



UNIVERSITEIT VAN PRETORIA
UNIVERSITY OF PRETORIA
YUNIBESITHI YA PRETORIA

**Aspekte van die kiemingsgedrag en fynstruktuur van
Encephalartos-stuifmeel**

deur

CASSANDRA MOSTERT

VOORGELê TER GEDEELTELIKE VERVULLING VAN DIE GRAAD

MAGISTER SCIENTIAE

in die

**FAKULTEIT NATUUR- EN LANDBOUWETENSKAPPE
(DEPARTEMENT PLANTKUNDE)
UNIVERSITEIT VAN PRETORIA**

**LEIER: PROF. DR. P. J. ROBBERTSE
MEDE-LEIER: PROF. DR. J. COETZEE**

DESEMBER 2000



UNIVERSITEIT VAN PRETORIA
UNIVERSITY OF PRETORIA
YUNIBESITHI YA PRETORIA

INHOUD

HOOFSTUK 1: INLEIDING	p. 1-7
HOOFSTUK 2: ALGEMENE BOU VAN <i>ENCEPHALARTOS</i> -STUIFMEEL, GEOGRAFIESE VERSPREIDING EN MORFOLOGIESE BOU VAN VIER SPESIES	
* ALGEMENE BOU VAN DIE STUIFMEEL	p. 8
* GEOGRAFIESE VERSPREIDING EN MORFOLOGIESE BOU VAN:	
- <i>E. caffer</i>	p. 8-10
- <i>E. eugene-maraisii</i>	p. 10-11
- <i>E. ferox</i>	p. 11
- <i>E. lehmannii</i>	p. 12-13
* FIGUURBLAD	p. 14-18
* VERWYSINGS	p. 19
HOOFSTUK 3: EVALUERING VAN LEWENSKRAGTIGHEID EN KIEMGRAGTIGHEID VAN <i>ENCEPHALARTOS</i> -STUIFMEEL	
* INLEIDING	p. 20-22
* MATERIAAL EN METODE	p. 22-27
* RESULTATE EN BESPREKING	p. 27-32
* SAMEVATTING	p. 32-33
* FIGUURBLAD	p. 34-36
* VERWYSINGS	p. 37-39
HOOFSTUK 4: DIE KIEMINGSGEDRAG VAN <i>ENCEPHALARTOS</i> -STUIFMEEL WAT BY VERSKILLENDE TEMPERATURE GEBERG IS	
* INLEIDING	p. 40-42
* MATERIAAL EN METODE	p. 42-47
* RESULTATE EN BESPREKING	p. 48-70
* SAMEVATTING	p. 70
* FIGUURBLAD	p. 71-88
* VERWYSINGS	p. 89-90

HOOFSTUK 5: FYNSTRUKTUURSTUDIES VAN *ENCEPHALARTOS*-STUIFMEEL TYDENS BERGING

* INLEIDING	p. 91-92
* MATERIAAL EN METODE	p. 92-93
* RESULTATE EN BESPREKING	p. 93-96
* SAMEVATTING	p. 96
* FIGUURBLAD	p. 97-100
* VERWYSINGS	p. 101-103
OPSOMMING	p. 104-105
SUMMARY	p. 106-107
BEDANKINGS	p. 108
BYLAAG	p. 1-73

OPSOMMING

Natuurlike populasies van baie broodboomsoorte het tot so 'n mate gekrimp dat hul voortbestaan afhanklik is van *ex situ* bewaring, waar kunsmatige bestuiwing 'n groot rol speel. Die bewaring van kiemkragtige stuifmeel is daarom van groot belang.

Die doel van hierdie ondersoek was om die optimale toestande waaronder berging van *Encephalartos*-stuifmeel kan plaasvind te bepaal en aanbevelings te maak vir die effektiewe berging daarvan. In hierdie studie is vier *Encephalartos*-spesies se stuifmeel ondersoek, naamlik: *E. caffer*, *E. eugene-maraisii*, *E. ferox* en *E. lehmannii*.

SEM-studies het getoon dat *Encephalartos*-stuifmeel bootvormig en bilateraal is met 'n enkel sulkus. Die grootte varieer van 32,5 tot 36,1 μm in lengte, 19,1 tot 20,2 μm in breedte. Die PAS-toets vir stysel het getoon dat daar pektiensure en moontlik ook suuragtige polisakkariedes in die stuifmeelkorrel van *E. ferox* aanwesig is. Soedanswart kleur die stuifmeelkorrelwande swart, moontlik as gevolg van die aanwesigheid van lipiedagtige stowwe in die stuifmeelkorrelwand. Amido-swart 10B kleur die inhoud van stuifmeelkorrels blou tot donkerblou, wat 'n aanduiding van proteiene is.

Vir ligmikroskopiese lewenskragtigheidstudies het kontrastering met asetokarmyn goeie resultate gelever deurdat die inhoud van die stuifmeelkorrel duidelik rooi gekleur het en dus maklik met behulp van die ligmikroskoop waargeneem kon word. Met Alexander se kleurstof het gearborteerde stuifmeelkorrels groen en nie-gearborteerde stuifmeelkorrels rooi-pers gekleur.

Drie kiemingsmediums naamlik a) 5% sukrose en 0,005% boorsuur b) 10% sukrose en 0,005% boorsuur en c) 15% sukrose en 0,005% boorsuur opgelos in gedistilleerde water is gebruik. Hierdie drie kiemingsmediums het betroubare kiemingsdata gelewer. Stuifmeel wat by 'n temperatuur van 5° C en heersende RH geberg is was nog steeds kiemkragtig na berging van een jaar. Berging by hoër temperature (25° C) RH's hoër as 60% was oneffektief.

Die beste resultate is egter verkry met stuifmeel van *E. ferox* en *E. eugene-maraisii* wat by -196° C in vloeibare stikstof geberg is of na vriesdroging by 5° C en -25° C geberg is. Na 'n tydperk van agt maande was van die stuifmeel nog steeds kiemkragtig.

Uit die TEM-studies kom dit duidelik na vore dat daar geen konsekwente verband was tussen sigbare strukturele degradasie van die stuifmeelkorrel en die tyd van berging nie. Die tot niet gaan van 'n deel van die intien was die enigste waarneembare strukturele verandering wat moontlike veroudering en verlies van kiemkragtigheid in die stuifmeelkorrel aan aangedui het.

SUMMARY

Natural populations of many cycad species had diminished to such an extent and their existence is dependent on *ex situ* conservation, where artificial pollination plays a very important role.

The objective of this study was to determine optimal storage conditions of *Encephalartos* pollen. In this study the pollen of four *Encephalartos* species was studied, namely: *E. caffer*, *E. eugene-maraisii*, *E. ferox* and *E. lehmannii*.

SEM-studies indicated that *Encephalartos* pollen grains are boatshaped with variation in the width from 19,1 to 20,2 μm and 32,5 to 36,1 μm in length, monosulcate, bilateral, with imperforate exine. PAS-reaction was used for histochemical detection of starch and certain other carbohydrates. It showed that *Encephalartos* pollen contained some acidic polysaccharides and pectic acids. Sudan Black stained the wall of the pollen grain black indicating the presence of a lipid substance in the pollen wall. Amido black 10B stained the contents of *E. ferox* pollen blue to dark blue, indicating the presence of protein

For viability tests, contrasting the pollen grains with aceto carmine gave good results. The contents of the pollen grains stained red. Differential staining using Alexanders' stain gave good results. Aborted pollen stained green and nonaborted pollen stained red.

Three germination media were used namely: a) 5% sucrose and 0,005% boric acid, b) 10% sucrose and 0,005% boric acid, and c) 15% sucrose and 0,005% boric acid dissolved in distilled water. These mediums gave reliable results.

In vitro germination tests showed that pollen that was stored at 5° C and prevailing humidity (RH) still germinated after one year of storage. Storage at higher temperatures and higher RH was ineffective.

The best results came from *E. ferox*- and *E. eugene-maraisii* subsp. *eugene-maraisii*-pollen stored at -196° C and storage at 5° C and -25° C after freeze-drying. Some of these pollen grains still germinated after eight months.

TEM-studies showed that there was no relation between visible structural degradation of the pollen grain and the storage time. The disintegration of part of the intine was the only visible structural change that could possibly be correlated to the germinability of the pollen grain.

BEDANKINGS

- Dankie aan my Hemelse Vader wat telkens vir my deure oopgemaak het, sodat ek hierdie verhandeling kon klaarmaak.
- Prof. P.J. Robbertse (leier) en prof. J Coetzee (mede-leier) wat met baie geduld en ondersteuning my by gestaan het.
- Die finansiële bystand van die eertydse Magaretha Mess Instituut en die Elektronmikro=skopie Eenheid.
- Denise Holton (Rekenaarondersteuningsdienste, UP) wat nie net met die grafiese sy van die verhandeling gespook het nie, maar dikwels ook ingestaan het vir die statistiese kant.
- Dr. Irmgrad von Teichman wat my stap vir stap geleer het om sneë te maak en kleu=ringstegnieke toe te pas.
- Mev. Marie F. Smith (Biometrie -Eenheid, Landbounavorsingsraad) vir die vertolking van die statistiese verwerkings.
- Jackie Grimbeeck (Statomet, UP) vir die statistiese verwerkings.
- Mev. A.C. Pretorius vir die proeflees van die verhandeling.
- Mev. L. Pretorius vir hulp met die tik van die talle tabelle.
- My pa en ma wat onbaatsugtig ingestaan het vir alles by die huis, die versorging van my twee seuns en die koppies tee laat in die aand.
- My man, Eduard, wat my aangemoedig het om die verhandeling klaar te maak.
- My sussie, Deirdre, wat verlof geneem het om my te help met die grafiese beplanning en vervaardiging.
- Laastens my twee seuns, Michiel wat altyd vra of ek goed vorder en tot laat saam met my wakker bly en David, wat tevrede is om by die lessenaar te sit en teken totdat die slaap hom oorval.



HOOFSTUK 1

INLEIDING

**Genesis 1:29 *Verder het God gesê: Ek gee nou aan julle al die plante wat saad gee,
wat op die hele aarde is,***

INLEIDING

Sikadeë is bekend as die primitiefste lewende saaddraende plante en behoort aan die orde Cycadales. Hierdie orde het gefloreer in die Mesosoïese-tydperk, 50 tot 60 miljoen jaar gelede (Adinolfi *et al.* 1991). Gedurende hierdie periode is 'n warm en vogtige klimaat beleef en steenkoolneerleggings is op aarde gevorm (Giddy 1984). Die resente lewende sikadeë het sedert hul ontstaan, morfologies baie min verander en kan heel waarskynlik beskryf word as die Coelacante van die plantewêreld (Giddy 1984).

Slegs tien genera wat tot drie families behoort, is tans lewend. In totaal sluit dit ongeveer 150 spesies in wat regdeur die tropiese en gematigde dele van die wêreld versprei is. In die verlede is al die lewende sikadeë in een familie geklassifiseer, maar in 1959 verhef L.A.S. Johnson in "Proceedings of the Linnaean Society of New South Wales" die generiese naam *Cycas* tot die familienaam Cycadaceae met *Cycas* as die tiperende genus en skep ter selfdertyd die familienaam Stangeriaceae vir die monotipiese Suid-Afrikaanse genus *Stangeria* (Giddy 1984). Die familienaam Zamiaceae word vir al die oorblywende genera, naamlik *Zamia*, *Dioon*, *Ceratozamia*, *Microcycas*, *Macrozamia*, *Lepidozamia*, *Bowenia* en *Encephalartos* gebruik (Giddy 1984).

Verteenwoordigers van die genus *Encephalartos* Lehm., staan in Suid-Afrika algemeen as broodbome bekend. Die populariteit van broodbome as tuinplante en die feit dat die besit van ou eksemplare 'n statussimbool geword het, het daartoe bygedra dat die plantsoorte tans skaars en bedreig is. Voortplanting in die natuurlike habitat het by sekere spesies feitlik tot stilstand gekom as gevolg van die verkleining van populasies (Giddy 1984). Ongemagtigde uithaal van baie ou eksemplare in die Oos-Kaap het gelei tot 'n reusagtige skandaal (Pieters 1995). 'n Goeie voorbeeld van 'n spesie wat glad nie meer in die

natuurlike staat aangetref word nie, maar slegs in botaniese tuine gesien kan word, is *E. woodii*. *E. woodii*-plante is almal manlik met die gevolg dat die spesie nie meer deur middel van saad voortgeplant kan word nie en die voortbestaan van vegetatiewe voortplanting afhanklik is. As gevolg van hul bedreigde status word alle *Encephalartos*-spesies deur 'n plantbeskermingsordonnansie van die onderskeie Provinsiale Administrasies beskerm. Elke provinsie is tans besig om hulle eie ordonnansies te hersien.

Geslagtelike voortplanting word beperk deur die feit dat die plante tweehuisig is, nie elke jaar keëls vorm nie en die voortbring van keëls by die twee geslagte nie altyd gesinchroniseer is nie. Om die plantsoort van uitsterwing te red, het kunsmatige bestuiwing of handbestuiwing van die keëls reeds feitlik standaardpraktyk geword (Stalmans 1995, Onbekend 1988 & 1992).

Alhoewel daar reeds stuifmeelbanke bestaan waar stuifmeel geberg en deur lede van die Broodboom Vereniging van Suid-Afrika bekom kan word, is wetenskaplike gegewens ten opsigte van die berging van *Encephalartos*-stuifmeel egter skaars. Slegs beperkte gegewens is beskikbaar (Osborne *et al.* 1992 en ongepubliseerde data).

Sistematiese navorsing oor stuifmeelberging het reeds aan die einde van die 19 de eeu begin. Roemer het in 1915 gevind dat stuifmeel wat by lae temperature geberg word, hulle kiemkragtigheid beter behou as wanneer stuifmeel by hoë temperature geberg word (Stanley & Linskens 1974). Literatuur oor die berging van stuifmeel is hersien in die vyftiger en sestiger jare deur Visser (1955), Johri & Vasil (1961) en Linskens (1964).

Afgesien van temperatuur kan faktore soos relatiewe humiditeit (RH) (Aguëguia & Fatokun 1988, Ciampolini *et al.* 1991, MacFarlane Smith *et al.* 1989) en bergingstydperk ook die lewenskragtigheid van stuifmeel beïnvloed (Shivanna & Johri 1985; Stanley & Linskens 1974). Eksperimente met homogene stuifmeelmonsters wat by verskillende humiditeite geberg is, het getoon dat die lewenskragtigheid van die stuifmeel oor die algemeen negatief korreleer met die RH gedurende berging (Stanley & Linskens 1974). Baie spesies se stuifmeel verloor hulle lewenskragtigheid vinniger by baie hoë of baie lae RH. Mishra en Shivanna (1982) vergelyk die doeltreffendheid van organiese oplosmiddels tydens berging van stuifmeel van vyf peulplantsoorte. Die genera *Crotolaria*, *Lathyrus*, *Trigonella*, *Vicia* en *Pisum* se stuifmeel, is by lae temperature en verskeie relatiewe humiditeite in organiese oplosmiddels soos dietieleter, sikloheksaan, amielalkohol en asetoon geberg. Stuifmeelkorrels van *Lilium* spp. en *Camellia* spp. wat in organiese oplosmiddels geberg is, vorm aansienlik langer stuifmeelbuise in vergelyking met die kontroles wat nie in organiese oplosmiddels geberg is nie (Shivanni & Johri 1985).

Die eerste poging om peer- en appelstuifmeel te vriesdroog is in 1955 deur Visser aangewend. Hy slaag daarin om peer- en appelstuifmeel suksesvol te vriesdroog. Stuifmeel van verskillende spesies varieer in hulle vermoë om vriesdroging en vakuumdroging te weerstaan (Davies & Dickinson 1971; King 1965; Layne & Hagedorn 1963; Stanley & Linskens 1974).

Berging van stuifmeel by baie lae temperature kan verkry word deur gebruik te maak van vloeibare stikstof (-196°C) (Bowes 1990). Chemiese reaksies wat normale selbeskadiging veroorsaak, word deur die metode totaal geïnhibeer (Shivanna & Johri 1985). Visser (1955)

het dan ook suksesvol stuifmeel van *Pyrus malus*, *Lycopersicon esculentum* en *Rhododendron catawbiense* vir twee jaar in vloeibare stikstof geberg. *Zea mays*-stuifmeel se lewensduur is by heersende dagtemperatuur beperk tot slegs 'n paar uur. In vloeibare stikstof (Barnabas & Rajki 1976) kan die stuifmeel egter al vir langer periodes (365 dae) geberg word.

Baie navorsing is op ander Gymnosperm-stuifmeel gedoen en in besonder op die van *Pinus* spp. (Stanley & Linskens 1974). Stuifmeel van *P. avium* (*cerasus*) is vir 1460 dae by 'n temperatuur van 2° C tot en met ±8 ° C en RH van 50% geberg. *P. communis*-stuifmeel (Stanley & Linskens 1974) is geberg vir 3287 dae by 'n temperatuur van -17° C en -37° C en RH van 5%. Katoenstuifmeel (*Gossypium hirsutum*) kan egter nie by baie lae temperatuur soos in vloeibare stikstof (-196° C) of by 5° C geberg word nie (Stanley & Linskens 1974). Hierdie stuifmeel verloor hulle lewenskragtigheid baie gou by lae temperatuur (Rodríguez-Garrey & Barrow 1986). Vir *Gossypium hirsutum* se stuifmeel is 'n RH van 100% en 15° C die optimale toestand vir berging. Korttermynberging van stuifmeel is 'n bekende gebruik, veral in kommersiële vrugteproduksie en in die saadboordbestuur van die Departement Bosbou in Frankryk (Cerceanu-Larrival & Challe 1986). Volgens laasgenoemde outeurs is langtermynberging van lewenskragtige stuifmeel 'n noodsaaklikheid vir die behoud van genetiese bronne.

In vitro-kiemingstoetse kan 'n aanduiding gee van kiemkragtigheid en lewenskragtigheid (Stanley & Linskens 1974) van stuifmeelkorrels. Vir *in-vitro* toetse word 'n kiemingsmedium benodig (Krell *et al.* 1987). Verskeie substrate kan gebruik word waarin sukrose en boorsuur die belangrikste komponente is (Stanley & Linskens 1974). Uit die literatuur blyk dit dat hoofsaaklik drie faktore 'n kardinale rol speel by die berging van stuifmeel, naamlik

temperatuur, RH en opbergings tyd.

Van der Merwe (ongepubliseerde skripsie, Universiteit van Pretoria) het 'n voorlopige studie gedoen op die berging van stuifmeel van sekere *Encephalartos*-spesies. Hierdie studie het as gidsstudie vir die huidige ondersoek gedien. 'n Bruikbare tegniek vir die bepaling van die kiemkragtigheid van stuifmeel het tot en met die aanvang van hierdie navorsing, nog nie bestaan nie en gebergde stuifmeel moes op goedertrou vir bestuiwing gebruik word. Dit is dus noodsaaklik om 'n eenvoudige tegniek daar te stel sodat die redelik onervare persoon die tegniek kan toepas. Die *in vitro*-toetse moet so saamgestel word dat dit maklik uitvoerbaar is. Hierdie studie is veral gemik om as praktiese handleiding vir bestaande kwekers en voornemende kwekers van broodbome te dien.

Die doel van hierdie ondersoek is om die gunstigste toestande waaronder berging van *Encephalartos*-stuifmeel plaasvind te bepaal en aanbevelings te maak vir die effektiewe berging van broodboomstuifmeel. Geslaagde berging sou beteken dat stuifmeel beskikbaar sal wees wanneer die vroulike keëls gereed is vir bestuiwing. Verder sal die stuifmeel se kiemkragtigheid getoets kan word, voordat dit vir bestuiwing beskikbaar gestel word en verseker dat die stuifmeel nie onnodig weggegooi word nie of vroulike keëls onwetend met dooie stuifmeel bestuif word.

In hierdie studie is vier *Encephalartos*-spesies se stuifmeel ondersoek, naamlik:

- * *E. caffer* (Thunb.) Lehm.
- * *E. eugene-maraisii* Verdoorn subsp. *eugene-maraisii* Lavranos & Goode
- * *E. ferox* Bertol. f.
- * *E. lehmannii* Lehm.

VERWYSINGS

- ADINOLFI, M., CORSARO, M.M., MANGONI, L. & PARRILLI, M. 1991. Studies of an acidic polysaccharide from *Encephalartos friderici guilielmi*. *Carbohydrate Research* 222: 215-221.
- AQUEQUIA, A. & FATOKUN, C.A.. 1988. Pollen storage in cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). *Euphytica* 39: 195-198.
- BARNABAS, B. & RAJKI, E. 1976. Storage of maize (*Zea mays* L.) pollen at -196° C in liquid nitrogen. *Euphytica* 25: 747-752.
- BOWES, S.A. 1990. Long-term storage of *Narcissus* anthers and pollen in liquid nitrogen. *Euphytica* 48: 275-278.
- CERCEAU-LARRIVAL, M. & CHALLE, J. 1986. Biopalynology and maintenance of germination capacity of stored pollen in some angiosperm families. In: *Pollen and spores: form and function*. ed. Blackmore, S. & Ferguson, I.K. Academic Press, London.
- CIAMPOLINI, F. SHIVANNA, K.R. & CRESTI, M. 1991. High humidity and heat stress causes dissociation of endoplasmic reticulum in tobacco pollen. *Bot. Acta* 104: 110-116.
- DAVIES, M.D. & DICKINSON, D.B. 1971. Effects of freeze-drying on permeability and respiration of germinating lily pollen. *Physiol. Plant*, 24: 5-9.
- GIDDY, C. 1984. Cycads of South Africa. 2nd rev. edn. C. Struik, Cape Town.
- JOHRI, B.M. & VASIL, I.K. 1961. Physiology of pollen. *Bot. Rev.* 27: 325-381.
- KING, J.R. 1965. The storage of pollen particularly by the freeze-drying method. *Bull. Torrey bot. Club* 92: 270-287.
- KRELL, S.L., STEPHENS, L.C. & WEIGLE, J.L. 1987. In vitro pollen germination to determine pollen viability of *Impatiens* interspecific hybrids. *Hort. Sci.* 22: 1073-1073.
- LAYNE, R.E.C. & HAGEDORN, D.J. 1963. Effect of vacuum-drying, freeze-drying and storage environment on the viability of pea pollen. *Crop Sci* 3: 433-436.

- LINSKENS, H.F. 1964. Pollen physiology. *A. Rev. Pl. Physiol.* 15: 255-256.
- MACFARLANE SMITH, W.H., JONES, J.K. & SEBASTIAMPILLAI, A.R. 1989. Pollen storage of *Fragaria* and *Potentilla*. *Euphytica* 41: 65-69.
- MISHRA, R. & SHIVANNA, K.R. 1982. Efficacy of organic solvents for storing pollen grains of some leguminous taxa. *Euphytica* 31: 991-995.
- Onbekend: Pollination success. 1988. In: Bits and Pieces, *J. Cycad Soc. S. Afr.* 13: 40
- Onbekend: Pollination: Wet or Dry? 1992. *J. Cycad Soc. S. Afr.* 31: 38
- OSBORNE, R. ROBBERTSE, P.J. & CLAASSEN, M.I. 1992. The longevity of cycad pollen in storage. *S. Afr. J. Bot.* 58: 250-254.
- PIETERS, M. 1995. Dertig ton bome van R4 miljoen vir Casino. ANC het glo sy verlof gegee. *J. Cycad Soc. S. Afr.* 42: 30-31.
- RODRIQUEZ-GARAY, B. & BARROW J.R. 1986. Short-term storage of cotton pollen. *Plant Cell Rep.* 5: 332-333.
- SHIVANNA, K.R. & JOHRI, B.M. 1985. The Angiosperm Pollen: structure and function. Wiley Eastern Ltd. New Delhi.
- STALMANS, M. 1995. Handpollination of *Encephalartos heenanii* in the Songimvelo Game Reserve, Mphumalanga Province. *J. Cycad Soc. S. Afr.* 44: 23-24.
- STANLEY, R.G. & LINSKENS, H.F. 1974. Pollen: Biology, Biochemistry, Management. Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York.
- VISSER, T. 1955. Germination and storage of pollen. *Meded. Landb-Hooges.* 55: 1-68.

HOOFSTUK 2

ALGEMENE BOU, GEOGRAFIESE VERSPREIDING EN MORFOLOGIESE BOU VAN VIER *ENCEPHALARTOS*- SPESIES.

* ALGEMENE BOU VAN *ENCEPHALARTOS*-STUIFMEEL

* GEOGRAFIESE VERSPREIDING EN MORFOLOGIESE BOU VAN:

1) *E. caffer*

2) *E. eugene-maraisii*

3) *E. ferox*

4) *E. lehmannii*

* FIGUURBLAD

* VERWYSINGS



ALGEMENE BOU VAN *ENCEPHALARTOS*-STUIFMEEL

SEM-studies toon dat *Encephalartos*-stuifmeel in die medium grootte (25-49 μm) groep val (Marshall *et al.* 1989). Daar is ook nie 'n groot variasie in grootte tussen eksimplare van dieselfde spesie uit verskillende habitate nie. Al die stuifmeel van die verskillende spesies is karakteristiek bootvormig (Figuur 2.1), met variasie in lengte en breedte, monosulkaat, bilaterale stuifmeelkorrels (Dehgan & Dehgan 1985). Stuifmeel van *E. caffer* (Thunb.) Lehm., *E. eugene-maraisii* Verdoorn, *E. ferox* Bertol. f. en *E. lehmannii* Lehm. wat in hierdie studie gebruik is, is verleng en die proksimale kant is konveks. Die lengte van hierdie stuifmeel wissel tussen 32,5-36,1 μm en die wydte tussen 19,1-20,2 μm (Marshall *et al.* 1989).

Volgens Marshall *et al.* (1989) het net stuifmeel van *E. lehmannii* op die proksimale kant klein gaatjies in die wandskulptuur. Die ander drie spesies in hierdie studie toon 'n band met klein gaatjies op die proksimale kant van die wandskulptuur. Al vier stuifmeelspesies is op die distale kant glad. Die wandskulptuur van die vier spesies is almal breinagtig (Figuur 2.2).

GEOGRAFIESE VERSPREIDING EN MORFOLOGIESE BOU VAN VIER SPESIES

1) *Encephalartos caffer* (Thunb.) Lehm.

E. caffer broodbome kom die verste suid in Suid-Afrika en dus die verste suid in Afrika voor. Hierdie spesie is saam met *E. longifolius* van die eerste broodbome wat in Suid-Afrika beskryf is (Kemp 1985).

Verspreiding:

Eksemplare van *E. caffer* kom in hulle natuurlike staat in die Oos-Kaap, in die distrikte van Humansdorp, Albany, Bathurst en Oos-Londen en die Transkei in die distrik van Kentani tot so ver oos as Willowvale voor. Hierdie plante groei in suur grasveld, dikwels tussen rotse. Die reënval in hierdie verspreidingsgebiede wissel tussen 1000 mm by die kus tot 750 mm en minder binnelands. Somers is warm. Winters is matig tot koel met geen ryp wat in hierdie gebiede voorkom nie (Jones 1993).

Beskrywing van die plant:

Stam: 'n Ondergrondse stam wat 30 cm tot 40 cm lank en 20 tot 25 cm breed kan wees, kom voor. Soms steek 'n klein gedeelte van die stam bo die grond uit en die kroon van die stam is altyd wollerig. Die stam is normaalweg onvertak, maar met beskadiging is vertakking van die stam wel al waargeneem. Karakteristiek van die spesie is die knolagtige wortelsisteem wat uit verskeie kort, dik wortels bestaan.

Blare: Blare van *E. caffer* is 40 cm tot 100 cm lank en liggroen van kleur (Kemp 1985). Die jong blare is eers wollerig en bruin en raak nooit volkome glad en blink nie, al verloor die blare baie van die hare soos wat die blare ouer word. Die ragis van die blaar is gewoonlik reguit maar soms kan die ragis wel gedraai of gebuig wees (Figuur 2.3). Indien baie blare teenwoordig is, sal die blare wat nader aan onder is, amper horisontaal gedra word (Giddy 1984). Die pinnas in die middel is 8 cm tot 10 cm lank en ongeveer 1cm breed.

Keëls: Beide manlike sowel as vroulike plante dra elk een keël wat groengeel van kleur is wanneer dit volwasse is. Die keël word op 'n kort, dik stam gedra. Manlike keëls kan 20 cm tot 30 cm lank en 7 cm tot 12 cm in deursnee wees (Figuur 2.4). Die vroulike keëls is 30 cm lank en 15 cm in deursnee. Skubbe van die vroulike keël is in ses tot agt spirale gerangskik

(Figuur 2.5). Hierdie skubbe het 'n plat, terminale faset met 'n effens geligte en getande kant.

Sade: Helder rooi en glansend.

2) *Encephalartos eugene-maraisii* Verdoorn subsp. *eugene-maraisii*

Lavranos & Goode.

Verspreiding:

Die Waterberg-broodbome is beperk tot 'n klein area op die Polala-plato na die noordweste van Naboomspruit by 'n hoogte van 1450 m bo seespieël. Baie koue winters word hier beleef met 'n reënval wat wissel tussen 625 mm tot 750mm (Lavranos & Goode 1988).

Beskrywing van die plant:

Stam: Die stam oorskrei selde 250 cm wanneer regop. Indien die stam langer is, word die plante leunend. Die deursnee van die stam met sy klein, reëlmatige blaarbasisse is 30 cm tot 45 cm.

Blare: Die blare is 100 cm tot 150 cm lank en het 'n silwerblou kleur. Blare word met ouderdom geel. Die blaarsteel is reguit maar 'n derde van die punt af krom opwaarts. Die blare spreid uit en word amper horisontaal ten opsigte van die kroon gedra. Pinnae in die middel van die blaar is 15 cm tot 20 cm lank en 1,5 cm breed. Pinnae is gewoonlik gaafrandig maar kan laer af op die rand een tot twee tande besit (Osborne 1989). Die pinnae word kleiner na onder en laat die onderste 15 cm van die blaarsteel kaal tot by die basis (Koeleman *et. al.* 1981).

Keëls: Tot agt manlike keëls en ses vroulike keëls op plante is al waargeneem. Die keëls is groengrys met 'n digte laag bruinrooi hare wat 'n algemene donker bruinrooi voorkoms aan

die keëls gee. Manlike keëls is 20 cm tot 40 cm in deursnee (Figuur 2.6) en het 'n onaangename reuk wanneer hulle volwasse is. Vroulike keëls is 30 cm tot 50 cm lank en 16 cm tot 20 cm in deursnee (Figuur 2.7) (Giddy 1984).

Sade: Die kleur van die sade is ligte bruin (Giddy 1984, Jones 1993) en die sade staan algemeen bekend as wildedadels in die gebied waar hulle voorkom (Giddy 1984).

3. *Encephalartos ferox* Bertol. f.

Verspreiding: Hierdie broodbome kom voor in Natal en Mosambiek. Groot getalle kom in die kusgebied van KwaZulu/Natal en noordwaarts tot in Mosambiek voor. Hulle groei gewoonlik in die skadu van die duin-plantegroei. Op die sandduine, in die natuurlike habitat, is die stam dikwels begrawe in die sand en humuslaag (Giddy 1984, Jones 1993). Reënval wissel van 1 000 mm tot 1 250 mm per jaar en geen ryp kom voor nie (Giddy 1984).

Beskrywing van die plant:

Stam: Laaggroeiende plante met stamme wat selde 100 cm tot 200 cm in hoogte oorskry en 'n deursnee van 25 cm tot 30 cm het (Osborne 1987).

Blare: Die blare is 100 cm tot 200 cm lank en is glansend groen. Die mediane pinna's is 15 cm lank en 3,5 cm tot 5 cm breed met 2 tot 4 gelobde tande op beide rande.

Keëls: Hierdie plante dra 'n groot hoeveelheid keëls, tot tien op 'n manlike plant en soveel soos vyf op 'n vroulike plant. Die keëls is gewoonlik 'n helder rooi, maar goud-geel keëls kom voor in sekere lokaliteite in Mosambiek. Manlike keëls is 40 cm tot 50 cm in lengte en 8 cm tot 10 cm in deursnee (Figuur 2.8). Vroulike keëls is 25 cm tot 50 cm lank en 20 cm tot 40 cm in deursnee (Figuur 2.9).

Sade: Donker, glansend rooi.

4. *Encephalartos lehmannii* Lehm.

Verspreiding: Endemies tot Suid-Afrika, waar hierdie plante in die Karoo-gebiede van Pearston en Bedford weswaarts deur Uitenhage, Steytlerville tot naby Willowmore, voorkom (Jones 1993). Hulle groei hoofsaaklik op sandsteenheuwels tussen *Euphorbia*- en Karoo-struikgewasse. Somerreënval is laag, selde meer as 350 mm met lang periodes van droogte en koue winters (Kemp 1985).

Beskrywing van die plant:

Stam: Die spesie se stam is tot 150 cm lank en stamme van 200 cm en langer is baie raar (Kemp 1985). In deursnee is die stam 25 cm tot 45 cm (Figuur 2.10). Die blaarbasisse is groot en die kroon het 'n kenmerkende geel kraag waar die blaarsteel en die stam mekaar raak. Vertakking van die stam is algemeen (Kemp 1985).

Blare: Die blare is 100 cm tot 150 cm lank en sluit die blaarsteel in wat tot 25 cm lank kan wees. Die ragis is styf en amper reguit, behalwe vir die punt, wat effens terug buig of sywaarts gedraai kan wees. Die blaarbasis is groot en het 'n opvallende rooibruin tot geelbruin kraag. Die blare is grysblou van kleur wanneer hulle jonk is en mag groen word na mate hulle ouer word. Die pinnas in die middel van die blaar is ongeveer 12 cm tot 18 cm lank en 1,5 cm tot 2 cm in deursnee. Die pinnas nader aan die punt en basis van die blaar is kleiner. Pinnas is gewoonlik sonder tande, alhoewel 'n tand nou en dan wel op die rand kan voorkom (Kemp 1985).

