

## Referate

Opsommings van die referate gelewer tydens die Afdeling Biologie van die Suid-Afrikaanse Akademie vir Wetenskap en Kuns se jaarkongres, 20-21 Junie 1995, Universiteit van Stellenbosch.

### Die voorspellingswaarde van basale follikelstimulerende hormoonvlakke gedurende geassisteerde reproduksie

C. Huyser, F. le R. Fourie\* en J. Pentz

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Departement Obstetrie en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

P. Hurter

Departement Chemiese Patologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

#### Doelstellings:

A. Om die verwantskappe van basale serumhormoonvlakke met sekere geassisteerde reproduksie (AR)-parameters te bepaal.

B. Om die kliniese toepassing van 'n immunofluorometriese bepaling (IFMB) as 'n alternatief tot 'n radio-immunobepalingsmetode (RIB) te evalueer.

#### Metodes:

Basale hormoonvlakke (geanaliseer met RIB: rFSH, rLH, rE<sub>2</sub>; geanaliseer met IFMB: fFSH, fLH, fGH) is bepaal op dag drie na menstruasie van 142 vroulike pasiënte.

#### Resultate:

Spesifieke AR-parameters korreleer betekenisvol met RIB- en IFMB-waardes. Korrelasies bepaal met IFM oorskry deurlopend dié waardes verkry met RIB. Kritieke FSH-voorspellingswaardes (fFSH  $\geq$  11,68 IU/L of rFSH  $\geq$  15,0 UI/L) is gebruik om groepe met 'n swak potensieë

responspatroon te identifiseer. Die hoë basale fFSH-groep was ouer (34 vs 31 jaar,  $p=0,0334$ ) en minder oösiëte is in vergelyking met die lae basale fFSH-groep ( $\leq$  11,68 IU/L) verkry (2,9 vs 4,6 oösiëte,  $p=0,0018$ ). Laer kumulatiewe embryo-evaluerings en swangerskapskoerse is ook geassosieer met die hoë fFSH-groep, in vergelyking met die lae fFSH-groep.

#### Gevolgtrekkings:

Hierdie studie bevestig die voorspellingswaarde van basale FSH as kriterium (merker) van ovariële responsiwiteit gedurende AR. 'n Hoë basale FSH-waarde impliseer verlaagde ovariële responsiwiteit en dus verlaagde behandelingsukses by pasiënte. Die voorspellingswaarde van basale FSH-vlakke kan klinies sinvol toegepas word in die behandelingsmodilering van pasiënte. Basale LH-, GH- en E<sub>2</sub>-waardes is in vergelyking met basale FSH-waardes nie geskikte merkers van ovariële responsiwiteit nie. Die voorspellingspotensiaal van fFSH oortref die van rFSH deurgaans gedurende hierdie studie.

\* Aanbieder

### Interleukien-6-, Interleukien-1 $\beta$ - en groei-hormoonwaardes in menslike follikulêre vog

C. Huyser, F. le R. Fourie\* en P.F. Levay

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Departement Obstetrie en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

E. Bosmans

GIFT, St. Jans Hospitaal, 3600 Genk, België

#### Doelstellings:

Om die moontlike verwantskappe van interleukien-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukien-6 (IL-6) en groei-hormoon (GH) met biochemiese veranderlikes in menslike follikulêre vog (FV) en sekere *in vitro*-bevrugtings (IVB)-parameters vas te stel.

#### Metodes:

'n Totaal van 67 FV-monsters ( $n = 67$  pasiënte wat oösiëtaspirasie vir IVB ondergaan), is geëvalueer. Konsentrasies van IL-1 $\beta$ , IL-6, GH, mLH, FSH, PRL, mCG, testosteroon, totale proteïene, fibrinogeen, sialiensuur,  $\alpha$ -antritripsien, plasminogeen en spektrofotometriese

absorbansie van FV by 458 nm is bepaal. IL-6- en GH-vlakke en serum en FV-monsters is ook vergelyk ( $n = 23$ ).

**Resultate:**

Immunoreaktiewe konsentrasies van IL-1 $\beta$ , IL-6 en GH is waargeneem in alle FV-monsters. 'n Positiewe korrelasie tussen serum en FV IL-6-waardes is verkry ( $r = 0,5069$ ;  $p = 0,0161$ ; konsentrasieverhouding = 1 : 1,857). Kleiner follikels (< 4 ml) is geassosieer met hoë IL-1 $\beta$ -vlakke ( $p = 0,0229$ ). IL-1 $\beta$ -waardes neig ook om af te neem met 'n waargeneemde toename in embrioselestadium en

evaluering. Met die uitsondering van 'n swak positiewe korrelasie tussen follikulêre IL-1 $\beta$ - en testosteroonwaardes ( $r = 0,3128$ ;  $p = 0,025$ ), is geen ander verwantskappe met biochemiese veranderlikes of IVB-parameters (etiologie bv. endometriose) waargeneem nie.

**Gevolgtrekkings:**

Substansiële hoër FV IL-6-vlakke, in vergelyking met serum, ondersteun intra-follikulêre sintese van IL-6. Follikulêre konsentrasies van IL-1 $\beta$ , IL-6 en GH is egter nie geskikte voorspellers van IVB-resultate nie.

## Menslikespermembraanisolering: 'n elektronmikroskopiese studie

P.F. Levay en F. le R. Fourie\*

Sentrum vir Fertilitiestudies, Departement Obstetrie en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

N. Lourens en G.P. Loots

Sentrum vir Fertilitiestudies, Departement Anatomie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

**Doelstellings:**

Om homogene menslike spermembrane te isoleer sonder sellulêre kontaminante.

**Metodes:**

Donorsemenmonsters is verkry en by  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  geberg. Verskeie pogings is aangewend om membrane te isoleer en vir elke poging is  $800 \times 10^6$  sperme gesonifiseer teen 40% uitset (Vibra Cell). Drie sonifiseringblootstellingstye is gebruik (3 x 5; 3 x 15 en 180 sekondes deurlopend) om membrane te breek. Die gesonifiseerde spermmonsters is daarna gesentrifugeer (500 g vir 5 minute) en die supernatant is herwin. Die supernatant met membraanresidue is gelaag op 1,6 mol/l sukrose of op 'n diskontinue sukrosegradiënt en vir 60 minute teen 100 000 g gesentrifugeer. Die supernatant van die gesonifiseerde monsters en die herwonne sukrosefraksies is in 1,0% tanniensuur en 2,5% glutaaraldehyd gefikseer en elektronmikroskopies ondersoek.

**Resultate:**

'n Sonifiseringstyd van 3 x 15 sekondes was optimaal. Isolering van spermembrane op 'n sukroselaag was onvoldoende, aangesein daar betekenisvolle sellulêre kontaminering voorgekom het. Spermembrane wat tussen sukrosegradiënt 0,75 en 1,05 mol/l geïsoleer is, het die laagste graad van sellulêre kontaminering getoon.

**Gevolgtrekking:**

Hierdie tegniek het 'n redelike mate van spermembraansuiwering tot gevolg gehad. Die voordeel is dat die tegniek eenvoudig is in vergelyking met ander metodes. Die aantal sperme wat nodig is om 'n redelike hoeveelheid membrane te isoleer, was egter te hoog vir praktiese gebruik.

\* *Aanbieder*

## Die voorspellingswaarde van sperm morfologie tydens *in vitro*-bevrugting

W. Ombelet

GIFT, St. Jans Hospitaal, Genk, België

F. le R. Fourie\*

Sentrum vir Fertilitiestudies, Departement Obstetrie en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

**Doelstellings:**

Om die voorspellingswaarde van sperm morfologie vir oösietbevrugting en swangerskapsuitkoms van pasiënte tydens *in vitro*-bevrugting (IVB) te bepaal.

**Metodes:**

Gedurende 'n 18 maande-tydperk, vanaf 1988 tot 1990, is pasiënte in Genk (België), wat aan die IVB-program deelgeneem het, prospektief in twee groepe verdeel op grond van sperm morfologie (streng kriteria volgens Tygerberg). Groep I het uit 32 pasiënte met 'n gemiddelde sperm morfologie van  $\leq 8\%$  normaal bestaan, terwyl Groep II 36 egpare ingesluit het met 'n sperm morfologie  $> 8\%$ . Alle ander semenparameters het voldoen aan die WGO-standaarde. 'n Totaal van 100 siklusse van hierdie egpare is gemoniteer. Vroulike faktore in groepe I en II (etiologie, ouderdom) is gelykwaardig gekoppel. Die oösietbevrugtingskoers en swangerskapsuitkoms van hierdie pasiënte is gemoniteer en uitgedruk teenoor sperm morfologie-intervalgroeperings tussen 0-4%, 5-6%, 7-8% (Groep I) en  $> 8\%$  (Groep II).

**Resultate:**

Bevrugting van oösiete het betekenisvol toegeneem vanaf 37,9% tot 80,2% ( $p < 0,001$ ) vir morfologiegroep 0-4%, teenoor morfologiegroep 5-6%. Bevrugtingskoers het konstant ( $> 77\%$ ) gebly in die morfologiegroepe  $> 6\%$ . Die swangerskapskoers het egter merkbaar verbeter van 0%, deur 13,3, 21,0% en 42,0% ( $p < 0,05$ ) in die toenemende morfologiegroepe. Die lewende geboortekoers per egpaar het ook betekenisvol ( $p < 0,01$ ) verbeter, van 9,4% (Groep I; morfologie 0-8%) tot 38,9% (Groep II; morfologie  $> 8\%$ ) namate die sperm morfologie toeneem.

**Gevolgtrekking:**

Sperm morfologie volgens die streng kriteria van Tygerberg het 'n betekenisvolle voorspellingswaarde vir bevrugtings- en swangerskapskoers in 'n IVB-program.

\* Aanbieder

## Die invloed van verskeie proteïensupplemente op die hemizonatoets

C. Huyser, H. Moolman en F. le R. Fourie\*

Sentrum vir Fertilitiestudies, Departement Obstetrie en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

**Doelstellings:**

Om die invloed van verskeie proteïensupplemente op sperm - zona pellucida-binding (SZB) te bepaal.

