

## Algemene artikels en berigte

### PROEFSKRIFTE EN VERHANDELINGS

## **Die voortplantingsbiologie van *Perionyx excavatus* (Oligochaeta)**

F.A. Koegelenberg

(*Verhandeling vir die M.Sc.Agric.-graad; studieleier: prof. A.J. Reinecke; medestudieleier: dr. S.A. Reinecke*)  
Departement Soölogie, Universiteit van Stellenbosch, Privaat sak X1, Matieland, 7602

Min is bekend oor die voortplantingsbiologie van die Asiatische erdwurmspesie, *Perionyx excavatus*. Paring is nie 'n voorvereiste vir die produksie van vrugbare kokonne deur *P. excavatus* nie. Selfbevrugting en partenogenese is as moontlike voortplantingswyses waardeur individueel geïsoleerde wurms vrugbare kokonne produseer, ondersoek.

Die voortplantingstelsels van individueel geïsoleerde wurms wat in groepe aangehou is, is histologies vergelyk. Die anatomie van die geslagstsel van die wurms wat geïsoleerde kokonne geproduseer het en dié wat in groepe kokonne geproduseer het, het nie verskil nie. Die aanwesigheid van spermatozoa in die spermatekas van wurms wat in groepe aangehou is, dui op paring en 'n voortplantingswyse van kruisbevrugting. Anatomiese en sitologiese bewyse dui op 'n voortplantingswyse van selfbevrugting, alhoewel partenogenese nie finaal uitgesluit kan word nie.

Die effek van verskillende voortplantingswyses op die relatiewe aangepastheid van die nageslag van individueel geïsoleerde en groepe wurms is ondersoek. Die relatiewe aangepastheid van die wurms is bepaal deur groei- en voortplantingsdata oor 'n periode van 60 dae te versamel. Die relatiewe aangepastheid van die individueel geïsoleerde wurms in die P-generasie het nie van dié van die wurms wat in groepe aangehou is, verskil nie. Die gemiddelde ouderdom van klitellumontwikkeling, kokonproduksie en die uitbroeisukses van die kokonne van die individueel geïsoleerde wurms in die

F<sub>1</sub>-generasie was betekenisvol laer as dié van die groepe wurms. Die intelledepresswaarde van 0,49 dui daarop dat selfbevrugting nie die oorheersende voortplantingswyse is nie, en dat kruisbevrugting steeds voorkom. Die genetiese variasie van die spesie behoort hierdeur konstant gehou te word, wat andersins deur selfbevrugting verlaag sou word, soortgelyk aan die effek van inteling.

Die effek van volgehoue inteling op die relatiewe aangepastheid van die individueel geïsoleerde wurms, is ondersoek. Groei- en voortplantingsparameters is tussen vyf opeenvolgende generasies individueel geïsoleerde wurms vergelyk. Alhoewel die relatiewe aangepastheid van die wurms vanaf die P- tot die F<sub>2</sub>-generasie afgeneem het, is dit te betwyfel of dit die resultaat van inteling was, aangesien die relatiewe aangepastheid van die wurms in die F<sub>3</sub>- en F<sub>4</sub>-generasies dieselfde of beter was as dié van die wurms in die P-generasie. Die afname in die relatiewe aangepastheid van die wurms was moontlik as gevolg van 'n verskil in die omgewingstoestande tydens die P- tot F<sub>4</sub>-generasies.

*P. excavatus* is 'n funksionele hermafrodiot. 'n Voortplantingswyse van kruis- of selfbevrugting kan aangewend word, afhangende van die omstandighede waaronder 'n worm verkeer. Die vermoë van *P. excavatus* om deur 'n voortplantingswyse van selfbevrugting vrugbare kokonne te kan produseer, sal bly voortbestaan solank die relatiewe aangepastheid van die spesie nie verlaag word nie.

## **Die ultrastruktuur van sperme van die rooibok *Aepyceros melampus* (Lichtenstein, 1812) in die Nasionale Krugerwildtuin met spesiale verwysing na die invloed van koperbesoedeling**

D.J. Ackerman

(*Proefskef vir die Ph.D.-graad; promotor: prof. A.J. Reinecke*)

Departement Soölogie, Universiteit van Stellenbosch, Privaat sak X1, Matieland, 7602

Die weiding suid van Phalaborwaek in die Krugerwildtuin word waarskynlik deur 'n nabigelye kopersmeltery met koper besoedel. Van die plaasdiere in die omgewing het reeds van kopervergiftiging gevrek en die gemiddelde koperkonsentrasie in die lewers van rooibokke is abnormaal hoog.

Die moontlikheid bestaan dat die ultrastruktuur van sper-

matozoa as 'n indikator van omgewingstoestande kan dien. Om bogenoemde moontlikheid verder te ondersoek, is die doelwit van hierdie studie die volgende:

Om die ultrastruktuur van normale rooiboksperme en hulle abnormaliteite te beskryf en die spermabnormaliteite van elke proefdier te kwantifiseer en met die koperkonsentrasie in die

lewer in verband te bring, om sodoende te bepaal of daar 'n korrelasie tussen die twee veranderlikes bestaan.

Rooibokke wat maandeliks vanaf 1992.06.09 tot 1993.05.15 vir ander navorsingsprojekte in die omgewing van Phalaborwahek en Skukuza getermineer is, se sperme is vir die studie beskikbaar gestel. Die kontrolegroep het bestaan uit 20 diere wat saamgestel is uit 14 diere afkomstig van die Nwaswitshakaspuit naby Skukuza, uit 'n gebied wat nie met koper besoedel is nie, en 6 diere uit 'n groep wat oorspronklik uit dieselfde gebied gekom het, maar wat te Skukuza in aanhouding geleef het op voedsel wat nie met koper besoedel is nie. Die eksperimentele groep het uit 44 diere bestaan waarvan 32 in die omgewing van die Tshutshispruit suid van Phalaborwahek versamel is; die ander 12 diere is langs die Nwaswitshakaspuit gevang en op 'n koperbesoedelde dieet te Skukuza aangehou.

Sperme uit die epididimis van elke dier is in 'n tydelike laboratorium versamel en gefikseer. By die Elektronmikroskopie-eenheid van die Fakulteit Veeartsenykunde aan die Universiteit van Pretoria is die sperme voorberei en met behulp van skandeerelektronmikroskopie (SEM) en transmissie-elektronmikroskopie (TEM) bestudeer.

Die koperkonsentrasie in die lewer is bepaal en murgvet is versamel om die kondisie van die diere te bepaal.

