfde mag ook vir die laer alfa-glukosidase-aktiwiteit geld, wat 'n merker van sowel epididimale funksie as potensie is. Hierdie resultate mag daarop dui dat pasiënte met LSKs in hulle semen ingekorte epididimale funksie het en ondersteun verder die postulaat dat die epididimis die oorsprong van LSKs is.

Trichomonas vaginalis en manlike infertiliteit

M.S. Bornman, L. Grobler, M. Mahomed, D. Boomker, G.W. Schulenburg, S. Reif & H.H. Crewe-Brown

Departemente Urologie en Mikrobiologie, MEDUNSA

Trichomonas vaginalis is 'n geflagelleerde protosoon wat die vagina en serviks van die vrou en die anterior uretra van die man betrek. *Trichomonas vaginalis* by die man word algemeen as 'n niesiekteveroorakende organisme beskou.

Sommige skrywers het wel urologiese komplikasies gerapporteer en in 'n *in vitro*-studie het die teenwoordigheid van die organisme sperm beweeglikheid nadelig beïnvloed.

In hierdie studie is die asimptomatiesse draerinsidensie

van *T. vaginalis* in seksueel aktiewe mans by die Andrologie Kliniek bepaal en die effek van die organismes op semenkwaliteit bestudeer. Uretrale urine- en semenmonsters is van 396 pasiënte verkry en ondersoek vir die teenwoordigheid van *T. vaginalis* deur direkte mikroskopie, spesifieke groei en akridienoranje kleuring (AO). Semenanalise is volgens die metodes en standaarde van die WGO uitgevoer.

T. vaginalis is by 64 pasiënte (16,2%) gevind. Semenmonsters was positief met ligmikroskopie by 2 pasiënte (3%), AO-kleuring by 14 (21,9%) en semenkultuur by 55 (86%). Sewe en dertig (57,8%) van die urinemonsters was positief op mikroskopie, 43 (67,2%) met AO-kleuring en 47 (73,4%) met kweking.

Nege (14%) pasiënte wat negatief met semenkweking was, is positief gediagnoseer met AO-kleuring van urine. Die kombinasie van semenkweking en akridienoranjekleuring op urine was in al die pasiënte positief. Semenparameters van positiewes het nie betekenisvol verskil van die onder infeksie nie.

Alhoewel 16,2% pasiënte *T. vaginalis* in hulle semen gehad het, was die organisme teenwoordig sonder enige betekenisvolle verlaging van die semenkweking. Die gebruik van die kombinasie van semenkultuur en akridienoranjekleuring op urine is die voorkeurbenadering om die teenwoordigheid van *T. vaginalis* in semen aan te toon.

Die lig- en transmissie-elektronmikroskopiese struktuur van die byniere van 'n nie-dragtige, nie-sogende Afrika-olifantkoei (*Loxodonta africana*)

F.G.W. Strassberger & P.P.C. Nel

Departement Anatomie en Selmorfologie, Fakulteit Geneeskunde, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

M.M. Nel

Onderwysontwikkeling, Fakulteit Geneeskunde, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

Die mikrostruktuur van die byniere van die Afrika-olifant is, in teenstelling met wat die geval by die ander soogdiere is, nog grotendeels onbekend. Weefsel van *L. africana* is versamel en volgens standaardmetodes vir ligmikroskopiese en transmissie-elektronmikroskopiese ondersoek verwerk.

Die byniere is opgebou uit 'n buitenste kapsel, zonae glomerulosa, fasciculata en reticularis, 'n medullêre kapsel, 'n F-laag en 'n binneste medulla. Bindweefsel, hoofsaaklik kollageen, en bloedvate, veral venes, kom volop dwarsdeur die kliere voor. Lipied kom in wisselende hoeveelhede in al die parenkiemselle voor.

Die dik, buitenste kapsel bestaan hoofsaaklik uit kollageenvesels wat parallel met die oppervlak van die klier gerangskik is. Die buitenste ongeveer twee vyfdes bestaan uit losmasige bindweefsel met minder selkerne as die digter, binneste deel wat enkele gladdespier- asook retikulêre vesels bevat. Bindweefseltrabekulae strek vanaf die kapsel in die byniere in.