**Metodes:**

Menslike ovaria, verkry vanaf kadawers, is geaspireer vir zona-intakte oösiete. Die oösiete is tot en met gebruik in 'n soutoplossing gestoor. Earl se gebalanseerde soutoplossing gesupplementeer met 10% ge-inaktiveerde ( $56^{\circ}\text{C}$  vir 30 min.) serum sowel as follikulêre vog (FV) is vir spermprosserings gebruik. Serum verkry op die derde dag (D3) van 'n vroulike donor se menstruele siklus, is as kontrole gebruik. Die volgende supplemente is getoets: a) serum van 'n ongestimuleerde dag 12 (D12) vroulike donor en, b) manlikedonorserum. Follikulêre vogte is addisioneel getoets. Die steroïdinhoud van die proteïensupplemente is m.b.v. Delfia bepaal. Die hemizonatoets is uitgevoer met semen van 'n bewese fertiele donor. Sperme is vir 1 en 24 uur blootgestel aan elke supplement, na prosessering. Die spermkonsentrasie is aangepas na 20 000 sperme per hemizona, waarna ko-inkubasie vir 4 ure uitgevoer is. Die

hemizonas is geëvalueer en die SZB aan die kontrole en eksperimentele hemizonas ( $n \geq 7$  hemizonas per supplement), sowel as die hemizona-indeks (HZI) is bepaal.

**Resultate:**

Die HZI na 1 uur inkubasie in D3 teenoor D12-donorserum was 47,91 (die gemiddelde SZB was laer in D12-donorserum:  $p = 0,0179$ ). Die SZB was laer in D3-serum in vergelyking met FV ( $p = 0,0179$ ), met 'n HZI van 297,23. D3-serum het ook laer binding getoon teenoor manlikedonorserum ( $p = 0,0186$ ; HZI = 192,51). Dieselfde tendens het deurgaans na 24 uur inkubasie voorgekom, maar met verminderde SZB ( $p < 0,05$ ).

**Gevolgtrekkings:**

Supplementering van kultuurmedium met FV en manlikedonorserum verhoog SZB in vergelyking met D3 (kontrole) vroulikedonorserum. Die HZI dui daarop dat FV 'n stimulerende invloed op SZB gehad het. Die potensiele voordele van hierdie waarnemings, gedurende geassisteerde reproduksie, sal verder bespreek word.

\* Aanbieder

## 'n Onderzoek na die kweking van ovidukte-epiteel vir die ondersteuning van embrio-ontwikkeling *in vitro*

D.S. Visser, C. van Zyl, F. le R. Fourie\* en J. Pentz

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Departement Obstetrie en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

E. de Jonge

Departement Obstetrie en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

Noemenswaardige vordering is die afgelope paar jaar gemaak met die verbetering van die vitaliteit van soogdiërgamete en -embrio's *in vitro* deur van selkultuurondersteuning gebruik te maak.

### Doelstellings:

A. Om tegnieke te ontwikkel vir die kweking van mens- en beesovidukte-epiteel met inagnome dat die selkultuursisteem voorsiening moet maak vir die fisiologiese behoeftes van gamete en embrio's *in vitro*.

B. Om die geskiktheid van mens- en beesepiteelkulture te vergelyk vir gesamentlike kweking met gamete of embrio's.

### Metodes:

Mensweefsel is tydens *post partum*-sterilisasies verkry en beesovidukte is uit vars karkasse by 'n slagpale gekry. Geïsoleerde epiteelselle is in Chang se D-medium, Ham se F10-medium en Earle se gebalanseerde soutoplossing (EBSO) gekweek. Subkulture is opgestel waartydens die selle of direk gekweek is, of eers bevroren en ontdooi is en dan gekweek is. Selvitaliteit is met behulp van vitaalkleurings bepaal en groeikrommes is opgestel. Selintegriteit is kwalitatief deur middel van elektronmikroskopie ondersoek.

### Resultate:

Meganiese metodes het die beste resultate met selisolering

gelewer. Suiwer beesepiteel is sodoende verkry, terwyl die komplekse argitektuur van die mensovidukte fibroblastkontaminering veroorsaak het. Chang se medium het die vinnigste selvermeerdering en beste selvitaliteit opgelewer. Ham se F10-medium het aanvaarbare resultate gelewer en EBSO het selvermeerdering en -vitaliteit nie ondersteun nie. Selintegriteit kon nie na tripsinering of bevriesing gehandhaaf word nie, alhoewel selvitaliteit nie daardeur benadeel is nie. Mensepiteel het minder gunstig as beesepiteel op die kulturomgewing gereageer.

### Gevolgtrekkings:

Primêre selkulture behoort vir embriokultuur gebruik te word omdat selintegriteit sodoende behoue bly. Daar is om twee redes besluit op die gebruik van die beesepiteelkultuursisteem: Beesovidukte is vryelik beskikbaar en beesepiteel kan met gemak in Ham se F10-medium, wat ook 'n algemeen aanvaarde embriokultuur-medium is, gekweek word.

\* *Aanbieder*

## Die metabolisme van toegediende asetiëlsaliëlsuur in *Pharbitis nil*-saadlobbe

E.G. Groenewald\* en A.J. van der Westhuizen

Departement Plantkunde en Genetika, UOVS, Bloemfontein, 9300

Asetiëlsaliëlsuur (asperien) is 'n bekende inhibeerder van prostaglandienbiosintese. In 'n studie oor die invloed van prostaglandien op die blomvorming van die kortdagplant *Pharbitis nil* is die inhiberende effek van asetiëlsaliëlsuur bestudeer. Die asetiëlsaliëlsuur is uitwendig op die saadlobbe van 9 dae oue saailinge net voor die blomvormingsinduserende 16 h-donkerperiode toegedien. Dit is bevind dat asetiëlsaliëlsuur blomvorming onder hierdie toestande gerem het. Om hierdie rede is die metabolisme van toegediende asetiëlsaliëlsuur tydens die 16 h-donkerperiode

bestudeer.

Radioaktiewe asetiëlsaliëlsuur is op die saadlobbe toegedien net voor die 16 h-donkerperiode toegepas is. Aan die einde van die donkerperiode is die fenoliese glukosiede uit die saadlobbe herwin en met behulp van papierchromatografie geskei. Twee kolle met radioaktief gemerkte fenoliese glukosiede kan onderskei word. Hierdie kolle is geëlueer waarna die eluate met  $\beta$ -glukosidase gehidroliseer is om die aglikone (vrye fenoliese sure) met behulp van dunlaagchromatografie (sellulose) te identifiseer.

Geen radioaktiewe asetiëlsaliëlsuur kon geïdentifiseer word nie, maar slegs gemerkte salisiëlsuure en gentisiënsuur. Salisiëlsuur het in beide kolle wat tydens die eerste chromatografiese skeiding die fenoliese glukosiede verteenwoordig het, voorgekom. Dit dui daarop dat verskillende glukosiede van salisiëlsuur in die saadlobbe gevorm het. Asetiëlsaliëlsuur is dus in die saadlobbe gemetaboliseer om salisiëlsuur en gentisiënsuur te lewer. Dit beteken dat die asetiëlgroep van asetiëlsaliëlsuur afgehidroliseer is en dat 'n gedeelte van die salisiëlsuur op posisie 5 van die benseenring gehidrosileer is om gentisiënsuur te vorm.

Salisiëlsuur en gentisiënsuur is albei inhibeerders van prostaglandienbiosintese en blomvorming by *Pharbitis*

*nil*. Die remmende invloed van uitwendig toegediende asetiëlsaliëlsuur op blomvorming onder blomvormingsinduserende toestande kan dus aan die remmende invloed van *in vivo* gevormde salisiëlsuur en gentisiënsuur op prostaglandienbiosintese toegeskryf word. Alhoewel kleiner hoeveelhede gentisiënsuur gevorm is, moet in gedagte gehou word dat gentisiënsuur 'n veel kragtiger inhibeerder van blomvorming is as salisiëlsuur. Volgens die resultate wat verkry is, is dit dus onwaarskynlik dat asetiëlsaliëlsuur direk die *in vivo*-inhibeerder van blomvorming via prostaglandienbiosintese-remming is.

\* *Aanbieder*

## Die uitdrukking van sellulase- en pektinasegene in *Saccharomyces cerevisiae*

P. van Rensburg\*, W.H. van Zyl en I.S. Pretorius

Departement Mikrobiologie, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch, 7600

Sellulose, gebed in 'n matriks van hemisellulose, lignien en pektien, is verreweg die volopste koolhidraat in plantbiomassa. Hierdie biopolimere is dus belangrike hernubare bronne vir voedsel, brandstof en chemikalieë. Mikrobiële benutting van kristallyne sellulose en pektien vereis twee groepe ensieme: sellulases en pektinases. Sellulases is sinergistiese multikomponent-komplekse wat dikwels bestaan uit endoglukanases, sellobiohidrolases en sellobiases ( $\beta$ -glukosidases). Die ensimatiëse afbraak van pektiëse polimere word gekataliseer deur pektienesterase, pektienliase, pektaatlase en poligalakturonase.

Die gis *Saccharomyces cerevisiae* word algemeen aangewend vir die produksie van enkelselproteïene (as voedsel- en voeraanvulling) en etanol (as drinkbare alkohol en brandstofaanvulling) vanaf fermenteerbare suikers, maar kan nie die volop energiereserwes in sellulose en pektien benut nie. *S. cerevisiae* produseer wel pektienesterase (wat pektien na pektaat omsit), 'n selwand endo- $\beta$ -1,3-glukanase en 'n ekstrasellulêre ekso- $\beta$ -1,3-glukanase. Die uitdrukking van aanvullende heteroloë

sellulase- en pektinasegene en *S. cerevisiae* sal 'n direkte eenstap-bio-omsetting van sellulose- en pektienryke materiaal na kommersieel belangrike produkte moontlik maak. Verder kan glukanolitiese en pektolitiese wyngisrasse van *S. cerevisiae* die vervloeiing, verheldering en filtreerbaarheid van druiwemos tydens die wyngistings verbeter.

Die endo- $\beta$ -1,4-glukanasegeen (END1) van *Butyrivibrio fibrisolvens*, die sellodekstrinasegeen (CEL1) van *Ruminococcus flavefaciens*, die sellobiohidrolasegeen (CBH1) van *Phanerochaete chrysosporium* en die  $\beta$ -glukosidasegeen (BGL1) van *Endomyces fibuliger* is gekloneer, gekarakteriseer, gemanipuleer en suksesvol in *S. cerevisiae* uitgedruk. Die END1-konstruksie is ook saam met *Erwinia chrysanthemii* se pektaatlasegeen (PEL5) en *E. carotovora* se poligalakturonasegeen (PEH1) in *S. cerevisiae* uitgedruk. Hierdie rekombinante gis was in staat om glukanaan en pektaan doeltreffend af te breek.