Met SEM is die uitwendige morfologie van 'n normale rooiboksperm met mikrograwe gedokumenteer en die mate van die sperm bepaal. Mikrograwe van waargeneemde sperm-abnormaliteite is met SEM geneem. Persentasies is vir normale sperme en die abnormaliteite van sommige sperme van 'n kontrolegroep (gemiddelde lewerkoperkonsentrasie - GLKK = 37,9 dpm NB) bereken. Dieselfde persentasies is ook vir 'n

eksperimentele groep (GLKK = 104 dpm NB) bereken. Van die kontrolegroep het 91,6% en van die eksperimentele groep 93,6% sperme normaal vertoon. Die verskil in die persentasie spermabwykings van die twee groepe was ook van dieselfde orde. Die verhoogde koperkonsentrasie in die lewers van die eksperimentele groep het dus nie gelei tot 'n verhoging van die persentasie makro-abnormaliteite wat met SEM waargeneem is nie.

Die ultrastruktur van 'n normale rooiboksperm is met behulp van TEM beskryf en met mikrograwe gedokumenteer. Die afwykings van die spermultrastruktur is ook op mikrograwe vasgelê. Persentasies is vir die normale spermsneë en die abnormaliteite van sommige spermsneë van 'n kontrolegroep (GLKK = 33,86 dpm NB) bereken. Dieselfde persentasies is ook vir 'n eksperimentele groep (GLKK = 122,5 dpm NB) bereken. Vir die kontrolegroep was die persentasie neksneë met vakuoles = 31,5% en vir die eksperimentele groep was dié persentasie = 57,9%. Die verhoogde koperkonsentrasie in die lewers van die eksperimentele groep het dus gelei tot 'n verhoging van die persentasie neksneë met vakuoles. Rede bestaan om te glo dat die verskil van die persentasies kopsneë van die kontrole- en eksperimentele groep ook aansienlik hoer behoort te wees.

'n Grafiese analise van die TEM-data het ook getoon dat daar 'n statisties betekenisvolle korrelasie tussen die persentasie spermnekke met vakuoles en die koperkonsentrasie in die lewer van rooibokke bestaan. Die bevinding is dat hoë lewerkoperkonsentrasies 'n nadelige invloed op die ultrastruktur van die spermnek uitoefen. Die moontlikheid bestaan ook dat koperkonsentrasies in die lewer >500 dpm NB ook 'n korrelasie met sommige van die ander abnormaliteite sal toon.

## Die opname en verspreiding van geselekteerde swaar metale in die varswaterkrap *Potamonautus perlatus* (Milne Edwards), in die Eersterivier, Wes-Kaap

R.G. Snyman

(Verhandeling vir die M.Sc.Agric.-graad; studieleier: prof. J.A.J. Nel; medestudieleier: prof. A.J. Reinecke)  
Departement Soölogie, Universiteit Stellenbosch, Privaat sak XI, Matieland, 7602

'n Aantal studies oor die algemene fisiese en chemiese eienskappe van die Eersterivier, Wes-Kaap, is voorheen gedoen, maar die probleem van swaarmetaalbesoedeling is, teen 1993, nog nie aangeraak nie. 'n Studie is dus van 1993 tot 1995 onderneem om hierdie aspekte te ondersoek. Aangesien verskeie navorsers bevind het dat varswaterkrappe sekere swaar metale in hul liggamoakkumuleer en dus moontlik as monitors van omgewingsbesoedeling in terme van swaar metale kan dien, is in die huidige studie hoofsaaklik gekonsentreer op metaalkonsentrasies (Mn, Zn, Cu, Pb en Cd) in die plaaslike varswaterkrapspesie, *Potamonautus perlatus*, asook sy moontlike gebruik as biomonitor in die Eersterivier.

Twee lokaliteite in die Eersterivier is gekies om vergelykings te kan tref, naamlik 'n relatief ongekontamineerde plek in die Assegaaibosch Natuurreservaat, Jonkershoek, en 'n ooglopend besoedelde plek stroomaf van Stellenbosch, agter Stellenbosch Boerewynmakery (SBW). Krappe, water- en sedimentmonsters is seisoenaal by albei lokaliteite versamel, en metaalkonsentra-

sies daarvan deur middel van atoomabsorpsie-spektrofotometrie bepaal.

Die resultate het getoon dat die Eersterivier tot by die SBW-lokaliteit in terme van swaar metale nog relatief onbesoedel is. Dit was egter duidelik dat afloop vanaf die Stellenbosch munisipale, industriële en landbougebiede wel 'n invloed het op ander fisiese en chemiese eienskappe van die rivier. Die swaarmetaalkonsentrasies in heel krappe, weefsels en die karapaks, het getoon dat Zn-konsentrasie goed gereguleer is in *P. perlatus*-eksemplare van albei lokaliteite, Mn en Cu geakkumuleer is in eksemplare van SBW, en Pb en Cd geakkumuleer is in beide bevolkings. Kompartementalisasie van swaar metale is in *P. perlatus* waargeneem: die karapaks was die belangrikste bergingsplek van Mn, Zn en Pb, die karapaks en gonades ewe belangrik vir Cd-bergung, en die spysverteringsklier die belangrikste bergingsplek vir Cu. Terwyl dit geblyk het dat geslag in *P. perlatus* nie baie belangrik is in die opname van swaar metale nie, het krapliggaams grootte en seisoenaltiteit wel

geblyk om, tot 'n mate, 'n invloed op die opneem van swaar metale te hê. Slegs die somerpieke vir mangaankonsentrasies in heel krap, karapaks en weefsel het egter gekorreleer met pieke in omgewingskonsentrasies.

Daar is tot die gevolgtrekking gekom dat *P. perlatus* moontlik slegs 'n paslike monitor van omgewingsbesoedeling met Mn, Pb en Cd sal kan wees. Daar is egter geen waarborg dat die krapliggaam omgewingskonsentrasies akkuraat sal weerspieël nie. Daar is ook bevind dat, aangesien 'n studie van die sperm-ultrastruktur van *P. perlatus* 'n beduidend groter getal

abnormale spermselle in manlike krappe van SBW opgelewer het, en aangesien die waargenome verskille moontlik herlei kan word na metaalblootstelling, die spermsel van hierdie spesie moontlik 'n meer betroubare indikator van swaarmetaal-besoedeling kan wees. Die finale gevolgtrekking was dat meer intensiewe navorsing oor verskeie aspekte onderneem moet word, veral oor die gebruik van die spermatooson as indikator van omgewingsbesoedeling met swaar metale, en dat die resultate van die huidige studie sal kan dien as basis vir toekomstige studies.