Die parenkiemselle van die korteks stem grootliks met dié van ander soogdiere ooreen. Die vorm van hierdie selle wissel van ovaal tot rond. Drie tipes selle is in elke kortikale sone waargeneem. Die selle van die relatief dun zona glomerulosa is in groepies gerangskik, dié van die zona fasciculata in radiaalverlopende koorde en dié van die zona reticularis kom voor in anastomerende koorde. Selle met dieselfde voorkoms as dié van die zona reticularis kom voor in die zona fasciculata. Laasgenoemde sone bevat ook klein, ongeïdentifiseerde, membraangebode strukture waarvan die inhoud grootliks homogeen is.

Die medullêre kapsel bestaan hoofsaaklik uit kollageen

met die vesels parallel geleë aan dié van die buitenste kapsel.

Die F-laag se buitelyne is onreëlmatig. Hierdie laag bevat twee tipes parenkiemselle, gerangskik in groepies van twee tot ses selle. Die vorm van die kleiner selle en hulle kerne is onreëlmattiger as dié van die groter selle. Die sitoplasma van beide selstipes bevat gladde, endoplasmiese retikula, mitochondria, poliribosome en granules (moontlik lisosome) wat in elektrondigtheid verskil. Ongeïdentifiseerde strukture met verskillende vorms kom ook voor. Geen nukleoli is in enige van die twee selstipes waargeneem nie. Hoewel hierdie F-laag geleë is waar die fetale laag of X-sone by ander soogdiere voorkom, verskil die ligmikroskopiese voorkoms van die selle van die F-laag baie van dié van die fetale olifantbynier.

Die medulla se buitelyne is onreëlmatig en bevat twee tipes parenkiemselle. Hierdie selle verskil op grond van die intensiteit waarmee hulle sitoplasma met verskillende kleurstowwe kleur. Die donkerder selle is in 'n onreëlmattige laag rondom die ligter tipe gerangskik. Beide selstipes bevat mitochondria, lisosome, growwe en gladde endoplasmiese retikula asook lipieddruppels. Die kerne bevat min sigbare chromatien en kom op die periferie van die selle voor.

Die teenwoordigheid van die F-laag, die groot hoeveelhede bindweefsel, die enorme lipiedbelading van veral die kortikale parenkiemselle en die ongeïdentifiseerde strukture in die F-laag asook in die zona fasciculata is aspekte waarin die byniere van hierdie olifant verskil van die ooreenstemmende kliere van ander soogdiere.

Die voorkoms van Profase I-oösiete en die invloed van verlengde inkuberingstyd op embrio-ontwikkeling

F. le R. Fourie & J.V. van der Merwe

Reproduktiewebiologie-navorsingseenheid, Universiteit van Petoria, Pretoria 0002

Van die totale oösietbevolking wat gedurende 'n *in vitro*-bevrugtingsprogram geaspireer word, is 14,9% in die Profase I-stadium. Hierdie oösiete is nie ryp nie en behoort volgens die literatuur vir 'n verdere 17-24 uur geïnkubeer te word om verrypings tot die Metafase I-stadium toe te laat. Verlengde inkubering het egter 'n onderliggende kostefaktor wat opgeweeg moet word teen die moontlike voordele van beter bevrugting/verdeling van oösiete.

Profase I-oösiete (n=101) is in twee groepe verdeel. Groep A (n=51) is 8 uur na aspirasie geïnsemineer en 45,1% oösiete is bevrug, terwyl 'n 39,2%-verdelingsyfer voorkom. Groep B (n=50) is na 24 uur geïnsemineer. Groep B-oösiete is onderverdeel in twee onderafdelings en onder-

skeidelik met vars geproduseerde en semen van die vorige dag geïnsemineer. Inseminering met vars sperme lewer 'n betekenisvol ($< 0,05$) hoër bevrugtingsyfer (54,3% vs 26,7%) as sperme wat reeds 17 uur oud is. Die verskil is ook merkbaar in die verdelingsyfer (42,9% vs 20,0%). In die geheel verskil die bevrugting- en verdelingsyfer van groepe A en B egter nie betekenisvol nie, alhoewel die voorkoms van polispermiese bevrugting in groep B verhoog is (0% vs 9,4%).

Die resultate dui daarop dat oösiete 'n Profase I nie nadelig beïnvloed word met inseminering na 8 uur nie; die stap lei tot 'n aansienlike kostebesparing.