\* *Aanbieder*

## Epididimale spermoorlewing by 4 °C van sommige wildspesies met die oog op die gebruik daarvan gedurende *in vitro*-bevrugtingsprosedures

C. Bezuidenhout\* en F. le R. Fourie

Sentrum vir Fertilitieitstudies, Departement Obstetrie en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

M. Meintjies en R.A. Godke

Departement Fisiologie, Farmakologie en Toksikologie en Deirewetenskappe, Skool vir Veterinêre Medisyne, LSU, VSA

M.S. Bornman

Sentrum vir Fertilitiestudies, Departement Urologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

P. Bartels

Wildtelingsnavorsingsentrum

#### Doel:

Hierdie studie het ten doel 'n ondersoek na die versameling en berging van verskillende wildspesies se lewende epididimale sperme in 'n poging om dit te gebruik tydens *in vitro*-bevrugtingsprosedures (IVB).

#### Metodes:

Tydens die seisoenale uitdunning van buffels (*Cyncerus caffer*), elande (*Taurotragus oryx*), rooihartbeeste (*Alcelaphus bucelaphus*) en Burchell se sebras (*Equus burchelli*), is die skrotums van diere met die testes daarin binne 15 minute na terminasie van die diere, versamel. Die skrotums met die testes is hierna tot 4 °C op ys verkoel en by dié temperatuur gehou vir die duur van die eksperiment. Spermatologiese waarnemings is aanvanklik tussen 4-6 ure na versameling uitgevoer, en met intervalle van 8 uur daarna. Indien 'n daadwerklike afname in die spermotiliteit waargeneem is, is die waarnemingsintervalle verkort na 6 ure. Epididimale sperme is met elke observasie verkry deur *tubuli semineferi* van die kauda epididimis (KE) te dissekteer en die inhoud daarvan uit te stroop in Ham se F10-kultuurmedium (4 °C) wat met 10% fetale kalfserum verryk is. Die spermsuspensie is daarna geleidelik vir 20 minute verhit tot 37 °C bereik is. Spermparameters wat gemeet is, sluit in spermkonsentrasie, totale spermotiliteit en differensiële spermotiliteit (WGO 1987).

#### Resultate:

Sperme herwin uit die KE van die buffel het 'n inisiële motiliteit van 66% gehad. 'n Geleidelike verlaging in spermotiliteit is waargeneem. Die spermotiliteit het

deurlopend verswak vanaf 66% motiliteit tot en met 62 uur waartydens die motiliteit steeds hoër as 42% was. Na 70 uur het die spermotiliteit ten opsigte van die eerste waarneming betekenisvol afgeneem tot 29% ( $p < 0,05$ ). Verdere afname van spermotiliteit het hierna ingetree alhoewel daar steeds 10% motiliteit na 100 uur waarneembaar was. Rooihartbeessperme het vir 'n tydperk van 62 uur teen meer as 48% oorleef, maar na 68 uur kon geen motiliteit waargeneem word nie. 'n Statisties betekenisvolle afname in spermotiliteit het voorgekom tussen 6 uur (82% motiel) en 38 uur (64% motiel) ( $p < 0,05$ ). Na 62 uur het 'n vinnige spermotiliteitsverandering ingetree en verswakking vanaf 48% tot geen motiliteit het binne 6 uur plaasgevind ( $p < 0,05$ ). In die geval van elandsperme het tot 64 uur (25% motiel) by 4 °C oorleef. 'n Statisties betekenisvolle afname in spermotiliteit is in die geval waargeneem tussen 6 uur en 38 uur waartydens spermotiliteit van 78% tot 37% ( $p < 0,05$ ) verswak het. Sebrasperme het slegs vir 34 uur (13% motiel) by 4 °C oorleef, met 'n betekenisvolle verlaging in funksionele motiliteit tussen 6 uur (45% motiel) en 22 uur (24% motiel) ( $p < 0,05$ ). Die tydperk van spermoorlewing by 4 °C verskil van spesie tot spesie.

#### Gevolgtrekking:

Berging van die epididimis in die skrotum vir lang periodes teen 4 °C is dus 'n interessante alternatiewe prosedure vir die verkryging van vars, niebevrore spermmonsters vir IVB-prosedures.

\* *Aanbieder*

## Die afbraak van xilaan deur rekombinante giste

D.C. la Grange\*, J.M. Crous, I.S. Pretorius en W.H. van Zyl

Departement Mikrobiologie, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch, 7600

Die gis *Saccharomyces cerevisiae* is die mikroörganisme wat die algemeenste in die voedselindustrie gebruik word, naamlik vir die maak van wyn en bier asook vir die bak van brood. Een van die groot nadele van die gis is dat dit nie xilaan, wat naas sellulose en lignien die volopste hernubare polisakkaried in hout en gras is, as koolstof- of energiebron kan benut nie. Hierdie navorsing is gerig op die heteroloë

produksie van fungiese xilanases in *S. cerevisiae* om sodoende hierdie gis in staat te stel om xilaan af te breek. Die mikrobiële afbraak van xilaan benodig ten minste die teenwoordigheid van 'n  $\beta$ -xilosidase.

Twee xilanasegene (*XYN2* en *XYN3*) is onderskeidelik vanaf *Trichodema reesei* en *Aspergillus kawachii* gekloneer. Hierdie gene is suksesvol in *S. cerevisiae*

uitgedruk; *XYN2* onder die transkripsionele beheer van die *ADH2<sub>PT</sub>* en die *PGKI<sub>PT</sub>* en *XYN3* onder beheer van die *PGKI<sub>PT</sub>*. Die gis was instaat om *Xyn2* en *Xyn3* rekombinante ensieme te produseer en vanaf hul natuurlike sekresieseine uit te skei. Beide ensieme word egter tydens sekresie gehiperglukosileer. Die rekombinante ensieme was, ten spyte van hierdie glukosilering, steeds ten volle aktief met pH- en temperatuuroptima wat baie goed ooreenstem met

dié van die natuurlike proteiene wat deur *T. reesei* en *A. kawachii* geproduseer word. Outoselektiewe *S. cerevisiae*-rasse (*fur 1 ura3*-dubbelmutante) wat die *XYN2*- en *XYN3*-gene bevat, is gekonstrueer, en het onderskeidelik 1200 en 300 nkat/ml xylanaseaktiwiteit in skudfleskulture getoon.

\* Aanbieder

## Die uitdrukking van amilasegene in industriële belangrike giste

V.S. D'Aguanno\*, B.J.H. Janse, M.J. Prinsloo, A.J.C. Steyn en I.S. Pretorius  
Departement Mikrobiologie, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch, 7600

Stysel is 'n belangrike hernieubare hulpbron en bestaan uit 20-30% lineêre (amilose) en 70-80% vertakte (amilopektien) glukosepolimere. Die eerste stap in die hidrolise van rou stysel behels 'n kookproses van die styselkorrels. Daarna word dit met behulp van  $\alpha$ -amilase vervloei en deur middel van glukoamilase en onttakingsensieme (pullulanase of isoamilase) versuiker. Die gis *Saccharomyces cerevisiae* beskik nie oor hierdie ensieme nie en is dus nie in staat om die volop styselryke landbougewasse en -afval na kommersieel belangrike produkte om te sit nie. 'n Geneties gemanipuleerde ras van *S. cerevisiae* wat heteroloë amilolitiese ensieme uitskei, sou nuttige wees vir die produksie van brandstofetanool, enkelselproteïen en maltosestropo, en sou ook in die brou- en bakkersbedryf gebruik kon word.

Ons het die  $\alpha$ -amilasegeen (*AMY1*) van *Bacillus amyloliquefaciens*, die glukoamilasegeen (*STA2*) van

*S. cerevisiae* var. *diastaticus* en die pullulanasegeen (*PUL1*) van *Klebsiella pneumoniae* gekloneer, gekarakteriseer, gemanipuleer en in *S. cerevisiae* uitgedruk. Hierdie gistransformant was in staat om 99% van die gekookte stysel af te breek. Met die doel om die duur kookproses uit te skakel en sodoende 'n koste-effektiewer bio-omsetting daar te stel, is drie gene wat vir roustyselafbrekende ensieme kodeer uit *Endomyces fibuliger* (*RSA1* en *RSG1*) en *Lipomyces kononenkoae* (*LKA1*) gekloneer. *RSA1* kodeer vir 'n hoogs aktiewe  $\alpha$ -amilase, terwyl *RSG1* vir 'n glukoamilase kodeer. Die *LKA1*-geen kodeer vir 'n uitsonderlike  $\alpha$ -amilase wat sowel die  $\alpha$ -1,4- as  $\alpha$ -1,6-bindings in rou stysel hidroliseer. Hierdie gene is gebruik om 'n rekombinante gis te skep wat rou stysel doeltreffend benut.

\* Aanbieder

## Taksonomie van melksuurbakterieë in die lig van nuwe bevindings

L.M.T. Dicks

Departement Mikrobiologie, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch, 7600

Melksuurbakterieë speel 'n belangrike rol in die fermentasie en preservering van verskeie voedselprodukte. Die taksonomie van hierdie groep mikroörganismes het die afgelope vier jaar 'n revolusionêre verandering ondergaan. Hierdie hersiening in die sistematiek was onafwendbaar met die ontwikkeling van molekuleêre taksonometegnieke. Geenkarakterisering, homologiestudies met peiler-DNA (polimerasekettingreaksies, PCR) en vergelykende studies van gekonserveerde areas van rRNA het nuwe lig gewerp op die verwantskappe tussen spesies en geneties naverwante genera.

Die eerste hersiening het in die genus *Streptococcus* plaasgevind. Die belangrikste bydrae was die onderskeid tussen die "suiwel"-streptokokkie (genus *Lactococcus*) van die mond-, piogene en dermkanaal-streptokokkie.

*Lactobacillus halotolerans*, *Lactobacillus minor*, *Lactobacillus viridescens*, *Lactobacillus kandleri*, *Lactobacillus confusus* en *Leuconostoc paramesenteroides* is filogeneties nie naverwant aan die genus *Lactobacillus* nie en is in die nuwe genus *Weissella*, Collins et al., 1993 geplaas. *Lactobacillus acidophilus* is onlangs, op grond van DNA-homologie, in ses afsonderlike spesies verdeel. Die taksonomiestatus van die tipe stam van *Lactobacillus casei* (ATCC 393) is bevraagteken en 'n nuwe stam (ATCC 334) is as neotipe voorgestel. Dit het tot die voorstel gelei dat die spesienaam *Lactobacillus paracasei*, Collins et al., 1989 geskrap en 'n nuwe spesie (*Lactobacillus zaeae*, Dicks et al., 1995) geskep word.

Die spesie *Leuconostoc argentinum*, Dicks et al., 1993 is die nuutste toevoeging tot die genus *Leuconostoc*.