Die pinnas is so geheg aan die ragis dat hulle horisontaal georiënteerd is ten opsigte van die ragis maar vorm 'n V ten opsigte van die blaar. Die pinnas is reëlmatig gespaseer, veral na die basis van die blaar. Na die punt is hulle nader aan mekaar, maar oorvleuel selde. Die blare van die saailinge is kort met relatief min pinnas (8 of 10). Saailinge se pinnas het 'n

aantal tande op die punt. Die saailinge se pinnas is ook reëlmatig gespaseerd (Kemp 1985).

Keëls: Enkel keëls kom voor by manlike en vroulike plante. In beide geslagte is die kleur van die keëls swartrooi as gevolg van kort, swart hare wat die punt van die keëls se skubbe bedek (Giddy 1984, Kemp 1985). Die keëlskubbe is groen van kleur onder die laag hare. Keëls word gedra op 'n kort steel. Manlike keëls is min of meer silindervormig, maar is nouer na die basis en die punt (Figuur 2.11). Manlike keëls is 25 cm tot 35 cm lank en 8 tot 10 cm in deursnee. Vroulike keëls is min of meer vaatjievormig en is 30 tot 50 cm lank met 'n deursnee van 15 to 25 cm (Figuur 2.12) (Kemp 1985).

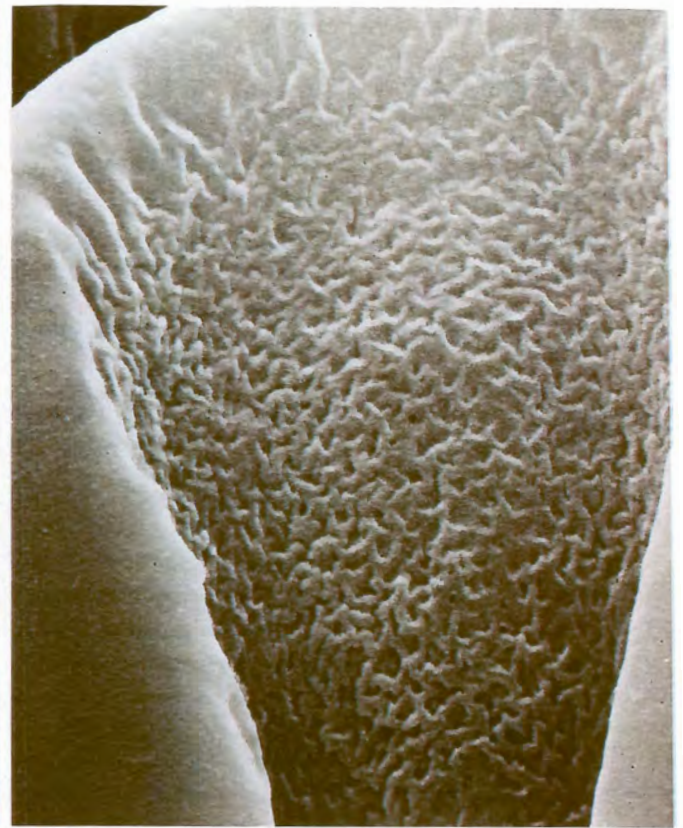
Sade: Vars sade is helder rooi.

FIGUURBLAD





2.1



2.2



2.3

Figuur 2.1-2.3 2.1: 'n Distale aansig van *Encephalartos*-stuifmeel om die bootvormigheid van dié stuifmeel aan te dui. $\times 3\ 500$ 2.2: Oor die langer ekwatoriale aksis is die sulkus met duidelik breinagtige wandskulptuur. $\times 14\ 000$ 2.3: 'n Jong plant van *E. caffer* wat reeds die draai van die ragis illustreer (Foto dr. M.I. Claassen).



2.4



2.6



2.5

Figure 2.4-2.6 2.4: 'n Manlike keël van *E. caffer* (Foto dr. M.I. Claassen). 2.5: 'n Vroulike keël van *E. caffer* afgeneem in Trappe's Valley (Foto prof. P.J. Robbertse). 2.6: Manlike keëls van *E. eugene-maraisii* (Foto dr. M.I. Claassen).

2.7



2.8

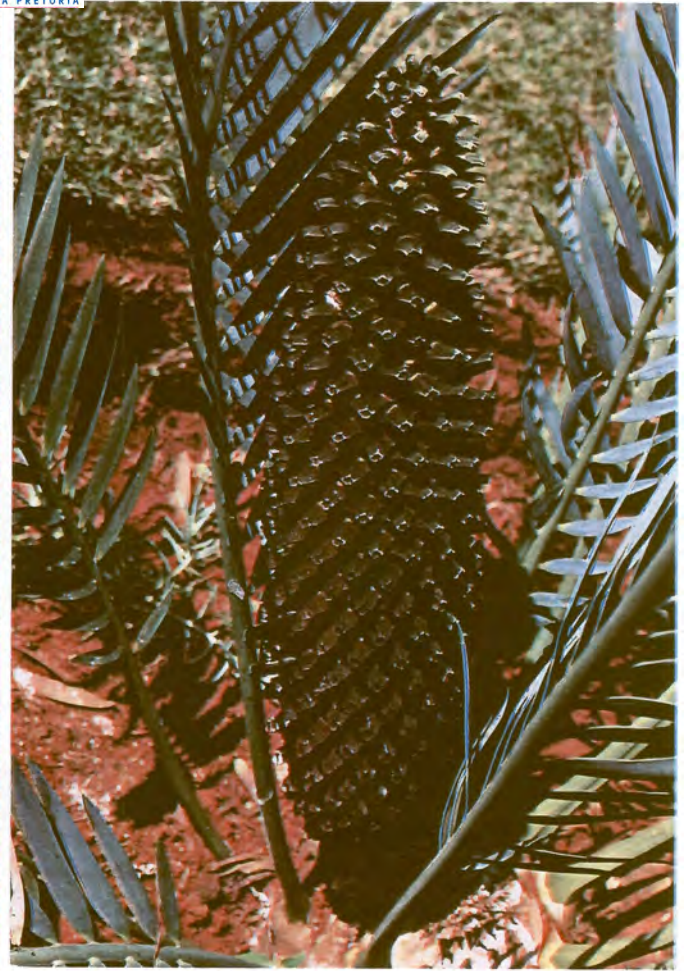


2.9

Figure 2.7-2.9 2.7: Vroulike keëls van *E. eugene-maraisii* (Foto dr. M.I.Claassen). 2.8: Manlike keëls van *E. ferox* (Foto dr. M.I. Claassen). 2.9: 'n Vroulike keël van *E. ferox* (Foto dr. M.I. Claassen).



2.10



2.11



2.12

Figure 2.10-2.12 2.10: 'n Plant om die vertakking van die stam van *E. lehmannii* aan te toon (Foto dr. M.I. Claassen). 2.11: 'n Manlike keël van *E. lehmannii* (Foto dr. M.I. Claassen). 2.12: 'n Vroulike keël van *E. lehmannii* (Foto dr. M.I. Claassen).



VERWYSINGS

- DEHGAN, B & DEHGAN, N.B. 1985. Pollen morphology and taxonomy of Cycadales. *Am. J. Bot.* 72: 949-949.
- GIDDY, C. 1984. Cycads of South Africa. 2nd rev. edn. C. Struik, Cape Town.
- JONES, D.L. 1993. Cycads of the world. Reed, Chatswood, Australia.
- KEMP, M. 1985. Focus on *Encephalartos caffer*. *J. Cycad Soc. S. Afr.* 3: 6-11.
- KEMP, M. 1985. Focus on *Encephalartos lehmannii*. *J. Cycad Soc. S. Afr.* 4: 12-17.
- KOELEMAN, A., ROBBERTSE, P.J. & EICKER, A. 1981. Die anatomie van die pinnas van die Suid-Afrikaanse spesies van *Encephalartos* Lehm. *Journal S A Botany* 47: 247-271.
- LAVRANOS, J.J. & GOODE, D.L. 1988. Notes on Southern African Cycadales. *Bull. Jard. Bot. Nat. Belg.* 58: 219-224.
- MARSHALL, J., GROBBELAAR, N., COETZEE, J. & OSBORNE, R. 1989. Pollen morphology of the Cycadales with special reference to the *Encephalartos* species. *Pollen et Spores.* 31: 229-249.
- OSBORNE, R. 1987. Focus on *Encephalartos ferox*. *J. Cycad Soc. S. Afr.* 9: 14-21.
- OSBORNE, R. 1989. Focus on *Encephalartos eugene-maraisii*. *J. Cycad Soc. S. Afr.* 17: 3-13.

HOOFSTUK 3

EVALUERING VAN LEWENSKRAGTIGHEID EN KIEMKRAGTIGHEID VAN *ENCEPHALARTOS-* STUIFMEEL

- * INLEIDING
- * MATERIAAL EN METODE
- * RESULTATE EN BESPREKING
- * SAMEVATTING
- * FIGUURBLAD
- * VERWYSINGS



INLEIDING

Nadat stuifmeel versamel en geberg is, is dit noodsaaklik om vas te stel of die stuifmeel wel nog kan ontkiem en normaal kan groei. Hierdie vasstelling behoort gedoen te word voordat die stuifmeel vir bestuiwing gebruik word. Verskeie tegnieke bestaan om die vasstelling te doen, aangesien lewenskragtigheid en kiemkragtigheid gepaard gaan met die stuifmeelkorrel se selinhoud, die bergingstoestand en 'n kiemingsmedium wat optimale stuifmeelkieming tot gevolg sal hê. Die volgende tegnieke kan gebruik word:

- * Kleurtegnieke
- * *In vitro*-ontkieming van die stuifmeel
- * Werklike bestuiwing van vroulike keëls en die toets van saad vir embriovorming.

In hierdie studie is die eersgenoemde twee tegnieke gebruik.

Die gebruik van 'n vinnige metode om die toestand van kernmateriaal in volwasse stuifmeelkorrels en ontkiemde stuifmeelbuise te bepaal, is van onskatbare waarde vir selbioloë, genetici en fisioloë (Coleman & Goff 1985). Baie kortpadmetodes wat die lewenskragtigheid van stuifmeelkorrels bepaal, is al ontwerp. Van hiërdie is die *in-vitro* ontkiemingstoets en die fluorokromatiese reaksie (FCR) toets die suksesvolste (Heslop-Harrison *et al.* 1984; Shivanna & Heslop-Harrison 1981). Widrechner *et al.* (1983) beskryf egter 'n paar probleme wat ontstaan met gebergde stuifmeel en die gebruik van die FCR-toets. Die FCR-toets gee egter goeie resultate by twee- en driesel stuifmeelkorrels, en word gereeld gebruik om stuifmeel se lewenskragtigheid te bepaal (Shivanna *et al.* 1991).

DNA vorm 'n rooierige pers kompleks tydens die Feulgen-reaksie met Schiff se reagens. O'Brien en McCully (1981) meld om 'n goeie Feulgen-reaksie te kan kry, moet eers 'n

optimum hidrolisetyd bepaal word. Hierdie optimale hidrolisetyd hang af van die soort weefsel, hoe die weefsel fikseer is en van die dikte van die sneë. Die basis van hierdie soort reaksie is toets en tref. Volgens Coleman & Goff (1985) is die Feulgen-reaksie langdradig en kleur verskeie soorte materiale asook DNA by baie plantsoorte. 'n Meer suksesvolle kontrastering van stuifmeelsmere word deur asetoorseientipe kleuring verkry. Kleuring van nie-geaborteerde stuifmeelkorrels se kernmateriaal word oor die algemeen met asetokarmyn in gliseroljellie en "Cotton Blue" in laktofenol gekleur (Alexander 1969). Een nadeel, van bogenoemde kleuring is dat dit nie die geaborteerde stuifmeelkorrels kleur nie (Alexander 1969). As gevolg van hierdie nadeel ontwikkel Alexander in 1969 'n kleurstof wat vir differensiële kleuring van geaborteerde en nie-geaborteerde stuifmeelkorrels gebruik kan word.

In hierdie studie is verskeie chemiese kleurtoetse uitgevoer om nie net die kiemkragtigheid en lewenskragtigheid te toets nie, maar ook om vas te stel wat die chemiese samestelling van die stuifmeelkorrel is.

In vitro-ontkiemingstoetse kan 'n aanduiding gee van die lewenskragtigheid van die stuifmeel, maar dikwels stop die groei van die stuifmeelbuis nog voordat dit die lengte bereik wat dit normaalweg in die styl verkry (Stanley & Linskens, 1974). Selfs die tempo waarteen die stuifmeelbuis *in vitro* groei is dikwels stadiger as *in vivo*. Hierdie tendens impliseer dat die optimale groeitoestande ontbreek.

Faktore wat *in vitro* groei beïnvloed, sluit die spesifieke soort stuifmeel, die tyd wanneer die stuifmeel versamel is, die seisoen van die jaar, die metode van versameling en die opbergingsgeskiedenis in (Stanley & Linskens 1974).

Interspesifieke variasie moenie buite rekening gelaat word wanneer 'n monster geneem word van groot hoeveelhede stuifmeel vir lewenskragtige *in vitro*-toetsing nie (Potts & Marsden-Smedley 1989),

Verskillende chemiese en fisiese faktore is bekend wat 'n invloed op optimale *in vitro*-ontkieming van stuifmeel het (Demeke & Hughes 1991). Sommige chemiese stowwe stimuleer ontkieming byvoorbeeld boorsuur, magnesium, kalium en kalsium (Stanley & Linskens 1974). Soortgelyke of ooreenstemmende stowwe kom waarskynlik in die stylweefsel of stempelvloeistof, waarin die stuifmeel *in vivo* outkiem, voor (Stanley & Linskens 1974). Variasie in kiemingsmediums is deur Brewbaker en Kwack (1963) ontwikkel en word algemeen gebruik in die ontkieming van stuifmeel by verskillende spesies. Volgens Potts & Marsden-Smedley (1989) speel sukrose 'n groter rol as boorsuur in die kiemingsmedium by *Eucalyptus*-stuifmeel, maar boorsuur toon 'n moontlike chemotropiese reaksie van stuifmeelbuise volgens Robbertse *et al.* (1990). Koringstuifmeel kiem beter op raffinose of maltose en kieming geskied nie op 'n kiemingsmedium wat sukrose bevat nie (Cheng & McComb 1992).

Die doel van hierdie studie was dus om 'n kiemingsmedium te vind, wat optimale, vinnige en herhaalbare resultate tydens *in vitro*-kiemingstoetse met *Encephalartos*-stuifmeel lewer en wat ondersteun kan word deur kleuringsreaksies.

Materiaal en Metode

Tabel 3.1 dui die stuifmeel aan van *Encephalartos*-spp. wat vir *in vitro*-kiemingstoetse gebruik is. Stuifmeel van *E. ferox* is ook vir kleurtoetse gebruik. Hierdie stuifmeel is uit die Manie van der Schijff Botaniese Tuin van die Universiteit van Pretoria, versamel.

Volwasse manlike keëls is van die plant verwyder, pas nadat die eerste sporangiums oopgebreek het. Nadat die keëls afgesny is, is hulle op skoon velle bruinpapier in die laboratorium geplaas sodat die stuifmeel tydens vrystelling daarop kan versamel.

Versamelde stuifmeel is gesif om sporangiumwande en ander growwe materiaal te verwyder. Die stuifmeel is in digsluitende glashouers geplaas. Houers met stuifmeel is by 5° C en heersende relatiewe humiditeit geberg.

Kleurtegnieke / Histochemiese toetse

Ondergenoemde kleurtoetse is tydens die studie aangewend:

1) Kontrastering met asetokarmyn

Om kontrastering van gekiemde stuifmeelkorrels te verbeter vir die gebruik van die projeksieligmikroskoop, is die materiaal met asetokarmyn gekleur.

Die volgende kleurtoetse is veral geskik vir die onderskeid tussen geaborteerde en nie-geaborteerde stuifmeelkorrels.

2) Kleuring van gearborteerde en nie-gearborteerde stuifmeelkorrels:

(Alexander 1969; Heslop-Harrison *et al.* 1984)

Stuifmeelkorrels is direk in 'n druppel van Alexander se kleurstof op 'n voorwerpglasie geplaas en bedek met 'n dekglasie. In die kleurstofmengsel is 4% ysasynsuur gebruik om beter kleur resultate te verkry. Die voorwerpglasie met 'n druppel kleurstof en stuifmeel is vir 24 tot 48 uur op 'n warmplaat (35° C) gelaat. Na dié tydperk verloop het, is die stuifmeelkorrels met behulp van 'n ligmikroskoop bestudeer. 'n Duidelik groengekleurde wand met 'n duidelik rooigekleurde inhoud dui op nie-geaborteerde stuifmeelkorrels.

3) DAPI-toets, (4,6 Diamino-2-fenielindool): (Coleman & Goff 1985).

Stuifmeelkorrels is eers deur middel van die hangdruppelmetode (Stanley & Linskens 1974) ontkiem. 'n Waterige ontkiemingsmedium wat bestaan uit 5%, 10% of 15% sukrose tesame met 0,005% boorsuur, is saam met die kleurstof DAPI gebruik om die lewenskragtige stuifmeelkorrels te kleur. Kleurstofkonsentrasies wat wissel tussen 0,25 tot 5,0 μ g/ml is in die waterige ontkiemingsmedium gevoeg. Waarnemings is met behulp van 'n fluoressensiemikroskoop (Nikon Optiphot ligmikroskoop toegerus met epifluoressente optika met 450 nm - 490 nm B-2A "excitation" filter en 'n 520 nm "barrier" filter) gemaak.

4) Fluorochromatiese (FCR) toets: (Heslop-Harrison & Heslop-Harrison 1970, Heslop-Harrison *et al.* 1984).

Tien mg fluoressien diasetaat is in 5 ml asetoon opgelos. Die oplossing is op 'n voorwerpglasie druppel vir druppel by 'n paar mikroliter van 'n 10% sukrose-oplossing gevoeg. Stuifmeelkorrels is vir 'n kort rukkie in die medium gelaat. Hierna is die stuifmeelkorrels en medium bedek met 'n dekglasie. Die preparaat is met behulp van 'n fluoressensiemikroskoop met blou filters ondersoek. Waarnemings moet binne 10 minute gemaak word, anders vervaag die fluoressensie. Die lewenskragtigheid van stuifmeel gaan gou verlore in die medium.

Om te toets vir sekere chemiese stowwe in die stuifmeelkorrel self, is semi-dun sneë gemaak en op verskeie maniere behandel. Vir die voorbereiding van semi-dun snitte, is die stuifmeel in 2,5% glutaaraldehyd in 'n 0,1M kakodilaatbuffer en 0,5 % kafeïen (Mueller & Greenwood 1978) gefikseer. Daarna is dit gedehidreer en ingebed in glikolmetakrilaat (GMA) volgens Feder & O'Brien (1968). Die monomeer-mengsel wat gebruik is, is volgens Von Teichman & Robbertse (1981). GMA-sneë, 1-2 μ m dik, is op 'n Reichert OM U3 ultramikrotoom, met glasmesse gesny. Sneë is soos volg gekleur:

5) Toets vir stysel

Die perjodiumsuur-Schiff se reaksie (PAS) volgens Feder & O'Brien (1968) is op sekere sneë uitgevoer. 0,5% 2,4-dinitrofenielhidrasien (DNPH) in 15% asynsuur (vir 30 minute) is as blokkeringsreagens vir onspesifieke aldehydegroepe gebruik. Vir die doel van mikrofotografie is dié sneë met 0,5% toluïdienblou O in bensoaatbuffer by 'n pH van 4,4 vir 1 tot 5 minute, gekontrasteer (Sidman *et al.* 1961).

6) Toets vir lipiede

Versadigde Soedanswart B in 70% etanol is vir 10 minute op die sneë gelaat. Die sneë is met 70% etanol gespoel en daarna in vloeibare gliserienjellie gemonteer.

7) Toets vir proteïene

Sneë is gekleur met amido-swart 10B (Bullock *et al.* 1980).

In vitro kiemingstoetse

In vitro-kiemingstoetse, volgens die hangdruppelmetode van Stanley & Linskens (1974) is op die vars stuifmeel van *E. caffer* (1986) en *E. ferox* (1986) uitgevoer. Om 'n geskikte kiemingsmedium te vind, is daar met verskillende konsentrasies van sukrose en boorsuur geëksperimenteer. Sukrosekonsentrasies van 0%; 3%; 5%; 15% en boorsuurkonsentrasies van 0,005%; 0,05% of 0,1%, opgelos in gedistilleerde water, is gebruik (Bylaag 3.1).

Stuifmeelkorrels is vir 48 uur by 28° geïnkubeer. Aanvanklik is ontkiemde en nie-ontkiemde stuifmeelkorrels in agt gesigsvelde (twee hangdruppels per spesie) van die projeksiemikroskoop getel. Stuifmeel is as gekiem beskou, indien die stuifmeelbuis se lengte twee keer die deursnee van die stuifmeelkorrel was. Die aantal gekiemde stuifmeelkorrels is as 'n persentasie van die totale aantal getelde stuifmeelkorrels per veld uitgedruk. Elke

gesigsveld is as 'n herhaling beskou, aangesien nie minder as 30 stuifmeelkorrels telkens per veld getel is nie.

Tabel 3.1 Besonderhede van versamelde *Encephalartos*-stuifmeel en datums waarop *in vitro*-ontkiemingstoetse op die stuifmeel uitgevoer is

Spesie	Datum Versamel	<i>In vitro</i> -kiemingstoets uitgevoer	Tydsverloop in dae
<i>E. caffer</i>	1986-02-19	1986-02-21	± 2
<i>E. ferox</i>	1986-02-25	1986-02-28	± 3
	1989-05-15	1992-09-28	± 1228
	1991-04-15	1992-09-28	± 528
<i>E. lehmannii</i>	1992-03-04	1992-09-28	± 204
	1989-05-15	1992-09-28	± 1228
	1991-04-15	1992-09-28	± 528
	1992-05-04	1992-09-28	± 144

Om die *in vitro*-kiemingstoets verder te verfyn is 0,005 gram stuifmeel in 10 milliliter ontkiemingsmedium gesuspender om 'n homogene verspreiding van die stuifmeel in die kiemingsmedium te verkry. 'n Submonster van 50 µl hiervan is gebruik om die hangdruppel metode uit te voer. Soortgelyke toetse is deur Mitra (1989) gedoen. Hy het die stuifmeel egter eers oor die voorwerp glasie gestuif en daarna een of twee druppels gedistilleerde water bygevoeg, waarna die stuifmeel met die stomp kant van 'n dissekteernaald in die water versprei is. Uit vier keer honderd stuifmeelkorrels is ontkiemde en nie-ontkiemde korrels afsonderlik getel (Bylaag 3.1).

Die resultate is statisties verwerk deur personeel van STATOMET, Departement Statistiek, Universiteit van Pretoria en die Landbounavorsingsraad- Biometrie Eenheid. Ter aanvulling van die gewone ANOVA (variansie-analise) is die eksploratiewe prosedure genaamd Xaid wat ontwikkel is deur C. Heyman in 1981 van die WNNR ook gebruik (Bylaag 3.2).

RESULTATE EN BESPREKING

Kleurtegnieke / Histochemiese toetse

1) Kontrastering met asetokarmyn

Kleuring met asetokarmyn het telkens uitstekende resultate verskaf deurdat dié kleurstof die stuifmeelkorrels duidelik kontrasteer. Kernmateriaal van die stuifmeelkorrel, of dit kiem al dan nie, kleur duidelik rooi (Kearns & Inouye 1992). Met hierdie studie is die kernmateriaal duidelik waargeneem met behulp van 'n projeksieligmikroskoop (Figuur 3.1).

2) Kleuring van geaborteerde en nie-geaborteerde stuifmeelkorrels

By die *Encephalartos ferox*-stuifmeel wat ondersoek is, is daar in verskillende maande lae kiemingspersentasies verkry. Die gebruik van Alexander se kleurstof was 'n moontlike oplossing om die persentasie geaborteerde stuifmeelkorrels van die nie-geaborteerde stuifmeelkorrels te onderskei en sodoende 'n bepaling te maak van die lae kiemingspersentasies. Volgens Alexander (1969) kleur geaborteerde stuifmeelkorrels groen terwyl nie-geaborteerde stuifmeelkorrels rooi kleur. Baie goeie resultate is met die kleurstof behaal in die sin dat nie-geaborteerde stuifmeelkorrels se inhoud duidelik rooierig kleur met Alexander se kleurstof (Figuur 3.2). Die aangepaste ysasynsuur konsentrasie lewer dus goeie resultate by die kleurtoets. Verdere studie om die verband tussen kiemingspersentasie van die stuifmeelkorrels en die gebruik van Alexander se kleurstof vas te stel is egter nodig.

3) DAPI-toets

Hierdie kleurtoets is 'n vinnige manier om die kernmateriaal van 'n volwasse stuifmeelkorrel te ondersoek en uitslag te kan gee of die stuifmeelkorrel lewenskragtig is al dan nie. Volgens Coleman & Goff (1985) kan die kleurstof in die kiemingsmedium geïnkorporeer word. 'n Positiewe resultaat is wanneer die kern lig kleur. Die kiemingstydperk in die geval van *Encephalartos*-stuifmeel is 48 uur en die kleuring van *Encephalartos*-stuifmeel was nie altyd suksesvol nie, aangesien fluoressensie met tyd verlore gaan. Die wand van die stuifmeelkorrel was dikwels al wat fluoresseer het en dit wil voorkom asof dié stof óf te lank neem om in te dring in die stuifmeelkorrel in óf dat die metode om die vitaliteitskleurstof in die kiemingsmedium in te sluit nie voldoende is nie. Indien die vitaliteitskleurstof direk op die stuifmeelkorrels geplaas is het die kernmateriaal lig onder die fluoressensiemikroskoop vertoon (Figuur 3.3).

4) Fluorochromatiese (FCR) toets

Hierdie toets het geen positiewe resultate gelever nie, aangesien fluoressensie te vinnig tot niet gegaan het. Dié toets gee lewenskragtigheid van stuifmeel weer deur die plasmalemma van die vegetatiewe sel te evalueer deur vir die teenwoordigheid en aktiwiteit van verskeie esterase ensieme te toets (Shivanna & Heslop-Harrison 1981). Aktiewe esterase ensieme wat met 'n volledige funksionele selmembraan geassosieer word, hidroliseer die fluoressien diasetaat ioon en laat die ioon by ultraviolet golflengtes fluoresseer. Volgens Shivanna en Heslop-Harrison (1981) is daar in die algemeen 'n hoogs betekenisvolle korrelasie tussen fluoressensie (FCR) en die ontkieming van stuifmeelkorrels. In hierdie studie is dit egter nie verkry nie. Die gemodifiseerde samestelling van die kleurstof (Gwyn & Stelly 1989) wat op die oorspronklike FCR-toets gebaseer is, kan moontlik ook 'n oplossing bied vir die swak resultate verkry van die toetse soos in hierdie verhandeling gedoen is. Verdere toetse in dié verband moet uitgevoer word.

5) Toets vir stysel

Die PAS-toets kleur stysel en selwand polisakkariede rooi; kallose en sellulose bly ongekleurd. Die kontrastering met toluïdienblou kleur RNA pers; DNA blou tot blougroen, pektiensure rooi of rooipers; polifenole en lignien groen of blougroen. Die reaksie van die stuifmeelkorrels met toluïdienblou in bensoaatbuffer saam met PAS blyk duidelik in Figuur 3.4. Moontlik is die baie rooigekeurde gedeeltes pektiensure en die blou, korrelrige gedeeltes die DNA. Adinolfi *et al.* 1991 beskryf in sy studies 'n suuragtige polisakkaried in *E. frederici guilielmi*. Dieselfde soort studie is nog nie op *E. ferox*-stuifmeel uitgevoer nie maar soortgelyke polisakkariede is ook in *E. ferox*-stuifmeel moontlik teenwoordig.

6) Toets vir lipiede

Soedanswart kleur lipiede swart. Figuur 3.5 dui aan dat die inhoud van die stuifmeelkorrels ongekleurd is, terwyl die wande van die stuifmeelkorrels wel swart vertoon. 'n Lipiedagtige substans in die wand van die stuifmeelkorrel is dus moontlik teenwoordig.

7) Toets vir proteïene

Die inhoud van die stuifmeelkorrel kleur blou en die kernmateriaal kleur amper swart- blou tot donkerblou. Wande vertoon bykans swart (Figuur 3.6). Dit wil voorkom of proteïene wel teenwoordig is.

In vitro-kiemingstoetse

Die rou data, bestaande uit minimum en maksimum persentasie kieming, aantal observasies, standaardafwyking van die aantal observasies asook die spesie, jaar waarin stuifmel versamel is en die konsentrasies sukrose en boorsuur, word in Bylaag 3.1 weergegee. Die 0% sukrosebehandeling het in geen van die eksperimente positiewe resultate opgelewer nie en is dus uit die analise gelaat. Tabel 3.2 dui die statistiese verwerking van die kiemings=

persentasies vir *E. caffer*- en *E. ferox*-stuifmeel (1986) aan. Die verskillende kombinasies van veranderlikes word ook in Tabel 3.2 weergegee. Aangesien die persentasies kieming tussen 0% en 80% lê, is die data met die booghoektransformasie getransformeer.

Ss % is die persentasie variasie en verklaar elke effek relatief tot die totale variasie. Wanneer die ss% kleiner as 5% is, is die bydrae van die komponent onbelangrik en kan aan toeval toe te skryf wees. Die resultate toon dat sukrose-, en boorsuurkonsentrasie in die kiemingsmedium wel van belang is. Sukrose-boorsuur interaksie se ss% is $\pm 20\%$. Dit dui daarop dat hierdie faktore belangrike komponente van die kiemingsmedium uitmaak en dat 'n geskikte kiemingsmedium nie daarsonder kan klaarkom nie (Shivanna & Johri 1985). Die ouderdom van *Encephalartos*-stuifmeel in hierdie geval speel nie 'n rol nie aangesien dit hoofsaaklik vars stuifmeel is wat gebruik is in die *in vitro* kiemingstoets.

Stuifmeel versamel in die jare 1989, 1991 en 1992 se optimale kiemingsmedium sluit 0,005% boorsuur en 5% sukrose in. Hierdie stuifmeel wat al "oud" is, is getoets om seker te maak of ontkieming van stuifmeel wel nog kan plaasvind in eersgenoemde kiemingsmedium.

Tabel 3.2 Getransformeerde waardes van die kiemingspersentasies deur die Variansie-analisemetode. v.g.-vryheidgraad, sk-som van kwadrate, gsk-gemiddelde som van kwadrate, F-F-toets van die behandelingseffek, F wh (P)- oorskrydingswaarskynlikheid, ss%-persentasie variasie verklaar relatief tot die totale, n.s.-nie betekenisvol verskillend nie.

Bron van variasie	vg	sk	gsk	F	F wh (P)	ss %
Sukrose (Su)	1	2851,10	2851,10	206,69	< 0,001	± 10
Boorsuur (Boor)	2	3865,45	1932,73	140,11	< 0,001	< 10
Spesie (Sp)	1	181,50	181,50	13,16	< 0,001	> 10
Ouderdom (Oud)	2	6227,64	3113,82	225,74	< 0,001	< 5
Su.Boor	2	37,00	18,50	1,34	n.s.	± 20
Su.Sp	1	0,00	0,00	0,00	n.s.	< 5
Boor.Sp	2	261,54	130,77	9,48	< 0,001	< 5
Su.Oud	2	938,15	469,08	34,01	< 0,001	< 5
Boor.Oud	4	487,50	121,88	8,84	< 0,001	< 5
Sp.Oud	2	33,66	16,83	1,22	n.s.	< 5
Su.Boor.Sp	2	136,89	68,44	4,96	0,01<P< 0,05	< 5
Su.Boor.Oud	4	832,53	208,13	15,09	< 0,001	< 5
Su.Sp.Oud	2	101,21	50,61	3,67	0,01<P< 0,05	< 5
Boor.Sp.Oud	4	11723,88	2930,97	212,48	< 0,001	±40
Su.Boor	4	950,11	237,53	17,22	< 0,001	< 5
Residu	108	1489,75	13,79			
Totaal	143	30117,91				

Na hierdie bevindings is daar besluit om telkens drie kiemingsmediums naamlik,

a) 5% sukrose en 0,005 % boorsuur, b) 10% sukrose en 0,005% boorsuur en c) 15% sukrose en 0,005% boorsuur opgelos in gedistilleerde water te gebruik. Hierdie navorsing resultate word in hoofstuk vier bespreek.

SAMEVATTING

Met aanpassing van die ysasynsuur se hoeveelhede het Alexander se kleurstof 'n baie goeie aanduiding gegee of die stuifmeelkorrels geaborteer is al dan nie. Verdere verfynde toetse kan 'n korrelasie tussen geaborteerde stuifmeelkorrels en nie-geaborteerde stuifmeelkorrels aantoon. Selfs met DAPI se toets kan die fluoresserende kerne wel waargeneem word. Hierdie fluoressering dui op lewenskragtige stuifmeel. Indien die kleurstofkonsentrasie van DAPI in die hangdruppelmetode verfyn kan word kan hierdie toets gebruik word om dadelik vas te stel hoeveel geaborteerde en nie-geaborteerde by *Encephalartos*-stuifmeel teenwoordig is. So kan 'n vinnige beraming gemaak word of die stuifmeel wel gebruik kan word vir verdere ontkiemingstoetse of handbestuiwing van die vroulike keëls wel kan voortgaan.