## **Ekotoxikologiese effekte van mangaansink-ethyleenbis (ditiokarbamaat) op terrestriële Oligochaeta-ekstrapolasie vanaf die laboratorium na die veld**

L.A. Vermeulen

(Verhandeling vir die M.Sc.-graad; studieleier: prof. A.J. Reinecke; medestudieleier: dr. S.A. Reinecke)

Departement Soölogie, Universiteit van Stellenbosch, Privaat sak X1, Matieland, 7602

Plaagdoders is biologies aktief en alhoewel hulle aansienlike voordele vir die landbou inhoud, moet dit opgeweeg word teenoor die nadele wat eie is aan hul toksiese eienskappe, omvang en patroon van gebruik en die feit dat sommige persisterend in die omgewing mag wees.

Die gedrags- en fisiologiese kenmerke van erdwurms verhoog hul blootstelling aan plaagdoders of veroorsaak dat hulle 'n onvermoë het om plaagdoders te vermy. As gevolg van hul belangrikheid in grondkosisteme, moet ekotoxikologiese evaluering gedoen word om vas te stel op watter vlak van blootstelling en onder watter toestande daar waarskynlik geen risiko sal wees nie.

Ekotoxikologiese evaluering het meestal staatgemaak op die gebruik van laboratoriumondersoeke, veral die  $LC_{50}$ , en meer onlangs die subletale toetse, om vas te stel watter risiko aan die gebruik van 'n plaagdoder verbonden is. Daar is egter nog steeds meningsverskille oor hoe goed hierdie laboratoriumtoetse die effekte van plaagdoders op erdwurms in die veld sou voorspel. Die doel van hierdie studie was dus om die ekotoxikologiese effekte van mangaansink-ethyleenbis (ditiokarbamaat) (Mancozeb) op erdwurms onder laboratorium- en veldtoestande te ondersoek, sodat die geldigheid van ekstrapolasie tussen laboratorium- en veldtoetse bepaal kan word.

Die 14 dae akute toksisiteitstoetse is uitgevoer volgens metodes wat aanbeveel is deur die OECD riglyn no. 207. Vir die subletale toetse is *E. fetida* onder beheerde laboratoriumtoestande vir 'n periode van 10 weke aan konsentrasies van  $8 \text{ mg kg}^{-1}$  (aanbevole dosis) en  $44 \text{ mg kg}^{-1}$  Mancozeb blootgestel. Gedurende hierdie periode is groei, klitel-

lumontwikkeling, kokonproduksie en uitbroeisukses gemonitor. Vir die veldtoetse is 'n erdwurmpopulasie van 'n gekweekte grasperk naby aan die Eersterivier in Stellenbosch gemonitor vir verandering in getal en biomassa, na behandeling met die aanbevole toedieningskoers van Mancozeb. Hierdie studie is vanaf Oktober 1995 tot Julie 1996 uitgevoer. Gedragstoetse is ook uitgevoer om vas te stel of *E. fetida* die teenwoordigheid van Mancozeb kon waarneem en of hulle dus die gekontamineerde substraat vermy het. Analises vir die bioakkumulasie van swaar metale in Mancozeb, naamlik mangaan en sink, is met 'n Varian 1275AA Vlam Atoomabsorpsie-spektrofotometer uitgevoer.

Resultate het aangedui dat Mancozeb 'n  $LC_{50}$  van  $1262 \text{ mg kg}^{-1}$  het. Verder is gevind dat Mancozeb 'n nadelige effek op erdwurms in die veld gehad het, maar populasies kon herstel voor die aanvang van die volgende bespuitingseisoen. Mancozeb is gevolglik geklassifiseer as van 'n lae risiko vir erdwurms. Nog sink, nog mangaan is egter na blootstelling aan Mancozeb deur die erdwurms gekonsentreer. Die toediening van dié swamddoder behoort dus geen risiko van biovermenigvuldiging in die voedselketting in te hou nie. Die nadelige effekte wat waargeneem is, blyk die gevolg van 'n tekort aan sink en/of mangaan te wees, maar vereis verdere onderzoek.

Die gevolgtrekking is gemaak dat om ekstrapolasie tussen die laboratorium en die veld toe te laat, 'n uitgebreide databasis van sulke korrelasies nodig is. Waar dit moontlik is, behoort daar egter van laboratorium- en veldtoetse in kombinasie gebruik gemaak te word, omdat dit saam die beste verklaring behoort te bied vir die effek van plaagdoders op erdwurms.

# Die stabilitet van stysel- en proteïenbaseerde souse gesteriliseer met ioniserende strale

C. Erasmus

(Verhandeling vir die M.Sc.Agric.-graad; studieleier: prof. J.R.N. Taylor; medestudieleiers: drs. A. Minnaar en I.A.G. Weinert)

Departement Voedselwetenskap, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

Voorafbereide vleis-en-sous-produkte kan gesteriliseer word deur gebruik te maak van gammabestraling om sodoende rakstabiele produkte te produseer waarvan die raklike minstens twee jaar is. Gammabestraling beïnvloed die kwaliteit van hierdie produkte as gevolg van sekere bestralingsgeïnduseerde chemiese reaksies wat in die produk plaasvind. Die stabilitet van die bestraalde souse in die produkte word baie nadelig deur hierdie reaksies beïnvloed en dit wil voorkom asof 'n stabiele sous nie gesiformuleer kan word deur gebruik te maak van tradisionele sousrecepte (verdik met stysel) nie. Die sensoriese kwaliteit van vleis word grootliks verbeter deur die byvoeging van sous en 'n bchoefte bestaan vir die bepaling van die faktore wat die stabilitet van die stysel of ander verdikkers (proteïenbaseerde) beïnvloed, ten einde 'n bestralingstabiele sous te kan formuleer. In hierdie ondersoek is die eienskappe en reaksies van 'n gemodifiseerde mieliesstysel- en 'n ertjieproteienverdikker ondersoek. Hierdie verdikkers is in souse gebruik wat gesteriliseer is deur van gammastrale gebruik te maak. Die ertjieproteienverdikker is uit 'n verskeidenheid proteienverdikkers na vooraftoetsing geselekteer. Die primêre doel van die ondersoek was om die fisiese, chemiese en mikroskopiese eienskappe van stysel- en proteienverdikkers in gesteriliseerde bestraalde souse met mekaar te vergelyk asook die reaksies wat tydens opberging voorkom. Die sekondêre doelwit was om die effek van die sousbestanddele, wat nie die verdikker insluit nie, op die stabilitet van die bestraalde souse te bepaal. Proteien- en styselsuspensies en -souse is by 'n dosis van 45 kGy bestraal (voor bestraling is die souse tot -40 °C bevries). Die souse is voorafberei en verpak in bestralingsgeskikte gelamineerde sakkies wat vakuum verseël is. Na bestraling is die souse vir twee weke by 40 °C geinkubeer om mikrobiologiese stabilitet te toets. Die produkte is na inkubasie vir 32 weke by kamertemperatuur opgeberg.