Volgens 16S rRNA-nukleotiedsekwensiestudies is *Leuconostoc oenos* filogeneties nie naverwant aan ander *Leuconostoc* spp. nie en 'n nuwe spesie (*Oenococcus*

*oeni*[corr.] gen.nov., comb. nov., Dicks et al., 1995) is geskep. Met hierdie voorstel is die taksonomiese hersiening van die genus *Leuconostoc* voltooi.

## Die regulering van die *STA2*-glukoamilasegeen in *Saccharomyces cerevisiae*

M. Gagiano\*, M.G. Lambrechts, M.A. Vivier en I.S. Pretorius  
Departement Mikrobiologie, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch, 7600

Styselbenutting deur *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* is afhanklik van die teenwoordigheid van ten minste een van die drie ongekoppelde gene, *STA1* (chr. IV), *STA2* (chr. II) en *STA3* (chr. XIV), wat elk vir 'n ekstrasellulêre glukoamilase-isoënsiem kodeer. Buiten hierdie gene van *S. cerevisiae* var. *diastaticus*, kom daar nog 'n vierde glukoamilasegeen, *SGA1* (chr. IX), en twee kriptiese DNA-volgordes, *S1* (chr. IX) en *S2* (chr. IX), in alle rasse van *S. cerevisiae* voor. Die *SGA1*-geen kodeer vir 'n intrasellulêre glukoamilase wat hoofsaaklik vir die afbraak van interne glikoëen tydens askosporvorming verantwoordelik is en word slegs aangestakel wanneer  $\alpha$ -diploïedesele meiose ondergaan. *STA1* en *STA2* (en *STA3* by wyse van ekstrapolasie) kodeer vir identiese glukoamilases, terwyl *S2*, *S1* en *SGA1* onderskeidelik vir die volgende homoloë komponente van die *STA*-glukoamilases kodeer: 'n promotor en hidrofobiese leierpeptied (HLP) vir proteïenuitskeiding, 'n treonien-serienryke domein (TS) vir styselbinding en 'n katalitiese domein (KD) vir glukoamilase-aktiwiteit.

Die *STA*-gene word positief gereguleer deur die

teenwoordigheid van die *GAM1*-(*SNF2*), *GAM2*-(*RPD1*) en die *GAM2*-(*ADR6*) gene. Hierbenewens word die *STA*-gene ook deur die *trans*-werkende aksie van *SNF1*, *SNF5*, *SNF6* en *HAF2* se geenprodukte geaktiveer. Voorts word die *STA*-gene op drie vlakke negatief gereguleer. Die meeste rasse van *S. cerevisiae* (uitgesonderd *S. cerevisiae* var. *diastaticus*) bevat die *STA10*-onderdrukkergeen, wat die transkripsie van die *STA*-gene op 'n ongedefinieerde wyse afskakel. Verder word die *STA*-gene vermoedelik deur die *MAT  $\alpha$ /MAT $\alpha$ 2*-onderdrukker in talle  $\alpha/\alpha$ -diploïede gisselle afgeskakel. Die sintese van glukoamilase is ook aan katabolietonderdrukking (glukoseonderdrukking) onderworpe. Met behulp van delesie-analises is die fynstruktuur van die *STA*-geenpromotors ontleed en die elemente wat vir aktivering (UAS) en onderdrukking (URS) verantwoordelik is, is gedefinieer. Hiervolgens kon daar vasgestel word watter deel van die *STA*-promotor interaksie met remmingsfaktore tydens onderdrukking deur *STA10* en glukose ondergaan.

\* Aanbieder

## 'n Kinase-siklienkompleks in die RNA-polimerase II-holoënsiem

M. Viljoen\* en H.J.J. van Vuuren  
Departement Mikrobiologie, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch, 7600

S.M. Liao, J. Zhang, D.A. Jeffrey, A.J. Koleske, C.M. Thompson, D.M. Chao en R.A. Young  
Whitehead Instituut, MIT, Cambridge, VSA

Die karboksielterminale domein (CTD) van RPB1, die grootste subeenheid van gis-RNA-polimerase II, bevat 27 opeenvolgende herhalings van 'n hoogs gekonserveerde heptapeptied. Mutane met 'n verkorte CTD van 10 tot 12 herhalings is slegs onder sekere toestande lewensvatbaar en toon defekte in transkripsie. Nege ekstrasellulêre onderdrukkers van 'n verkorte CTD is uit die gis *Saccharomyces cerevisiae* geïsoleer. Suiwering van hierdie SRB-proteïene (Suppressors of RNA Polymerase B) het gelei tot die isolasie van 'n groot multi-subeenheidkompleks, die RNA-polimerase II-holoënsiem. Hierdie

1,2MDa-kompleks bevat RNA-polimerase II, die nege SRB-proteïene en die algemene transkripsiefaktore TFIIB, TFIIF en TFIIF. Eksperimentele data dui daarop dat RNA-polimerase II in die vorm van die holoënsiem by die vorming van die transkripsie-inisiasiekompleks betrokke is.

Slegs SRB10 en SRB11 toon homologie met ander bekende proteïene. SRB10 kodeer vir 'n serien/treonien-kinase en SRB11 vir 'n siklien-verwante proteïen. Affiniteitschromatografie het getoon dat daar *in vitro*-interaksie tussen rekombinante SRB10 en SRB11 is, en 'n



*in vivo*-hibriedinteraksie het dit bevestig. Fosforileringsstudies het aangedui dat SRB10-SRB11 'n rol speel in CTD-fosforilering, 'n kritiese stap in transkripsieverlening.

Dié en ander resultate dui op 'n kinase-siklienkompleks in die RNA-polimerase II-holoënsiem wat 'n belangrike rol in transkripsionele regulering in die eukariotiese sel speel.

\* *Aanbieder*

## Evaluering van 'n gesondheidsindeks vir vis in die Olifantsrivier

A. Avenant-Oldewage

Departement Dierkunde, RAU, Posbus 524, Aucklandpark, 2006

Waterbesoedeling is wêreldwyd 'n probleem wat toenemend voorkom. Tradisioneel is chemiese wateranalises aangewend om die kwaliteit van die waterbron te bepaal maar verskeie probleme, waaronder die koste, het bestuurders gedwing om na alternatiewe metodes ondersoek in te stel.

Amerikaanse navorsers het goeie resultate verkry met 'n visgesondheidsindeks wat onder andere in papierpulpaanlegte getoets is. Daar is besluit om hierdie indeks onder Suid-Afrikaanse toestande te evalueer. Twee lokaliteite in die Olifantsrivier is gekies en die evaluasie is daar uitgevoer.

Die indeks vereis dat die toestand van verskeie visstrukture, byvoorbeeld die vinne, vel, ens. se toestand geëvalueer word en 'n numeriese waarde daaraan toegeken word. Daarna word die inwendige organe op 'n soortgelyke

manier beoordeel. Uiteindelik word die totale waarde vir elke vis bereken en die gemiddelde waarde vir die bevolking word bepaal. Verskillende bevolkings word met mekaar vergelyk en daaruit word die onderskeid tussen verskillende monsterpunte uitgewys. Sommige punte sal meer geskik vir vis wees en gevolglik deur 'n beter gesondheidsindeks verteenwoordig word, terwyl ander punte wat minder geskik is 'n swakker gesondheidsindeks sal hê.

Resultate van die ondersoek het aangetoon dat die gehalte van die water wel deur die gesondheidsindeks gereflekteer word, dat die onderskeidingsvermoë van die indeks baie verbeter kan word deur die verskillende visparasiete tot die indeks toe te voeg. Meer endoparasiete kom voor in lokaliteite met 'n swakker watergehalte, terwyl ektoparasiete domineer in omgewings met 'n beter watergehalte.

## Sialiensuur en pirovaatvlakke in menslike follikulêre vog en serum

C. Huyser en F. le R. Fourie\*

Sentrum vir Fertilitiestudies, Departement Obstetrie en Ginekologie, Universiteit van Pretoria

D. du Toit, N.H. Aneck-Hahn en M.S. Bornman

Sentrum vir Fertilitiestudies, Departement Urologie, Universiteit van Pretoria

### Doelstellings:

A. Om moontlike korrelasies tussen individuele vlakke van pirovaat, vrye, gebonde en totale sialiensuur (SS) in follikulêre vog (FV) en serum van pasiënte met endometriose te ondersoek.

B. Om moontlike verwantskappe van follikulêre SS en pirovaatvlakke met biochemiese veranderlikes in FV, sowel as geselekteerde *in vitro*-bevrugtingsparameters (IVB) te bepaal.

### Metodes:

Pirovaat-, vrye SA-, gebonde SA-, totale SA-vlakke is deur middel van 'n ensimatisiese kolorimetries metode in 17 FV en 16 serummonsters ( $n = 17$  IVB pasiënte) bepaal. Follikulêre vogprogesteron-, E2-, testosteroon-, mLH-, FSH-, prolaktien-, mCG-, totale proteïen-, IL-6-,

groeihormoon- (GH) en  $\alpha_1$ -antitripsienvlakke is ook bepaal. Alle pasiënte het buisfaktore gehad terwyl sewe pasiënte geringe endometriose as bykomende etiologie getoon het.

### Resultate:

(i) 'n Laer vrye:gebonde serum-SS-verhouding in pasiënte met endometriose is gevind teenoor pasiënte met slegs buisfaktore (1:7,7 vs 1:40,4;  $p = 0,0281$ ).

(ii) Substansieel hoër follikulêre pirovaat-, gebonde en totale SS-konsentrasies in vergelyking met serum het voorgekom ( $p < 0,05$ ).

(iii) Positiewe korrelasies tussen follikulêre pirovaat- en GH-vlakke ( $p = 0,0226$ ), sowel as negatiewe korrelasies tussen follikulêre pirovaat- en mCG-konsentrasies is

gevind ( $p=0,0065$ ).

#### **Gevolgtrekkings:**

Die relevansie van die laer vry:gebonde serum-SS-verhouding tot geringe/hewige endometriose moet verder

ondersoek word. Ons resultate beklemtoon ook die behoefte aan navorsing van die interaktiewe dinamika van follikulêre metabolisme.