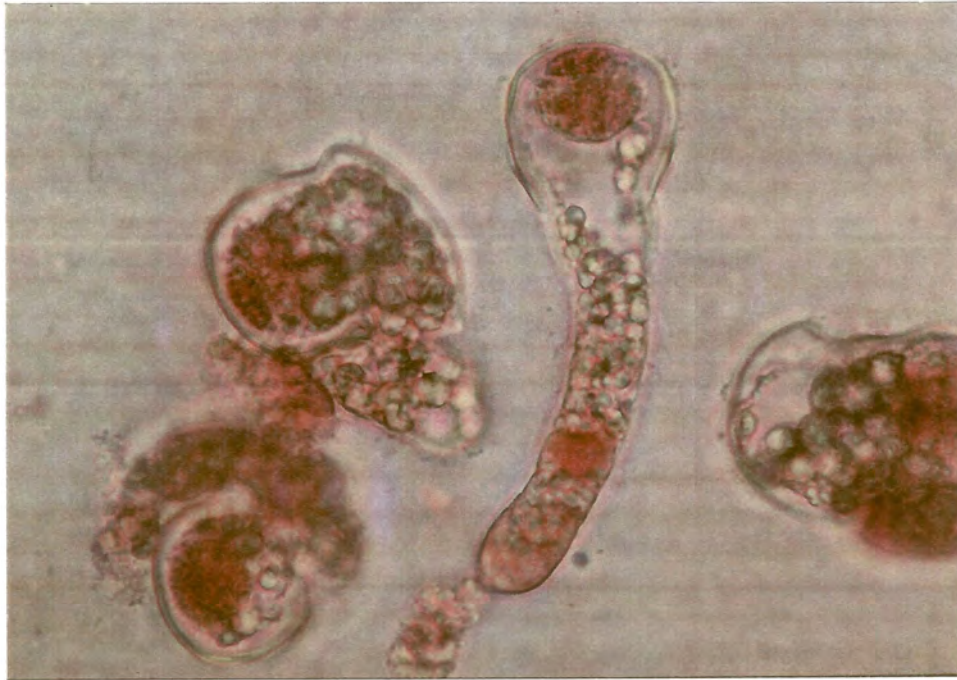
Die toetse om stysel, lipiede en proteïene het ook resultate opgelewer wat nie duidelik uitspraak lewer of die stowwe teenwoordig is al dan nie. Duidelike vinnige toetse om gou te bepaal wat die chemiese inhoud van die stuifmeelkorrel is, kan baie handig wees, maar hierdie toetse sal verfyn moet word vir *Encephalartos*-stuifmeel om sodoende die regte toets vir die regte histochemiese stof daar te stel.

Die bepaalde kiemingsmedium soos getoets in hierdie hoofstuk dui daarop dat lae sukrosekonsentrasies nie altyd geskik is in 'n kiemingsmedium om *Encephalartos*-stuifmeel

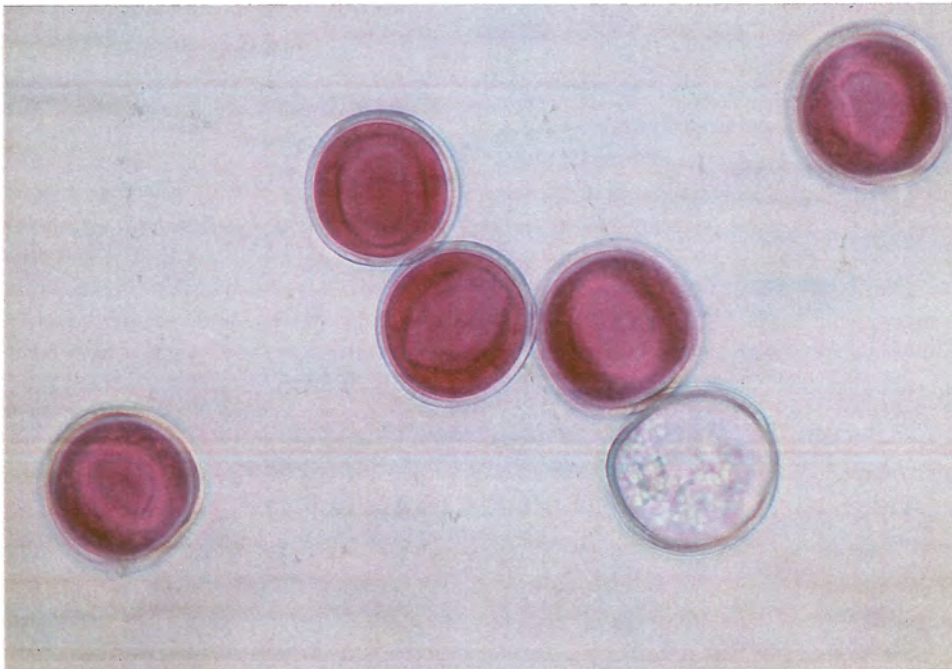
in te ontkiem nie. Hoër sukrosekonsentrasies in die kiemingsmedium kan moontlik aan die inherente behoeftes van die stuifmeel voorsien aangesien verskillende spesies se stuifmeel spesifieke behoeftes het (Demeke & Hughes 1991). Laasgenoemde outeurs noem dat die inherente behoeftes van die stuifmeel wel verskil van jaar tot jaar en van spesie tot spesie. Die aanbeveling van die volgende kiemingsmedium vloei direk uit hierdie tendens, naamlik 5%, 10% en 15% sukrose in water afsonderlik opgelos met 'n 0,005% boorsuur in elke oplossing. Hierdie sukrosekonsentrasies dek 'n wye spektrum van behoeftes wat die stuifmeelkorrel inherent kan besit.



FIGUURBLAD



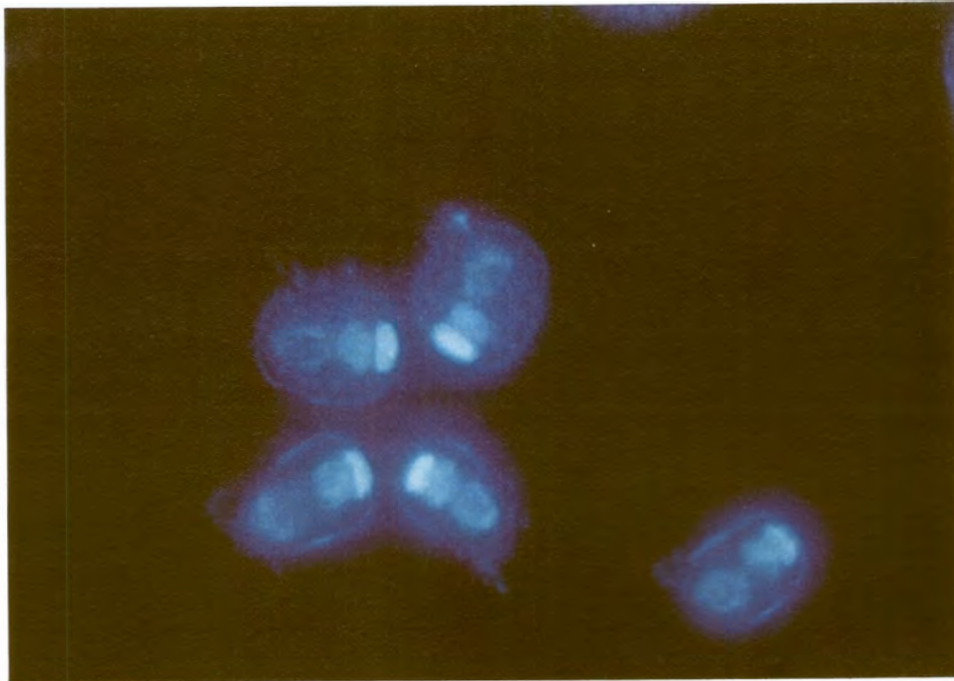
3.1



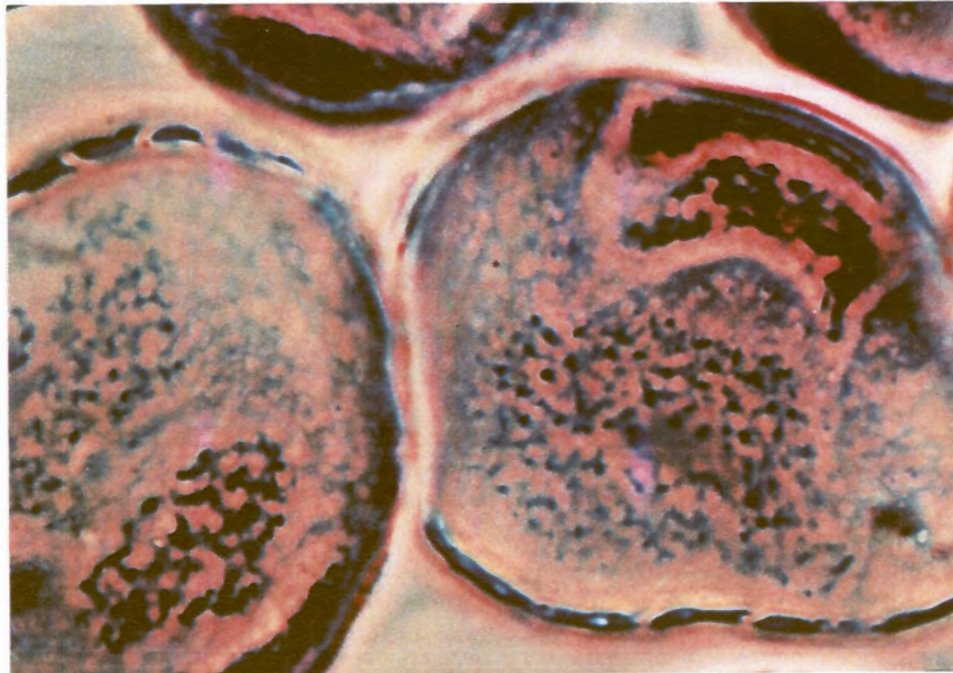
3.2

Figuur 3.1, 3.2 3.1: Stuifmeelkorrels van *E. ferox* wat met asetokarmyn gekleur is. Kernmateriaal is duidelik waarneembaar. Ontkiemde sowel as nie-ontkiemde stuifmeelkorrels se kerninhoud kleur. $\times 400$. 3.2: *Encephalartos ferox*-stuifmeel wat met Alexander se kleurstof gekleur is. Arboteerde stuifmeelkorrels kleur lig. Nie-arboteerde stuifmeelkorrels kleur rooi. $\times 400$.

3.3

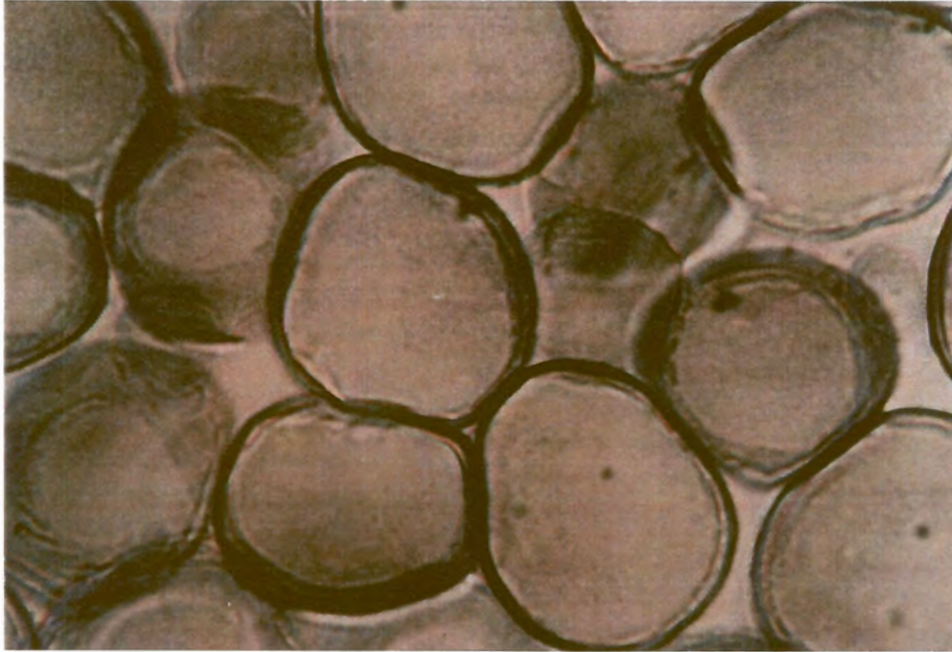


3.4

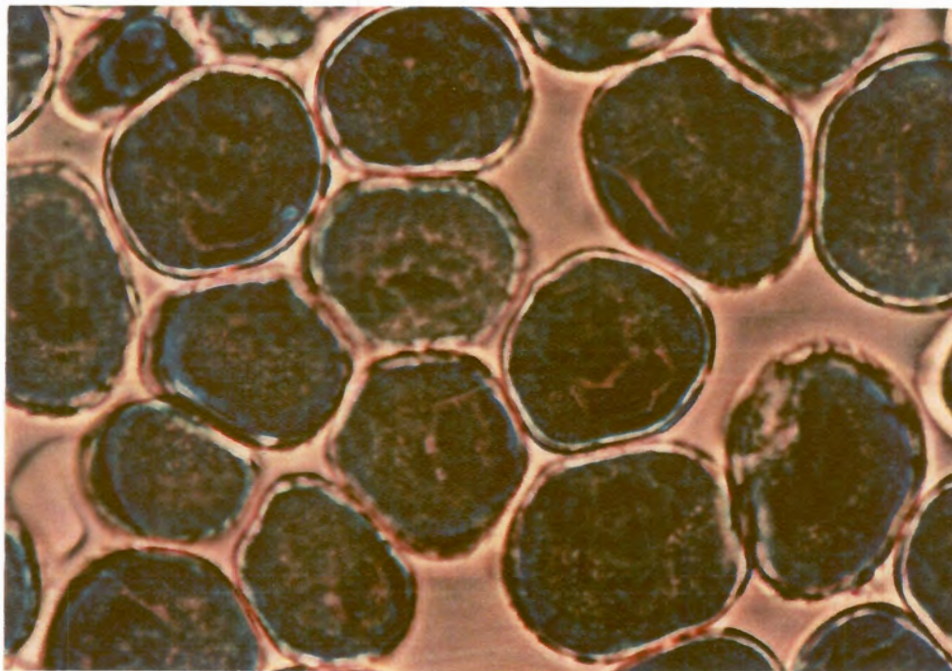


Figuur 3.3, 3.4 3.3: Stuifmeelkorrels van *E. ferox* gekleur met die vitaliteitskleurstof, DAPI. $\times 100$. Die fluoresserende kerne toon aan dat dié stuifmeelkorrels wel lewenskragtig is. 3.4: Stuifmeel van *E. ferox* wat met Toluidienblou en PAS reaksie gekleur is. Moontlik is die rooigekleurde gedeeltes pektiensure en die blougekleurde korrelrige strukture, kernmateriaal. Die wande wat duidelik blou kleur is 'n moontlike reaksie op die Toluidienblou kontrastering. $\times 400$.

3.5



3.6



Figuur 3.5, 3.6 3.5: Stuifmeelkorrels van *E. ferox* wat met Soedanswart B gekleur is. Selinhoud is ongekleurd maar die swartgekleurde wand dui op 'n lipiedbevattende substans. $\times 250$. 3.6: *Encephalartos*-stuifmeel wat met Amidoswart gekleur is. Die wand kleur swartblou, die inhoud wat uit proteïene bestaan, kleur blou en die kernmateriaal kleur donkerblou tot bruin. $\times 200$.

VERWYSINGS

- ADINOLFI, M., CORSARO, M.M., MANGONI, L. & PARRILLI, M. 1991. Studies of an acidic polysaccharide from *Encephalartos friderici quilielmi*. *Carbohydrate Res.* 222: 215-221.
- ALEXANDER, M.P. 1969. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. *Stain Technol.* 44: 117-122.
- BREWBAKER, J.L. & KWACK, B.H. 1963. The essential role of calcium in pollen tube growth. *Am. J. Bot.* 50: 859-865.
- BULLOCK, S., ASHFORD, A.E. & WILLETS, H.J. 1980. The structure and histochemistry of sclerotia of *Sclerotinia minor* Jagger II. Histochemistry of extracellular substances and cytoplasmic reserves. *Protoplasma* 104: 333-351.
- CHENG, C. & McCOMB, J.A. 1992. *In vitro* germination of wheat pollen on raffinose medium. *New Phytol.* 120: 459-462.
- COLEMAN, A.W. & GOFF, L.J. 1985. Applications of fluorochromes to pollen biology. I. Mithramycin and 4',6-Diamino-2-Phenylindole (DAPI) as vital stains and for quantitation of nuclear DNA. *Stain Technol.* 60: 145-154.
- DEMEKE, T. & HUGHES, H.G. 1991. Germination and storage of pollen of *Phytolacca dodecandra* L. (endod). *Ann Bot.* 68: 13-15.
- FEDER, N. & O'BRIEN, T.P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *Am. J. Bot.* 55: 123-142.
- GWYN, J.J. & STELLY, D.M. 1989. Method to evaluate pollen viability of upland cotton: Tests with chromosome translocations. *Crop. Sci.* 29: 1165-1169.
- HESLOP-HARRISON, J. & HESLOP-HARRISON, Y. 1970. Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence: intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. *Stain Technol.* 45:115-120.

- HESLOP-HARRISON, J., HESLOP-HARRISON, Y & SHIVANNA, K.R. 1984. The evaluation of pollen quality, and further appraisal of fluorochromatic (FCR) test procedure. *Theor. Appl. Gen.* 67: 367-375.
- KEARNS, C.A. & INOUYE, D.W. 1992. Techniques for Pollination Biologists. University Press of Colorado, Colorado.
- MITRA, G.C. 1989. A simple technique for pollen viability test. *Current Sc.* 58: 1150-1151.
- MUELLER, W.C. & GREENWOOD, A.D. 1978. The ultrastructure of phenolic-storing cells fixed with caffeine. *J. Exp. Bot.* 29: 757-764.
- O'BRIEN, T.P. & McCULLY, M.E. 1981. The Study Of Plant Structure Principles And Selected Methods. Thermarcarphi Pty. Ltd. Melbourne, Australia.
- POTTS, B.M. & MARSDEN-SMEDLEY, J.B. 1989. *In vitro* germination of *Eucalyptus* pollen: response to variation in boric acid and sucrose. *Aust. J. Bot.* 37: 429-441.
- ROBBERTSE, P.J., LOCK, J.J., STOFFBERG, E. & COETZER, L.A. 1990. Effects of boron on directionality of pollen tube growth in *Petunia* and *Agapanthus*. *S. A. J. Bot.* 56: 487-492.
- SHIVANNA, K.R. & HESLOP-HARRISON, J. 1981. Membrane state and pollen viability. *Ann. Bot.* 47: 759-770.
- SHIVANNA, K.R., LINSKENS, H.F. & CRESTI, M. 1991. Pollen viability and pollen vigor. *Theor. Appl. Genet.* 81: 38-42.
- SIDMAN, R.L., MOTTLA, P.A. & FEDER, N. 1961. Improved polyester wax embedding for histology. *Stain Technol.* 36: 279-284.
- STANLEY, R.G. & LINSKENS, H.F. 1974. Pollen: Biology, Biochemistry, Management. Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York.

VON TEICHMAN UND LOGISCHEN, I. & ROBBERTSE, P.J. 1981. The subterranean intermediary organs of *Dioscorea continifolia* Kunth: 2. Anatomy of these organs in comparison with that of a typical root and shoot. *S. Afr. J. Bot.* 47:637-651

WIDRLECHNER, M.P., PELLET, H.M., ASCHER, P.D. & FUHRMAN, S.C. 1983. *In vivo* pollen germination and vital staining in deciduous *Azaleas*. *HortScience* 18: 86-88

HOOFSTUK 4

**DIE KIEMINGSGEDRAG VAN *ENCEPHALARTOS-*
STUIFMEEL IN VERSKILLENDE SUKROSE-
KONSENTRASIES NADAT DIE
STUIFMEEL BY VERSKILLENDE TEMPERATURE
GEBERG IS.**

- * INLEIDING
- * MATERIAAL EN METODE
- * RESULTATE EN BESPREKING
- * SAMEVATTING
- * FIGURE
- * VERWYSINGS



INLEIDING

Soos reeds in hoofstuk een genoem, is die behoud van stuifmeelkiemkragtigheid en -lewenskragtigheid grootliks van die stuifmeelbergingswyses afhanklik (Stanley & Linskens 1974). Verslae oor die berging en vervoer van dadelpalmstuifmeel is van die oudste verslae bekend oor stuifmeel lewenskragtigheid. Die manlike blomme van *Phoenix dactylifera* is duidelik genoem in handelskontrakte in die Hammurabi periode omtrent 2000 v.C (Stanley & Linskens 1974). Waar daar aanvanklik gedink is dat berging van manlike blomme in donker, droë plekke die kiemkragtigheid en lewenskragtigheid verleng, gaan die twee eienskappe egter verlore met veroudering (Stanley & Linskens 1974).

Kritiese eksterne faktore sluit relatiewe humiditeit (RH), temperatuur en die atmosfeer wat die stuifmeel omring in. Resultate oor die lewenskragtigheid van stuifmeel van ongeveer 80 spesies, wat geberg is by lae humiditeite, is in die laat 19 de vroeë 20 ste eeu bekend gemaak (Stanley & Linskens 1974).

Stuifmeel van sommige spesies byvoorbeeld *Betula verrucosa* kan tot 920 dae by 5° C en 0% heersende relatiewe humiditeit (RH) geberg word (Stanley & Linskens 1974) en nog 'n kiemingspersentasie van 20% lower. Ander spesies soos *Ginkgo biloba* en *Pinus nigra* wat vir 700 en 920 dae by 5° C geberg is, het na die berging nog 'n kiemingspersentasie van 35% en 20% onderskeidelik gehad (Stanley & Linskens 1974). *Verticordia*-stuifmeel kan egter vir ses maande (180 dae) by kamertemperatuur geberg word en behou 50% kiemkragtigheid (Tyagi *et al.* 1992).

Stuifmeel van *Gossypium hirsutum* L. kan vir 24 uur by 10° C en 15° C by beide hoë en lae humiditeite geberg word (Rodriquez-Garry & Barrow 1986). Uit die verskillende werke kan afgelei word dat stuifmeel by verskillende temperature en relatiewe humiditeite geberg word. Elke spesie het 'n eie optimum bergingstyd, -humiditeit en -temperatuur.

Daar moet egter gewaak word om nie te veralgemeen nie, aangesien die resultate verkry van die berging van verskillende spesies by hul spesifieke optimum RH nie altyd vergelykbaar is nie as gevolg van inherente eienskappe van die stuifmeel self (Stanley & Linskens 1974). Selfs die invloed van berging van stuifmeel by 'n temperatuur van -196° C (berging in vloeibare stikstof) is ondersoek (Maguire & Sedgley 1997, Van der Walt & Littlejohn 1996). Berging van *Zea mays*- L., *Narcissus*- en *Verticordia*-stuifmeel in voorafgenoemde medium, is bekend (Barnabas & Rajki 1976; Bowes 1990; Tyagi *et al.* 1992).

Vriesdroging van verskillende biologiese materiale is al gedoen (Ching & Ching 1964; Davies & Dickinson 1971). Hierdie metode (indien geslaagd by *Encephalartos*-stuifmeel) kan lei tot langtermynberging. Drie faktore is van kardinale belang by vriesdroging, naamlik die oorspronklike voginhoud van die stuifmeelmonster, die duur van vriesdroging en gekontroleerde hidrasie na 'n periode van berging (Shivanna & Johri 1985). Volgens Ching & Ching (1964) vriesdroog dennestuiwmeel (deel van Gymnosperme) beter nadat dit luggedroog is.

Osborne *et al.* (1992) het *Encephalartos*-stuifmeel by heersende (daaglikse wisselende temperatuur), 0° C en -15° C geberg. Twee spesies van die genus *Encephalartos*, naamlik *E. ferox* en *E. transvenosus* is deur Osborne ondersoek. In hiërdie verhandeling is daar by

5° C vier spesies gebruik, naamlik *E. caffer*, *E. eugene-maraisii*, *E. ferox* en *E. lehmannii*. By 'n temperatuur van 25° C is drie spesies gebruik, naamlik *E. caffer*, *E. ferox* en *E. lehmannii*. Al hierdie spesies is by heersende (daaglikse wisseling in humiditeit) RH geberg en die uitwerking van konstante RH by 5° C en 25° C op *Encephalartos*-stuifmeel is ook ondersoek. Volgens Stanley & Linskens (1974) behou die meeste plantspesies se stuifmeel hulle lewenskragtigheid die beste by lae RH.

Die doel van hierdie studie is om die invloed van berging by 5° C (yskas) en 25° C met heersende (wisselende) RH en konstante RH, asook -196° C op die lewenskragtigheid van *Encephalartos*-stuifmeel te bepaal. Vriesdroging kan 'n moontlike alternatief wees vir die berging van *Encephalartos*-stuifmeel. Indien dit moontlik sou wees om die stuifmeel van broodbome vir lang periodes (langer as een jaar) wel onder hierdie toestande te kan berg, sal kwekers en ander liefhebbers makliker stuifmeel kan berg in stuifmeelbanke om self handbestuiwing in hulle tuine of kwekerye toe te pas wanneer die vroulike plante se keëls gereed is vir bestuiwing.

MATERIAAL EN METODE

Vars stuifmeel van die *Encephalartos*-spesies soos in Tabel 4.1 aangetoon, is uit die Manie van der Schijff Botaniese Tuin van die Universiteit van Pretoria versamel. Die besonderhede, soos versameldatum en temperatuur waarby stuifmeel geberg is, word ook in Tabel 4.1 aangetoon. Die stuifmeel van die verskillende spesies is op dieselfde manier soos in Hoofstuk 3 versamel en in digsluitende botteltjies geplaas. Die houers met stuifmeel is by verskillende temperature geberg.

Tabel 4.1 Besonderhede van stuifneelspesies, versameldatum van stuifmeel, temperatuur waarby stuifmeel geberg is, RH en datum van beëindiging van eksperiment. RH-Relatiewe Humiditeit

Spesie	Versameldatum	RH	Einde van eksperiment
5 ° C			
<i>E. caffer</i>	1986-02-19	heersend	1987-09-19
<i>E. ferox</i>	1986-02-25	heersend	1987-09-25
<i>E. lehmannii</i>	1986-04-14	heersend	1987-09-14
<i>E. eugene-maraisii</i>	1987-02-22	heersend	1987-10-22
<i>E. ferox</i>	1987-02-28	heersend	1987-10-28
25° C			
<i>E. caffer</i>	1986-02-19	heersend	1986-11-19
<i>E. ferox</i>	1986-02-25	heersend	1986-11-25
<i>E. lehmannii</i>	1986-04-14	heersend	1986-11-14
5° C			
<i>E. ferox (1986)</i>	1986-02-25	20,40,60,80,90	1986-10-25
<i>E. lehmannii</i>	1986-04-14	20,40,60,80,90	1987-03-14
<i>E. eugene-maraisii</i>	1987-02-19	20,40,60,80,90	1987-10-19
<i>E. ferox (1987)</i>	1987-02-28	20,40,60,80,90	1987-10-28
25 ° C			
<i>E. eugene-maraisii</i>	1987-02-19	20,40,60,80,90	1987-10-19

Tabel 4.1 Vervolg

25 ° C			
<i>E. ferox (1986)</i>	1986-02-25	20,40,60,80,90	1986-10-25
<i>E. lehmannii</i>	1986-04-14	20,40,60,80,90	1987-03-14
<i>E. ferox (1987)</i>	1987-02-28	20,40,60,80,90	1987-10-28
-196 ° C			
<i>E. eugene-maraisii</i>	1987-02-22	_____	1987-10-22
<i>E. ferox</i>	1987-02-28	_____	1987-10-28
Vriesdroging			
5° C en -25° C			
<i>E. eugene-maraisii</i>	1987-02-22	_____	1987-10-22
<i>E. ferox</i>	1987-02-28	_____	1987-10-22

1) 5° C (in yskas)

Skoon stuifmeel van vier *Encephalartos*-spesies is in aparte digsluitende botteltjies by 'n temperatuur van 5° C en heersende RH geberg.

2) 25° C en heersende relatiewe humiditeit

Skoon stuifmeel van drie *Encephalartos*-spesies is in aparte oop en digsluitende botteltjies geplaas. Die oop houers is gebruik om die invloed van heersende humiditeite te monitor. Gemiddelde maandelikse humiditeit in Pretoria vir Januarie 1986 tot Desember 1987 word in Tabel 4.2 weergegee. Digsluitende houers is gebruik om die variërende humiditeite te beperk en 'n meer konstante RH te bewerkstellig. Die houers met stuifmeel is by 'n temperatuur van 25° C (kamertemperatuur) en heersende RH geberg.

TABEL 4.2 GEMIDDELDE MAANDELIKSE HUMIDITEIT VAN DIE ATMOSFEER IN PRETORIA VIR 1986-01-01 TOT 1987-12-31 SOOS VERSKAF DEUR DIE WEERBURO IN PRETORIA

PRETORIA	TYD - 08:00												
JAAR	JAN	FEBR	MRT	APR	MEI	JUN	JUL	AUG	SEPT	OKT	NOV	DES	GEMIDDELD JAARLIKS
1986	71	71	69	77	67	70	64	55	63	67	70	68	67,7
1987	73	68	76	79	68	67	65	65	70	66	70	76	70,3
Gemiddeld maandeliks	72	69	72	75	68	69	64	60	63	66	70	72	68,3

PRETORIA	TYD - 12:00												
JAAR	JAN	FEBR	MRT	APR	MEI	JUN	JUL	AUG	SEPT	OKT	NOV	DES	GEMIDDELD JAARLIKS
1986	44	42	40	44	30	36	31	26	32	42	47	46	38,3
1987	46	42	47	44	28	30	28	35	38	38	49	50	39,6
Gemiddeld maandeliks	45	42	43	44	30	33	30	30	40	40	48	48	39,4

PRETORIA	TYD - 20:00												
JAAR	JAN	FEBR	MRT	APR	MEI	JUN	JUL	AUG	SEPT	OKT	NOV	DES	GEMIDDELD JAARLIKS
1986	64	52	52	61	47	50	43	35	41	52	58	63	51,5
1987	56	53	63	55	45	45	41	43	55	49	67	63	52,9
Gemiddeld maandeliks	55	52	57	58	46	47	42	39	48	51	62	63	51,7

3) 5 ° C en gekontroleerde RH

Skoon stuifmeel is in oop glasbloedbuise in glasbekers geplaas. Die oop glasbuise, met stuifmeel, is by 'n temperatuur van 5° C by gekontroleerde RH in geslote desikkators by die volgende reeks RH 's geberg naamlik, 25%; 43%; 59,5%; 82,5% en 93%. Die RH's is verkry deur die volgende versadigde soutoplossings (onder in geslote desikkators te plaas) naamlik $KC_2H_3O_2$; $ZnNO_3$; $Na_2Cr_2O_7 \cdot H_2O$; $(NH_4)_2SO_4 \cdot 10H_2O$ en $BaCl_2$ (Rockland 1960; Winston & Bates 1960). Vir makliker verwysing sal na die reeks 20%, 40%, 60% 80% en 90% RH verwys word. Die stuifmeel is vir 'n maand ongehinderd in die desikkators gelaat en daarna is telkens een keer per maand een glasbuis met stuifmeel uit die desikkator gehaal en die stuifmeelmonster is vir kiemkragtigheid getoets.

4) 25° C en gekontroleerde RH

Skoon stuifmeel is in glasbloedbuise geplaas. Die oop glasbuise met stuifmeel is in glasbekers in geslote desikkatore by 'n temperatuur van 25° C en gekontroleerde RH geberg. Die volgende reeks RH is by 25° C opgestel:

22,5%; 43%; 57,5%; 80% en 90% en is verkry deur die volgende versadigde soutoplossings (onder in geslote desikkatore te plaas), naamlik $KC_2H_3O_2$; $K_2CO_3 \cdot 2H_2O$; $NaBr \cdot 2H_2O$; $(NH_4)_2SO_4$ en $BaCl_2$ (Rockland 1960; Winston & Bates 1960). Weereens sal daar na die reeks 20%, 40%, 60%, 80%, 90% RH telkens verwys word.

5) -196° C (in vloeibare stikstof)

Skoon stuifmeel van twee *Encephalartos*-spesies is in strooitjies wat aan die eenkant geslote is geplaas waarna die strooitjies met stuifmeel in die vloeibare stikstof gedompel is. Maandeliks is een strooitjie van elke spesie uit die vloeibare stikstof gehaal en in 'n waterbad by 32° C vir 15-20 minute ontvries en gehidreer. Daarna is die kiemkragtigheid van elke monster getoets.

6) Vriesdroging

Vars versamelde stuifmeel is in digsluitende botteltjies geplaas waarna dit deur die personeel van die Departement Biochemie, Universiteit van Pretoria, op die standaardmanier gevriesdroog is. Die gevriesdroogde stuifmeel is daarna by 5° C (yskas) en -25° C (vrieskas) geberg. 'n Monster van elke behandeling is maandeliks geneem. Stuifmeelmonsters van elke spesie is in 'n waterbad by 32° C vir 15-20 minute ontvries en gehidreer.