'n Kontrolemonster wat al die bestanddele behalwe die verdikker bevat het, is ook getoets. Analises is uitgevoer na bevriesing, bestraling en inkubasie en gedurende opberging (vier weke intervalle). Analises wat uitgevoer is, sluit in: viskositeit, L<sub>a,b</sub> kleur, pH, vry suurheid, malonaldehyd, totale karbonielkomponente, ligmikroskopie en partikelgrootte-analise (beeldanalise).

Die viskositeit van die proteiensous het gedurende opberging konstant gebly, terwyl die viskositeit van die styselsous en styselsuspensie afgeneem het. Die viskositeit van die styselsous het vinniger afgeneem (na slegs 12 weke opberging) gedurende opberging as die viskositeit van die styselsuspensie (na 28 weke

opberging). Die opbreking van gegelatiniseerde styselkorrels was duidelik sigbaar op jodium-gekleurde monsters wat m.b.v. ligmikroskopie geëvalueer is. Die afname in viskositeit na bestraling het gepaardgegaan met 'n toename in die hoeveelheid malonaldehyd en karbonielprodukte geproduseer, asook 'n toename in die hoeveelheid vry sulfer. Die hoeveelheid malonaldehyd het egter weer tydens opberging afgeneem, waarskynlik omdat malonaldehyd 'n onstabiele produk is wat vinnig met ander produkte reageer. Die hoeveelheid karbonielkomponente en vry sulfer was meer in die styselsous as in die styselsuspensie. Die produksie van malonaldehyd, karbonielkomponente en vry sulfer was 'n indikasie van styseldepolimerisasie in die styselsous en -suspensie. Die olie in die styselsous het bygedra tot die produksie van malonaldehyd en vry sulfer. 'n Afname in die partikelgrootte van die styselfragmente is tydens opberging waargeneem.

Die proteiensuspensie het na bestraling gekoaguleer, terwyl die proteiensous glad gebly het. Die byvoeging van tetratriumpirofosfaat en laktose (d.m.v. byvoeging van poeiermelk) in die souse het waarskynlik die koagulering verhoed en sodoende die sous gestabiliseer. 'n Toename in die partikelgrootte van die proteienfragmente in die proteiensuspensie is tydens opberging waargeneem. Die toename in die hoeveelheid malonaldehyd en karbonielkomponente wat in die proteiensous direk na bestraling voorgekom het, kan toegeskryf word aan die voorkoms van olie in die produk, aangesien soortgelyke toenames nie in die proteiensuspensie voorgekom het nie. Die proteiensuspensie het nie olie bevat nie. Bruin verkleuring het in die proteiensous, styselsous en kontrole voorgekom, maar nie in die suspensies nie. Die bruin verkleuring was waarskynlik die gevolg van Maillardreaksies in die produkte.

As 'n algemene gevolgtrekking kan gesê word dat alhoewel bevriesing van produktes voor en tydens bestraling die voorkoms van bestralingsgeïnduseerde reaksies tot 'n groot mate verhoed en sodoende die produk stabiliseer, kan die stabilitet van verdikte souse nie verseker word nie. Die sousbestanddele het ook 'n verdere negatiewe invloed op die stabilitet van 'n styselverdikker gehad, omdat die styselsous vinniger as die styselsuspensie gedestabiliseer het. Die gebruik van stysel as 'n verdikker in die formulering van bestralingstabiele souse word dus nie aanbeveel nie. Daarenteen word die stabilitet van ertjieproteien minder nadelig deur bestraling beïnvloed en kan dit gebruik word ten einde 'n stabiele verdikkingseffek in rakstabiele bestraalde produktes te verseker.

## Behandeling van vesel om bruinbroodkwaliteit te verbeter

E.M. Nelles

(*Verhandeling vir die M.Sc.Agric.-graad; studieleier: prof. J.R.N. Taylor; medestudieleier: dr. P.G. Randall*)

Departement Voedselwetenskap, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

Dit is alombekend dat semels 'n negatiewe effek op bruinbroodkwaliteit het. In Suid-Afrika word bruinbroodmeel geproduseer deur die terugvoeging van semels in witbroodmeel. Hierdie terugvoeging van semels het 'n ondersoek na die effek van semelbehandelings en semeltypes op bruinbroodkwaliteit geïnisieer. Die hoofdoelwit van die projek was om eenvoudige semelbehandelings se effek op bruinbroodkwaliteit te ondersoek. Hierdie eenvoudige semelbehandelings het ten doel gehad om negatiewe effekte van semelbyvoeging, soos 'n verlies in broodvolume en 'n digte krummelstruktur, te verlig. 'n Sekondêre doelwit van die projek was om te bepaal of verskillende semelsoorte (kultivars) bruinbroodkwaliteit verskillend beïnvloed.

Vier verskillende semelsoorte, waarvan drie suwer kultivars was, is gebruik om drie semelbehandelings se effekte op bruinbroodbakkwaliteit te ondersoek. Bakkwaliteit het ingesluit: degecienskappe, broodvolume, broodhoogte, broodfermheid en krummelstruktur. Drie verskillende semelbehandelings is benut: hidrasie, nat hitte en nat oksidasie. Al die behandelings is gekenmerk deur die hidrasie van die semels voor die byvoeging daarvan tot die ander bruinbroodbestanddele. Die nathittebehandeling het die hidrasie van semels in kookwater behels, terwyl die natoksidasiebehandeling die hidrasie van semels in suurstofverrykte water behels het. Die effek van die semelbehandelings en semelsoorte op semelensiemaktiwiteite van lipase, lipoksgenase en hidroperoksied-isomerasie, asook die hoeveelheid potensiële oksideerbare stowwe (POS) in die semels is bepaal.