\* *Aanbieder*

## **Ultrastruktuur van die testis van *Serranochromis thumbergi* (Cichlidae)**

G.M. Pieterse\* en J.H.J. van Vuren

Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Aucklandpark, 2006

Die toenemende belangstelling in die akwakultuurbedryf as 'n alternatiewe proteïenverskaffer en die kwesbaarheid van skaars visspesies, noodsaak die kunsmatige teelt van die betrokke spesies. Voordat pogings aangewend kan word om enige vissoort kunsmatig te teel, is 'n basiese kennis van die voortplantingsfisiologie noodsaaklik. Morfologiese studies van die testis en sperme lewer nie alleen 'n belangrike bydrae vir die fisiologie nie, maar ook in vergelykende spermatologie, sistematiek en filogenie van visse. Die ultrastruktuur van die testis en spermatogenese van 'n paar Suid-Afrikaanse Cyprinidae-spesies is reeds beskryf, maar gepubliseerde inligting ten opsigte van die voortplantingsfisiologie van die Cichlidae is beperk. Baie min werk is tans gedoen op vis wat in die Caprivi aangetref word. Die doel van hierdie studie is om die ultrastruktuur van die testis van *Serranochromis thumbergi* te beskryf om sodoende die leemte wat daar in die spermatologie van varswatervisse bestaan, aan te vul.

*S. thumbergi* is in die Bo-Zambezi in Namibië versamel. Versameling, monsterneming en preservering is volgens standaardmetodes gedoen.

Elektronmikroskopiese ondersoek toon dat die testis van *S. thumbergi* uit lobules omring deur interstisiële weefsel bestaan. Die interstisiële weefsel vorm 'n laag selle tussen die aangrensende lobules. Siste gevul met kiemselle kom binne die lobules voor. Sneë wat bestudeer is, toon dat die siste in dieselfde stadium van spermatogenese is. Die ontwikkeling van die spermselle bestaan uit ses stadiums, naamlik die primêre en sekondêre spermatogoniums, primêre en sekondêre spermatosiete, spermatiede en spermatosoa.

Spermatogoniums is van die grootste selle in die testis. Die selle word gekenmerk deur 'n sferiese nukleus met 'n nukleolus duidelik sigbaar. Die nukleusmateriaal is nie baie elektrondig nie, maar die korrelrige chromatien met aggregate is duidelik waarneembaar. 'n Groot aantal mitochondriums lê versprei in die sitoplasma. Die nukleus van die primêre spermatosiet beslaan steeds 'n groot deel van die sel. Die primêre spermatosiet word gekenmerk deur 'n nukleus, omring deur 'n dubbel nukleusmembraan en 'n nukleolus. Die eerste tekens van chromatienkondensasie vind plaas, met die gevolg dat die chromatien meer korrelrig voorkom. Die primêre spermatosiete word deur hegte verbindings aan mekaar verbind. In die sekondêre

spermatosiet is die nukleolus nie meer sigbaar nie. Verdigting van die chromatien vind steeds plaas maar elekrondeurlatende gedeeltes is prominent. Mitochondriums migreer vanaf posisies in die sitoplasma na die omgewing waar toekomstige flagellêre ontwikkeling gaan plaasvind. 'n Verdelingskompleks wat die verdeling van die nukleus voor spermatiedvorming voorafgaan, is waarneembaar. Die vorming van die nukleêre kuil is 'n kenmerkende eienskap van hierdie fase. Sitoplasmiese afsnoering, waar die oortollige sitoplasma verwyder word, is sigbaar.

In die spermatiedfase word digte homogene granulêre chromatien in die nukleus van die selle waargeneem. Sitoplasma verminder deur afsnoerings. Mitochondriums versamel in die mitochondriale kraag. Die spermatied het 'n tangensiaal georiënteerde flagellum. Die chromatien begin duidelike granules vorm. Die proksimale en distale sentriole kan waargeneem word. Die ontwikkeling van die nukleêre kuil het ver gevorder. In die volwasse sperm het die flagellum geroteer. Die 9 + 2 - rangskikking van die filamente binne die flagellum is kenmerkend van die teleoste. Die sentriolêre kompleks wat as hegingsarea vir die flagellum dien, is sigbaar. Siste bars oop en stel die sperme in die lumen vry.

Die interstisiële weefsel bestaan uit lobule grensselle, Leydigselle en bloedvate. Die lobule grenssel het 'n verlengde nukleus en die sel het nie 'n baie duidelike vorm nie. Leydigselle kom in die interstisiële weefsel enkel of in groepe voor. Hierdie selle word gekenmerk deur groot ronde mitochondriums. Leydigselle word gewoonlik met bloedvate geassosieer.

Sertoliselle kom in die wande van die siste voor. Die selle word gekenmerk deur 'n groot bleek nukleus met 'n prominente nukleolus en verlengde mitochondriums. Die Sertoliselle is van die lobule grenssel geskei deur 'n tipiese basaalmembraan.

Uit hierdie studie is dit duidelik dat die testis van *S. thumbergi* 'n tipiese lobulêre struktuur het, soos ook vir ander teleoste en spesifiek Cichlidae beskryf is. Die testis toon morfologiese ooreenkomste met die algemene kenmerke van die teleost-testis soos vir tilapia beskryf is.

\* *Aanbieder*

## Antimikrobiëse peptiede van melksuurbakterieë: genetiese manipulerings en industriële toepassings

C.A. van Reenen\*, G. Green en L.M.T. Dicks

Departement Mikrobiologie, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch, 7600

Internasionale druk op die voedselindustrie om niekarsinogeniese preserveermiddels te gebruik, word steeds groter. Die klem val al hoe meer op die gebruik van natuurlike (biologiese) preserveermiddels, soos bv. antimikrobiëse peptiede van melksuurbakterieë. Etlike van hierdie peptiede, bv. nisien van *Lactococcus lactis* en pediosien AcH van *Pediococcus acidilactici*, word reeds as preserveermiddels in suiwelprodukte, vleis en bier gebruik. Die nadeel van hierdie peptiede is dat hul 'n nou spektrum van antimikrobiëse werking het, d.w.s. slegs bakterieë naverwant aan die produseerderstam se groei word geïnhibeer. 'n Peptied met 'n wyer spektrum van

antimikrobiëse werking sal uiteraard meer doeltreffend wees.

In die voordrag word die gebruik van antimikrobiëse peptiede in die voedselbedryf bespreek. Die voor- en nadele en genetiese manipulerings van onderskeie peptiede word uitgelig, o.a. drie van die antimikrobiëse peptiede wat ons onlangs uit *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* en *Pediococcus damnosus* geïsoleer het. Een van hierdie peptiede het 'n wye spektrum van antimikrobiëse aktiwiteit en voldoen aan al die vereistes wat gestel word vir 'n doeltreffende biologiese preserveermiddel.

\* Aanbieder

## Die akkumulering van swaarmetale in die houtluis *Oniscus asellus* (Isopoda) en die effek daarvan op groei

J.P. Odendaal\* en A.J. Reinecke

Departement Soölogie, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch, 7600

### Inleiding:

Die afsetting van swaarmetale vanaf die atmosfeer en die akkumulering daarvan in terrestriële ekosisteme trek lank reeds die aandag van wetenskaplikes. Dit is ook lank reeds bekend dat sekere metale skadelik is vir verskeie organismes. Dit is so dat swaarmetaalbesoedeling vanweë menslike aktiwiteite nie afneem nie. Noemenswaardige hoeveelhede lood gaan die atmosfeer binne a.g.v. vrystelling van die verbranding van petrol en beland uiteindelik in die grond as afsettings vanaf die atmosfeer. Groot hoeveelhede kadmium, en ander swaarmetale kom van industriële aktiwiteit.

Die grond is 'n belangrike ontvanger van swaarmetale. Hierdie metale het gewoonlik 'n lang halfleeftyd, soos byvoorbeeld lood, sodat die aanvanklike effek van swaarmetaalbesoedeling op die terrestriële ekosisteme in die grondmikrohabitat plaasvind, waar houtluis voorkom.

### Materiaal en Metodes:

#### Veldwerk:

Vyftig houtluis is by 'n smeltery versamel, gedissekteer en deur Atoomabsorpsiespektrometrie geanaliseer. Tien houtluis se hepatopankreasse en res van die liggaam is vir 'n analise gepoel. Houtluis uit die botaniese tuin van die Universiteit van Stellenbosch het as kontrole gedien.

#### Laboratoriumeksperimente:

Houtluis uit die botaniese tuin van die Universiteit van Stellenbosch is vir die eksperimente gebruik. Akkerblare het as voedselbronne gedien. 'n Reeks van vier eksperimente, wat elkeen 8 weke geduur het, is uitgevoer, waar houtluis blootgestel is aan verskillende konsentrasies Pb en Cd. Vir Pb was die konsentrasies 200 dpm, 400 dpm, 800 dpm en 1600 dpm, terwyl die vir Cd 10 dpm, 20 dpm, 40 dpm en 80 dpm was. Die metale is as 'n oplossing op die blare (50 g in elke bak) toegedien. Die houtluis het die metale dus deur hul voedsel opgeneem. Die bakke vir die eksperimente is silinders van 110 mm diameter en 130 mm in hoogte. Die een kant van die silinders is met gips toegemaak, sodat water waarin die bakke gesit is in die gips suig en sorg vir 'n konstante vogtige omgewing waarin die houtluis leef. 'n Optimale temperatuur van 16 °C is gehandhaaf. Elke bak het 20 houtluis bevat, 10 mannetjies en 10 wyfies. Aan die begin van elke eksperiment is die massa van elke bak se populasie bepaal en elke bak se biomassa is elke twee weke bepaal, tot aan die einde van die eksperiment. Na verloop van die 8 weke is 10 houtluis uit elke eksperimentele bak verwyder vir disseksie, waartydens die hepatopankreasse verwyder is. Swaarmetaalbestemming is deur Atoomabsorpsiespektrometrie op die hepatopankreasse, res van die liggaam en die blare uitgevoer.

**Resultate en bespreking:**

Die houtluise wat aan gekontameneerde blare blootgestel was, het 'n stadiger groei koers vertoon as die houtluise in die kontrole. Dit is 'n duidelike aanduiding dat groei deur lood en kadmium beïnvloed is.

Die hepatopankreas van houtluise toon van die hoogste konsentrasie van swaarmetale in sagte weefsel van alle diere. Die hepatopankreas van *Oniscus asellus* dra 76% Zn, 89% Cd, 83% Pb en 85% Cu van die totale hoeveelheid van elk van die metale in die liggaam. Houtluise vertoon dus die verskynsel van kompartmentalisasie van metale.

In vandag se geïndustreerde samelewing is swaarmetaalbesoedeling 'n voldwonge feit. Daar is ook geen

onmiddellike aanduidings wat die indruk weergee dat dit nou sal afneem nie, aangesien die eise wat die steeds groeiende menslike bevolking aan die omgewing stel al hoe meer word.