In vitro kiemingstoetse volgens die hangdruppel-metode van Stanley & Linskens (1974) is maandeliks op die gebergde stuifmeel uitgevoer. Die kiemingsmediums het bestaan uit 5%; 10% of 15% sukrose, elk met 0,005% boorsuur opgelos in gedistilleerde water. Stuifmeelkorrels is vir 48 uur in die kiemingsmediums by 28° C geïnkubeer. Ontkiemde en nie-ontkiemde stuifmeelkorrels van agt mikroskoopgesigsvelde (twee hangdruppels per spesie, per toetsessie, dit wil sê twee mikroskoopplaatjies), van die projeksieligmikroskoop is vir die berging van stuifmeel by 5° C en 25° C, getel. Elke mikroskoopgesigsveld is as 'n herhaling beskou, aangesien daar telkens nie minder as 30 ontkiemde en nie-ontkiemde stuifmeelkorrels getel is nie. By -196° C en vriesdroging is vier keer honderd stuifmeelkorrels getel van vier hangdruppels, dit wil sê van vier mikroskoopplaatjies. Elke mikroskoopplaatjie is hier as 'n herhaling beskou. Stuifmeel is as gekiem beskou, indien die stuifmeelbuis se lengte twee keer die deursnee van die stuifmeelkorrel bereik het. Die aantal gekiemde stuifmeelkorrels is as persentasie van die totale aantal getelde stuifmeelkorrels per veld uitgedruk. Die resultate is statisties soos in Hoofstuk 3 uiteengesit, verwerk.

RESULTATE EN BESPREKING

1) 5° C (Heersende RH)

Die resultate word in Figuur 4.1 a tot e aangetoon. Tabel 4.3 verskaf die persentasie sukrose, gemiddelde kiemingspersentasie, standaardafwyking en die minimum en maksimum persentasie kieming tydens die aanvang van die eksperiment. Bylaag 4.1 gee 'n samevatting van die aantal waarnemings, die persentasie kieming (gemiddeld), standaardafwyking (std.afw.), minimum en maksimum persentasie kieming vir elke soort kiemingsmedium en vir elke maand waarin die stuifmeel *in vitro* gekiem is. In al die figure is statistiese gegewens aangebring deur hoofletters A, B en D wat betekenisvolle verskille tussen aanvangspersentasiekieming en persentasie kieming van die opeenvolgende maande aandui. Kleinletters (a, b en d) toon nie-betekenisvolle verskille tussen aanvangspersentasiekieming en die persentasie kieming van die opeenvolgende maande.

Een van die eerste probleme wat die data getoon het, is dat die manlike keëls van die verskillende spesies nie op dieselfde tyd stuifmeel stort nie. Stuifmeel van beide *E.ferox* (1986) en *E. caffer* is in Februarie 1986 versamel, terwyl stuifmeel van *E. lehmannii* eers in April 1986 versamel is. Hierdie twee maande verskil in aanvangstydperk bemoeilik sodoende die statistiese verwerking.

Die feit dat stuifmeel van *E. eugene-maraisii* en *E. ferox* vir herhalingdoeleindes in 1987 versamel is en dat dié kiemingstoetse tot Oktober 1987 verloop en nie eindig in September nie, bemoeilik die saak nog verder.

Tydens die aanvang van die eksperiment het die persentasie kieming vir *E. ferox* (1986) en

E. ferox (1987) aansienlik verskil by al drie verskillende kiemingsmediums (Tabel 4.3). Uit hierdie tabel is dit duidelik dat die 10% sukrose-oplossing die beste stuifmeelkiemingspersentasie by *E. ferox* (1986, 1987) en *E. lehmannii* tydens die aanvang van die eksperiment gehad het. Die beste sukrose-oplossing by *E. caffer*-stuifmeel was 15% en by *E. eugene-maraisii*-stuifmeel was dit 5% sukrose. Reeds aan die begin van die eksperiment is dit duidelik dat verskillende sukrosekonsentrasies vir die kieming van die verskillende spesies se stuifmeel noodsaaklik is. Bylaag 4.1 toon al die kiemingspersentasies van elke spesie by die drie kiemingsmediums van die daarop volgende maande aan.

Wanneer die kiemingspersentasies van *E. ferox*-stuifmeel (1986) (Figuur 4.1 a) en *E. ferox*-stuifmeel (1987) (Figuur 4.1 b) vir die maande Maart, April en Mei vergelyk word, is daar vir die jare 1986 en 1987 'n ooreenkoms in die styging van die persentasie kieming. Hierdie stygende tendens word herhaal in 1987. Indien die stuifmeelkieming van *E. ferox* (1987) en *E. eugene-maraisii* (stuifmeel versamel in dieselfde jaar, naamlik 1987) vergelyk word, is dit duidelik dat dieselfde opwaartse patroon vir die maande Februarie, Maart, April en Mei en dan weer vir die maande Julie, Augustus en September geld. 'n Afwaartse patroon vir die maande Mei, Junie en Julie kan waargeneem word (Figuur 4.1.b en Figuur 4.1 e).

Wat die verskillende sukrosekonsentrasies betref, is dit duidelik uit al die figure (Figuur 4.1 a tot 4.1 e) en Bylaag 4.1, dat die maandelikse inherente behoeftes van die stuifmeel verskil. Die persentasie kieming van *E. caffer*-stuifmeel (Figuur 4.1 c) in die jaar 1986 toon 'n styging in persentasie kieming in die maande April en Julie by 5% en 10% sukrose. Vyftien persent sukrose toon 'n styging in persentasie kieming in April en Augustus. Vir die jaar 1987 is daar by 5% en 10% sukrose 'n styging in kiemingspersentasie in April en

Augustus maar vir 15% sukrose is die styging in Mei en Augustus. Die styging in kiemingspersentasie by *E. eugene-maraisii*-stuifmeel is in April-Mei en weer in September by al drie die kiemingsmediums verkry (Figuur 4.1 e).

Tabel 4.3 Die invloed van sukrose-konsentrasies op die kiemingspersentasie van verskillende *Encephalartos*-stuifmeel tydens die aanvang van die eksperiment.

Spesie	% Sukrose	Gemiddelde aanvangs- kieming %	Std.Afw.	Minimum- Maksimum %
<i>E. caffer</i>	5	26,855	20,378	7,44-53,97
	10	27,286	11,133	14,12-46,25
	15	37,339	4,683	31,52-44,44
<i>E. ferox (1986)</i>	5	37,596	2,569	33,33-41,66
	10	57,186	5,513	52,00-66,66
	15	35,093	6,186	29,41-45,16
<i>E. ferox (1987)</i>	5	3,610	1,618	1,33-5,06
	10	10,467	7,433	3,85-17,86
	15	3,462	1,133	2,00-4,00
<i>E. lehmannii</i>	5	25,428	6,259	15,00-35,71
	10	40,141	8,370	22,22-50,00
	15	17,110	3,592	12,67-23,77
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	37,835	4,920	31,34-42,42
	10	33,597	3,044	31,48-38,10
	15	21,135	3,950	15,79-24,24

Betekenisvolle verskille ($P < 0,001$) tussen die aanvangs- en elke maand se kieming kan ook 'n duidelike aanduiding gee van 'n moontlike patroon in die kiemingsgedrag van die verskillende stuifmeel.

Verdere statistiese verwerkings toon ten opsigte van die data dat daar hoogs betekenisvolle verskille ($P < 0,001$) bestaan tussen die sukrosekonsentrasies en die manier waarop die stuifmeel geberg word. Daar is ook betekenisvolle verskille (interaksie) tussen spesies en die maande waarin die stuifmeel geberg is (Tabel 4.4). Hierdie tabel toon ook aan dat die P-waarde van verskillende kombinasies faktore kleiner is as 0,001, wat hoogs betekenisvolle verskille aantoon.

Tabel 4.4 Variansie-analise van getransformeerde waardes van die persentasie kieming van vier *Encephalartos*-spesies se stuifmeel by 5° C en heersende RH (HH). v.g.-vryheidgraad, sk-som van kwadrate, gsk-gemiddelde som van kwadrate, F-F-toets van die behandelingseffek, F wh (P)- oorskrydingswaarskynlikheid, ss%-persentasie variasie verklaar relatief tot die totale.

Spesie (Sp)	Bron van variasie	vg	sk	gsk	F	F wh (P)	ss %
1986							
<i>E. caffer</i>	% sukrose (Su)	2	6,115	3,057	91,65	< 0,001	<5
	Maand(Su. HH)	42	94,889	2,259	67,73	< 0,001	±85
	Residu	315	10,508	0,033			
	Totaal	359	111,511				

Tabel 4.4 Vervolg

Spesie (Sp)	Bron van variasie	vg	sk	gsk	F	Wh>F (P)	ss %
<i>E. ferox</i>	% Sukrose (Su)	2	1,804	0,902	50,99	< 0,001	<5
	Maand(Su. HH)	42	76,435	1,820	102,87	< 0,001	±91
	Residu	315	5,573	0,018			
	Totaal	359	83,812				
<i>E. lehmannii</i>	% Sukrose	2	4,859	2,429	181,02	< 0,001	±10
	Maand(Su. HH)	36	42,437	1,179	87,84	< 0,001	±80
	Residu	273	3,664	0,013			
	Totaal	311	50,960				
1987							
<i>E. eugene-maraisii</i> en <i>E. ferox</i>	Spesie (Sp)	1	2,257	2,257	467,10	< 0,001	<5
	% Sukrose (Su)	2	5,032	2,257	467,10	< 0,001	±10
	Sp.Su	2	0,468	0,234	48,44	< 0,001	<5
	Maand(Sp. Su)	48	44,724	0,932	192,84	< 0,001	±80
	Residu	162	0,783	0,005			
	Totaal	215	53,264				

Kiemingspersentasies is telkens vergelyk. Die ss% kan egter 'n meer sinvolle verklaring gee aan al die F-waarskynlikheid waardes (P) wat kleiner is as 0,001. Ss % is die persentasie variasie verklaar deur elke effek relatief tot die totale variasie. Ss% kleiner as 5% is onbelangrik en kan blote toeval wees.

Uit Tabel 4.4 is dit duidelik dat by 5° C en heersende humiditeit en die ouderdom (tydperk van berging) die bepalende faktor is by die kieming van die stuifmeel van al vier spesies. Sodra sukrosepersentasie saam met die spesies in ag geneem word as 'n bron van variasie is die ss% kleiner as 5% en is die variasie weglaatbaar.

Die stygende en dalende persentasie kieming tydens sekere maande dui daarop dat daar 'n tipe ritme voorkom wat homself herhaal. Shukla & Shukla (1983) beskryf 'n dagritme by *Abelmoschus esculentus* en beweer dat so 'n endogene ritme van kardinale belang is by hierdie groentegewas tydens bevrugting, vrugset en produsering van die groente. 'n Vier en twintig uur endogene ritme is ook beskryf by *Avena* koleoptiele (Ball & Dyke 1954). Die styging in kiemingspersentasie van die stuifmeel in sekere maande stem ooreen met die ontvanklikheid vir bestuiwing van vroulike keëls van dieselfde spesie. Hierdie styging in kiemingspersentasie van stuifmeel en die ontvanklikheid vir bestuiwing word by *Pappea capensis* beskryf (Fivaz & Robbertse 1993).

Encephalartos-stuifmeel se kiemingspersentasies toon dat stuifmeel wat by 5° C geberg is, nog na twee jaar genoegsame kieming toon om wel bevrugting te kan bewerkstellig. Osborne *et al.* (1991, 1992) het gevind dat by temperature van 0° C en 4°C, stuifmeel van *Encephalartos* spp. 'n gemiddelde kiemingspersentasie van 50% het na 'n jaar. Stuifmeel wat in sekere jare, soos byvoorbeeld die stuifmeel van *E. ferox* wat in 1987 versamel is.

toon lae kiemingspersentasies van die versameldatum af en is moontlik toe te skryf aan eksterne faktore (temperatuur en humiditeit) en inherente faktore van die stuifmeel self.

Samevattend

Encephalartos-stuifmeel kan dus in geslote houers by 5° C (yskas) geberg word. Kwekers en broodboomliefhebbers kan dus self die stuifmeel berg en wanneer hulle dit vir handbestuiwing benodig, is dit makliker bekombaar.

2) 25° C (Heersende RH)

E. caffer- en *E. ferox*-stuifmeel is oor 'n tydperk van 10 maande geberg vanaf Februarie 1986 tot en met November 1986 terwyl stuifmeel van *E. lehmannii* vanaf April tot November, oor 'n tydperk van agt maande (April en November ingesluit), geberg is. Die aanvangspersentasie vir *in vitro* kieming word onderskeidelik vir die 5%, 10% en 15% sukrose konsentrasies in Tabel 4.3 weergegee. Dienooreenkomstige data vir die ander bergingsmaande (in oop en geslote houers) word in Bylaag 4.2 gegee.

Stuifmeel geberg in oop houers

Encephalartos stuifmeel wat in oop houers geberg is, het kiemkragtigheid baie gou verloor soos blyk uit Fig 4.2 a-c. Die kiemingsmedium wat gebruik word om die kiemkragtigheid te toets speel wel 'n geringe rol soos blyk uit die statisties verwerkte data (Tabel 4.5). So het byvoorbeeld *E. ferox* en *E. caffer*-stuifmeel wat in 15% sukrosemedium getoets is, reeds na April en Mei nie meer gekiem nie, terwyl dit in die geval van *E. lehmannii* tot in Augustus nog kiemkragtigheid kon toon (Fig. 4.2 c). Die 5 % sukrosemedium het 'n beter aanduiding van die kiemkragtigheid by al drie spesies getoon. Veral in die geval van *E. caffer* was daar in die 5% sukrose 'n opflikking in die kieming (Fig. 4.2 b). 'n Interessante verskynsel was

die styging in kieming van *E. caffer*-stuifmeel gedurende Maart wat deur al drie die kiemingsmediums aangedui is en nog 'n verdere styging in April is deur die 5% sukrose medium aangedui.

Stuifmeel van *E. ferox* se kieming het vir die kiemingsmedium wat 10% sukrose bevat eers vinnig afgeneem, daarna 'n styging in die persentasie kieming getoon in Mei en daarna het die persentasie kieming afgeneem totdat geen kieming verkry is in Augustus. Die 5% sukrose kiemingsmedium het 'n styging in Julie en weer in September gehad (Fig. 4.2 a).

E. caffer-stuifmeel toon 'n styging in kiemingspersentasie in Maart in al die sukrose-konsentrasies wat as kiemingsmediums gebruik is (Figuur 4.2 b). Die 5% sukrose-kiemingsmedium toon 'n verdere styging in kiemingspersentasie vir April en weer 'n styging in September waarna daar geen kieming in Oktober is nie. Die 10% sukrosekonsentrasie toon 'n stelselmatige afname in kiemingspersentasie tot en met Oktober waar geen kieming meer verkry is nie. Die 15% sukrose kiemingsmedium het alreeds geen kieming in Mei getoon (Figuur 4.2 b).

E. lehmannii-stuifmeel toon vir 5% kiemingsmedium, 'n styging in kiemingspersentasie in Mei en Julie, aan. Die 15% sukrosekiemingsmedium toon slegs 'n styging in kiemingspersentasie in Augustus aan. Tien persent sukrosekiemingsmedium toon 'n stelselmatige afname in persentasie kieming. Geen styging in persentasie kieming word hier waargeneem nie (Figuur 4.2 c).

Stuifmeel geberg in digsluitende houers

Encephalartos-stuifmeel wat in digsluitende houers geberg is, toon 'n stelselmatige afname

in kiemingspersentasie (Figuur 4.2 d-f). *E. ferox*-stuifmeel toon 'n geringe styging in kiemingspersentasie tydens Mei tot Julie in die 5% kiemingsmedium (Figuur 4.2 d). Vanaf September is by *E. ferox*-stuifmeel geen verdere kieming in die drie verskillende kiemingsmediums verkry nie. Die kiemingspersentasie van dieselfde stuifmeel in 10% kiemingsmedium toon 'n afname van die begin van die eksperiment (Februarie) tot en met Junie waar geen kiemingspersentasie is nie. Daarteenoor toon die kiemingspersentasie van dié stuifmeel gekiem in 'n 5% sukrosemedium, 'n afname tot en met April en dan 'n styging in persentasie kieming tot en met Junie. Geen kiemingspersentasie word in die 5% sukrose kiemingsmedium teen Oktober gekry nie.

Stuifmeel van *E. caffer* toon 'n verhoging in persentasie kieming tydens die maand Maart vir al drie sukrosekonsentrasies van die kiemingsmediums. Slegs die 10% sukrose kiemingsmedium het 'n styging in persentasie kieming in Mei getoon. Reeds in Mei-maand het die 5% en die 15% sukrose kiemingsmediums geen kieming binne twee maande getoon (Figuur 4.2 e).

Figuur 4.2 f toon die kiemingspersentasies van *E. lehmannii*-stuifmeel. Die 10% en 15% sukrose kiemingsmedium toon 'n styging in persentasie kieming in Augustus. Vyf persent sukrosekiemingsmedium het 'n stelselmatige afname in kiemingspersentasie vanaf April tot Oktober gehad. Geen kiemingspersentasie is in September in die 10% en 15% sukrose kiemingsmediums verkry nie en vanaf Oktober het die 5% sukrose kiemingsmedium ook geen kieming getoon.

Tabel 4.5 'n Variansie-analise van getransformeerde waardes van die persentasie kieming van drie *Encephalartos*-spesies se stuifmeel by 25° C en heersende relatiewe humiditeit. v.g.-vryheidgraad, sk-som van kwadrate, gsk-gemiddelde som van kwadrate, F-F-toets van die behandelingseffek, F wh (P)- oorskrydingswaarskynlikheid, ss%-persentasie variasie verklaar relatief tot die totale.

Spesie (Sp)	Bron van variasie	vg	sk	gsk	F	F wh (P)	ss %
<i>E. caffer</i>	% sukrose (Su)	2	3,057	1,529	103,46	< 0,001	<5
	toestand van houer (oop of digsluitend) (Houer)	2	30,249	15,130	1024,00	< 0,001	±15
	Su.Houer	4	13,140	3,285	222,23	< 0,001	±7
	Maand(Su. Houer)	48	146,208	3,046	206,16	< 0,001	±70
	Residu	423	6,250	0,015			
	Totaal	479	202,259				
	<i>E. ferox</i>	% Sukrose (Su)	2	3,608	1,804	322,78	< 0,001
toestand van houer (oop of digsluitend) (Houer)		2	57,103	28,552	5109,10	< 0,001	±50
Su.Houer		4	3,800	0,950	170,01	< 0,001	<5

Tabel 4.5 Vervolg

Spesie	Bron van variasie	vg	sk	gsk	F	F-wh (P)	ss %
<i>E. lehmannii</i>	Maand(Su. Houer)	48	41,620	0,867	155,16	< 0,001	±40
	Residu	423	2,364	0,006			
	Totaal	479	109,579				
	% Sukrose (Su)	2	3,016	1,508	271,35	< 0,001	<5
	toestand van houer (oop of digsluitend) (Houer)	2	19,863	9,932	1786,81	< 0,001	±45
	Su.Houer	4	2,183	0,546	98,19	< 0,001	<5
	Maand(Su. Houer)	48	40,034	1,112	200,08	<0,001	±60
	Residu	339	1,884	0,006			
	Totaal	383	66,917				

Die vraag het weereens ontstaan of daar statisties betekenisvolle verskille ($P < 0,001$) tussen die kiemingspersentasie van vars stuifmeel en die stuifmeel wat sekere maande geberg is, bestaan. Statistiese verwerkings toon dat daar vir al drie spesies hoogs betekenisvolle verskille ($P < 0,001$) verkry is vir die getransformeerde persentasie kieming ($y = 2 \times \text{bgsin}((\text{sin}\% \text{kieming}/100)^2)$) ten opsigte van 'n interaksie tussen persentasie sukrose en

die toestand van die houer. Selfs interaksies tussen die toestand van die houer, persentasie sukrose en maande kombinasies is ook hoogs betekenisvol verskillend ($P < 0,001$) (Tabel 4.5). Om bloot net van die F- waarskynlikheid gebruik te maak kan 'n wanvoorstelling van die effek van variasie relatief tot die totale variasie wees. Daarom is dit meer sinvol om die $ss\%$ te gebruik wat die persentasie variasie verklaar tot die totale variasie. 'n $Ss\%$ kleiner as 5% is onbelangrik en kan toeval wees. Uit die $ss\%$ is dit duidelik dat die toestand van die houer (oop of toe) en die tydperk waarop die stuifmeel geberg is 'n groot rol in die berging van *Encephalartos*-stuifmeel speel. Die verskillende sukrose konsentrasies as toetsmedium speel egter nie so 'n groot rol nie.

Samevattend

In die geval van *E. ferox*- en *E. caffer*-stuifmeel kan die stuifmeel net vir agt maande geberg word by 25° C en heersende humiditeit voordat daar geen stuifmeelkieming is nie.

E. lehmannii-stuifmeel bly slegs vir ses maande kiemkragtig by 'n temperatuur van 25° C.

'n Temperatuur van 25° C is dus nie vir die berging van *Encephalartos*-stuifmeel vir langer periodes as agt maande geskik nie. Die duidelike afname in kiemingspersentasie van die aanvang van die eksperiment tot en met agt maande later, dui daarop dat die kwekers nie hierdie stuifmeel as lewenskragtig vir die volgende seisoen kan beskou nie en derhalwe dit nie kan gebruik vir handbestuiwing van vroulike keëls nie.

3) 5° C (Beheerde RH)

Figuur 4.3 a-j toon die kiemingspersentasies van *Encephalartos*-stuifmeel wat in 1986 versamel is en by 'n beheerde RH geberg is. 'n Herhaling van die eksperiment is in 1987 gedoen met die uitsondering dat stuifmeel van *E. eugene-maraisii* gebruik is, aangesien vars

stuiwmeel van *E. lehmannii* nie in 1987 beskikbaar was nie (Figuur 4.4 a-j). Die stuiwmeel wat by 5° C en beheerde RH geberg is, se gemiddelde persentasie kieming vir elke maand word in Bylaag 4.3 weergegee.

Die kiemingspersentasies van *E. ferox*-stuiwmeel wat in 1986 versamel is, en by 20% RH geberg is toon 'n stelselmatige afname en teen September het geen stuiwmeel meer ontkiem nie. (Figuur 4.3 a). Die stuiwmeel van *E. ferox* wat by 40% en 60% RH geberg is toon kieming tot en met Mei wat 'n tydperk van slegs 3 maande verteenwoordig. Relatiewe humiditeite van 80% en hoër is nie geskik vir berging van *Encephalartos ferox*-stuiwmeel nie aangesien swamgroeï daarop plaasvind.

E. lehmannii-stuiwmeel wat by 5° C en 20% RH geberg is, kon vir 'n tydperk van 10 maande die bergingstoestand oorleef (Figuur 4.3 f) Hierdie stuiwmeel wat by 5° C en 'n RH van 80% en laer geberg is kon vir 'n tydperk van ses maande kiemkragtig bly (Figuur 4.3 g-j) waarna die kiemkragtigheid vinnig gedaal het. Stuiwmeel van *E. lehmannii* het nie swamgroeï vertoon by 'n RH van 80% nie en in 'n 10% sukrosekiemingsmedium, 'n styging in kiemingspersentasie tot 54% gehad in Oktober.

Die hoogste gemiddelde kiemingspersentasie, in 5% sukrose kiemingsmedium, was in Augustus met 42% kieming. Vyftien persent sukrosekiemingsmedium toon die hoogste gemiddelde persentasie kieming in Oktober (Bylaag 4.6). Figuur 4.3 f-j toon dat die stuiwmeel van *E. lehmannii* 'n hoër kiemingspersentasie by al die verskillende persentasies RH's in Augustus, September en Oktober het. Dit is ook opmerklik dat die verhoging in kiemingspersentasie by al drie kiemingsmediums voorkom. Om te toets of hierdie tendense

herhaal word, is vars stuifmeel geneem en dié eksperiment is in 1987 herhaal (Figuur 4.4 a-j).

Afgesien van die feit dat die aanvangspersentasie kieming van *E. ferox*-stuifmeel wat in 1987 versamel is laer is as die kieming van stuifmeel versamel in 1986 is dieselfde tendense as dié van 1986 egter waargeneem (Figuur 4.4 a-e). Vanaf Mei-Junie is geen kieming verkry by die drie sukrosekiemingsmediums vir al die persentasies RH waarby stuifmeel geberg is. 'n Interessante afwyking by die stuifmeel versamel in 1987 is dat daar by die 10% en 15% sukrose kiemingsmediums vir al die RH's na die aanvangskiemingspersentasie, eers 'n styging in die kiemingspersentasie is alvorens daar 'n afname oor vier maande in die kiemingspersentasie was (Figuur 4.4 a-e). Hierdie styging in kiemingspersentasie is nie in resultate van die vorige jaar nie waargeneem nie (Figuur 4.3 a-e).

Anders as in die geval van *E. ferox*-stuifmeel kan *E. eugene-maraisii*-stuifmeel wel sonder veel verlies aan kiemkragtigheid by RH van 80% en laer en by 5° C geberg word (Figuur 4.4 f-h). Bokant 'n RH van 80% neem die kiemkrag van die stuifmeelkorrels van die begin vinnig af (Figuur 4.4 i,j). Soos in die geval by *E. ferox*-stuifmeel speel die sukrose-konsentrasie van die medium waarin die kiemkragtigheid van die stuifmeel bepaal word 'n groot rol. Anders as by *E. ferox*-stuifmeel egter, ontkiem die gebergde stuifmeel van *E. eugene-maraisii* die beste in 'n medium wat 15% sukrose en in 'n mindere mate in 'n medium met 10% sukrose (Figuur 4.4 f-h). 'n Interessante verskynsel is die toename in die persentasie gekiemde stuifmeel na berging van drie maande (Figuur 4.4 f-h) veral waar 'n medium met 15% sukrose gebruik is.

Die stuifmeel van *E. eugene-maraisii* toon 'n ander kiemingspatroon as die ander twee spesies reeds genoem (Figuur 4.4 f-j). Stuifmeel geberg by 20%, 40% en 60% RH toon goeie gemiddelde persentasies kieming (Bylaag 4.5) met 15% sukrose. Julie toon die hoogste persentasie kieming van stuifmeel wat by 20% en 40% RH geberg is (Figuur 4.4 f,g). Die stuifmeel wat by 60% RH geberg is, toon 'n styging in persentasiekieming in Mei en Julie (Figuur 4.4h). 'n Konstante relatiewe humiditeit van 80% en 90% is nie geskik vir die berging van *Encephalartos eugene-maraisii*-stuifmeel nie, aangesien daar binne drie maande in die geval van 90% RH en vyf maande in die geval van 80% RH geen kieming verkry is nie (Figuur 4.4 j & 4.4 i).

Die styging in kiemingspersentasie na berging by sekere relatiewe humiditeite toon moontlik 'n verband met die RH in natuurlike staat in 'n somerreënvalstreek. Die stuifmeel wat in verskillende persentasies sukrose gekiem is, dui daarop dat die stuifmeel se inherente behoeftes op sekere tye van die jaar verskil.

Statistiese verwerking van die persentasie kieming by elke spesie toon in Figuur 4.3 a-j en 4.4 a-j betekenisvolle verskille tussen aanvangskiemingspersentasie en die opeenvolgende maande se kiemingspersentasies aangedui deur hoofletters (A, B en D). Kleinletters (a, b en d) toon die nie-betekenisvolle verskille aan. Verskillende bron van variasies is ook vergelyk (Tabel 4.6). Uit die ss% is dit duidelik dat die spesies wel van mekaar verskil en dat die humiditeite 'n merkbare rol speel in die berging van *Encephalartos*-stuifmeel.

Tabel 4.6 Variansie-analise van getransformeerde waardes van die kiemingspersentasies van *E. ferox*-en *E. eugene-maraisii*-stuifmeel wat by 'n temperatuur van 5° C en beheerde relatiewe humiditeit (RH) geberg is. v.g.-vryheidgraad, sk-som van kwadrate, gsk-gemiddelde som van kwadrate, F-F-toets van die behandelingseffek, F wh (P)-oorkrydingswaarskynlikheid, ss%-persentasie variasie verklaar relatief tot die totale.

Bron van variasie	vg	sk	gsk	F	F wh (P)	ss %
Spesie (Sp)	1	94,128	94,128	14946,69	< 0,001	±20
Sukrose (Su)	2	1,954	0,977	155,17	< 0,001	<5
Sp.Su	2	1,502	0,751	119,28	< 0,001	<5
Relatiewe humiditeit (RH)	4	84,269	21,067	3345,28	< 0,001	±20
Sp.RH	4	36,800	9,200	1460,87	< 0,001	±10
Su.RH	8	5,507	0,6884	109,32	< 0,001	<5
Sp.Su.RH	8	5,974	0,747	118,57	< 0,001	<5
Maand(Sp.Su.RH)	240	164,213	0,684	108,65	<0,001	±40
Residu	810	5,101	0,006			
Totaal	1079	399,448				

Samevattend

Encephalartos-stuifmeel wat getoets is kan by toestande wat matig, is dit wil sê 'n RH van 20% tot en met 60% by 5° C, vir kort periodes (3 tot 10 maande) geberg word. 'n Vermindering in lewenskragtigheid en dus ook kiemkragtigheid by die toestande is egter aan die orde van die dag. Hierdie tendens stem baie ooreen met eksperimente wat alreeds oor die afgelope vyftig jaar op ander stuifmeel gedoen is. King beskryf die hele aangeleent=

heid dan ook reeds in 1965. Tereg skryf hy dat die spesifieke optimum kombinasie van temperatuur en humiditeit natuurlik sal verskil en varieer tussen spesies, hoe groter die verwantskap tussen die spesies is soveel te meer sal die bergingstoestande ooreenstem. Telkens wanneer die tydfaktor as bron van variasie by ander bronne van variasies gevoeg word, is die ss% hoër en dui dit aan dat die ouderdom van die stuifmeel 'n bepalende rol speel.

4) 25° C (Beheerde RH)

Die gemiddelde persentasie kieming, minimum- en maksimum persentasie kieming en standaardafwyking van drie *Encephalartos*-spp. se stuifmeel, wat onder hierdie toestande geberg is, word in Bylaag 4.4 weergegee. In die geval van *E. ferox*-stuifmeel wat in 1986 versamel is toon die kiemingspersentasies 'n vinnige afname tot so 'n mate dat daar binne vier maande geen kieming in al drie kiemingsmediums meer is nie (Figuur 4.5 a-c).

'n Vergelyking van die stuifmeelkieming van *E. ferox*-stuifmeel wat in 1986 en 1987 versamel is en by humiditeite van 20%, 40% en 60% geberg is, toon dat 1987 stuifmeel se kiemingspersentasie eers in April styg en daarna na nul daal (Figuur 4.6 a-c). Stuifmeel wat in 1986 versamel is, toon 'n stelselmatige daling in kiemingspersentasie alvorens dit by 20%, 40% RH in Junie en by 60% RH na Mei nie meer ontkiem nie (Figuur 4.5 a-c).

Die 80% en 90% RH toon dieselfde tendens deurdat die kiemkragtigheid binne die eerste maand of twee tot niet gaan (Figuur 4.5 d,e). Indien die kiemingspersentasies van eersgenoemde spesie se stuifmeel vergelyk word met die ander twee spesies naamlik, *E. lehmannii* (Figuur 4.5 f-h) en *E. eugene-maraisii* (Figuur 4.6 f-h), blyk dit dat *E. lehmannii*-stuifmeel 'n groter verdraagsaamheid teenoor 20% en 40% RH toon. Hierdié

stuifmeel het eers na agt maande in Oktober 1986 die nulpunt bereik. Wat die 60% RH by hierdie spesie betref, het die stuifmeel reeds in April 1986 geen kieming vertoon nie en stem dit ooreen met die ander twee spesies.

Stuifmeel van *E. eugene-maraisii* toon 'n styging in kiemingspersentasie by beide 20% en 40% RH (Figuur 4.6 f,g) in Mei. Gebergde stuifmeel van dieselfde spesie by 60% RH toon 'n stelselmatige afname in kiemingspersentasie tot en met Mei waartydens geen kieming aangetoon is nie (Figuur 4.6 h). Wat die 80% en 90% RH betref, is hierdie bergingstoestand totaal onbruikbaar by al drie *Encephalartos*-spp se stuifmeel wat ondersoek is (Figuur 4.5 e, 4.6 e, 4.5 j & 4.6 j). Swambesmetting het by hierdie RH ingetree en vir langtermyn berging is sulke toestande ongeskik. Lae kiemingspersentasies kan moontlik ook toegeskryf word aan die dissosiasie van die endoplasmiese retikulum net soos by tabakstuifmeel (Ciampolini *et al.* 1991). Verdere studie in die verband kan moontlik lig op die onderwerp gee.

Die negatiewe r-waarde wat toegeken is aan humiditeit tydens statistiese verwerkings bevestig dat die kiemingspersentasies met hoër humiditeite afneem. In teenstelling met *Encephalartos*-stuifmeel, kan Graminae-stuifmeel se lewenskragtigheid behoue bly by hoë humiditeite van 70% en hoër en gekontroleerde temperature van 25° C (King 1965).

Betekenisvolle verskille tussen die aanvangskiemingspersentasies en die ander maande waarin kieming gemonitor is, is op figuur 4.5 a-j en 4.6 a-j (met hoofletters A, B en D) aangetoon. Uit tabel 4.7 is dit duidelik dat humiditeit wel 'n rol speel as 'n bron van variasie maar ouderdom van die stuifmeel is by verre die belangrikste faktor. Die ss% van spesie, persentasie sukrose en hulle interaksies is kleiner as 5 % wat nie betekenisvol is nie en kan blote toeval wees.

Tabel 4.7 Variansie-analise van getransformeerde waardes van die kiemingspersentasies van *E. ferox*-en *E. eugene-maraisii*-stuifmeel wat by 'n temperatuur van 25° C en beheerde relatiewe humiditeit (RH) geberg is. v.g.-vryheidgraad, sk-som van kwadrate, gsk-gemiddelde som van kwadrate, F-F-toets van die behandelingseffek, F wh (P)-oorskrydingswaarskynlikheid, ss%-persentasie variasie verklaar relatief tot die totale.