Al die semelbehandelings het die bruinbroodkwaliteit betekenisvol verbeter en groter, sagter brode tot gevolg gehad. Al die behandelings het die optimum waterabsorpsie van die

bruinbroodmeelkomponente met een persent verhoog. Die semelbehandelings blyk die effek te hê van verbeterde hidrasie van alle bruinbroodmeelkomponente ongeag hul hidrasietempo's. Die nathittebehandeling het die bruinbroodkwaliteit die minste verbeter, terwyl die hidrasie- en natoksidasiebehandelings dit die meeste verbeter het. Die natoksidasiebehandeling was vir alle semelsoorte die konsekwentste in sy verbetering van bruinbroodkwaliteit. Die bakkwaliteit van die behandelde semels het omgekeerd eweredig gekorellyer met die behandelde semels se POS-inhoud. Daar word voorgestel dat die oksidasie van POS (bv. gereduseerde glutatioon en polionversadigde vry vetsure) bydrae tot beter disulfiedbinding en sodoende sterker deeg. Die semelbehandelings het egter nie die krummelstruktur van bruinbrood betekenisvol beïnvloed nie. Die verskillende semelsoorte het betekenisvolle verskille in bruinbroodbakkwaliteit tot gevolg gehad. Ensiemaktiwiteit van die verskillende soorte semels het egter nie korrelasie getoon met bakkwaliteit nie. Waterretensievermoëns, bakkwaliteit en krummelstruktur van die verskillende soorte semels het goeie korrelasie getoon. Die deeg se waterabsorpsie was grootliks deur die semelsoort beïnvloed, wat impliseer dat semelsamestelling en die gevolglike hidrasie van semelkomponente moontlik verantwoordelik kan wees vir die verskille in bakkwaliteit deur die semelsoorte geillustreer.

Hierdie semelbehandelings het potensiële toepassingsmoontlikhede in die Suid-Afrikaanse bakbedryf waar 'n klein aanpassing in die mengproses beter bruinbroodkwaliteit tot gevolg kan hê. Kennis van die bakkwaliteit van verskillende semeltypes mag 'n positiewe impak op die Suid-Afrikaanse maale- en bakbedrywe hê as dit benut word om semels te selekteer wat bruinbroodkwaliteit positiief beïnvloed.

## Karakterisering van die oorspronklike en gemodifiseerde vorms van die *Lr19*-translokasie van koring

R. Prins

(*Proefskrif vir die Ph.D.Agric.(Genetika)-graad; studieleier: prof. G.F. Marais*)

Departement Genetika, Universiteit van Stellenbosch, J.S. Maraisgebou, Victoriastraat, Stellenbosch, 7600

Die *Thinopyrum ponticum*-verhaalde (T4 of "Agatha") *Lr19*-translokasie is 'n uitstekende bron van blaarroesweerstand van gewone koring. 'n Soortgelyke *Lr19*-translokasie kom in die kiemlyn "Indis" voor, waarvan aanvanklik geglo is dat dit verhaal is van *Th. distichum* en dat dit homoloog is aan die T4-translokasie. Sedertdien is egter aangetoon dat die "Indis"-translokasie in werklikheid die T4-translokasie is. In baie lande kan *Lr19* ongelukkig nie benut word vir die teel van broodkoring nie, aangesien die *Thinopyrum*-verhaalde segment ook 'n

geen(e) dra wat kodeer vir geelendosperm-pigmentasie. 'n Aantal gemodifiseerde en vermeende gemodifiseerde vorms van *Lr19*, waarvan baie nie die geelpigmentgeen dra nie, is vantevore vanaf beide bronne deur mutagens-behandeling of geïnduseerde homoloë rekombinasie tussen die getranslokeerde segment en homoloë koringchromatien, verhaal. Die volgorde van verskeie gene op die *Lr19*-translokasie was reeds as volg bepaal: sentromeer - *Sdl* - *Lr19* - *Wsp-D1* - *Sr25/Y*. Die yl fisiese kaart het nie toegelaat vir die bevestiging en karakterisering van baie van

die gemodifiseerde vorms nie en daar is dus 'n poging aangewend om verdere merkers op die translokasie te karteer. Daar is getoon dat die segregasiedistorsielokus, *Sdl*, voorkeur-oorerwing van die translokasie in heterosigote tot gevolg het. Gemodifiseerde vorms, wat klaarblyklik *Sdl* verloor het, toon nog steeds segregasiedistorsie, al is dit 'n veranderde effek. Segregasiedistorsie word as ongewens beskou aangesien dit pogings om vir weerstand in teelprogramme te selekteer, bemoeilik. Die gametosiedsisteem kan ook 'n mutageniese effek in heterosigote hê wat ongewens in teling is. Nege-en-twintig lyne met delesies in die "Indis" *Lr19*-getranslokeerde segment is gebruik om 'n aantal *Thinopyrum* RFLP-lokusse, asook *Sr25* en *Sdl*, fisies te karteer. Die relatiewe ligging van merkerlokusse is as volg op die translokasie bepaal: sentromer - *Sdl* - *Xpsr165* - *Xpsr105* - *Xpsr129* - *XcsIH81-1* - *Xwg380* - *Xmwg2062* - *Lr19* - *Wsp-D1* - *Sr25/Y*. Die data bevestig die gerapporteerde homoëologie tussen die *Lr19*-segment en chromosoomarm 7DL van koring. Die gebruik van RFLP-merkers wys dat die "Indis" *Lr19*-translokasie nie vanaf *Th. distichum* afkomstig is nie, maar dat dit identies is aan die *Th. ponticum*-verhaalde T4-translokasie. Agt vermeende rekombinante van die translokasie in "Indis" is gekarakteriseer met die gekarteerde merkerlokusse. Naby-isogeniese lyne van hierdie segmente is in verskillende koringagtergronde ontwikkel en met 'n reeks blaarroespatotipes getoets om die teenwoordigheid van *Lr19* te bevestig. Dit wil voorkom asof slegs een van die vier vermoedelike witendospermrekombinante, 88M22-149 (*Lr19-149*), 'n ware *Lr19*-rekombinant is en dat die oorsprong van die weerstandsgeen in die ander drie seleksies onbekend is. Monosomiese analises het aangetoon dat hierdie onbekende geen op chromosoom 6B geleë is. RFLP-analise het die verplasing van die getranslokeerde segment in *Lr19-149* na chromosoom 7BL bevestig. Die fisiese delesiekaart het dit moontlik gemaak om die gerekombineerde en gemuteerde vorms van die *Lr19*-translokasie in "Agatha"