Die primêre doel in hierdie studie is om houtluise aan te wend as 'n biomonitor van swaarmetaalbesoedeling. Om dit te verwezenlik, is gekyk na die akkumulering van swaarmetale in die hepatopankreas en die groei van populasies onder laboratoriumtoestande. Hierdie studie mag ook 'n aanduiding gee van die aanvaarbare swaarmetaalvlakke wat 'n minimale effek op 'n houtluispopulasie en op die ekosisteem sal hê.

\* *Aanbieder*

## **Die subdodelike effekte van mangaan op die bloedfisiologie van *Oreochromis mossambicus***

I. Barnhoorn\*, J.H.J van Vuren en H.H. du Preez

Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Aucklandpark, 2006

Tans word daar besondere aandag gegee aan die effek van verskillende subdodelike metaalkonsentrasies op organismes in varswateromgewings. Alle metale is potensieel skadelik vir die meeste organismes op sommige vlakke van blootstelling en absorpsie. Vis is in direkte kontak met die omgewing en word deur geringe veranderinge in die kwaliteit daarvan beïnvloed. Die doel van hierdie studie is om die subdodelike effekte waar te neem wat mangaan op geselekteerde hematologiese veranderlikes van inheemse varswatervis het. Mangaan is in hoë konsentrasies toksies vir varswatervis. Die resultate word gebruik in die verdere ontwikkeling en uitbreiding van 'n bestaande waterkwaliteitsindeks wat vir die Olifantsrivier, Oos-Transvaal ontwikkel is. 'n Groot aantal steenkoolgedrewe kragentrales is in die opvanggebied van die Olifantsrivier teenwoordig. Die afloopwater vanaf steenkoolmyne by die kragentrales en ander steenkoolmyne in die gebied, het 'n nadelige effek op die oppervlaktewater. Mangaan word veral vrygestel in suurafloopwater, afkomstig van uitgediende myne.

*Oreochromis mossambicus* is blootgestel aan drie subdodelike konsentrasies van mangaan, nl. 0,1732 g/l, 0,259 g/l en 0,345 g/l in 'n eksperimentele deurvloeistelsel onder laboratoriumbeheerde toestande. Die konsentrasies mangaan waaraan die vis blootgestel is, is bereken vanaf die LK50 van mangaan. 'n Kontrole waar die vis nie aan mangaan blootgestel is nie, is ook onder dieselfde

omgewingstoestande uitgevoer.

Waardes is vir 'n aantal hematologiese veranderlikes met behulp van standaardprosedures bepaal. Dit sluit rooibloedseltellings, witbloedseltellings, hematokrit, hemoglobienkonsentrasie, gemiddelde korpuskulêre volumes, totale proteïene en asietielcholinesterase in. Die vlakke van natrium, kalium en chloriede is ook voor en na die blootstelling aan mangaan bepaal. Veranderinge in die konsentrasies van glukose, laktaat, pirovaatkinase en glukose-6-fosfaat dehidrogenase is bepaal om vas te stel hoe die metaboliese aktiwiteit van die visse deur die besoedelstof beïnvloed is.

Nadat die vis aan subdodelike konsentrasies van mangaan blootgestel is, het daar bepaalde veranderinge in die waardes van die hematologiese veranderlikes plaasgevind. Beduidende afnames in die witbloedseltellings, rooibloedseltellings, hemoglobienkonsentrasie en hematokrit is waargeneem. Die natrium- en kaliumkonsentrasies het ook drasties afgeneem na blootstelling aan mangaan, terwyl die chloriedkonsentrasie in die plasma toegeneem het. Die konsentrasies van glukose en laktaat het beide beduidende ( $P < 0,05$ ) afnames getoon terwyl glukose-6-fosfaat-dehidrogenase ongeveer dieselfde vlakke gehandhaaf en die pirovaatkinase 'n daling getoon het. Asetielcholinesterase het ook 'n afname na blootstelling getoon.

\* *Aanbieder*

# 'n Laboratoriumondersoek na die ekotoksikologiese effek van mangaan-sink-etileen bis (ditiokarbamaat) (Mancozeb) op die erdwurm *Eisenia fetida* (Oligochaeta)

L.A. Vermeulen\* en A.J. Reinecke

Departement Soölogie, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch, 7600

## Inleiding:

'n Toename in die produksie en gebruik van plaagdoders het begin met die invoering van DDT in die vroeë 1940's. Metodes om die uitwerking van hierdie vreemde stowwe op die omgewing te bepaal, word tans wêreldwyd ontwikkel. Mancozeb is 'n ditiokarbamaat-swamdoder wat op groot skaal in Suid-Afrika gebruik word vir die behandeling van plantsiektes. Mancozeb is 'n hoogs aktiewe stof wat metaalafhanklike en sulfhidriel-ensiemstelsels inhibeer. Dit is al bewys dat een van die afbraakprodukte van die ditiokarbamate, ETU, vir een kanker geval per miljoen mense verantwoordelik is. Verder is die lot van die swaarmetale in hierdie swamdoder ook van belang. Die grondekosisteme is 'n spons vir baie van die plaagdoders en dus ook van die afbraakprodukte en swaarmetale van hierdie stowwe. Dit is dus belangrik om die effek van hierdie stowwe te bestudeer.

Erdwurms vorm een van die belangrikste komponente van dierbiomassa in hierdie ekosisteme. Erdwurms verbeter die struktuur en vrugbaarheid van hulle omgewing, maar is ook geneig om gifstowwe in hul weefsel te akkumuleer, asook om hierdie stowwe te versprei deur aktiewe uitskeiding. Dus, afgesien van hulle ekofisiologiese kenmerke, is hulle ook bruikbaar vir biomonitoring van die grondomgewing.

Die doel van hierdie studie was om die effek van normale toedienings van Mancozeb op erdwurms te kwantifiseer.

## Metodes:

### *Akute toksisiteitstoets*

Toets is uitgevoer volgens die metode aanbeveel deur die OECD-riglyn 207. Tien wurms per bak is vir 14 dae onreëlmatig aan 'n reeks konsentrasies van Mancozeb blootgestel, naamlik: 400 mg/kg tot 2000 mg/kg die konsentrasie is wat gewoonlik op gewasse toegedien word. Probitanalise is gebruik om die LD50 uit te werk en die ANOVA-toets is gebruik om die gemiddelde massa vir die wurms te analiseer.

### *Gedragstoets*

Gedragstoets is volgens erkende metode uitgevoer om te bepaal of die erdwurms die teenwoordigheid van Mancozeb kan waarneem en of dit hulle aanlok of afstoet. Gedragstoets is deur middel van die ANOVA-toets geanaliseer.

## Resultate:

### *Akute toksisiteitstoets*

'n Geleidelike toename in mortaliteit met verhoogde konsentrasie is gevind. Die 14 dag LD50 vir Mancozeb is 1262 mg/kg (95% C.I. 1138 tot 1402 mg/kg).

Gemiddelde massaverlies van wurms het ook toegeneem met verhoogde konsentrasies. Na 14 dae was daar geen statisties betekenisvolle massaverlies sedert die 7-daagse meting nie. Die massaverlies by elkeen van die konsentrasies verskil statisties betekenisvol van die kontrole (ANOVA,  $F_{1,42} = 8,83, P < 0,01$ ).

### *Gedragstoets*

In die gedragstoets het die verspreiding van die wurms in die kontrole basies dieselfde gebly. In die toetsbakke was daar 'n statisties betekenisvolle toename in die hoeveelheid wurms in die gedeelte van die medium sonder Mancozeb (A) (ANOVA,  $F_{1,18} = 256,06, P < 0,01$ , maar daar was geen verskil in reaksie van die wurms wat blootgestel was aan die twee konsentrasies Mancozeb nie (ANOVA,  $F_{2,18} = 0, P < 0,01$ ).

## Bespreking en gevolgtrekking:

Erdwurms verbeter die grond se vrugbaarheid en struktuur as gevolg van hulle verwerking van die grond. Dus, as enige toksiese stof die erdwurms nadelig beïnvloed, sal dit ook die vrugbaarheid en struktuur van die grond beïnvloed. Resultate toon dat Mancozeb by normale konsentrasies van aanwending 'n nadelige effek mag hê op erdwurmpopulasies as gevolg van abnormale sterftes en verlies in massa. 'n Nadelige effek kan dus verwag word op die grondstruktuur en vrugbaarheid in areas waar hierdie swamdoder toegedien is, indien die uitwerking blywend is en die populasie nie herstel nie.

Studies het bewys dat Mancozeb normaalweg alreeds na 15 dae begin afbreek, en na 3 maande heeltemal afbreek het. Data oor mortaliteit en massa dui daarop dat die afbraak selfs vinniger mag wees, aangesien daar na 7 dae geen statisties betekenisvolle verdere toename in mortaliteit of massaverlies was nie. Dus sal die effek wat Mancozeb op 'n erdwurmpopulasie het ook afhanklik wees van hoe lank die periode tussen bespuitings is.

Dit is nodig om ook veldeksperimente uit te voer ten einde laboratoriumresultate te staaf en te verklaar. Dit sal kan lei tot 'n beter begrip van die uitwerking van Mancozeb op erdwurmbevolkings.

\* Aanbieder

# Bewaring, benutting en bestuur van watervoëls in die Vrystaat

J.T. Marx\*

Direktoraat Natuur- en Omgewingsbewaring, Posbus 517, Bloemfontein, 9300

O.B.Kok

Departement Dierkunde, UOVS, Posbus 339, Bloemfontein, 9300

Watervoëls maak meer as die helfte (54%) van alle veerwildjagbuite in die Vrystaat uit. Tot en met 1993 kon die geelbekeend *Anas undulata*, kolgans *Alopochen aegyptiacus*, kopereend *Tadorna cana*, rooibekeend *Anas erythrorhynchus* en wildemakou *Plectropterus gambensis* sonder beperking op getalle gejag word. Gebaseer op gereelde opnames van die betrokke voëls by staatsdamme in die provinsie het die totale aantal individue egter met 66,6% (15 765 tot 5 258) gedurende die tydperk 1972/73-1986/87 afgeneem. Sedertdien is geringe bevolkingstoenames tot 1992/93 ondervind, waarna getalle weer effens gedaal het. Dit word gevolglik voorgestel dat die bepaling van benutbare veerwildsoorte jaarliks op grond van die maksimum aantal individue wat op 'n gegewe tydperk gedurende die voorafgaande jaar by staatsdamme aangetref is, onderneem word. 'n Getalsterkte van 2 000 word as afsnylimiet aanbeveel waardeur die rooibekeend as benutbare jagvoëlsoort uitgeskakel word. Ten einde die toepassing van regulasies te vergemaklik, behoort 'n daaglikse jagbuit van vier per waterwildsoort nie oorskry te word nie.