Sialiensuur in follikulêre vog

C. Huyser, D. du Toit, F. le R. Fourie & M.S. Bornman

Reproduktiewebiologie-navorsingseenheid, Universiteit van Petoria, Pretoria 0002

Die teenwoordigheid en konsentrasie van sialiensuur in follikulêre vog is tydens hierdie loodsstudie bepaal. Die negatiewe polarisering van neuramiensuurderivate het moontlik 'n funksionele rol te vervul tydens oösietbevrugting, deurdat sialiensuur 'n stewigheid aan die oösietmembran verleen.

Sialiensuurkonsentrasies is deur middel van 'n kolorimetrie metode in 123 monsters met follikulêre vog van 56 pasiënte wat aan 'n *in vitro*-bevrugtingsprogram deelgeneem het, bepaal. Follikulêre sialiensuurkonsentrasies (0,616

mg/ml) is vergelykbaar met die voorkoms daarvan in serum (0,702 mg/ml); 'n vergelykende studie tussen follikels < 4 ml en > 4 ml dui op 'n betekenisvolle hoër ($p < 0,05$) sialiensuurkonsentrasie in die groter follikels. Die rypheidsgraad van oösiete was nie korreleerbaar met follikulêre volume nie. Metafase II-oösiete wat nie bevrug is nie, is egter met 'n verhoging in sialiensuurkonsentrasie geassosieer (0,701 mg/ml). Die moontlike rol van sialiensuur in die bevrugtingsproses moet verder ondersoek word om definitiewe tendense aan te toon.

Hormonale bepalinge van follikulêre vog deur middel van fluoro-immunometrie

C. Huyser & F. le R. Fourie

Reproduktiewebiologie-navorsingseenheid, Universiteit van Petoria, Pretoria 0002

In vitro-bevrugting en embrioterugplasing as modaliteit vir die behandeling van infertiliteit het vele tekortkominge. Een hiervan is die gebrek aan ('n) geskikte parameter(s) as indikator van die oösiet se potensiaal om 'n lewensvatbare pre-embrio te vorm.

Die doel van hierdie loodsstudie was om hormonale analises deur middel van 'n fluoro-immunobepalingsstelsel in follikulêre vog van pasiënte wat aan die *in vitro*-bevrugtingsprogram deelneem, te bepaal. Hiermee word gepoog om 'n follikulêre merker te vind wat verband mag hou met oösietrypheidsgraad, bevrugtingspotensiaal en swangerskapsuitkoms. Luteïniseerhormoon (LH), follikelstimuleerhormoon (FSH), prolaktien (PRL) en menslike chorioniese gonadotropien (mCG) is in 152 follikulêre

vogte van pasiënte (n=71) bepaal.

'n Betekenisvolle verskil ($p < 0,05$) in mCG-, FSH- en PRL-konsentrasies sowel as FSH:LH-verhouding het in follikels met 'n volume < 4 ml voorgekom. Follikulêre vogte wat oösiete in die Metafase I-stadium bevat het, toon laer mCG- (76,77IE/l) en LH-waardes (51,66IE/l) as soortgelyke follikulêre vogte wat oösiete in die Metafase II-stadium bevat het (respektiewelik 94,16IE/l en 64,92IE/l). Laer mCG- en LH-waardes is ook met onbevrugte oösiete geassosieer. 'n Definitiewe verskil in follikulêre hormonale vlakke van pasiënte wat klinies en biochemies swanger was, het voorgekom. Voorlopige resultate dui daarop dat mCG moontlik as 'n follikulêre merker tydens *in vitro*-bevrugting gebruik kan word.

Voorlopige resultate in die gebruik van mikromanipulasie in 'n diermodel

A.D. Esterhuizen, F. le R. Fourie, J.V. van der Merwe & H. Hattingh
Reproduktiewe biologie-navorsingseenheid, Universiteit van Petoria, Pretoria 0002

Die gebruik van die mikromanipulator is in hierdie studie tweeledig aangewend in 'n poging om:

- 1) die effek van mikromanipulasie op die oorlewingspotensiaal van muisembrio's te illustreer en
- 2) die gebruik van hierdie instrument as behandelingsmodaliteit vir die opheffing van manlike infertiliteit.

In die eerste fase van die studie is blastomere van twee- en vierselembrio's deur middel van mikropunksie vernietig. Hiermee is geïllustreer dat vierselembrio's waarvan een blastomeer vernietig is, statisties net so goed ($p > 0,05$) as die kontrolegroep tot die blastosistadium ontwikkel. Vierselembrio's waarvan meer as een blastomeer vernie-

tig is en tweeselembrio's met een beskadigde blastomeer het betekenisvol swakker ($p < 0,05$) as die kontrolegroep presteer.