molekulêr te karakteriseer. Die kortste *Thinopyrum*-fragment is op chromosoomarm 7DL van "Transfer 10" gevind. "Transfer 10" kan nuttig wees in pogings om *Lr19-149* verder te verkort. Die verskillende chromosoomliggings van die twee translokasies sal egter sulke pogings bemoeilik. 'n *Thinopyrum*-spesifieke kloon, pLeUCD2, en 'n aantal gars- en hawerpeilers is ook getoets vir moontlike gebruik in die kartering van die *Lr19*-translokasie, maar het swak resultate opgelewer. Die oorspronklike *Lr19*-translokasie toon bestendige voorkeur-oorerwing in heterosigote en die grootte van die effek varieer afhangend van die genetiese agtergrond van matig tot baie sterk. Die segregasiedistorsie veroorsaak deur die gewysigde en verskeie vermeende gewysigde vorms het gewissel van self-eliminering tot voorkeur-oorerwing. *Lr19-149* het die *Sdl*-geen verloor en toon gereeld sterk self-eliminering as gevolg van die teenwoordigheid van 'n tweede segregasiedistorsie-lokus (*Sd2*). Meer merkers is egter nodig om *Sd2* te karteer. 'n Studie van die gametosiedresponsie wat deur die *Lr19*-translokasie ontlok word, duï daarop dat dit baie kompleks is. Die gametosied-responsie van drie van die *Lr19*-vorms is sterk deur die genetiese agtergrond van die hibried beïnvloed en het 'n poligeniese basis. Responsie-allele uit "Inia 66" en "Indis" (chromosome 2A, 2B, 3B, 5B, 5D en 6D) wissel skynbaar in hul effekte van gedeeltelik dominant tot oordominant ten opsigte van die "Chinese Spring" verhaalde allele. Die dominante alleel kan die respons versterk of verswak, afhangend van die interaksie daarvan met ander agtergrondsgene en die kombinasie van *Sd*-gene op die translokasie. Dit wil voorkom asof die responsiegene nie kompenseer vir die afwesigheid van 'n homoloog in 'n hemisigoot nie, aangesien hemisigote dikwels effekte het wat baie verskillend is van beide dié van homo- en heterosigote. Dit is moontlik dat alle responsiegene nie opgespoor is met die spesifieke genotipes wat bestudeer is nie en dat die gebruik van 'n ander stel genotipes dalk verdere responsiegene sal blootlê.

## Transkripsionele en translasionele inisiasie van die glukoamilase- en mukingene in *Saccharomyces cerevisiae*

M.A. Vivier

(Proefskrif vir die Ph.D.-graad; promotor: prof. I.S. Pretorius)

Instituut vir Wynbiotecnologie en Departement Mikrobiologie, Universiteit van Stellenbosch, Privaat sak X1, Matieland, 7602

Die gis *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* (voorheen *S. diastaticus* genoem) kan stysel benut as gevolg van die teenwoordigheid van enige van drie swaar geglikosileerde, ekstrasellulêre glukoamilases, Sta1p, Sta2p of Sta3p (ook bekend as GAI, GAI<sub>I</sub> of GAI<sub>III</sub>). Drie polimeriese gene, *STA1* (chr. IV), *STA2* (chr. II) en *STA3* (chr. XIV) kodeer vir bogenoemde isosieme, waarvan slegs een voldoende is om stysel te hidroliseer deur die vrystelling van enkel glukose-residu's vanaf die nie-reducerende punt van die styselpolimeer. Alhoewel hierdie gene in *S. cerevisiae* afwesig is, kom 'n verwante geen, *SGA1* (chr. IX), wat vir 'n intrasellulêre, sporulasiespesifieke glukoamilase, Sga1p kodeer, in beide *S. cerevisiae* en *S. cerevisiae* var. *diastaticus* voor. Twee kriptiese sekwense, *S1*

en *S2*, is homoloog aan die 5'-gebiede van die *STA1-3*-gene en beide is op chr. IX gekarteer. Die klonering en DNA-volgordebepaling van fragmente wat *S1* en *S2* insluit, het getoon dat hierdie sekwense deel vorm van een geen wat onlangs gekloneer en *MUC1* genoem is. Homoloë gedeeltes in die *STA1-3*- en *MUC1*-gene sluit bykans identiese promotorsekwense, identiese hidrofobiese inleierpeptiede, sowel as 'n treonien- en serienryke gebied in. Die Sta1-3p bestaan verder uit 'n katalytiese domein wat vir glukoamilase-aktiwiteit verantwoordelik is; Muc1p bestaan weer uit verskeie herhalende sekwensies wat ryk is aan treonien-, serien- en prolienresidu's in die sentrale gedeelte van die proteïen, asook 'n membraan-oorbruggingsdomein aan die C-terminus van die proteïen. Muc1p deel

weliswaar uitgebreide homologie met menslike membraangebonde mukinproteïene en gis-flokkulasieproteïene. Opvolgende ontleidings het getoon dat die *MUC1*- en *STA1-3*-gene op die transkripsionele vlak gekoreguleerd is deur twee aktiveerders wat deur *MSS10* en *MSS11* gekodeer is. Alhoewel Muc1p gekoreguleerd met die glukoamilases is, is dit ten opsigte van funksie verwyderd deurdat dit onontbeerlik vir pseudohifevorming, selaggregasie, sowel as die penetrerende groeiwyse van *S. cerevisiae* is. Hierdie interessante koppeling tussen die ooglopend uiteenlopende prosesse van styselhidrolise en seldifferensiasie wat by pseudohifevorming betrokke is, voorsien 'n uitstekende toetsysteem om geïntegreerde kontrole te bestudeer.