Jagbuitinligting wat direk van belanghebbendes deur middel van poskaartopnames verkry is, dui aan dat die beste en swakste voëlskuts onderskeidelik 1,1 en 8,1 skote met nr. 3-haelpatrone per gebuite voël afvuur. Vir elke voël gedood, word gemiddeld 400 loodkorrels in die natuur vrygestel. Loodbesoedeling hou egter nie tans 'n vergiftigingsgevaar vir watervoëls in nie, want loodanalises van karkasse was onbeduidend en geen voël met simptomiese afwykings is tot dusver teëgekome nie. Faktore wat waterwildbevolkings egter wel nadelig beïnvloed, sluit verkeerde voël-in-die-vlug-identifikasie voordat gevuur word in, asook die gebrek aan opgeleide jaghonde vir die opsporing van gekwete voëls, die gebruik van semi-outomatiese wapens en massajagte. Die totstandkoming van voëljagklubs waardeur opleiding van en skakeling met vlugskuts kan geskied, tesame met voorligting aan grondeienaars aangaande die opgradering van waterhabitats om tydens alle lewensfasies in die voedingsbehoefte van waterwild te voorsien, behoort

effektiewe oplossings vir sommige van die probleme te bied. Deur lewensvatbare bevolkings te vestig, kan aantreklike jagpakette, wat in 'n mate vir voëlskade kan kompenseer, aangebied word.

Toksikologiese bevindings dui daarop dat kwaadwillige vergiftiging van veerwild, hoofsaaklik deur die misbruik van landbouchemikalieë soos organofosfate, beduidende mortaliteite van watervoëlbevolkings teweeg kan bring. Met uitsondering van die kopereend is die voorafgenoemde Anatidae-soorte wel vir verliese van landbougewasse, veral mielies, verantwoordelik. By geleentheid is 873 mieliepitte (droë massa van 88,3g) in die kropen maag van 'n wildemakou aangetref, terwyl maksima van 188 en 125 onderskeidelik by geel- en rooibekeende voorgekom het. Wat sonneblomsade betref, is 'n maksimum van 643 met 'n droë massa van 34,2 g by 'n kolgans aangeteken. Indien gemiddelde waardes en getalsterkte van die betrokke voëls onder plaaslike toestande in berekening gebring word, sou sowat 42 kg mielies per dag gedurende Julie 1995 te Koppiesdam deur Anatidae-soorte verorber word. Vetinhoudbepalings van versamelde voëlarkasse het terselfdertyd aan die lig gebring dat sekere staatsdamme nie in die voedingsbehoefte van watervoëls tydens hul vereringsfasies kan voorsien nie. Eende en ganse verhongers soms tot so 'n mate dat hulle langs die water of teen lyndrade omkom. Opgradering van waterhabitats behoort in sulke gevalle spesiaal aandag te geniet.

Verskeie endoparasiete, onder andere van die genera *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*, *Plasmodium* en *Trypanosoma*, is uit bloedsmere van gemonsterde watervoëls geïdentifiseer. Paramiksovirusse is ook vir die eerste keer by geelbekeende geïsoleer. Bogenoemde bevindings, tesame met die feit dat Vrystaatse Anatidae-soorte volgens beringingsresultate uitgebreide plaaslike migrasies ondergaan, hou belangrike implikasies vir die doeltreffende bestuur van die watervoëls in.

\* *Aanbieder*

## Ontbossingseffek van territoriale swartwildebeeste

O.B. Kok\* en H.J.B. Butler

Departement Dierkunde, UOVS, Posbus 339, Bloemfontein, 9300

S.Vrahimis

Direktoraat Natuur- en Omgewingsbewing, Posbus 517, Bloemfontein, 9300

Territoriale netwerke van die swartwildebees *Connochaetes gnou* word normaalweg in oop, hoëveldse grasvlaktes onderhou. Weens die bevolkingstoename van wildebeeste in die Willem Pretorius-wildtuin, Oranje-Vrystaat, en die beperkte grootte van die reservaat, is sommige bulle klaarblyklik genoodsaak om territoria in suboptimale *Acacia karroo*-savanne te vestig. Bome binne 'n straal van 100 m vanaf die rolkol van sulke individuele territoria toon opvallende verskille in vergelyking met dié verder weg. Nie alleen is die onderste blaarllyn betekenisvol hoër nie, maar die hoogte van die ondergroei is ook betekenisvol laer. Gebreekte takke, los basstroke, skuurmerke en wildebeeshare aan die stamme het ook in 'n mindere of meerdere mate beduidend meer voorgekom. Hierteenoor is geen statisties betekenisvolle verskille met betrekking tot die kroonhoogte en -deursnee van die twee kategorieë van bome aangetref nie.

Die hoë voorkomingsfrekwensie van die verskillende parameters wat in assosiasie met *Acacia karroo*-bome binne die grense van individuele territoria van swartwildebeeste teëgekome is, tesame met die feit dat hierdie gebiede selde deur koeitroppe besoek is en dat bulle hul territoria dikwels dwarsdeur die jaar onderhou, dui aan dat territoriale eienaars waarskynlik direk by die ontbossingseffek van geïsoleerde boommensekappe betrokke is. Dit is dan ook inderdaad bevestig deur die feit dat 80% van alle jong boompies wat eksperimenteel op die rolkolle van die betrokke territoria ingeplant is binne die bestek van 48 uur feitlik vernietig is. In gevalle waar groter bome in die territoria voorkom, soek territoriale eienaars soms die skaduwees gedurende die warmste tye van die dag op. Deur middel van demonstratiewe dreigvertonings, soos om kragtig met die voorpote in die grond te krap alvorens ontlaas word, die grond al knielende met die horings te gaffel en op die grond rond te rol, word die oppervlak onder die bome mettertyd tot so 'n mate ontbloot dat vlak holtes selfs gevorm word. Die hoë voorkomingsfrekwensie van skuurmerke en lang, spesiespesifieke hare op die takke en stamme kan toegeskryf word aan lyfkosingsaktiwiteite, pogings om ektoparasiete

te verwyder en/of olfaktoriese merking waarby die preorbitale kliere betrek word. In laasgenoemde verband is dit byvoorbeeld bekend dat swartwildebeeste in gevangenskap dikwels bome en selfs medelede met afskeidings van die preorbitale kliere merk.

Aangesien swartwildebeeste oorwegend grasvreters is, kan die opvallende blaarllyn van geïsoleerde bome in die gebied nie aan voedingsaktiwiteite van die diere toegeskryf word nie. Wat die paar blaarvreters in die wildtuin betref, slegs nege kameelperde - *Giraffa camelopardalis*, 59 elande - *Taurotragus oryx* en 46 koedoes - *Tragelaphus strepsiceros*, is geen individue tydens daaglikse veldopnames gedurende die teelseisoen (Maart-April) op besette wildebeesterritoria waargeneem nie. As relatief groot herbivore met kenmerkende voedingstyle het hulle in elk geval 'n duidelik onderskeidbare weidingseffek op bome en struik. Dit wil dus voorkom asof die beskadiging van die bereikbare takke van groter bome deur territoriale bulle wat die plantegroei met hul horings gaffel, veroorsaak word, 'n verskynsel wat reeds goed bekend is by die naverwante blouwildebees *Connochaetes taurinus*. Die feit dat swartwildebeeste selde of ooit waargeneem word terwyl hulle houtagtige plantegroei met hul horings gaffel, hetsy in 'n knielende of staande posisie, hou waarskynlik verband met die relatiewe afwesigheid van geskikte plante binne die territoriale grense.

Uit die voorafgaande is dit duidelik dat territoriale bulle hul eie voorkeurhabitat aktief voorberei. As grasvreters wat aan oop grasveld voorkeur verleen, word gebiede met digte plantegroei normaalweg vermy. In gevalle waar territoria wel in savanneveld gevestig word, word gebiede met minder digte plantegroei deurgaans verkies waarna die gebied deur demonstratiewe dreigvertonings verder ontbos word. Aangesien die bulle hul territoria dwarsdeur die jaar beset, word die gras in die onmiddellike omgewing van die rolkol deur volgehoue beweidingsdruk in die kort, voorkeuroestand onderhou waardeur sigbaarheid op laer vlakke van waarneming terselfdertyd effektief verhoog word.

\* *Aanbieder*

## Aspekte van die morfologie van *Mugilicola smithae* (Copepoda)

W. Kruger\* en A. Avenant-Oldewage

Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Aucklandpark, 2006

Die genus *Mugilicola* bevat vier spesies waarvan slegs *Mugilicola smithae* tot dusver in Suider-Afrika gevind is. Hierdie vissektoparasiet is oorspronklik gevind op varswaterpalings, maar nuwe gashere, nl. harders, is gevind in die omgewing van Richardsbaai, Kwazulu-Natal. Die feit dat hierdie parasiete ver vanaf die Keiskammari-rivier (die oorspronklike lokaliteit) gevind is, het die vraag laat ontstaan of dit wel *Mugilicola smithae* is. 'n Vergelykende morfologiese studie met die spesiebeskrywing van *M. smithae* is uitgevoer en alle strukture is bestudeer. Alhoewel resultate 'n aantal nuwe eienskappe opgelewer het m.b.t. die morfologie van hierdie kopepood, het die ondersoek getoon dat die eksemplare wel *M. smithae* is.

Hierdie kopepode is versamel nadat die gashere versamel is met kieunette, sleepnette en 'n elektriese skokapparaat. Die harders is meganies verdoof en aangesien die parasiete op die kieuë voorkom, is lg. uitgedissekteer en op twee maniere bestudeer: Eksemplare is vir 24 uur gefikseer in 10% neutrale gebufferde formaldien, waarna dit vir 24 uur in lopende kraanwater gewas is, en daarna gedehidreer is na 70% etanol. Daarna is dit in 90% melksuur opgehelder en gemonteer waarna dit bestudeer is m.b.v. 'n ligmikroskoop. 'n Ligbuis is gebruik om tekeninge te maak. Ander parasiete is direk in 70% etanol geplaas en daarna gevriesdroog en met goud bestuif vir skandeer-elektronmikroskopiese studie. Mikrodisseksie is uitgevoer om verbergde strukture bloot te stel.

Resultate het die volgende getoon: Die liggaam is kleurloos behalwe vir die abdomen en eiersakke wat wit vertoon. Alhoewel geen eksterne segmentasie sigbaar is nie, is die liggaam in drie streke verdeel, nl. sefalon, nek en abdomen.