Bron van variasie	vg	sk	gsk	F	F wh (P)	ss %
Spesie (Sp)	1	12,321	12,321	3440,74	< 0,001	±6
Sukrose (Su)	2	0,481	0,241	67,22	< 0,001	<5
Sp.Su	2	0,372	0,186	51,93	< 0,001	<5
Relatiewe humiditeit (RH)	4	17,579	4,395	1227,27	< 0,001	±10
Sp.RH	4	2,924	0,731	204,11	< 0,001	<5
Su.RH	8	0,535	0,067	18,66	< 0,001	<5
Sp.Su.RH	8	0,491	0,061	17,13	< 0,001	<5
Maand(Sp.Su.RH)	240	141,792	0,591	164,98	<0,001	±80
Residu	810	2,901	0,004			
Totaal	1079	179,395				

Samevattend

Uit hierdie studie blyk dit dat dit nie die moeite en koste werd is om *Encephalartos*-stuifmeel by kunsmatig beheerde RH te berg nie. Nogtans is die studie uitgevoer om seker te maak dat die metode nie dalk moontlikhede kon inhou nie.

5) -196° C (Vloeibare stikstof)

In hierdie ondersoek is stuifmeel van twee *Encephalartos*-spp. gebruik. Figuur 4.7 a-b toon die kiemingspersentasies verkry tydens die onderskeie maande se kiemingstoetse. Die kiemingspersentasies statisties verwerk en op die figure is die betekenisvolle verskille tussen aanvangspersentasiekieming en die opeenvolgende maande aangetoon. Bylaag 4.5 toon die gemiddelde kiemingspersentasie van elke maand asook die maksimum- en minimum persentasie kieming wat elke maand verkry is.

Van al die bergingstoestande wat ondersoek is, het berging van stuifmeel in vloeibare stikstof die beste resultate gelever (Figuur 4.7 a,b). Die kiemingsmedium met 15% sukrose het beter gevaar as media met laer suikerkonsentrasies. Dit is interessant dat die kiemingssyfers van beide *E. ferox*- en *E. eugene-maraisii*-stuifmeel laag begin het, verbeter het in April en Mei, gedaal het in Junie weer gestyg het in Julie tot September en daarna weer gedaal het in Oktober. Hierdie reëlmatige fluktuasie is moeilik om te verklaar.

'n Styging in persentasie kieming by *E. ferox*-stuifmeel wat in 1987 versamel is geskied in Mei en September (Figuur 4.7 a) wat korreleer met die styging in kiemingspersentasie van dieselfde stuifmeel wat by 5° C geberg is (Figuur 4.1 b). 'n Verskil kom egter by die maand Julie waar 'n styging in kiemingspersentasie by die -196° C gebergde stuifmeel voorkom.

E. eugene-maraisii-stuifmeel wat in vloeibare stikstof geberg is (Figuur 4.7 b), toon ook 'n ooreenkoms met die gebergde stuifmeel van dieselfde spesie by 5° C (Figuur 4.1 e), deurdat 'n styging in kiemingspersentasie vir die 5% en 15% kiemingsmedium voorkom. 'n Verskil kom ook voor in die persentasie sukrose wat as kiemingsmedium gebruik word aangesien daar vir elke maand in 'n spesifieke kiemingsmedium 'n verskil in die maksimum kiemings=

persentasie voorkom. Dit wil dus voorkom of *Encephalartos*-stuifmeel oor 'n langer tydperk kiemkrachtig bly as dit by -196°C geberg word.

Aartappel-stuifmeel geberg in vloeibare stikstof toon ook geen beduidenis van 'n afname in kiemingspersentasie na nege maande nie, maar toon wel 'n afname in kiemingspersentasie waar dit oor dieselfde tydperk by 20°C geberg is (Weatherhead *et al.* 1978). *Verticordia*-stuifmeel geberg by -196°C behou ook 75%-80% kiemkrachtigheid vir ses maande (Tyagi *et al.* 1992).

Samevattend

In hierdie eksperiment is die *Encephalartos*-stuifmeel slegs vir agt maande geberg en het die kiemkrachtigheid behoue gebly. Verdere ondersoeke waar stuifmeel oor 'n langer tydperk as agt maande geberg word, is nodig om vas te stel hoe lank dié stuifmeel onder hierdie toestande nog kiemkrachtig sal wees.

6) Vriesdroging

Stuifmeel van twee *Encephalartos*-spp. is gevriesdroog en daarna by 5°C (yskas) (Figuur 4.8 a,b) en -25°C (vrieskas) (Figuur 4.8 c,d) geberg. Bylae 4.6 en 4.7 toon die gemiddelde persentasie kieming en die maksimum- en minimum persentasie kieming van elke maand van dié *Encephalartos*-spp.

Die ontkiemingsgedrag van *E. ferox*-stuifmeel wat in 1987 versamel is en geberg is by 5°C (heersende RH) (Figuur 4.1b) stem in breë trekke ooreen met die gevriesdroogde stuifmeel wat geberg is by 5°C en -25°C (Figuur 4.8 a,b). Na agt maande se berging van laasgenoemde stuifmeel is daar nog steeds stuifmeelkorrels wat kiemkrachtig was.

Uit Figuur 4.8 a-d is die volgende tendens opvallend. 'n Styging in persentasie kieming kom in April, Julie en September voor, terwyl 'n afname in persentasie kieming in Junie en September voorkom. Hierdie fluktuasies in die kiemingspersentasies van die stuifmeel kom feitlik ooreen vir al die *Encephalartos*-stuifmeel wat gevriesdroog is en by 5° C en -25° C geberg is. Stuifmeel van *E. eugene-maraisii* geberg by 5° C (heersende RH), toon 'n toename in kiemingspersentasie tydens April. Hierdie tendens kom ooreen met stuifmeel wat gevriesdroog is by dieselfde spesie (Figuur 4.1 e & 4.8 d).

Hierdie twee maniere van berging na vriesdroging, naamlik by 5° C en -25° C, toon dieselfde kiemingspatroon by beide *Encephalartos*-spesie. Dit maak dus nie 'n verskil by watter temperatuur hetsy 5° C of -25° C na vriesdroging die stuifmeel geberg is nie. Dieselfde tendens vind Layne & Hagedorn (1963) by ertjiestuifmeel wat by 8° C en -25° C geberg is na vriesdroging. Davies en Dickinson (1971) vind in hulle studies van leliestuifmeel dat vriesdroging nie alleen die deurlaatbaarheid van membrane beïnvloed nie, maar hulle vind ook dat die stuifmeel wat gevries is sonder om gedroog te word, dieselfde respirasie en deurlaatbaarheidswaardes as die kontrole toon. Daarom dat die kiemingspersentasies van stuifmeel wat gevriesdroog is, nog dieselfde vertoon as by gewoon gebergde (5° C) stuifmeel. Dit is dus die drogings- en nie die vriesingproses, wat beskadiging van (of inhibering van) die biochemiese aktiwiteit van funksionele membrane te weeg bring. Die verandering in membraanstruktuur is moontlik gekorreleer met die verlies van residuele gebinde water (Davies *et al.* 1971). Verdere studie in hierdie verband om presies te bepaal wat die optimale drogingstyd by *Encephalartos*-stuifmeel behoort te wees, kan gedoen word. Wat wel verblydend is, is die feit dat *Encephalartos*-stuifmeel wel goeie kiemingsresultate toon onder hierdie bergingsmetode.

Oor die algemeen wil dit voorkom of 10% sukrose saam met 0,005% boorsuur beter kiemingspersentasies lewer. Daar is wel sekere maande waarin 5% of 15% sukrose in die kiemingsmedium beter resultate toon. Dit kan moontlik toegeskryf word aan inherente behoeftes van die stuifmeelkorrels wat wissel van maand na maand of selfs van jaar tot jaar. Vaugton (1991) beskryf 'n soortgelyke tendens by stuifmeel van *Banksia spinulosa*.

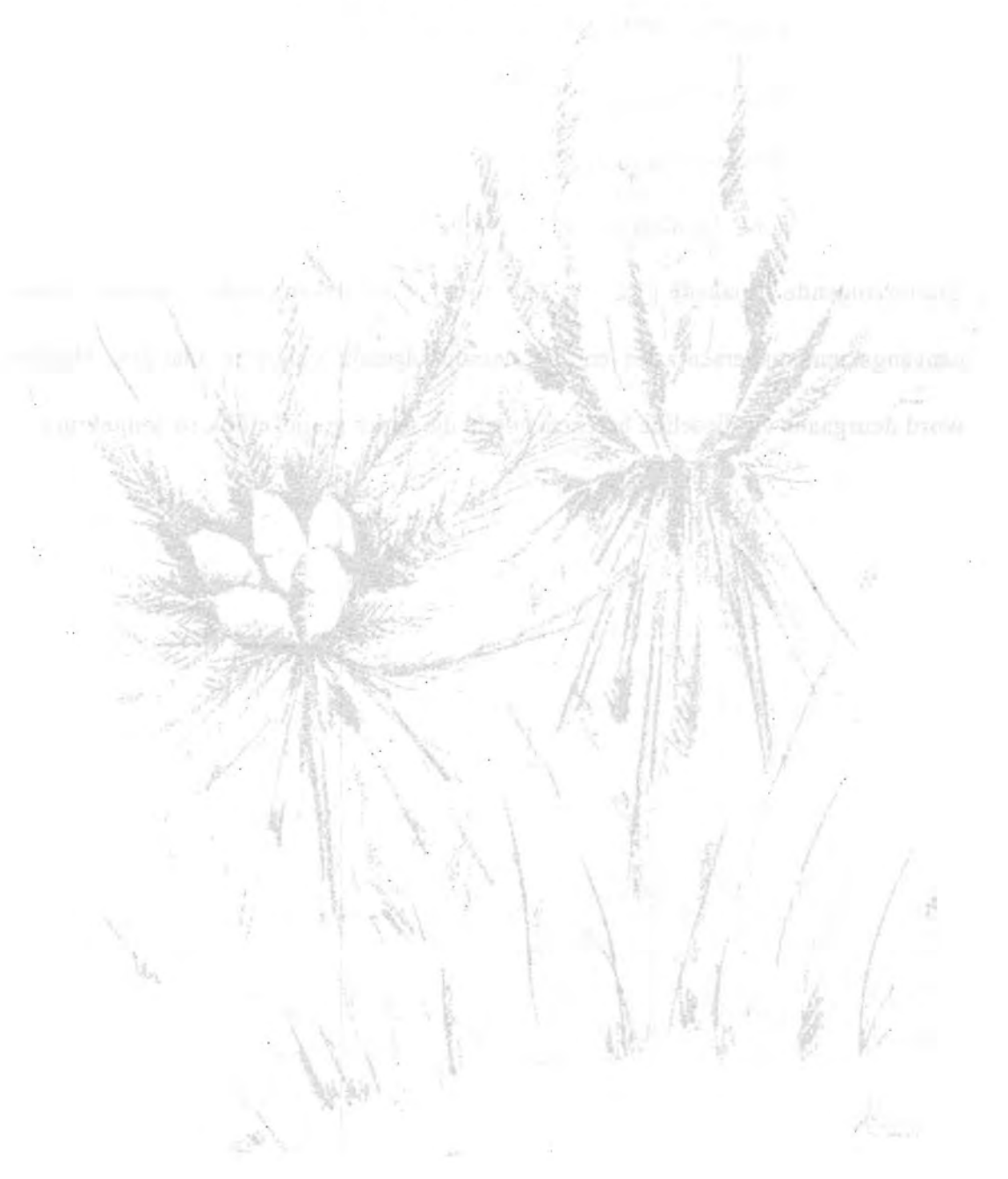
Samevatting

Encephalartos-stuifmeel toon 'n beter kiemingspersentasie tydens berging by 5° C (heersende RH) vir periodes langer as 'n jaar. Die stuifmeel wat geberg is by -196° C en die wat gevriesdroog is kan vir ten minste agt maande geberg word sonder dat die stuifmeel totale kiemkragtigheid verloor. Hierdie resultate van laasgenoemde bergingstoestande kan gebruik word as 'n gidsstudie om die eksperiment oor 'n langer tydperk te laat verloop. Sodoende kan die presiese aantal maande (dae) waaronder *Encephalartos*-stuifmeel by die toestande nog steeds kiemkragtig is, bepaal word.

Hoë relatiewe humiditeite van 80% en hoër ongeag die temperatuur, is nie geskik vir die berging van *Encephalartos*-stuifmeel nie. Berging by humiditeite van 20% tot 60% en 'n temperatuur van 5° C, het slegs vir vier maande kiemkragtige stuifmeel getoon en is dus ongeskik vir berging van stuifmeel van hierdie genus.

Wat die kiemingsmedium betref vir die toets van lewenskragtigheid na berging, word 10% sukrose saam met 0,005% boorsuur in gedistilleerde water, aanbeveel.

FIGUURBLAD

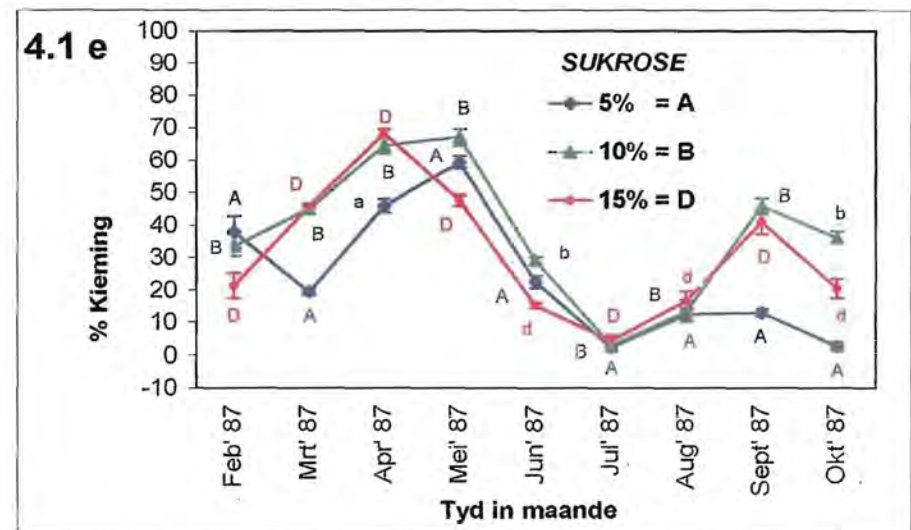
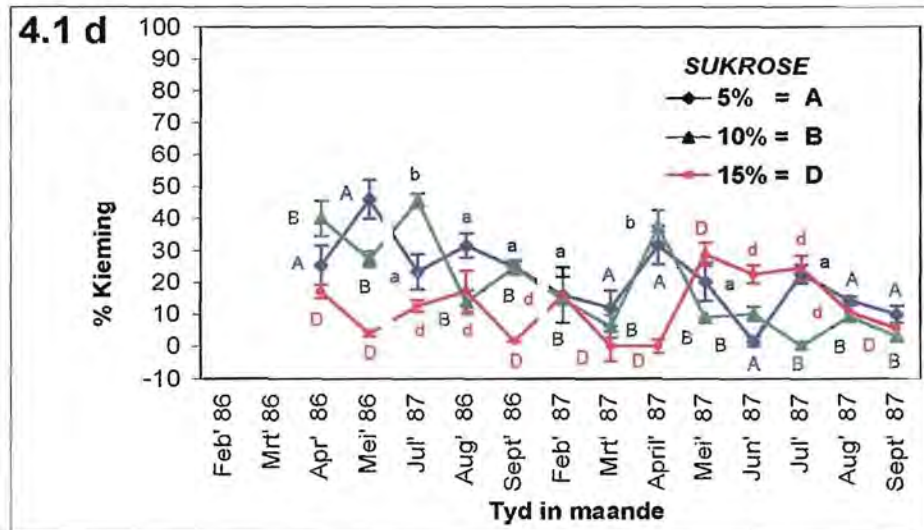
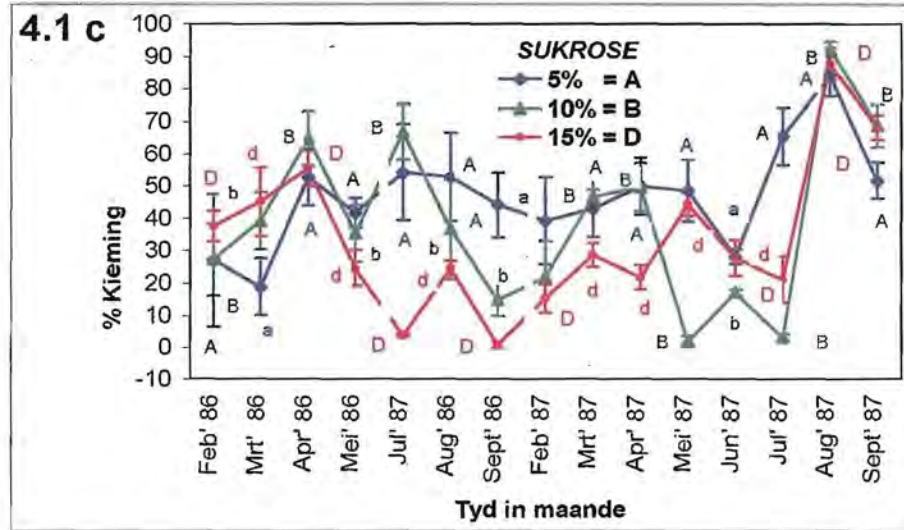


Figuur 4.1 Persentasie kieming van stuifmeel wat by 5° C en heersende RH geberg is.

a. *E. ferox*-stuifmeel versamel in 1986.

b. *E. ferox*-stuifmeel versamel in 1987.

A, B, D toon betekenisvolle verskille tussen aanvangskiemingspersentasie en daaropvolgende maande. a, b, d toon nie-betekenisvolle verskille tussen die aanvangskiemingspersentasies en die daaropvolgende volgende maande. Hierdie letters word deurgaans vir dieselfde betekenis op al die ander grafieke ook so aangebring

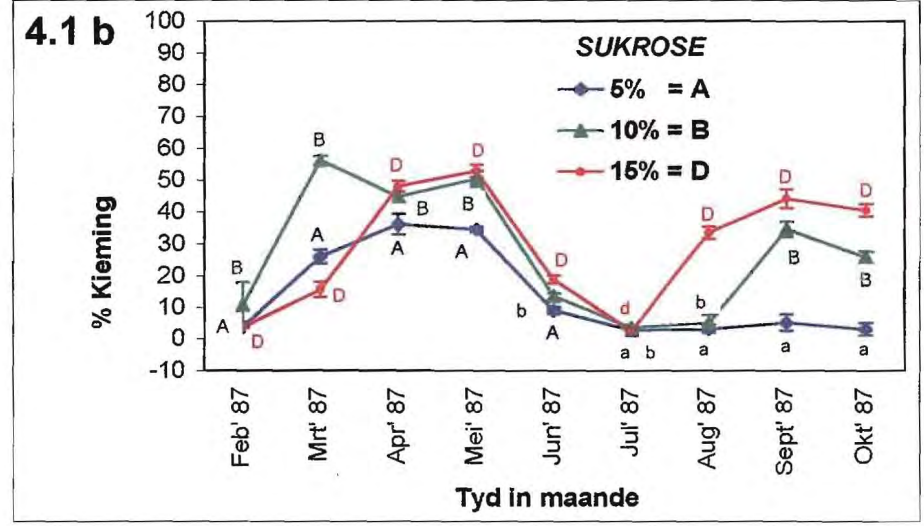
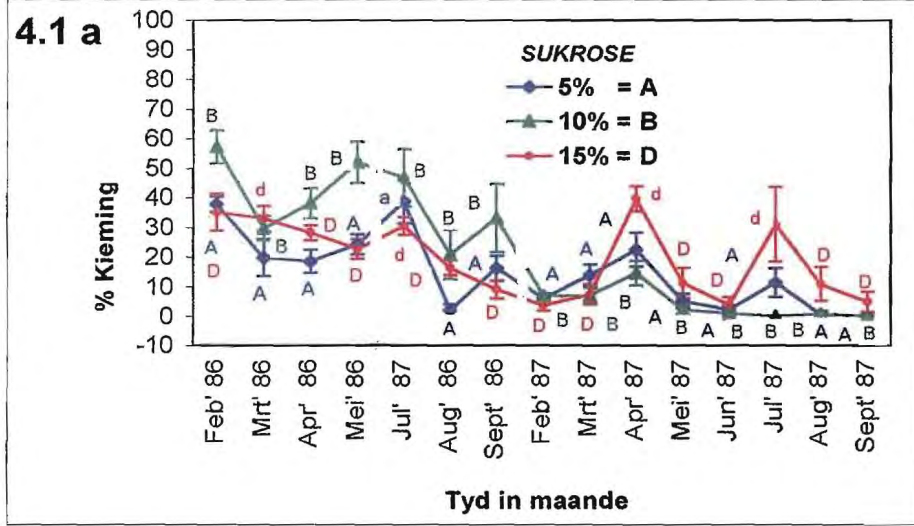


Figuur 4.1 Persentasie kieming van stuifmeel wat by 5° C en heersende RH geberg is.

c: *E. caffer*-stuifmeel versamel in 1986.

d: *E. lehmannii*-stuifmeel versamel in 1986.

e: *E. eugene-maraisii*-stuifmeel versamel in 1987.

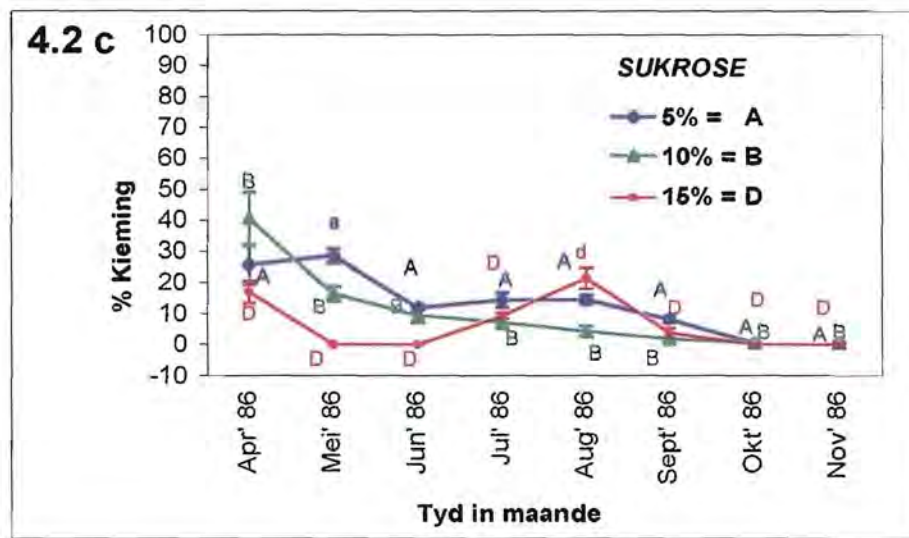
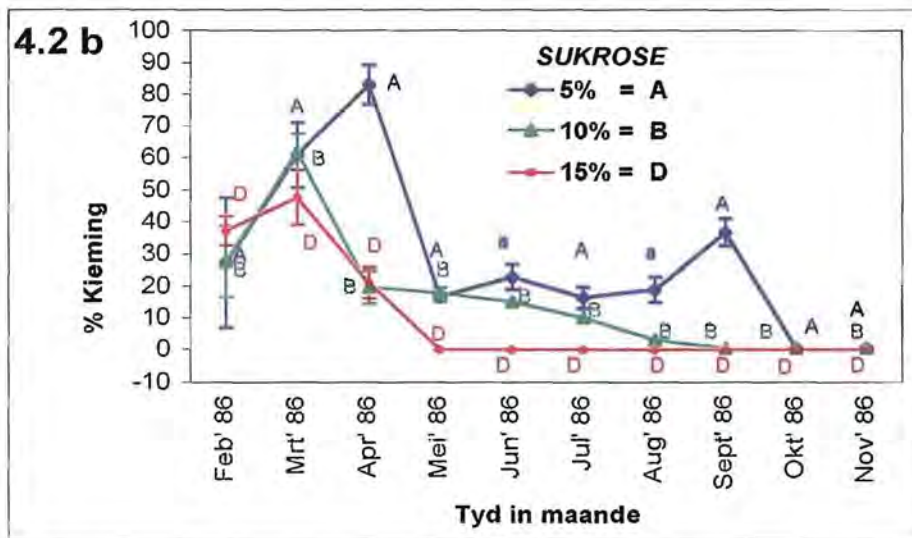
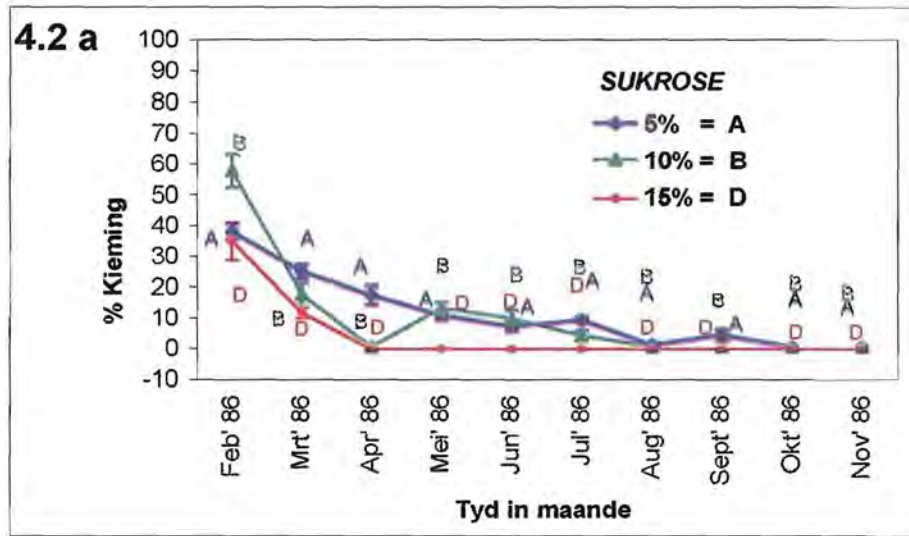


Figuur 4.2 Persentasie kieming van stuifmeel wat vanaf Februarie tot November by 25° C in 'n oop houer geberg is.

a: *E. ferox*-stuifmeel

b: *E. caffer*-stuifmeel

c: *E. lehmannii*-stuifmeel

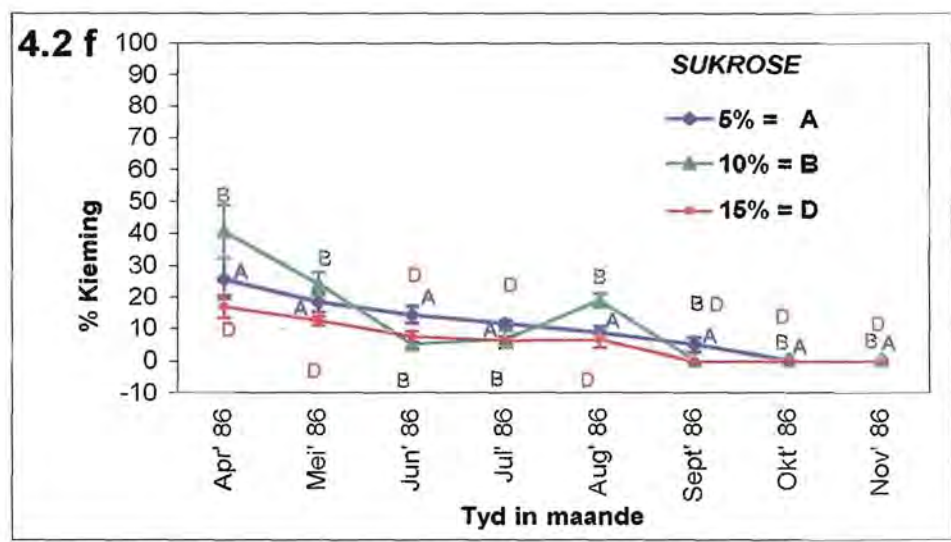
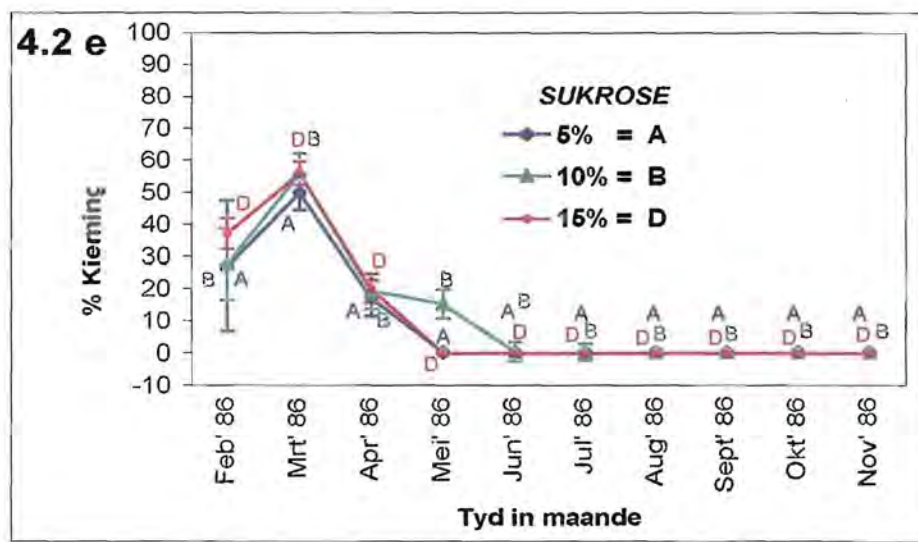
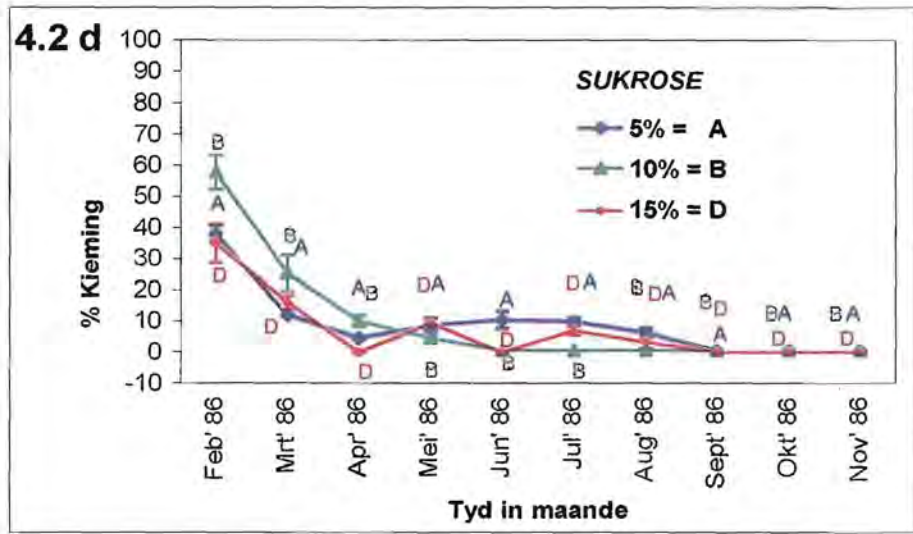


Figuur 4.2 Persentasie kieming van stuifmeel wat vanaf Februarie tot November by 25° C in geslote houers geberg is.