Die oorkoepelende oogmerk in hierdie studie was die ontleiding van die funksionele kernpromotorelemente en translasionele aanvangsmeganismes van die *STA1-3*- en *MUC1*-gene, en ook om fundamentele insig oor die koregulering van hierdie gene te verkry. Dié gene, tesame met slegs 10% van alle eukariotiese gene, bevat veelvuldige translasie-aanvangsetels in hul transkripte. In die *STA1-3*- en *MUC1*-gene is daar 'n moontlike stroomop oopleesraam, terwyl die *STA1-3*-gene boonop twee inleesraam AUG-kodons aan die 5'-kant van die prominente sistron bevat. Die spesifieke oogmerke van die huidige studie sluit in: (i) die bepaling van die funksionele rol (indien enige) van die stroomop oopleesraam in die uitdrukking van die *STA1-3*- en *MUC1*-gene; (ii) die bepaling van die uitwerking van die veelvuldige AUG's op translasie van die *STA2*-transkrip en die sekresie van die gekodeerde produkte; (iii) die identifisering van die funksionele TATA-element van hierdie gene en (iv) 'n loodsstudie om die rol van glikosilering op die struktuur en/of funksie van die glukoamilases en mukinagtige proteïene te bepaal. Mutante met mutasies en/of delesies in elkeen of beide AUG's, is gebruik om die funksionele relevansie van veelvuldige AUG-kodons op translasionele inisiasie van die glukoamilase-transkripte te bepaal. Hierdie studie toon dat die alternatiewelike gebruik van die translasionele aanvangsetels lei tot die produksie van glukoamilase-proteïene met verskillende N-terminusse wat vervolgens lokalisasieverkille vertoon. Mutantstudies dui op die teenwoordigheid van 'n unieke sekresie-bevorderingsein, 'n bevinding wat moontlik belangrik kan wees vir die andersoortige proteïensorteringsmeganisme(s) wat onlangs in *S. cerevisiae* opgemerk is. Suiwering van die wilde-tipe Sta2p het geleid tot die identifisering van twee proteïenspesies, waarvan een by aminosuur +22 (prominenste fraksie) en 'n ander by aminosuur +1 begin, wat

dui op die teenwoordigheid van twee seinsekswense (sein I en sein II) of die teenwoordigheid van een lang seinsekvens wat beide sein I en sein II insluit. Die gevolgtrekking is dat die twee seine of teen verskillende tempo's proteïene teiken of alternatiewe teikenmeganismes of -paaie gebruik. Daar word ook daarop gewys dat die stroomop oopleesraam in die transkripte van die *STA1-3*- en *MUC1*-gene geen rol vervul in die regulering van translasie of andersins van hierdie gene nie en dat die skanderende ribosoom bo-oor hierdie stroomop ATG "lees". In 'n studie waar transkripsionele inisiasie geforseer is na 'n enkele setel deur die sterk *MAL6S*-promotor (met 'n eie TATA-element en 'n enkele transkripsie-aanvangsetel) te gebruik, is aangetoon dat transkripte met langer onvertaalde inleiergedeeltes meer stabiel is en tot meer effektiewe translasic lei.

'n Moontlike TATA-element wat ooreenstem met die konsensus-TATA-sekwens, nl. TATAAA, kom in beide die *STA1-3*- en *MUC1*-gene voor, terwyl die *STA1-3*-gene ook 'n moontlike element met die sekwens TATAAT bevat. In 'n poging om die funksionaliteit van hierdie TATA-sekwense uit te lig, is delesiementante geskep wat mutasies in elke TATA-element afsonderlik en in kombinasie bevat. Dié studie toon dat die TATAAA-element die funksionele TATA-setel vir *STA2* is en dat hierdie element transkriplakkie, transkripsie-aanvangsetels en glukoamilase-aktiwiteite moduleer, terwyl die TATAAT-element funksioneel oorbodig blyk te wees.

Een van die gedeelde strukturele kenmerke tussen *STA1-3*p en Muc1p is 'n domein ryk aan treonien- en serienresidu's wat veelvuldige moontlike O-glikosileringsetels bevat en 'n voorlopige ondersoek na die moontlike rolle van die O- en N-gekoppelde suikers van hierdie proteïene is geloods. Ensimatisiese deglikosileringreaksies is met glukoamilase-aktiwiteitstudies gekoppel en het getoon dat N-gekoppelde suikers hoofsaaklik die aktiwiteit van Sta2p beïnvloed, terwyl die O-gekoppelde suikers meestal die strukturele integriteit van die proteïen bepaal.

In sy geheel werp hierdie studie lig op die sekwense in die bykans identiese promotores van die *STA1-3*- en *MUC1*-gene wat betrokke is by transkripsionele en translasionele inisiasie van hierdie gekoreguleerde gene. Hierdie kennis sal die verwoording en interpretasie van studies gemik op koregulasie van die glukoamilase- en mukingene vergemaklik, sowel as die ontrafeling van die funksie(s) en posisies van die *MSS10*p en *MSS11*p in die seintransduksiepad wat pseudohife-ontwikkeling reguleer, aanhelp.

## Klonering, karakterisering en uitdrukking van sellulasegene in *Saccharomyces cerevisiae*

P. van Rensburg

(Proefskrif vir die Ph.D.-graad; promotor: prof. J.S. Pretorius; medepromotor: prof. W.H. van Zyl)

Instituut vir Wynbiotegnologie en Departement Mikrobiologie, Universiteit van Stellenbosch, Privaat sak XI, Maticland, 7602

Sellulose, ingebied in 'n matriks van hemisellulose, lignien en pektien, is verreweg die volopste koolhidraat in plantbiomassa. Hierdie biopolimere kan dus as belangrike hernubare bronse vir die produksie van voedsel, brandstof en chemikaliele beskou word. Sellulose bestaan uit herhalende glukose-eenhede wat met

(-1,4-glikosidiese bindings gekoppel is. Die individuele molekules word met behulp van waterstofbindings aanmekaar geheg en vorm sodoende kristallyne vesels. Mikrobiese benutting van hierdie kristallyne sellulose word teweeg gebring deur sellulases, 'n groep ensieme wat as multikomponent-

komplekse voorkom. Hierdie ensiemkomplekse bestaan dikwels uit endoglukanases, eksoglukanases (sellobiohidrolases) en sellobiases ('n lid van die  $\beta$ -glukosidases). Sellulasekomponente funksioneer stapsgewys, maar kan sinergisties meewerk ten einde doeltreffender afbraak van sellulose te bewerkstellig. Die hoofeindproduk van gesamentlike endoglukanase- en sellobiohidrolase-aktiwiteit is sellobiose. Sellobiose word dan verder deur  $\beta$ -glukosidases tot glukose gehidroliseer.