In die tweede fase is muisoösiete bevrug deur die subzonale inspuiting van 'n enkele muissperm. 'n Verdelysifer van 14,9% is met 74 oösiete behaal. Ook is gepoog om gefasiliteerde bevrugting te bewerkstellig deur die zona pellucida meganies te deurboor en daarna te insemineer met sperme. Deur die gebruik van gemodifiseerde Hoppen-Pitts-medium is embriovorming by die behandelde groep (55,0% verdeel) beter as by die kontrolegroep (19,0% verdeel).

In vitro-kweking van muisembrio's in menslike amnionvog en Ham F10-medium: resultate en vergelykende biochemiese profiele van kweekmedia

D.S. Visser, F. le R. Fourie & C. Huyser
Reproduktiewe biologie-navorsingseenheid, Universiteit van Petoria, Pretoria 0002

Muisembrio's is vir *in vitro*-kweking tussen drie media verdeel, nl. vars, menslike amnionvog ($n=322$), opgebergte amnionvog ($n=17$) en Ham F10, gesupplementeer met 15% fetale kalfserum ($n=299$). Die embrio's is vir 72 uur geïnkubeer om blastosistvorming toe te laat. 'n Klein aantal embrio's het gedegenerer (respektiewelik 2%, 0% en 2%), terwyl daar geen statisties betekenisvolle verskil was tussen blastosistvorming in vars amnionvog (93%), ontdooide amnionvog (77%) ($X^2=2,61$) en Ham F10 (87%) kweekmedia nie. Die biochemiese profiele van vars en ontdooide amnionvog, serumgesupplementeerde Ham F10, follikulêre vog en Fallopiese buisvog (soos in die literatuur gerapporteer) is vergelyk wat betref die vlakke van Na, K, Ca, Mg, chloried, fosfate, alkaliese fosfatase, kreatinien, albumien, totale proteïene, uraat en ureum.

Die vlakke van natrium, kalsium, magnesium en chloried van die kweekmedia stem ooreen. Die kaliumvlak van die Fallopiese buis, wat die natuurlike omgewing van die vroeë embrio verteenwoordig, is egter 11,07 mmol/l teenoor 8,78 mmol/l in Ham F10 en slegs 3,81 mmol/l in amnionvog. Hierdie lae kaliumvlak in amnionvog ondersteun vroeë *in vitro*-embrio-ontwikkeling ten volle.

Vars, menslike amnionvog blyk 'n geskikte en koste-effektiewe kweekmedium vir muisembrio's te wees en hou ook potensiaal vir die kweking van ander seltipes in. Die 77% blastosistontwikkeling wat met opgebergte amnionvog verkry is, word as suboptimaal beskou. Aangesien voldoende volumes vars amnionvog nie op 'n konstante basis beskikbaar is nie, sal dit nie in die praktyk as 'n alternatiewe kweekmedium gebruik kan word nie.

Die voorkoms en invloed van meervoudige oösiete op die uitkoms van 'n *in vitro*-bevrugtingsprogram

A.D. Esterhuizen, C. Huyser & F. le R. Fourie
Reproduktiewe biologie-navorsingseenheid, Universiteit van Petoria, Pretoria 0002

Die invloed van eksogene hormoonstimulasie op pasiënte in die *in vitro*-program gee aanleiding tot die aspirasie van meervoudige oösiete ($\bar{x} = 5,2$ oösiete/pasiënt). Die groep pasiënte met oösietgetalle $< 6,0$ word as normonumeries (NN) beskou. Die NN groep ($n=172$) het 'n gemiddelde oösiet herwinning van 3,1 oösiete/pasiënt. In 24,3% van gevalle word hierdie gemiddelde waarde (5,2 oösiete/pasiënt) egter oorskry en 7,8 oösiete/pasiënt word herwin. Die groep ($n=174$) word na verwys as die multinumeriese (MN)

groep. Die prestasie van die twee groepe is vergelyk en die MN groep het 'n laer bevrugting sowel as verdelysifer getoon ($p < 0,05$). Meer embrio's ($p < 0,005$) is egter per pasiënt teruggeplaas in die MN groep en geen statistiese verskil in die biochemiese swangerskappe of gevolglike geboortesifer kon bevestig word nie. Die gevolgtrekking is gemaak dat die voorkoms van supernumeriese oösiete nie 'n betekenisvolle invloed op 'n *in vitro*-program uitoefen nie.