d: *E. ferox*-stuifmeel

e: *E. caffer*-stuifmeel

f: *E. lehmannii*-stuifmeel



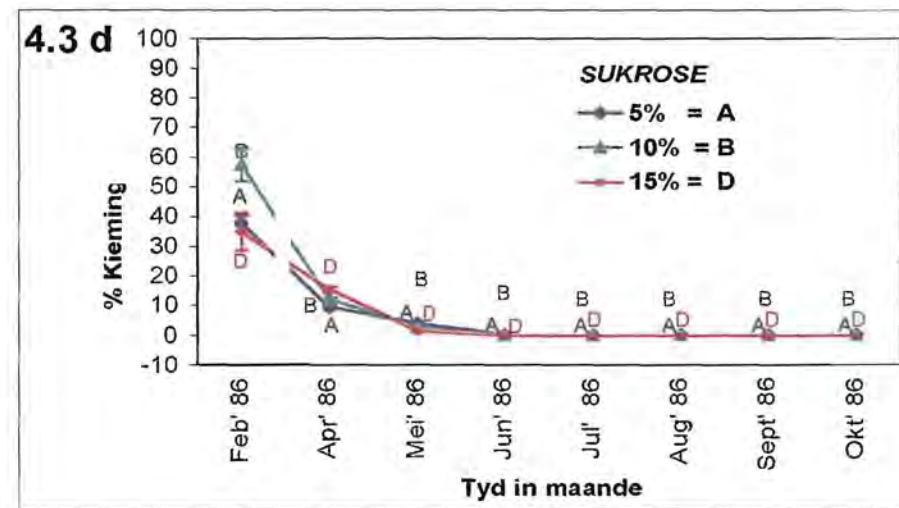
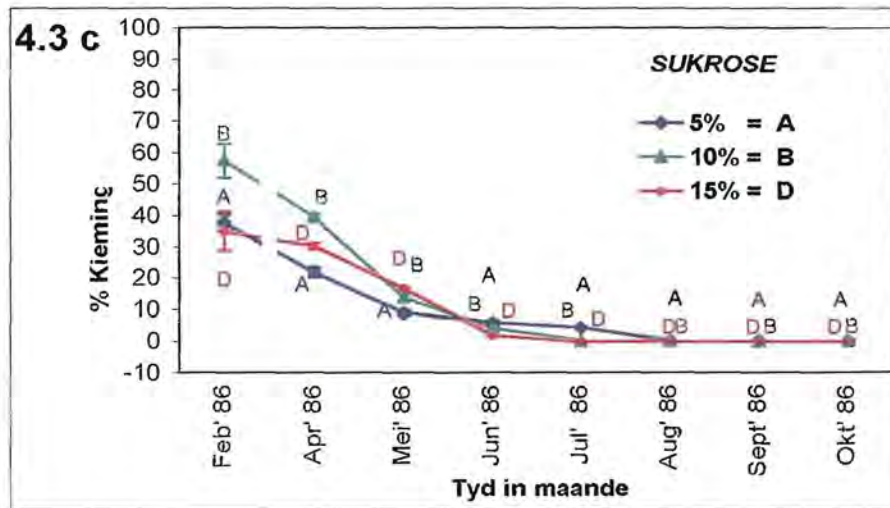
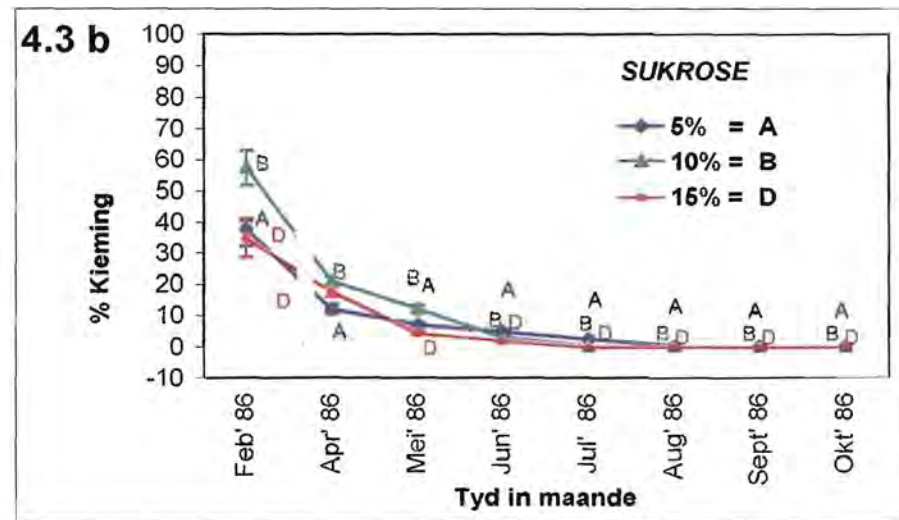
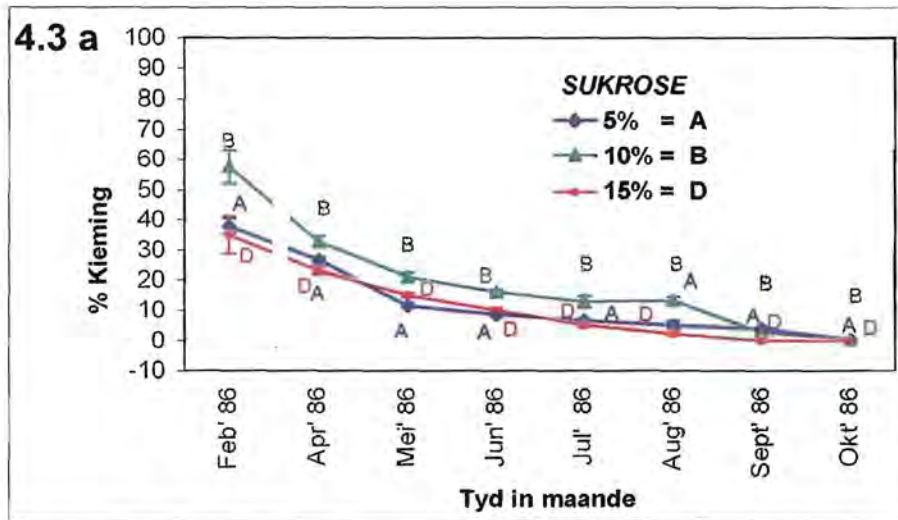
Figuur 4.3 Persentasie kieming van *Encephalartos ferox*-stuifmeel wat in 1986 versamel is en by 5° en beheerde RH geberg is.

a: 20% humiditeit

b: 40% humiditeit

c: 60% humiditeit

d: 80% humiditeit



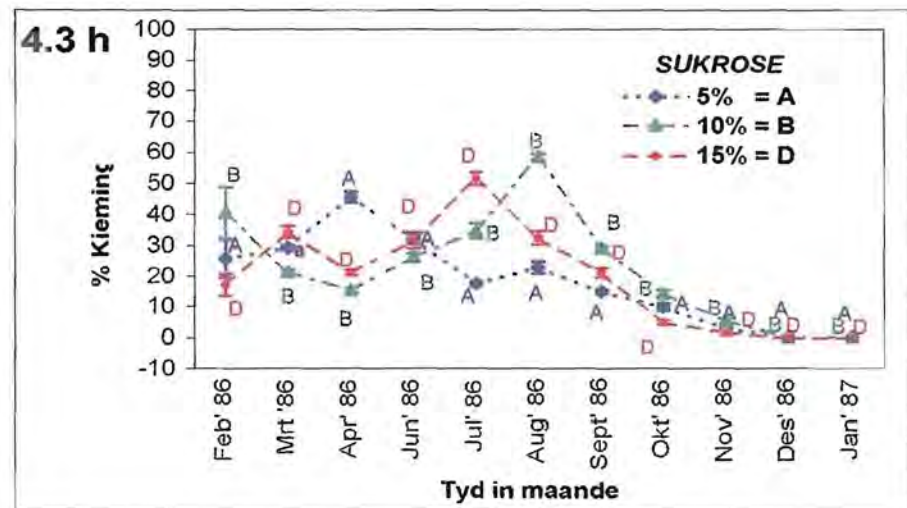
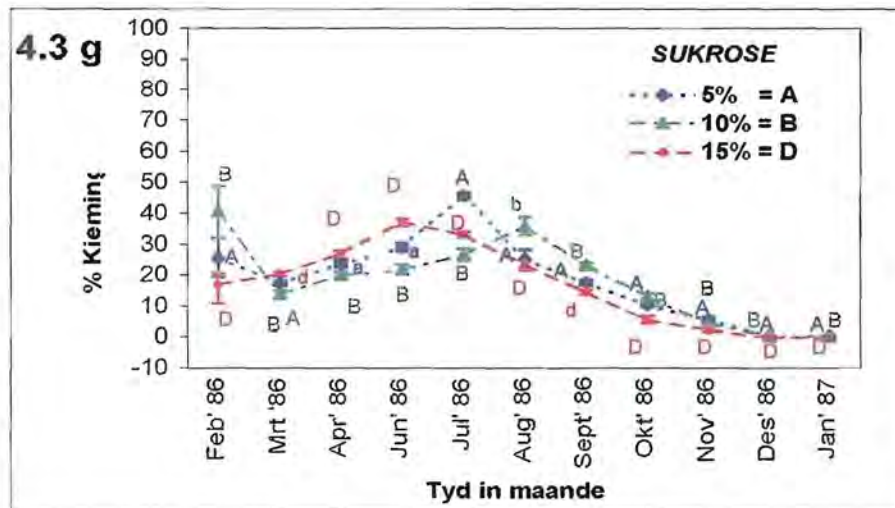
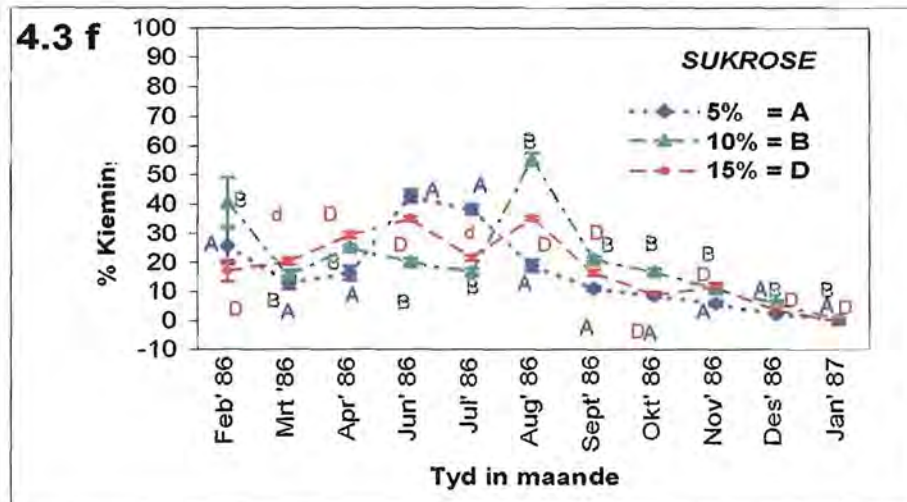
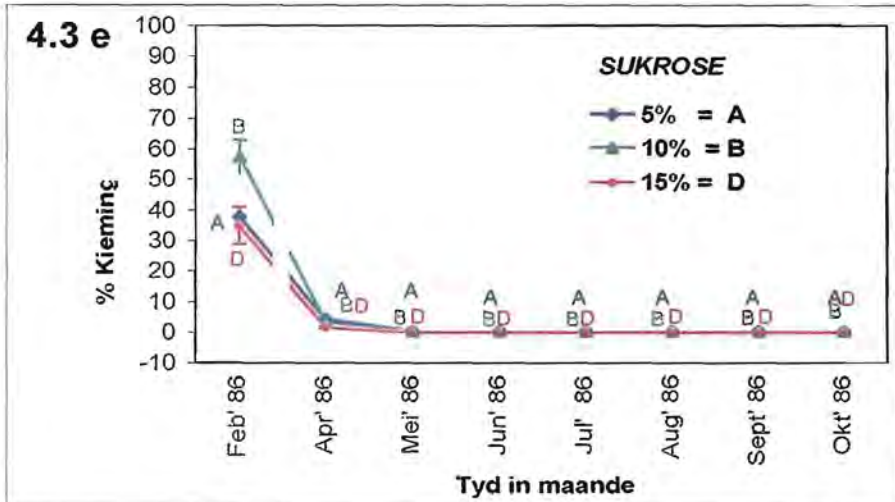
Figuur 4.3 Persentasie kieming van *Encephalartos*-stuifmeel wat in 1986 versamel is en wat by 5° C en beheerde RH geberg is.

e: *E. ferox*-stuifmeel by 90% RH

f: *E. lehmannii*-stuifmeel by 20% RH

g: *E. lehmannii*-stuifmeel by 40% RH

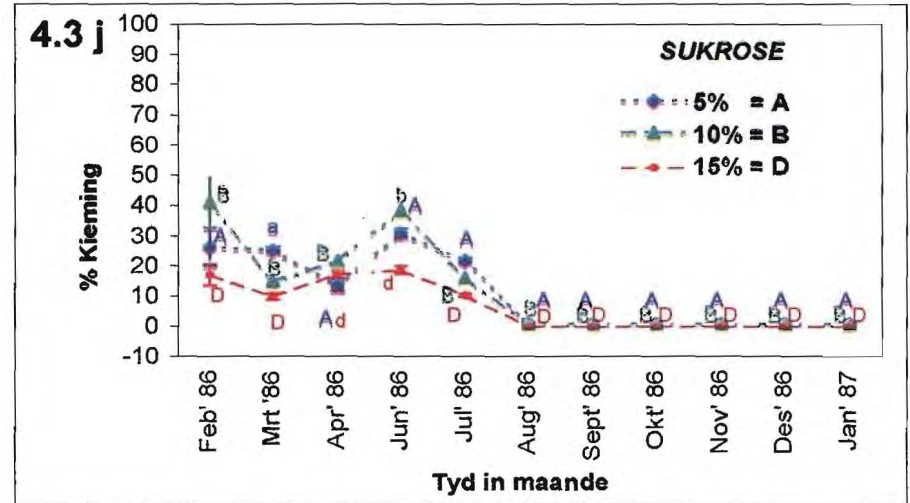
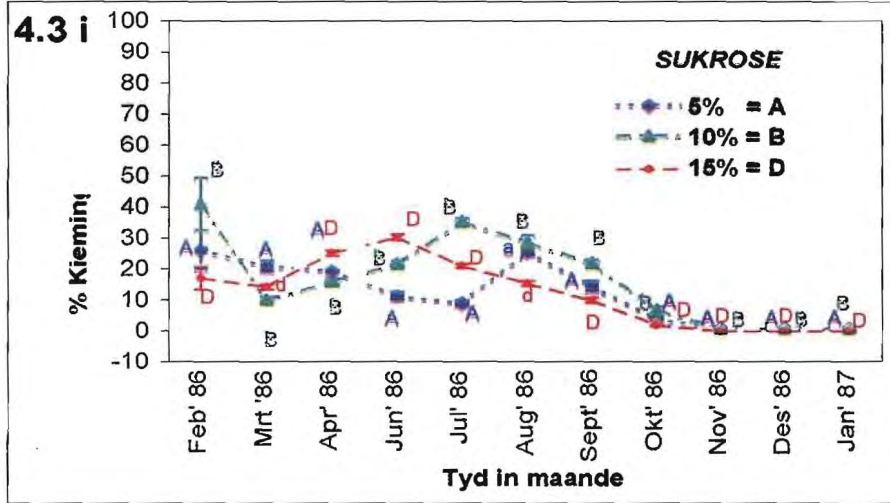
h: *E. lehmannii*-stuifmeel by 60% RH



Figuur 4.3 Persentasie kieming van *E. lehmannii*-stuifmeel wat in 1986 versamel is en by 5° C en beheerde RH geberg is.

i: 80% RH

j: 90% RH



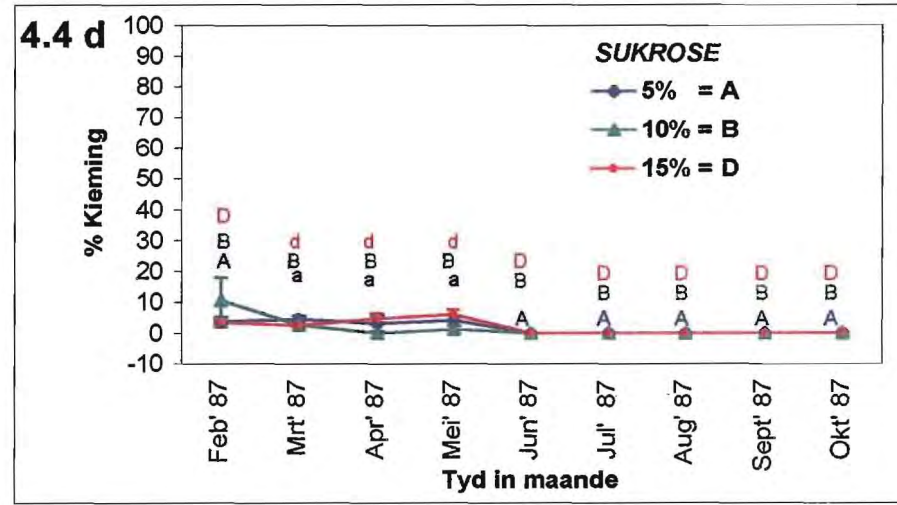
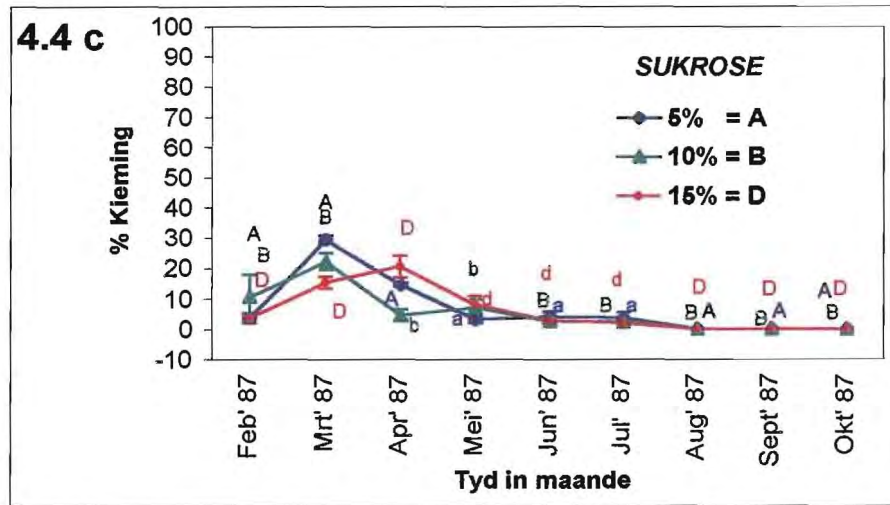
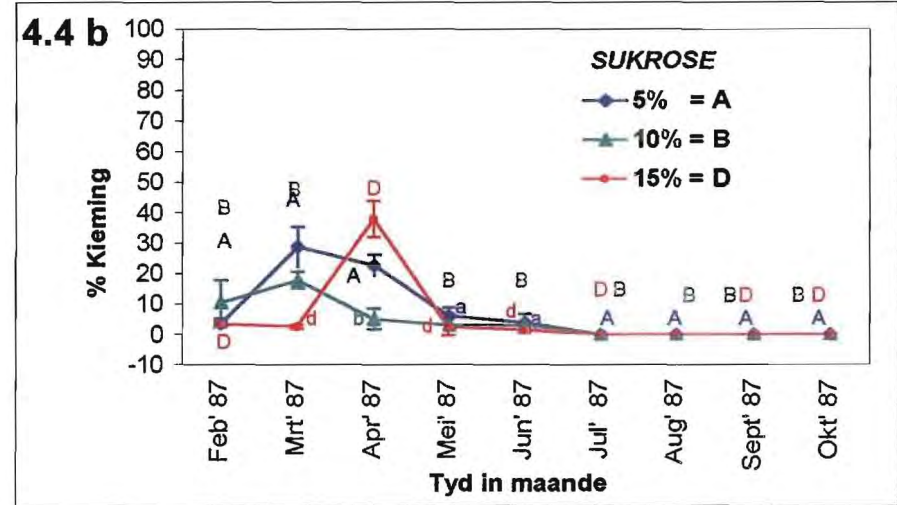
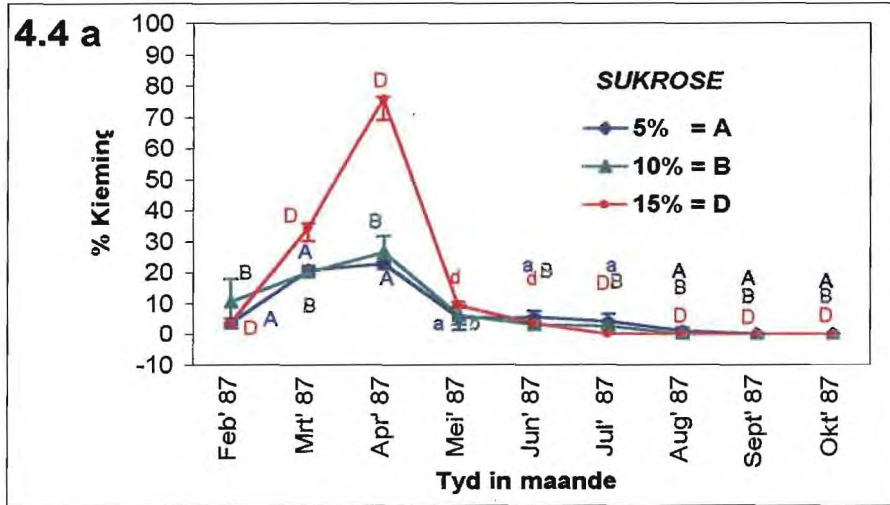
Figuur 4.4 Persentasie kieming van *E. ferox*-stuifmeel wat in 1987 versamel is en by 5° C en beheerde RH geberg is.

a: 20% RH

b: 40% RH

c: 60% RH

d: 80% RH



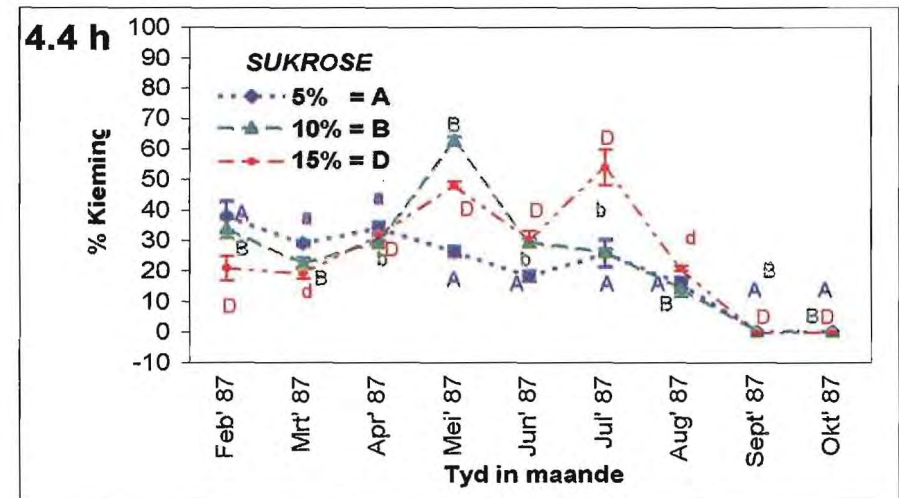
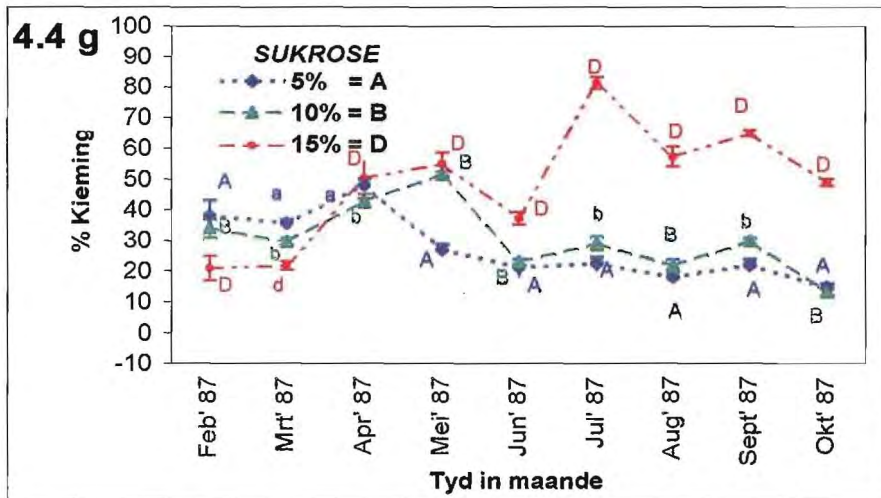
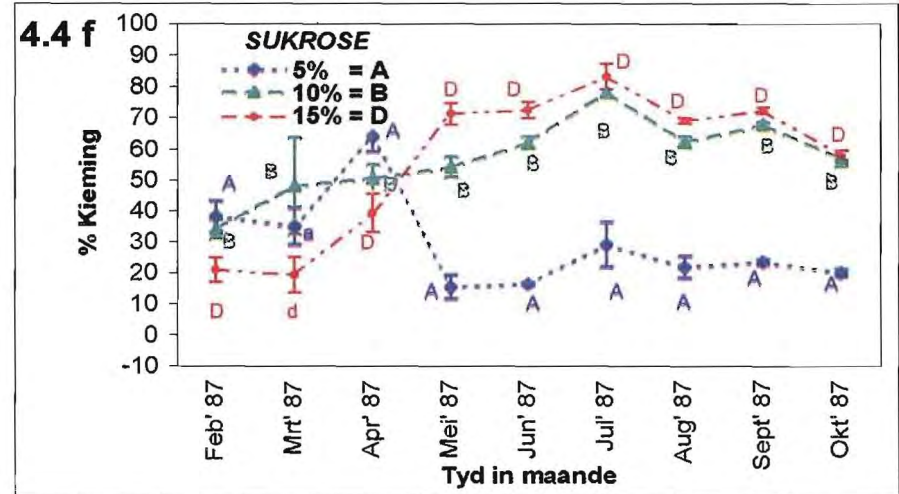
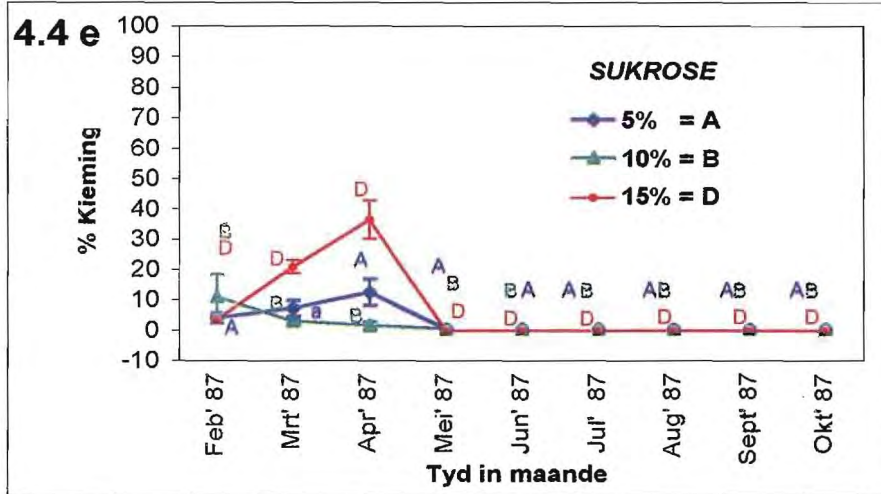
Figuur 4.4 Perssentasie kieming van *Encephalartos*-stuifmeel wat in 1987 versamel is en wat by 5° C en beheerde RH geberg is.

e: *E. ferox*-stuifmeel by 90% RH

f: *E. eugene-maraisii*-stuifmeel by 20% RH

g: *E. eugene-maraisii*-stuifmeel by 40% RH

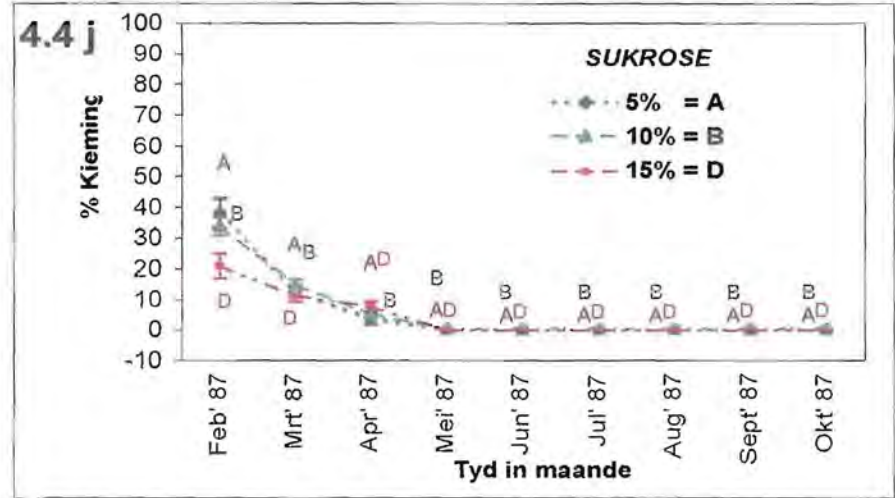
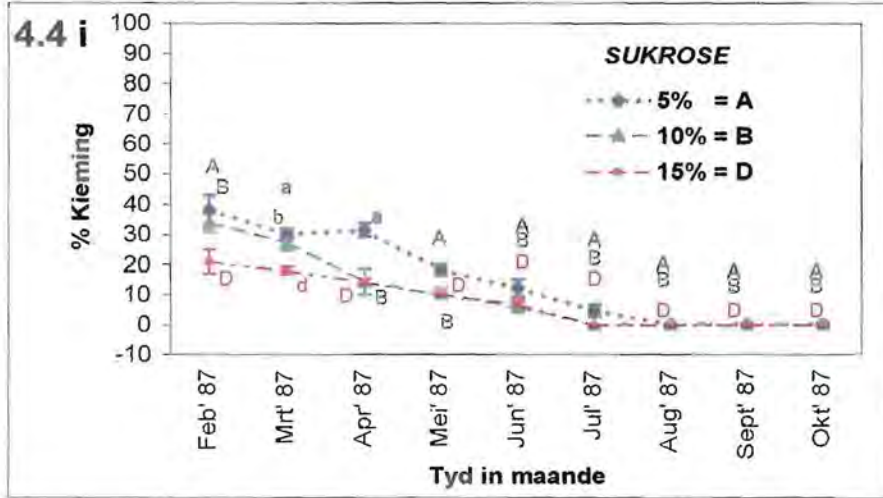
h: *E. eugene-maraisii*-stuifmeel by 60% RH



Figuur 4.4 Persentasie kieming van *E. eugene-maraisii*-stuifmeel wat in 1987 versamel is en by 5° C en beheerde RH geberg is.

i: 80% RH

j: 90% RH



Figuur 4.5 a: Persentasie kieming van *E. ferox*-stuifmeel wat in 1986 versamel is en by 25°

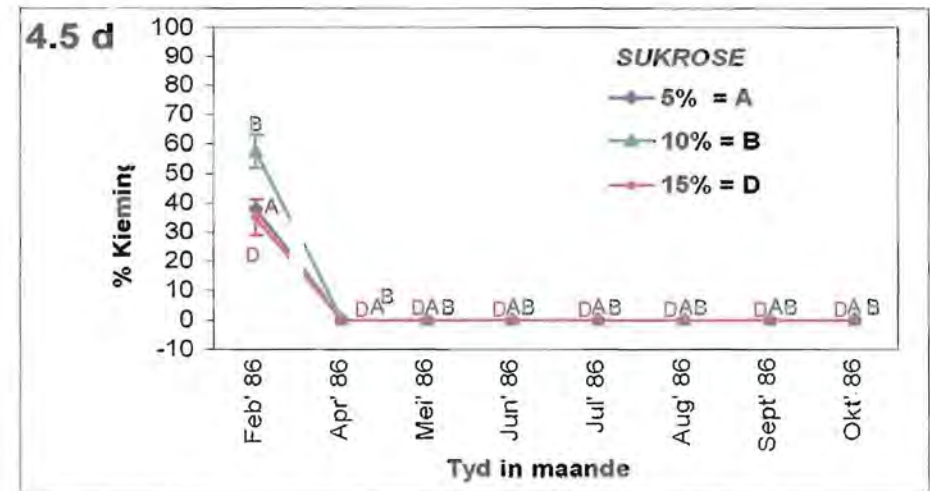
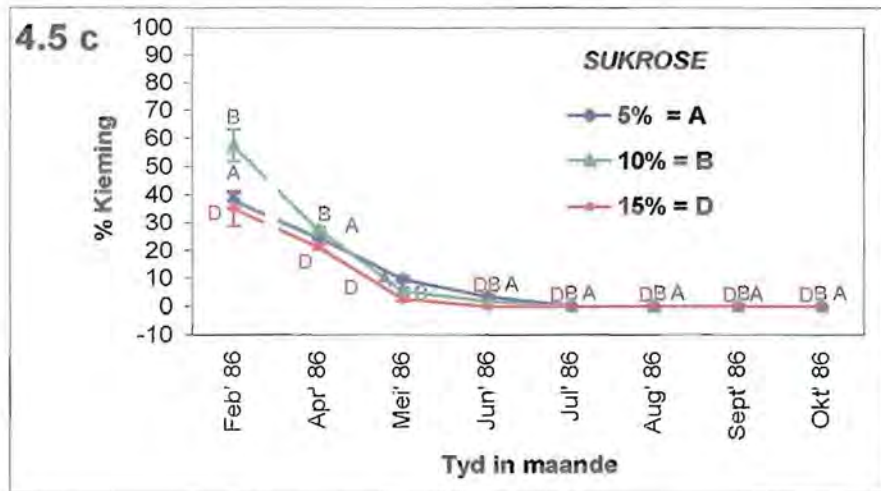
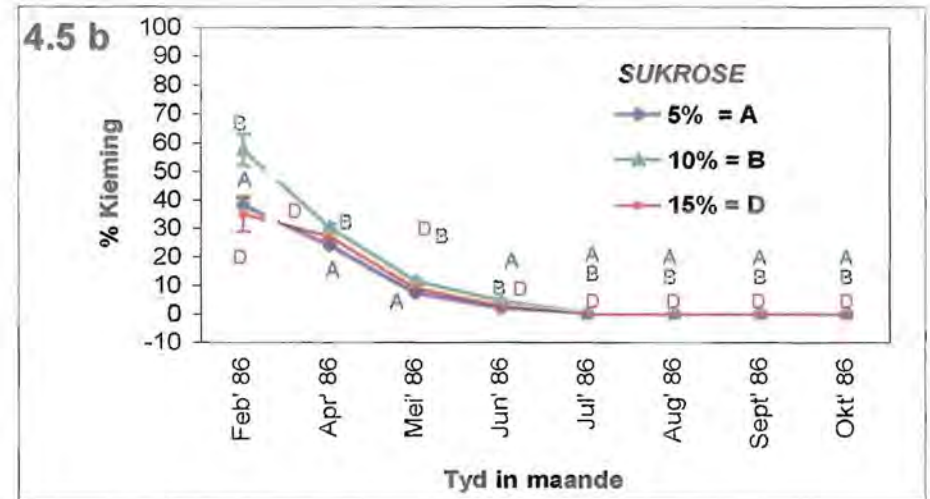
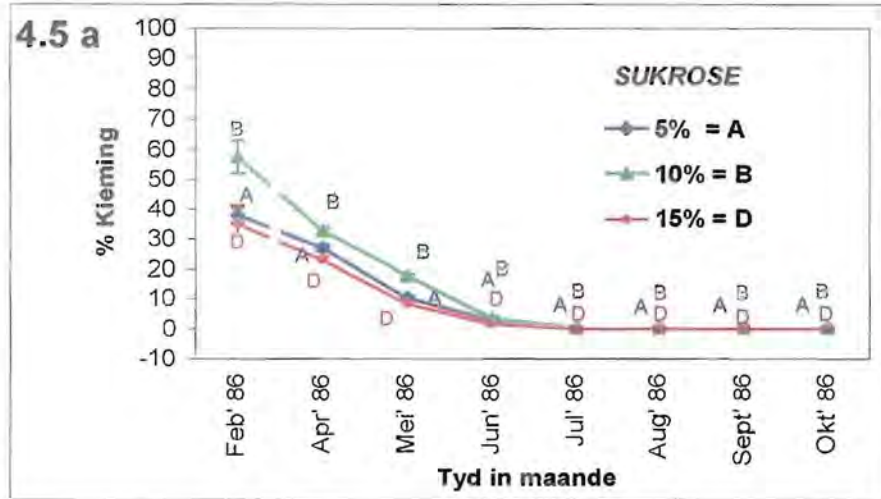
C en beheerde RH geberg is.