Die gis *Saccharomyces cerevisiae* word algemeen gebruik vir die produksie van enkelseelproteïen (as voedsel- en voeraanvulling) en etanol (as drinkbare alkohol en brandstofaanvulling) vanaf fermenteerbare suikers. Alhoewel *S. cerevisiae* 'n selwand-gebonde endo- $\beta$ -1,3-glukanase en ekstrasellulêre ekso- $\beta$ -1,3-glukanases produseer, kan hierdie organisme nie die volop energiereserves teenwoordig in sellulose benut nie. Die uitdrukking van aanvullende heteroloë sellulasegene in *S. cerevisiae* sal 'n direkte censtap-biometting van selluloseryke materiaal na kommersieel belangrike produkte moontlik maak. Verder kan glukanolitiese *S. cerevisiae*-rasse 'n baie belangrike rol in die produksie en prosessering van alkoholiese dranke speel. Wyne wat van skimmelgeïnfekteerde druwe berei word, veroorsaak dikwels probleme met die verheldering en filtreerbaarheid van druiewemos. Hierdie probleme is direk te wyte aan die teenwoordigheid van 'n hoë molekulêre massa polisakkaried,  $\beta$ -1,3-1,6-glukaan, wat deur die vaalvrotswam *Botrytis cinerea* uitgeskei word. Dié glukosepolimeer word in die druiewesap vrygestel en beland dan in die wyn. Die glukaan voorkom die normale afsak van newelvormende partikels in die druiewemos, wat dan die filters laat verstop. Die glukane in bier kan op 'n soortgelyke manier filtrering belemmer; 'n té hoë glukaninhoud in bier kan tot presipitaatvorming lei. Op soortgelyke wyse kan die glukane in graanvoer nadelige newe-efekte op pluimveehê; henne lê byvoorbeeld eiers met misbesmeerde doppe. Die doel van hierdie studie was om geenuitdrukking en proteïenuitskeiding in giste te bestudeer deur die invloeding van sellulasekoderende gene afkomstig van *Bacillus subtilis*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Ruminococcus flavefaciens* en *Endomyces fibuliger* in laboratoriumrasse van *S. cerevisiae*. Gene wat vir twee endoglukanases, twee eksoglukanases, 'n sellodektrinase en 'n  $\beta$ -glukosidase (sellobiase) kodeer, is gekloneer en is alsonderlik en gesamentlik in *S. cerevisiae* uitgedruk. *B. subtilis* se endo- $\beta$ -1,3-1,4-glukanasegene (*begI*) en *B. fibrisolvens* se endo- $\beta$ -1,4-glukanasegene (*endlI*) is in leesraam aan die sekresieein van die gisferomon- $\alpha$ -faktor ( $MF(1_s)$ ) gekoppel en tussen die gisalkoholchidrogenase II se geenpromotor ( $ADH2_p$ ) en termineringsein ( $ADH2_r$ )

ingevoeg. Hierdie  $ADH2_p$ - $MF\alpha 1_s$ -*begI*- $ADH2_r$ - en  $ADH2_p$ - $MF\alpha 1_s$ -*endlI*- $ADH2_r$ -konstrukte is onderskeidelik *BEG1* en *END1* genoem. Die vernaamste *S. cerevisiae*-ekso- $\beta$ -1,3-glukanasegeen (*EXG1*) is uit 'n genoombiblioek gekloneer, terwyl *P. chrysosporium* se sellobiohidrolasegeen (*CBH1-4*) gekloneer is deur 'n kopie-deoksiribonukleïnsuur (cDNA) vanaf die transkriptemplaat te sintetiseer en vervolgens met behulp van die polimerasekettingreaksie (PKR)-tegniek te amplifiseer. Dié PKR-produk is tussen fosfogliseraatkinaas I se geenpromotor ( $PGK1_p$ ) en geentermineerde ( $PGK1_r$ ) van *S. cerevisiae* ingevoeg. Die  $PGK1_p$ -*CBH1-4*- $PGK1_r$ -konstrukt is *CBH1* genoem. *R. flavefaciens* se sellodektrinasegeen (*celA*) is aan  $MF\alpha 1_s$  gekoppel en tussen die gisalkoholchidrogenase I se geenpromotor ( $ADH1_p$ ) en die giscriptofaansintasegeen se termineerde ( $TRP5_r$ ) ingevoeg. Die konstrukt,  $ADH1_p$ - $MF\alpha 1_s$ -*celA*-*TRP5\_r*, is *CELI* genoem. *E. fibuliger* se  $\beta$ -glukosidasegeen (sellobiasegeen) (*BGL1*) is uit 'n genoombiblioek gekloneer en gekarakteriseer.

Al dié konstrukte (*BEG1*, *END1*, *EXG1*, *CBH1*, *CELI* en *BGL1*) is suksesvol in laboratoriumrasse van *S. cerevisiae* uitgedruk. RNA:DNA-hibridisasie is gebruik om die uitdrukking van hierdie geenkonstrukte te ontleed. Uitdrukking van die bakteriese (*BEG1*, *END1* en *CELI*) en fungiese (*CBH1*) geenkonstrukte in *S. cerevisiae* is deur middel van 'n gispromotor (*ADH1\_p*, *ADH2\_p* en *PGK1\_p*) en termineerde (*ADH2\_r*, *PGK1\_r* en *TRP5\_r*) bewerkstellig, terwyl die uitdrukking van die twee gisgeenkonstrukte (*EXG1* en *BGL1*) nie 'n vervanging van hulle natuurlike promotor- en termineerde-sekvensies benodig nie. Uitskeiding van die bakteriese proteïene (Beg1p, End1p en Cel1p) in *S. cerevisiae* is deur  $MF\alpha 1_s$  bemiddel, terwyl die natuurlike fungiese (Cbh1p) en gis- (Exg1p en Bgl1p) proteïene seuitskeiding in *S. cerevisiae* deur hul natuurlike sekresieeine bewerkstellig is.

Verskillende kombinasies van hierdie konstrukte is gesamentlik in multikopie episomale plasmide gekloneer en in *fur1::LEU2* outoselektiewe rasse van *S. cerevisiae* getransformeerd. Drie sellulolitiese rasse van *S. cerevisiae* is gekonstrueer en met mekaar vergelyk. Die eerste gisras bevat die *END1*- en *CBH1*-konstrukte. Benewens die ooruitdrukking van *EXG1*, bevat die tweede ras ook die *BEG1*- en *END1*-konstrukte. Die derde *S. cerevisiae*-ras, bevattende *END1*, *CBH1*, *CELI* en *BGL1*, het sellulose die effektiefste gemetaboliseer en bevestig dat sellulases sinergisties en stapsgewys funksioneer. Hierdie studie het die weg gebaan vir die konstruering van selluloseafbrekende industriële rasse van *S. cerevisiae* wat in die brandstof-, voedsel-, voer- en drinkbare alkoholbedrywe gebruik kan word.