Die sefalon is baie klein en word gekenmerk deur die aanwesigheid van 'n trilobiese proses waarvan die struktuur wissel van goed ontwikkel tot amper afwesig. Sensoriese openinge kom voor op die dorsale oppervlak

van die sefalon. Anterior kom daar een paar antennules voor, en elke antennule bestaan uit drie podomere. Elke podomeer is toegegerus met 'n aantal setas wat verskil in getal en lengte. Een paar antennas, elk bestaande uit drie podomere kom voor. Die tweede podomeer van elke antena besit 'n koniese struktuur en die derde podomeer termineer in 'n klouagtige struktuur.

Die mond en geassosieerde strukture is ventraal op 'n opgehewe area geleë en bestaan uit 'n enkele koniese maksillula met twee apikale setas, twee maksillas waarvan die derde segment van elke maksilla eindig in 'n borselagtige struktuur, twee mandibels elk toegegerus met 'n enkele ry borseltjies en 'n labrum met vier dentale uitsteeksels.

Die nekstreek is baie lank, en gaan oor in die abdomen sonder dat enige eksterne segmentasie sigbaar is. Geen strukture of aanhangsels kom op die nekstreek voor nie. Die abdomen is ovaalvormig en drie paar pote kom ventraal voor. Die eerste paar pote is mediaan en die tweede en derde paar pote is meer posterior op die abdomen geleë. Pote is kenmerkende twee-assige aanhangsels. Tussen elke paar pote kom daar 'n interpodale verbinding voor. Elke podiet bestaan uit drie podomere wat toegegerus kan wees met 'n verskeidenheid van setas en penstrukture.

Die abdomen bestaan uit 'n aantal versmelte segmente en 'n posterior segment wat die uropode dra. Drie rye setas kom ventraal op die abdomen voor en 'n addisionele groep setas kom anterior tot die rye setas voor. Die oppervlak van die abdomen word gekenmerk deur die aanwesigheid van 'n groot aantal baie klein openinge. Die uropode termineer in drie setas waarvan die middelste seta korter is as die ander twee. Twee eiersakke kan vasgeheg wees.

Na aanleiding van hierdie morfologiese resultate, is besluit dat hierdie kopepood wel *Mugilicola smithae* is. Hierdie resultate werp voorts ook lig op die vashegting, aanpassing as 'n parasitiese organisme en voeding.

\* *Aanbieder*

## Mortaliteit van werweldiere in die Ramah-besproeiingskanaal

O.B. Kok

Departement Dierkunde, UOVS, Posbus 339, Bloemfontein, 9300

Die Ramah-besproeiingskanaal is aan die noordoewer van die Oranjerivier in die Vrystaat geleë. Dit strek oor 'n afstand van nagenoeg 100 km vanaf die Vanderkloofdam, waar besproeiingspersele in drie verskillende veldtipes, die Dorre en Hoër Skynkaroo asook die Skyn-Oranjerivierse

Gebroke Veld van water voorsien word. Opnames van diere wat oor 'n tydperk van twee jaar (Maart 1992 - Februarie 1994) in die kanaal beland het, is op 'n daaglikse basis deur 15 voltydse kanaallwagte oor die hele lengte van die kanaal uitgevoer. Vir doeleindes van identifikasie



en kontroliering is alle versamelde materiaal (volledige karkasse van kleiner diersoorte, maar slegs die koppe van groter soogdiere) in spesiale houers wat ter plaatse aangebring is, gestoor, waarna die inhoud maandeliks verwerk is.

Altesaam 1 319 werwelidre, wat neerkom op 'n gemiddelde syfer van 1,8 individue per dag, is gedurende die studietydperk uit die Ramah-kanaal verwyder. Sestig diersoorte was hierby betrokke, naamlik 37 soogdiere-, 15 voël- en 8 reptielsoorte. Frekwensiegewys het soogdiere meer as 80% van die totale getal diere uitgemaak, gevolg deur reptiele (15%) en voëls (2%). Wat eersgenoemde takson betref, vorm lede van die Artiodactyla (ewehoewiges) verreweg die dominante komponent. Ander ordes wat verteenwoordig is, sluit die Hyracoidea (klipdassies), Carnivora (vleisvreters), Primates (aapagtiges), Rodentia (knaagdiere), Tubulidentata (erdvarke), Lagomorpha (haasagtiges) en Insectivora (insekvreters) in volgorde van belangrikheid in. As enkele diersoort het die meeste vrektes onder steenbokke *Raphicerus campestris*, waarby feitlik ewe veel ramme en ooie ter sprake was, voorgekom. Soos verwag kan word indien wildsoorte na die kanaal gelok word om te suip, het individue oor die algemeen meer dikwels gedurende die warm somermaande (Oktober-Maart) in die kanaal beland as gedurende die winter (April-September). Dit was veral opvallend by reptielsoorte, in besonder die bergskilpad *Geochelone pardalis*. Van die sewe diersoorte waaronder die meeste vrektes teëgekome is, is dit slegs by die steenbok en blou-aap *Cercopithecus pygerythrus* waar die omgekeerde verskynsel geld. As oorwegend blaar- en vrugtevreters kan hulle waarskynlik nie genoegsame vog

uit hul dieet gedurende die relatiewe voedselskaarste van die winter verkry nie, sodat hulle hul waterbehoefes direk moet aanvul.

Die middelste gedeelte van die Ramahkanaal is in 'n ekstensiewe veeboerderygebied weg van die vloedvlakte van die Oranjerivier geleë. Nie alleen word weinig persele in hierdie gebied weens die geaardheid van die grond besproei nie, maar dit verteenwoordig ook die gedeelte van die kanaal waar die meeste probleme met wildsoorte ondervind word. Die verskynsel is veral opvallend in die geval van reptielsoorte. So byvoorbeeld is meer as 'n driekwart van alle bergskilpaaie by net drie duikgange in hierdie gebied aangetref.

Hoewel die kanaalprojek oorspronklik weens klagtes oor kommerwekkende vrektes onder skilpaaie geïnisieer is, blyk die probleem volgens verkreë inligting nie so groot te wees nie. Die feit dat bergskilpaaie hoofsaaklik by twee van die 15 bestaande duikgange in die kanaal aangetref is, dui op 'n verskynsel wat grotendeels plaaslik van aard is. Die oorlewingsvermoë van die skilpaaie is ook van so 'n aard dat nagenoeg 40% van alle individue, verreweg die hoogste syfer vir enige bepaalde diersoort, lewend uit die kanaal gehaal en weer in die veld losgelaat kon word. Bergskilpaaie kom boonop volop in die streek voor, en weens hul lewenswyse word vrektes in die kanaal slegs op 'n seisoenale basis ondervind. Die relatief groot aantal kleinere boksoorte wat oënskynlik per toeval in die besproeiingskanaal beland, sal waarskynlik ook drasties verminder kan word indien alle kanaalwagte verbied word om honde, wat vermoedelik vir jagdoeleindes aangewend word, as troeteldiere aan te hou. Globaal gesien, hou die Ramahkanaal as sodanig dus nie 'n ernstige bedreiging vir enige van die betrokke wildbevolkings in nie.

## Die effektiwiteit van spermprosesseringstegnieke en die invloed van seminale plasma op die spermbindingsvermoë aan menslike zonae pellucidae

F. le R. Fourie\*, P. Levay, J. Meintjes, C. Bezuidenhout en A. Koch  
Sentrum vir Fertilitiestudies, Departement Obstetrie en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

### Doelstellings:

- Om die effektiewe verwydering van seminale plasma (SP) deur verskillende semenprosesseringstegnieke te bepaal.
- Om die invloed spesifieke SP-konsentrasies teenwoordig in kultuurmedium op sperm-zona pellucida-binding (SZB) vas te stel deur gebruikmaking van die hemizona (HZ)-toets.

### Metodes:

- Die verwydering van SP-proteïene deur herhaaldelike

was-en-opswem van sperme is gestaak nadat geen afname in proteïenvlakke in opvolgende wasprosesse voorgekom het nie. 'n Dubbel was-en-opswem-metode is as kontrole vergelyk met die volgende eksperimentele groepe; enkel was-en-opswem, dubbellaag Percoll (36%; 81%), spermonderlegging en Spermprep-II (kommersieel). Proteïenkonsentrasie van die insemineringsmedium is na elke stap spektrofotometries bepaal.

- Oösite is vanuit menslike kadaver-ovaria verkry en deur mikromanipulering in twee identiese helftes geklief. Hemizonas van elke eiersel is gepaar om as toets en

kontrole te dien. Sperme is deur 'n dubbel was-en-opswemmetode herwin vir al die eksperimente en daarna in 'n konsentrasie van 50000/100  $\mu$ l in verskillende SP-konsentrasies gekoinkubeer met ooreenstemmende hemizona-pare. Die volgende SP-supplemente is in kultuurmedium getoets: 50% vars SP (VSP) teenoor 1% VSP; 5% VSP teenoor 5% bevrore ontdooide SP (BSP); 5% BSP teenoor 1% BSP. Die binding van sperme aan die HZ is mikroskopies op elke sfeer getel en die HZ-indeks (HZI) is bereken.

#### Resultate:

A. Alle prosesseringsmetodes het die konsentrasie SP in die inseminasiemedium verlaag tot onder 2,3% van die oorspronklike ejakulaatkonsentrasie. Die sewevoudige was het getoon dat die seminale proteïenkonsentrasie nie na die sesde waspoging verder verlaag nie ( $p > 0,05$ ). Die effektiwiteitsrangorde vir SP-verwydering deur verskillende tegnieke is as volg: dubbel was-en-opswem (0,15% van oorspronklike seminale proteïenrestant in finale medium); enkel was-en-opswem (0,2%

proteïenrestant); Percoll (0,57% proteïenrestant); spermonderlegging (0,9% proteïenrestant) en Spermprep (2,22% proteïenrestant).

B. Met die toevoeging van SP as 50% medium-supplement het die SZB verlaag ( $\approx 70\%$ ;  $p = 0,0051$ ) teenoor 1% SP-supplement wat SZB met  $\approx 350\%$  verhoog ( $p = 0,0077$ ) het. Die 5% VSP het 'n laer SZB tot gevolg as 5% BSP, maar dit verskil nie betekenisvol nie. Die 1% BSP het 'n merkbaar hoër SZB tot gevolg gehad in vergelyking met 5% BSP.

#### Gevolgtrekkings:

Die semenprosesserings-tegnieke het die SP-inhoud van die inseminasiemedium met verskillende orde-groottes verlaag. Die SP-byvoeging tot kultuur lewer 'n bifasiese konsentrasie-effek wat inhiberend in hoër konsentrasie en stimulerend in lae konsentrasie skyn te wees. Die stimulerende invloed word verder geaksentueer as die SP toegevoeg word na bevriesing-ontdooing.

\* *Aanbieder*