a: 20% RH

b: 40% RH

c: 60% RH

d: 80% RH



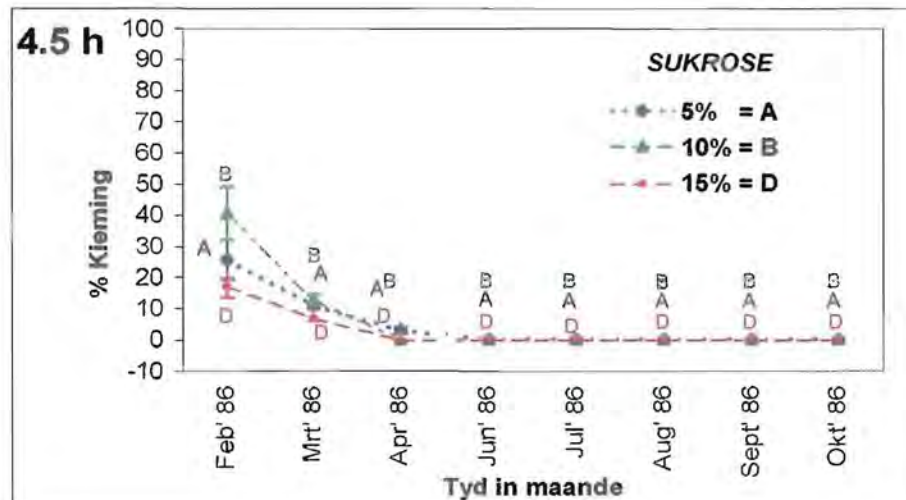
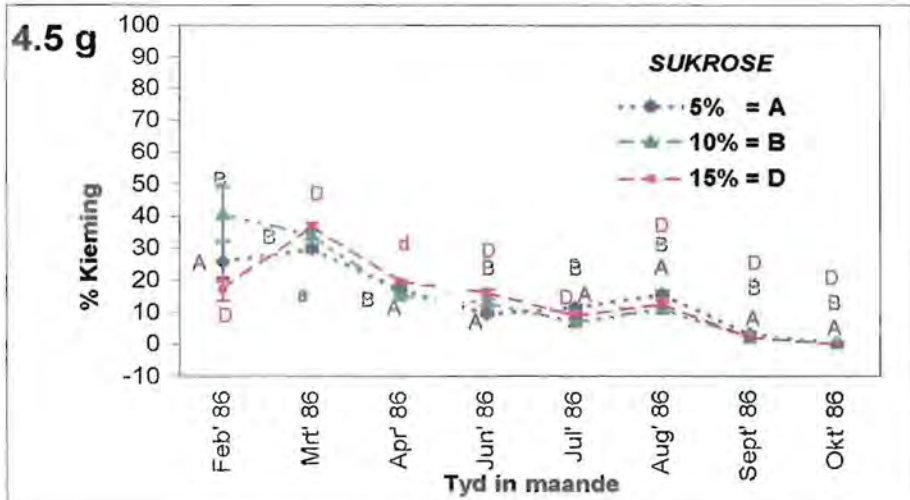
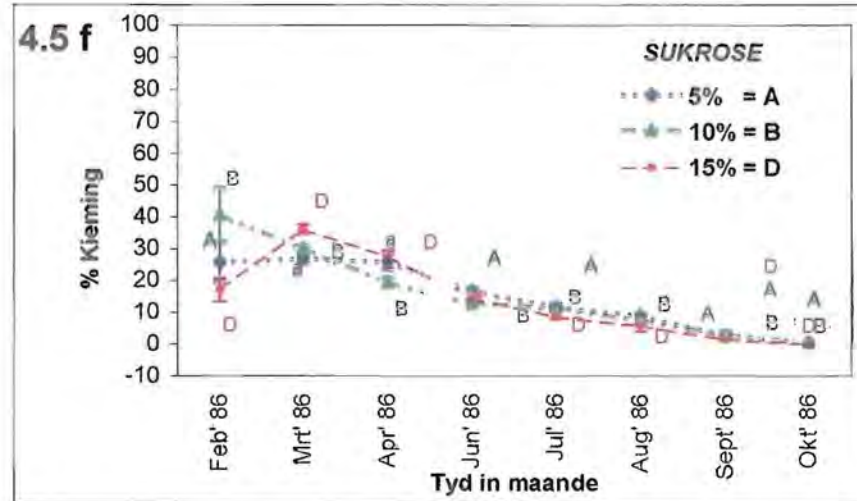
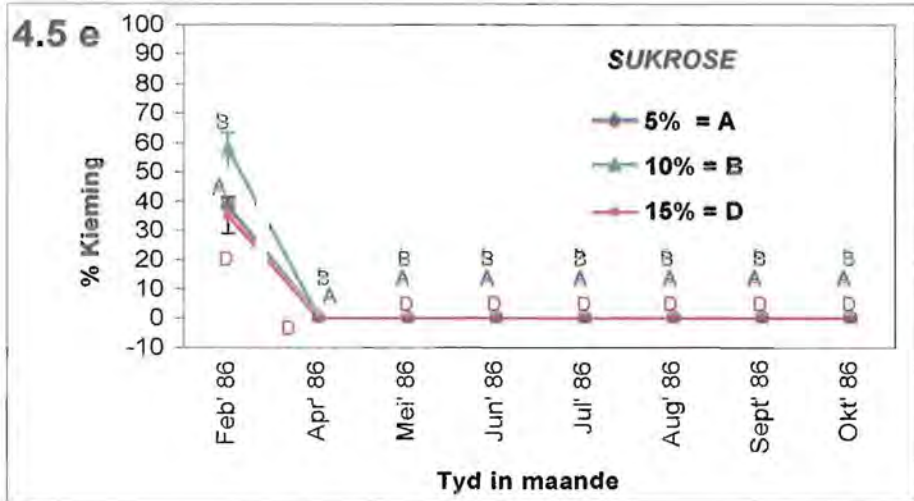
Figuur 4.5 Persentasie kieming van *Encephalartos*-stuifmeel wat in 1986 versamel is en wat by 25° C en beheerde RH geberg is.

e: *E. ferox*-stuifmeel by 90% RH

f: *E. lehmannii*-stuifmeel by 20% en 25° C

g: *E. lehmannii*-stuifmeel by 40% RH

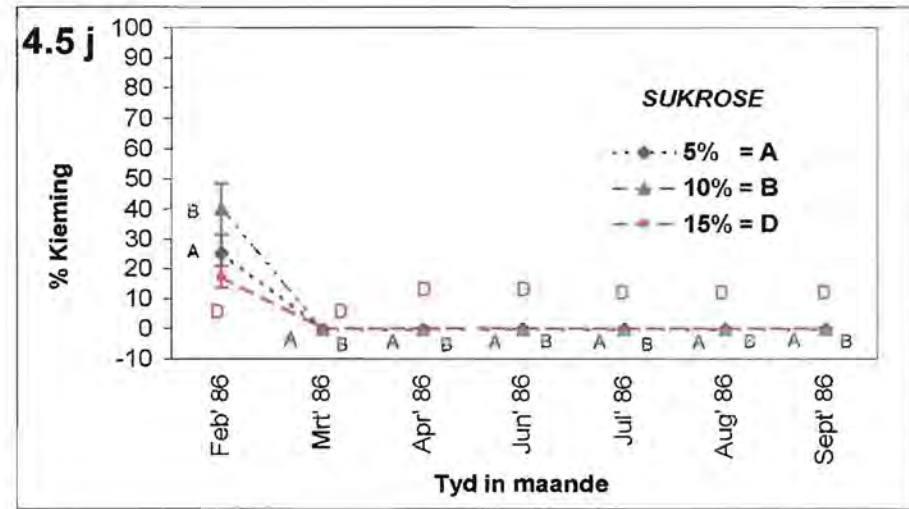
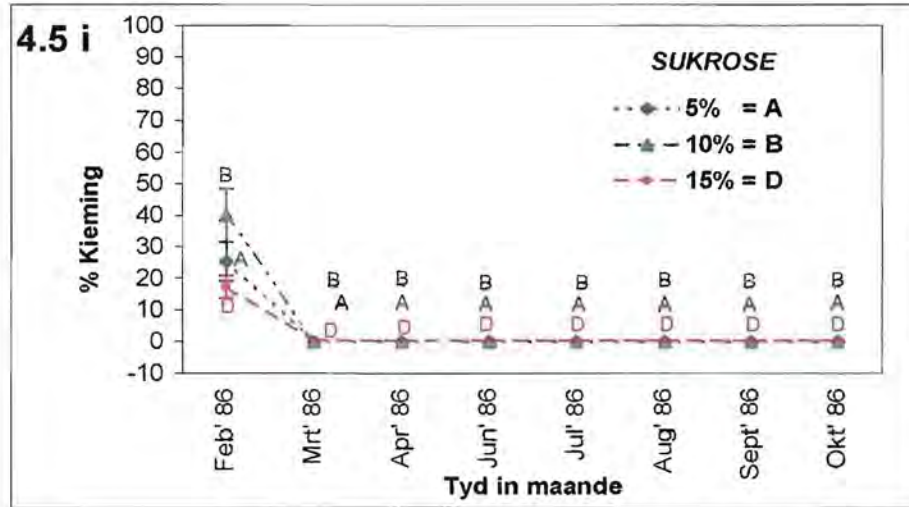
h: *E. lehmannii*-stuifmeel by 60% RH



Figuur 4.5 Persentasie kieming van *E. lehmannii*-stuifmeel wat in 1986 versamel is en by 25° C en beheerde RH geberg is.

i: 80% RH

j: 90% RH



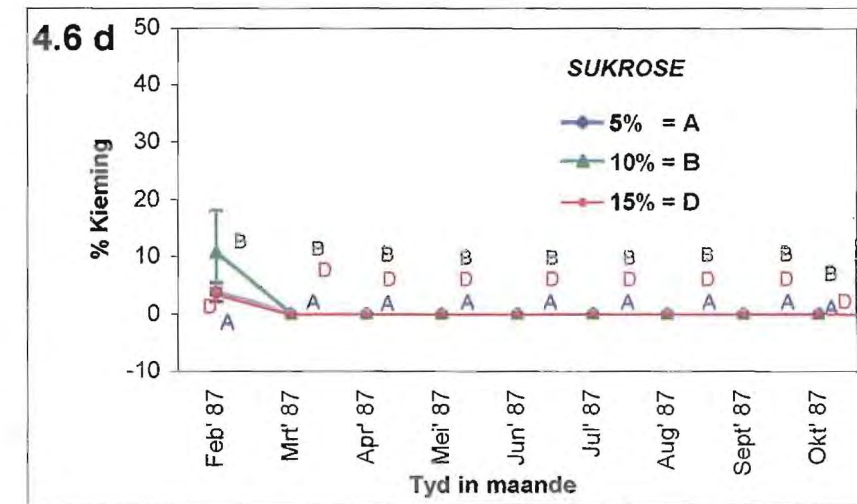
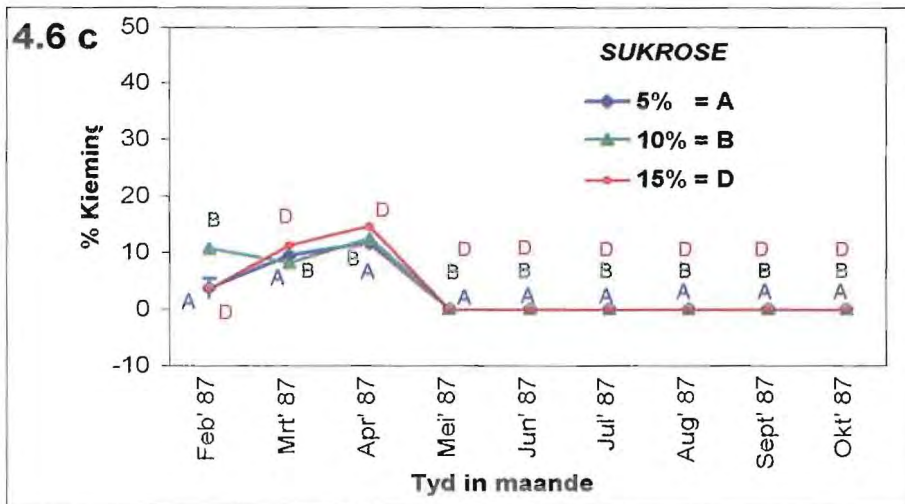
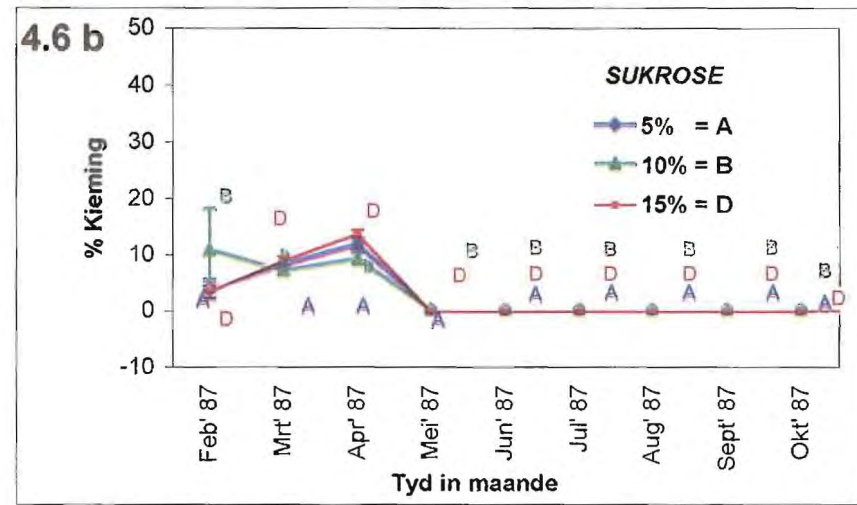
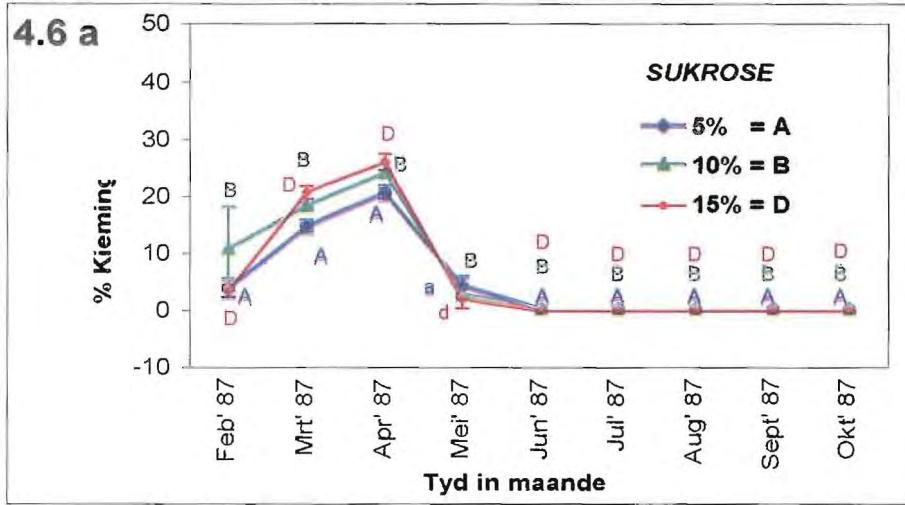
Figuur 4.6 Persentasie kieming van *E. ferox*-stuifmeel wat in 1987 versamel is en by 25° C en beheerde RH geberg is.

a: 20% RH

b: 40% RH

c: 60% RH

d: 80% RH



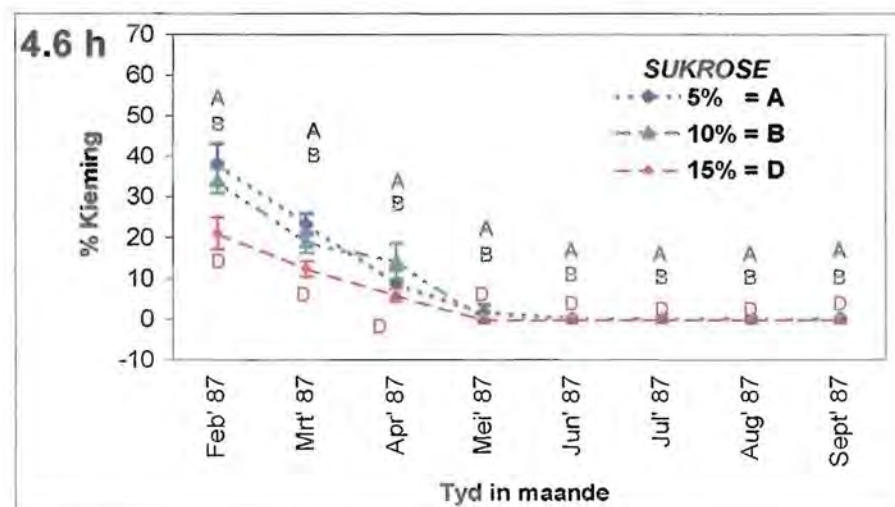
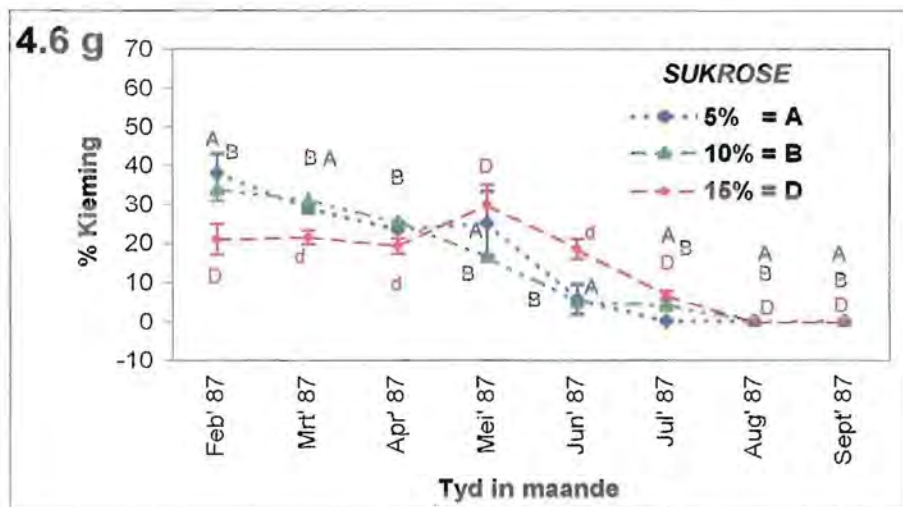
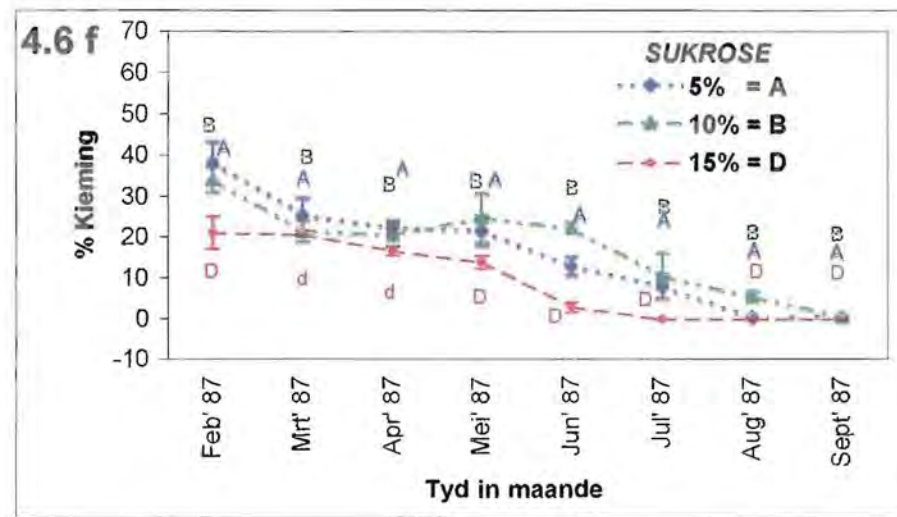
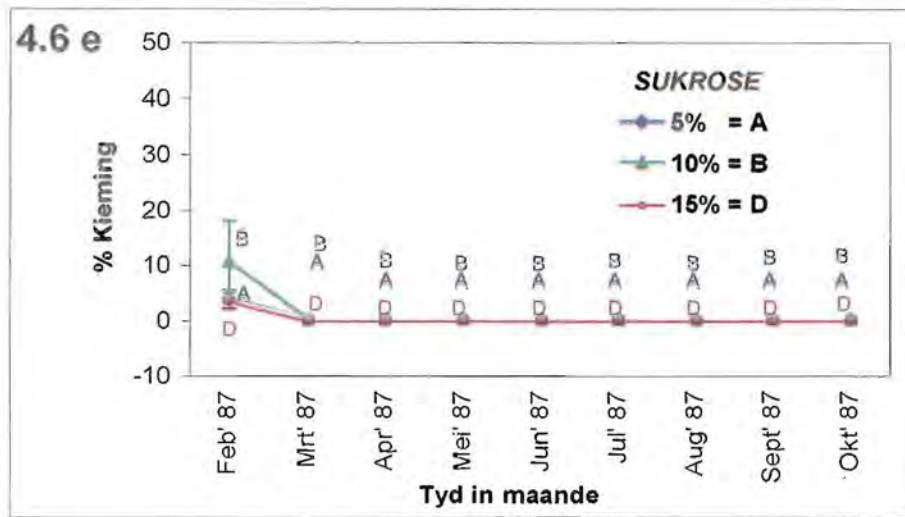
Figuur 4.6 Persentasie kieming van *Encephalartos*-stuifmeel wat in 1987 versamel is en by 25° C en beheerde RH geberg is.

e: *E. ferox*-stuifmeel by 90% RH

f: *E. eugene-maraisii*-stuifmeel by 20% RH

g: *E. eugene-maraisii*-stuifmeel by 40% RH

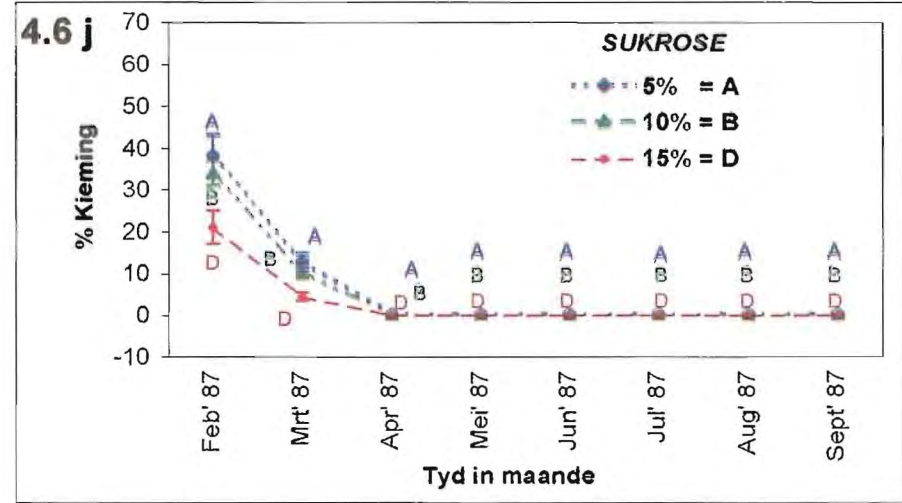
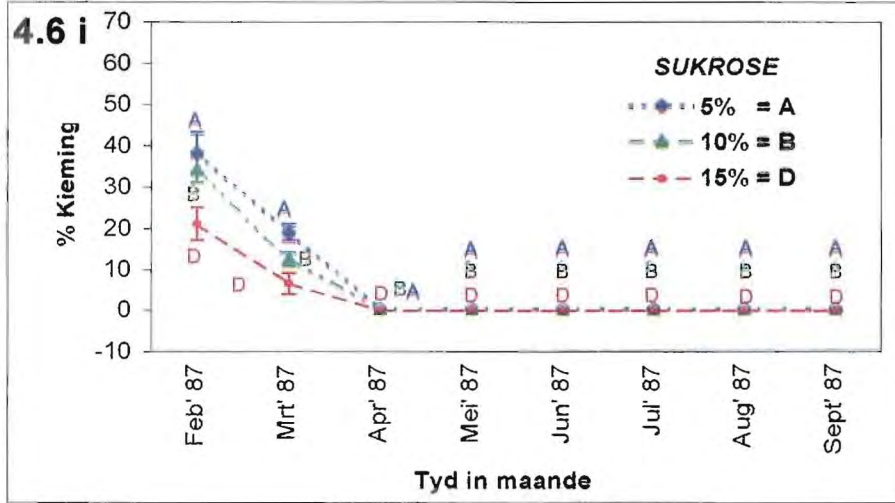
h: *E. eugene-maraisii*-stuifmeel by 60% RH



Figuur 4.6 Persentasie kieming van *E. eugene-maraisii*-stuifmeel wat in 1987 versamel is en by 25° C en beheerde RH geberg is

i: 80% RH

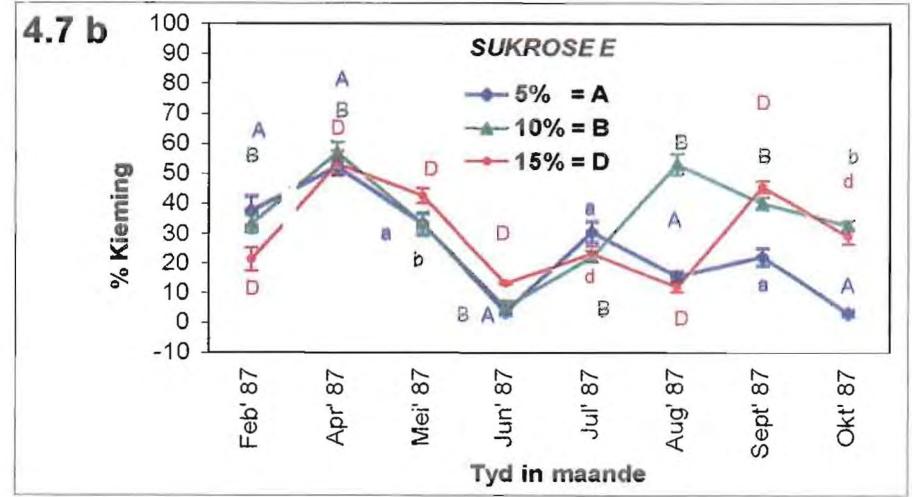
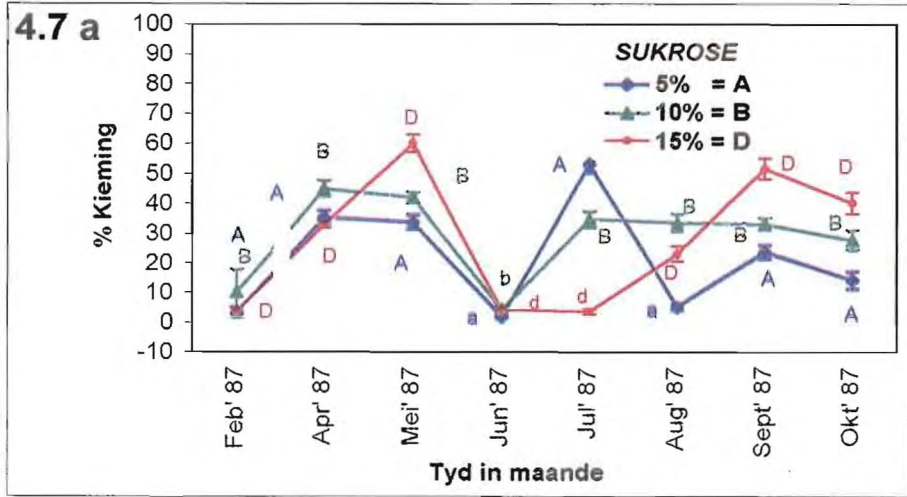
j: 90%



4.7 Persentasie kieming van twee *Encephalartos* spp se stuifmeel wat in vloeibare stikstof (-196° C) geberg is.

a: *E. ferox*

b: *E. eugene-maraisii*



Figuur 4.8 Persentasie kieming van *Encephalartos*-stuifmeel wat gevriesdroog is en daarna by verskillende temperature geberg is.

5° C

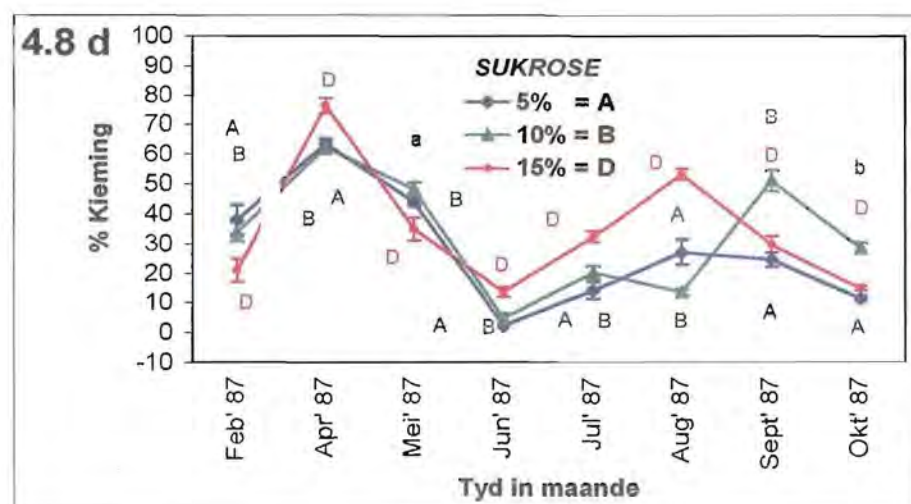
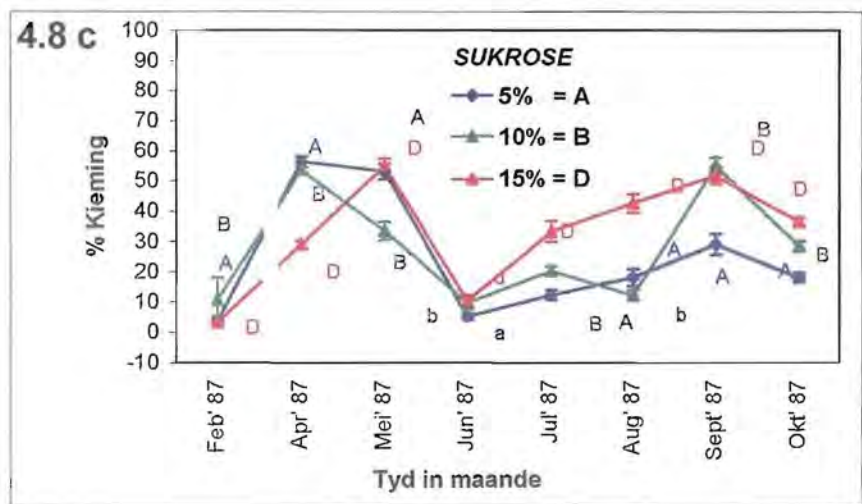
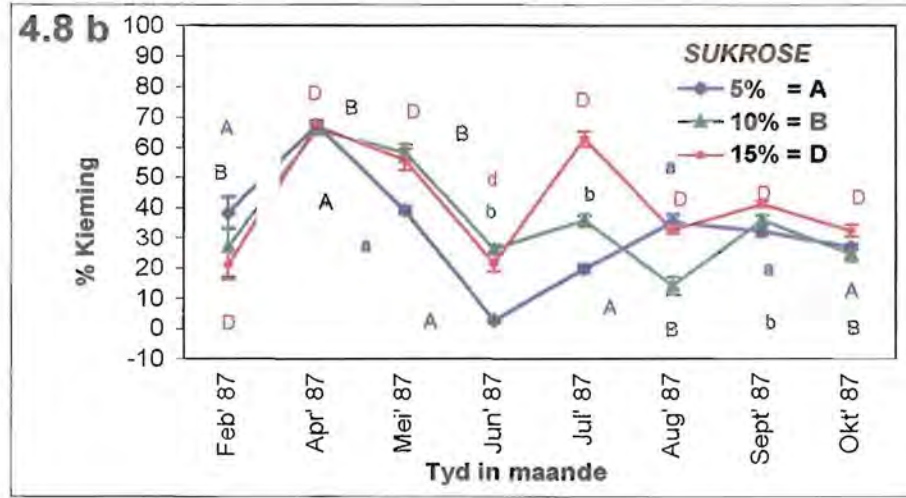
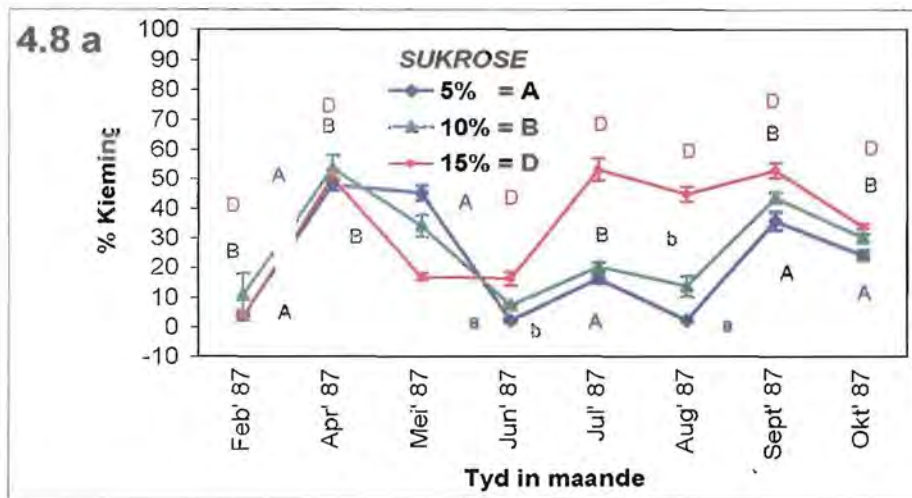
a: *E. ferox*-stuifmeel

b: *E. eugene-maraisii*

-25° C

c: *E. ferox*-stuifmeel

d: *E. eugene-maraisii*-stuifmeel



VERWYSINGS

- BALL, N.G. & DYKE, I.J. 1954. An endogenous 24-hour rhythm in the growth rate of the *Avena coleoptile*. *J. Exp. Bot.* 5: 421-433.
- BARNABAS, B. & RAJKI, E. 1976. Storage of maize (*Zea mays* L.) pollen at -196° C in liquid nitrogen. *Euphytica* 25: 747-752.
- BOWES, S.A. 1990. Long-term storage of *Narcissus* anthers and pollen in liquid nitrogen. *Euphytica* 48: 275-278.
- CHING, T.M. & CHING, K.K. 1964. Freeze-drying pine pollen. *Pl. Physiol.* 39: 705-709.
- CIAMPOLINI, F., SHIVANNA, K.R. & CRESTI, M. 1991. High humidity and heat stress causes dissociation of endoplasmic reticulum in tobacco pollen. *Bot. Acta* 104: 110-116.
- DAVIES, M.D. & DICKINSON, D.B. 1971. Effects of freeze drying on permeability and respiration of germinating lily pollen. *Physiol. Plant.* 24: 5-9.
- FIVAZ, J. & ROBBERTSE, P.J. 1993. *Pappea capensis*: Monoecious, dioecious or androdioecious. *S. Afr. J. Bot.* 59:342-344.
- KING, J.R. 1965. The storage of pollen particularly by the freeze-drying method. *Bull. Torrey bot. Club* 92: 270-287.
- LAYNE, R.E.C. & HAGEDORN, D.J. 1963. Effects of vacuum-drying, freeze-drying and storage environment on the viability of pea pollen. *Crop Sci.* 3: 433-436.
- MAGUIRE, T.L. & SEDGLEY, M. 1997. Storage-temperature affects viability of *Banksia menziesii* pollen. *Hort. Sci* 32: 916-917.
- OSBORNE, R., ROBBERTSE, P.J. & CLAASSEN, M.I. 1991. The longevity of cycad pollen: Results of some preliminary experimentation. *J. Cycad Soc. S.A.* 28: 10-13.
- OSBORNE, R. ROBBERTSE, P.J. & CLAASSEN, M.I. 1992. The longevity of cycad pollen in storage. *S. Afr. J. Bot.* 58: 250-254.

- ROCKLAND, L.B. 1960. Saturated salt solutions for the static control of relative humidity between 5° and 40° C. *Analytical chemistry* 32: 1375-1376.
- RODRIGUEZ-GARAY, B. & BARROW, J.R. 1986. Short-term storage of cotton pollen. *Pl. Cell Rep.* 5: 332-333.
- SHIVANNA, K.R. & JOHRI, B.M. 1985. The angiosperm pollen: Structure and function. Wiley Eastern limited. New Delhi, Bangalore, Bombay, Calcutta, Madras, Hyderabad.
- SHUKLA, P. & SHUKLA, A.C. 1983. Endogenous rhythm and hormonal response patterns in pollen germination and tube elongation in *Abelmoschus esculentus*. *Acta Horticulturae* 134: 109-110.
- STANLEY, R.G. & LINSKENS, H.F. 1974. Pollen: Biology, Biochemistry, Management. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- TYAGI, A., CONSIDINE, J. & McCOMB, J. 1992. Germination of *Verticordia* pollen after storage at different temperatures. *Aust. J. Bot.* 40: 151-155.
- VAUGHTON, G. 1991. Variation between years in pollen and nutrient limitation of fruit-set in *Banksia spinulosa*. *J. Ecol.* 78: 389-400.
- VAN DER WALT, I.D. & LITTLEJOHN, G.M. 1996. Storage and viability testing Protea pollen. *J. Am. Soc. Hort. Sc.* 121:804-809.
- WEATHERHEAD, M.A., GROUT, B.W.W. & HENSHAW, G.G. 1978. Advantages of storage of potato pollen in liquid nitrogen. *Potato Res.* 21: 331-334.
- WINSTON, P.W. & BATES, D.H. 1960. Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology* 41: 232-237.

HOOFSTUK 5

FYNSTRUKTUUR VAN *ENCEPHALARTOS*-STUIFMEEL TYDENS BERGING

- * INLEIDING
- * MATERIAAL EN METODE
- * RESULTATE EN BESPREKING
- * SAMEVATTING
- * FIGURE
- * VERWYSINGS



INLEIDING

Die variasie in kiemkragtigheid gedurende die eksperimentele periode, die variasie in kiemingsbepalings in verskillende sukrose-kiemingsmediums en die probleem om geskikte kleuringstegnieke te vind om lewenskragtigheid by hierdie stuifmeel te bepaal, het vroe laat ontstaan soos 1) hoe verander die ultrastruktuur van so 'n stuifmeelkorrel tydens berging en veroudering en 2) is daar spesifieke organiese stowwe teenwoordig in die stuifmeelkorrel wat berging van hierdie soort stuifmeel sal kan bevorder of benadeel

Die struktuur van die eksien van die volgende mikrospore van die orde Cycadales is reeds bekend; *Dioon*, *Stangeria*, *Zamia*, *Encephalartos*, *Ceratozamia* en *Cycas* (Audran 1965; Audran & Masure 1976; Audran & Masure 1978; Audran 1980 & Gullvåg 1966). Verder is daar studies wat handel oor die ontwikkeling van die mikrospore vanaf die mikrospoor=moedersel totdat die mikrospoor volwasse is en vrygestel word (Aldrich & Vasil 1970; Audran 1971; Audran 1974; Audran 1978; Audran 1979; Audran 1981 & Rodkiewicz *et al.* 1988). Min inligting aangaande die verandering binne *Encephalartos*-stuifmeel tydens berging is egter bekend. Hierdie situasie is moontlik toe te skryf aan die feit dat dit algemeen bekend is dat die voorbereiding van materiaal vir TEM ondersoek van volwasse stuifmeel van die meeste Gymnospermae moeilik is. Die werk wat tot op hede in die verband gepubliseer is oor Cycadales-stuifmeel, konsentreer op die ontwikkeling van die stuifmeelkorrel in die mikrosporangium (Vasil & Aldrich 1970, Audran 1979, Audran 1981) en die eksien-skulptuur van die stuifmeelkorrel self (Audran 1965, Gullvåg 1966, Audran & Masure 1976, Planderová 1976, Audran & Masure 1978, Audran 1980, Audran 1981).

In hierdie studie is vars stuifmeel wat pas vanuit die keël vrygestel is, gebruik as vertrekpunt om vas te stel wat die invloed van berging op die ultrastruktuur is.

Die probleem wat met standaardvoorbereidings-metodes van *Encephalartos*-stuifmeel vir TEM studies geassosieer word, is dat die materiaal fragmenteer tydens die snyproses. Die oplossing wat tradisioneel voorgestel word, is die verlenging van die infiltrasietyd, maar Van der Merwe & Coetzee (1992) beweer dat sekere epoksies te sag is vir botaniese gebruik en stel voor dat die komponente van die hars wat moet infiltreer, varieer moet word om die hardheid van die hars te bevorder. Nog 'n moontlike rede vir swak snitte is die gebruik van glutaaraldehyd by kamertemperatuur of by 5° C vir die fiksering van stuifmeel wat lei tot onvolledige primêre fiksering (Van der Merwe & Coetzee 1985). Dit is as gevolg van die fikseermiddel wat stadig penetreer en die temperatuur wat onvoldoende is vir die volledige kruisbinding van proteïene in *Encephalartos*-stuifmeel. Materiaal wat op hierdie wyse ingebed is, fragmenteer gedurende die mikrotomering van die monster. Die resultaat is dat geen strukture van die stuifmeelkorrel met die TEM waargeneem kan word nie.

Materiaal en Metode

Natuurlik-vrygestelde stuifmeel van manlike keëls van vier *Encephalartos*-spesies, naamlik *E. altensteinii* Lehm., *E. eugene-maraisii* Verdoorn, *E. ferox* Bertol. f. en *E. lehmannii* Lehm. is op velle skoon bruinpapier versamel. Stuifmeelmonsters is in sentrifugeerbuis geplaas om vloeistowwe tussen die verskillende stappe maklik deur middel van 'n pasteurpipet te verwyder nadat dit vir vyf minute gesentrifugeer is by 600g.

Die monsters is vooraf behandel met 0,1% sellulase (Sigma Chemical Co., Practical Grade) in 0,1M sitraatbuffer by 'n pH van 4,4 vir 2 ure by 28° C. Hierna is die monsters drie keer gewas in 0,1M fosfaatbuffer (pH 7,2). Primêre fiksering het in 2,5% herdistilleerde glutaaraldehyd oplossing in 'n 0,1M fosfaatbuffer (pH 7,2) met 0,5% kafeïen vir aanvanklik

30 minute by 20°C en daarna vir 48 uur by 60° C, geskied. Die materiaal is drie keer vir 10 minute in 0,1 M fosfaatbuffer gewas voordat postfiksering in 0,5% waterige OsO₄ vir 48 uur by 60° C uitgevoer is. Dehidrasie van die materiaal het in 'n asetoon reeks plaasgevind. Die materiaal is in 'n Quetol 651 mengsel ingebed wat aangepas is van die oorspronklike formule (Kushida 1974) deur die anhidried-epoksie samestelling te varieer (Van der Merwe & Coetzee 1986, 1992). Dun sneë is met diamant- of glasmesse gesny. Kontras is verkry deur die sneë met loodsitraat (Reynolds 1963) en 4% waterige uranielasetaat te kontrasteer. Karve & Kulkarni (1989) beveel aan dat sneë met 5% uranielasetaat by 50°C vir 15 minute gekontrasteer word. In hierdie studie was dit nie nodig nie, aangesien die organelle reeds genoegsaam gekontrasteer was. Kafeïen is lank reeds gebruik in ligmikroskoopstudies waar tanniene in selle voorkom, aangesien die kafeïen vinnig die sel binnedring en dit ook nie giftig is nie (Mueller & Greenwood 1978). Mueller & Greenwood (1978) beskryf die gebruik van kafeïen saam met glutaaraldehyd om selle wat fenoliese stowwe bevat, te fikseer. Kafeïen in hierdie geval help voorkom dat die fenoliese stowwe uit die vakuole deur die tonoplast in die sitoplasma in beweeg.

Resultate en Bespreking

Fiksering in glutaaraldehyd wat kafeïen bevat by 'n temperatuur van 60° C, vir langer periodes, het optimale fiksering tot gevolg gehad en het baie goeie resultate met *Encephalartos*-stuiwmeel gelewer.

Die seksien kan maklik deurgesny word met min verbrokkeling van die weefsel (Figuur 5.1). Die ultrastrukturele bou van sitoplasmiese organelle soos die nukleus en die mitochondrium was genoegsaam gepreserveer. Selfs die membrane het die karakteristieke trilaminêre struktuur met die aldehyd- en osmiumfiksering getoon.

Die ontwikkeling van 'n suksesvolle voorbereidingsmetode het dit moontlik gemaak om indringend te kyk na die ultrastrukturele veranderinge wat in *Encephalartos*-stuifmeel plaasvind gedurende berging. In hierdie bespreking word gehou by die stuifmeel-nomenklatuur soos beskryf is volgens Erdtman in 1966 (Audran & Masure 1976). Volgens hierdie nomenklatuur kan die eksien van 'n stuifmeelkorrel in die seksien en die neksien verdeel word en die seksien verdeel word in 'n ekto- en endoseksien. 'n Stuifmeelkorrel by *Encephalartos* spp. bestaan dan hoofsaaklik uit drie dele, naamlik die seksien, neksien en intien (Audran & Masure 1978). Die eksien is saamgestel uit weerstandbiedende sporopollenien wat osmiofiliese eienskappe toon (Audran 1979). Sporopollenien is by Gymnospermae deur verskeie navorsers ondersoek (Vasil & Aldrich 1970; Audran 1981).

Volgens Audran (1981) word kallose progressief en selektief afgebreek wanneer die mikrospore gereed is om uit die tetrasporium vrygestel te word. Die stelselmatige afbreek van die hemisellulose dele van sporangiumwandselle veroorsaak dat die mikrospore vrygestel word vanuit die sporangium. Tydens hierdie vrystellingsfase is die eksien van die stuifmeelkorrel reeds volledig gevorm (Audran 1981). Audran (1971) beskryf by *Ceratozamia mexicana* 'n sisteem wat outofagiese funksies besit in die primêre sporogene selle gedurende hulle fase van vermeerdering. Hieruit lei hy af en gee 'n skets hoe hierdie outofagie die sitoplasma of die membrane degenereer.

'n Duidelike seksien en neksien kan waargeneem word en die intien is in lewenskragtige stuifmeelkorrels teenaan die neksien geleë (Figuur 5.2). In Figuur 5.3 begin die eksien wegtrek van die intien. Southworth (1988) beweer dat die eksien van die intien gedurende die proses van hidrasie tydens stuifmeelkieming spontaan wegtrek by sekere gymnosperme

beweer verder dat geïsoleerde eksienlae vir chemiese ontleding gebruik kan word, veral in die geval van sporopollenien.

Sommige stuifmeelkorrels van *E. ferox* wat vir vyf maande (150 dae) geberg is, toon geen wegtrek van die lae nie en toon nog steeds opeenvolgende lae aan mekaar. Die selstrukture soos die mitochondriums, vakuole en amiloplaste is baie duidelik (Figuur 5.4). Die deurgesnyde stuifmeelkorrels toon baie lipieddruppels en die metode van Van der Merwe & Coetzee (1984) by olierige sade het heelwat lig op die studie gewerp. Amiloplaste kom ook volop voor in die stuifmeelkorrels.

Die afbreek van die periplasma (intien) is ook by *E. eugene-maraisii*-, *E. altensteinnii*- en *E. lehmannii* stuifmeelkorrels waargeneem (Figuur 5.5, 5.6 & 5.7). Die ouderdom van die stuifmeelkorrels kan nie as 'n maatstaf vir die wegskeur van die eksien gebruik word nie. Figuur 5.7 bevestig die feit dat daar wel van die intien tot niet gaan en dat die verskynsel nie net die wegskeur van materiaal tydens die sny daarvan is nie aangesien daar in die figuur dele van die intien nog steeds aan die buissel en generatiewe sel van die geheg is. Figuur 5.7 dui drie stuifmeelkorrels van *E. lehmannii* nadat dit vir vier maande (120 dae) by 5° C geberg is aan. A se wande is behoue maar, B en C se eksien trek duidelik weg van die intien af.

Wanneer die intien van die stuifmeelkorrels begin degenerereer, kan die stuifmeelkorrel nie meer kiemkragtig beskou word nie. Geen outofagie kon egter waargeneem word nie en verdere studie moet op die aspek gedoen word.

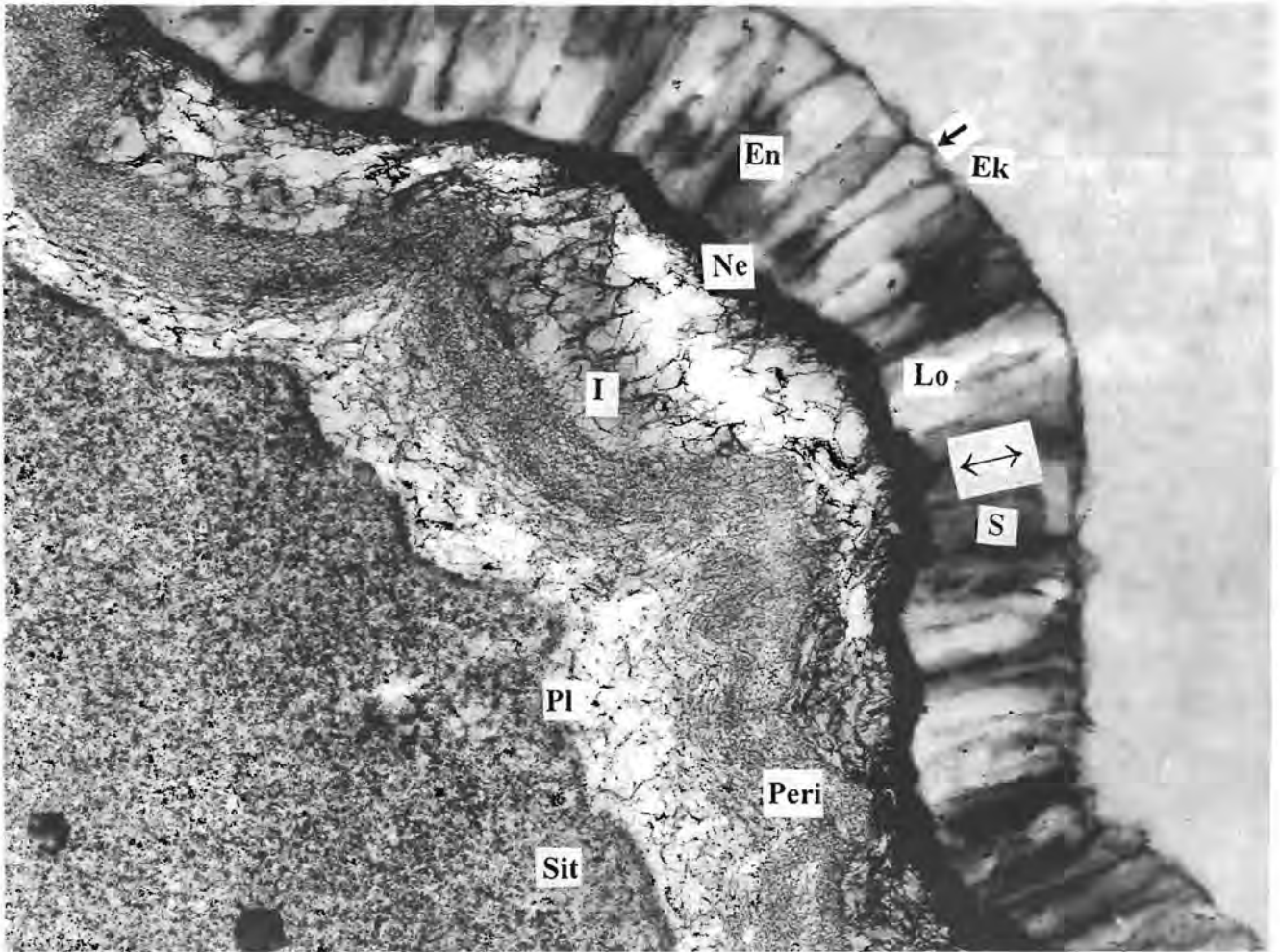
Stuifmeelkorrels het na berging by 5° C, binne 'n maand die aftakeling van die sitoplasma begin toon en waar die stuifmeelkorrel geen agteruitgang getoon het nie kan dit 'n moontlike voorspelling gee van die kiemkragtigheid van die stuifmeelkorrel. Om so 'n bevinding te staaf verg 'n groot hoeveelheid stuifmeel en baie TEM werk wat gedoen moet word. Dit was nie die doel van die studie nie.

Samevatting

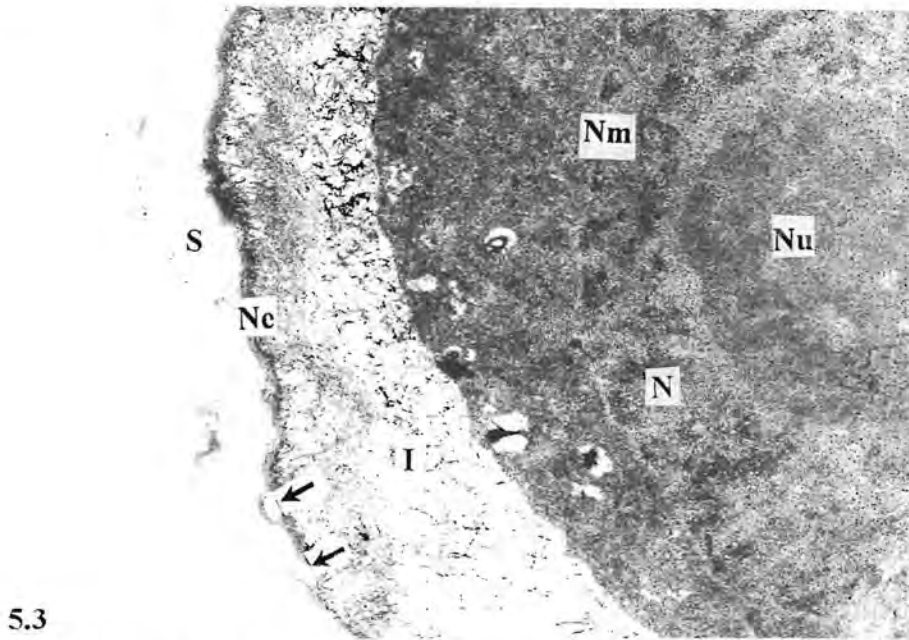
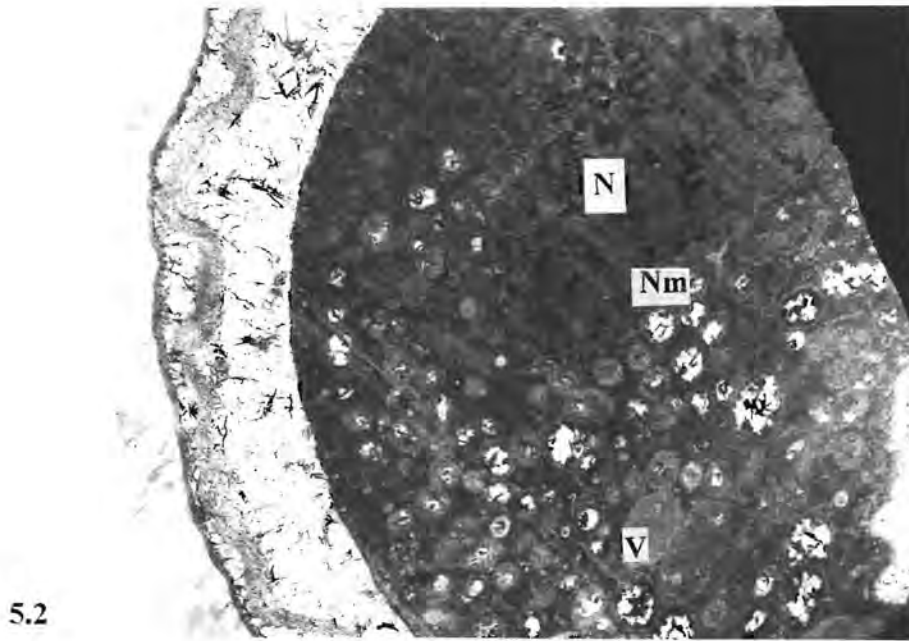
Die tot niet gaan van 'n deel van die intien dui moontlike veroudering en verlies van kiemkragtigheid in die stuifmeelkorrel aan. Korrelasietoetse tussen die aantal stuifmeelkorrels onder TEM wat die wegtrek verskynsel toon en *in vitro* kiemingstoetse se kiemingspersentasies kan moontlik meer lig werp of die stuifmeelkorrels nog kiemkragtig is. In hierdie studie kom dit duidelik te voorskyn dat die wegtrek van die eksien, of die moontlike degenerering van die intien nie net toegeskryf kan word aan ouderdom van die stuifmeel nie, maar, miskien moontlik veroorsaak word deur 'n algemene aftakeling van die sitoplasma wat uiteindelik lei tot die waargenome verlies van kiemkragtigheid of lewenskragtigheid van die stuifmeelkorrel self.

FIGUURBLAD



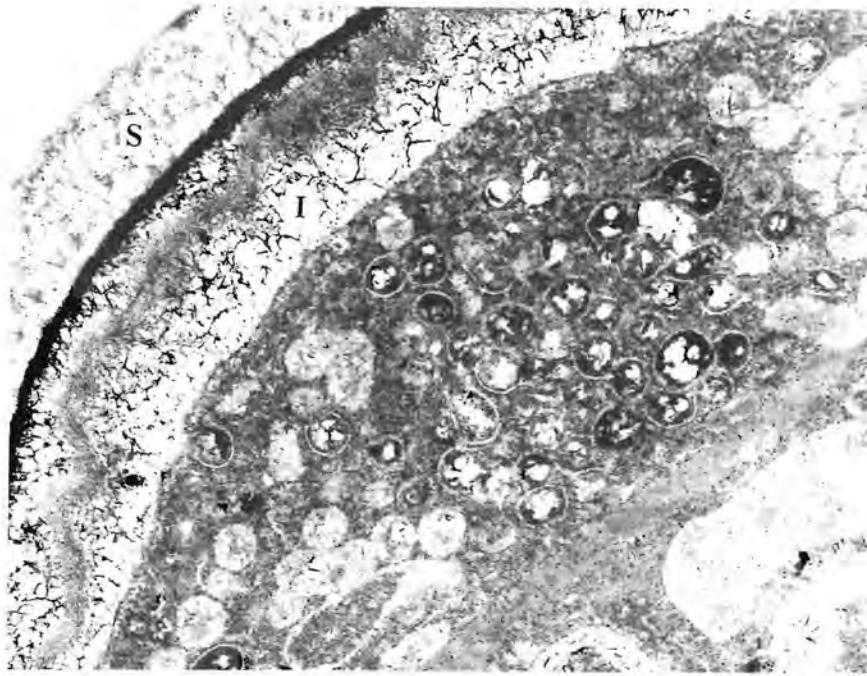


Figuur 5.1 Elektronmikrograaf van 'n gedeelte van 'n stuifmeelkorrel van *E. lehmanna* na sellulase en kafeïenbehandeling en fiksering by 60° C. Wandstrukture is nog intak en sitoplasmiese ultrastrukture is gepreserveer. $\times 37000$. Ek.- ektoseksien, En.- endoseksien, I.- intien, Lo.- lobule, Ne.- neksien, Peri.- periplasma, Pl.- plasmalemma, S.- seksien, Sit.- sitoplasma.

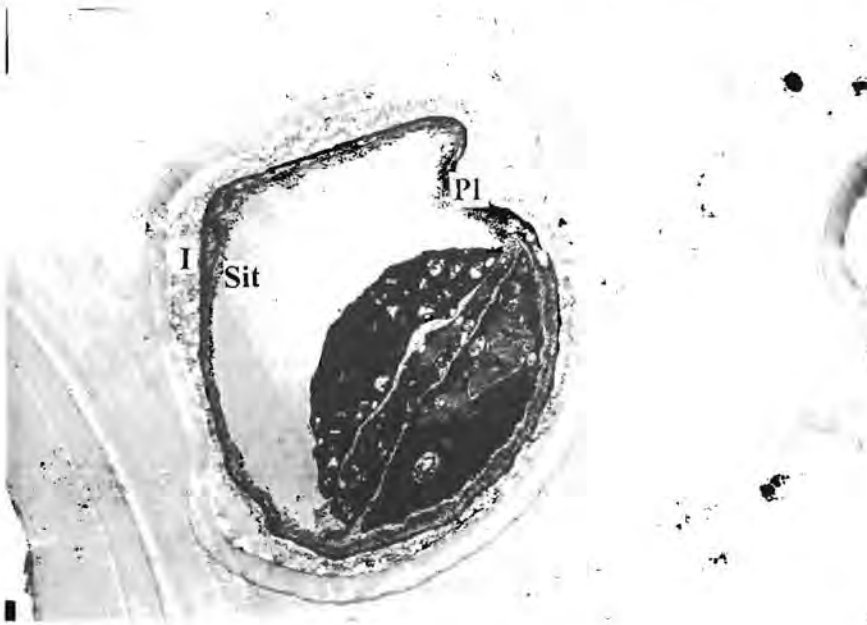


Figuur 5.2, 5.3 5.2 Mikrograaf van 'n *E. ferox*-stuifneelkorrel wat vir 56 dae geberg is by 5° C. Duidelike selstrukture en intakte intien. ×7500 5.3 Mikrograaf van *E. ferox*-stuifneelkorrel wat vir 30 dae by 5° C geberg is. Seksien en neksien trek plek-plek van mekaar af (Pyltjies wys die posisie aan). ×9800. I.- intien, N.- nukleus, Ne.- neksien, Nm.- nukleusmembraan, Nu.- nukleolus, S.- seksien, V.- vakuool.

5.4

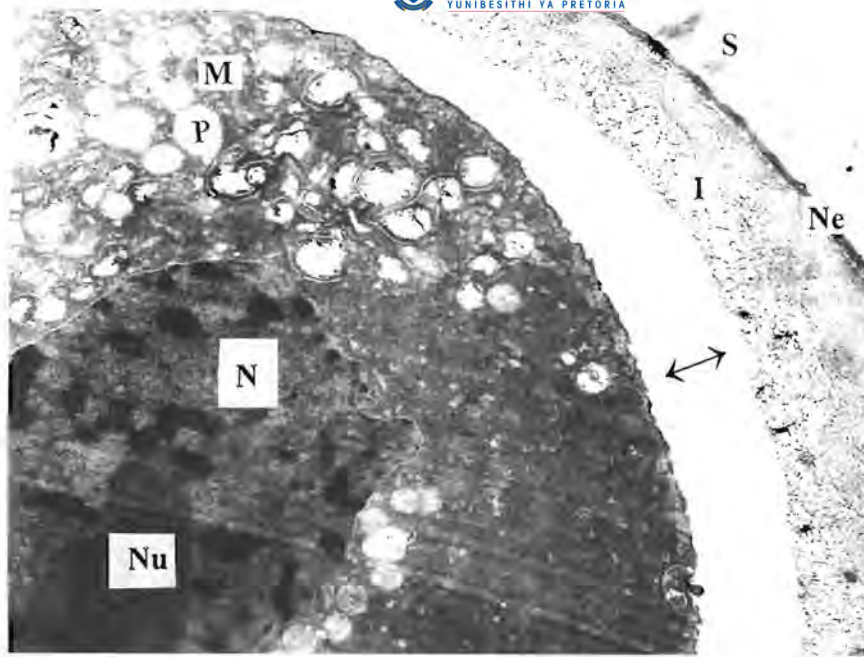


5.5

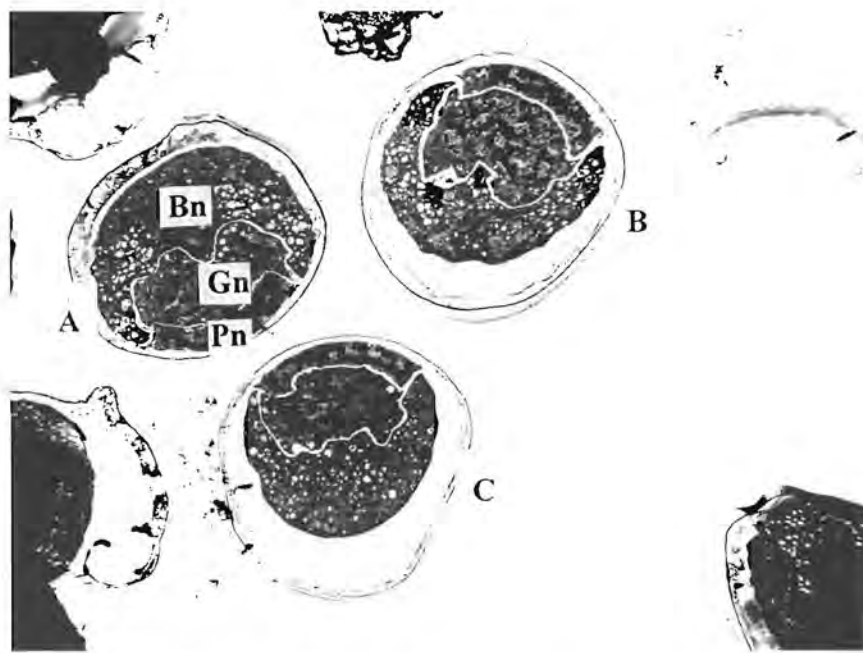


Figuur 5.4, 5.5 5.4 'n Mikrograaf van 'n *E. ferox*-stuifmeelkorrel wat vir 164 dae by 5° C geberg is. Selstrukture duidelik. Alle wande intak. × 9800 5.5 'n Mikrograaf van 'n stuifmeelkorrel van *E. eugene-maraisii* wat die totale degenerasie van sitoplasma beklemtoon. Hierdie stuifmeel is vir 181 dae by 5° C geberg. × 360. I.- intien, Pl.- plasmalemma, S.- seksien, Sit.- sitoplasma.

5.6



5.7



Figuur 5.6, 5.7 5.6 'n Mikrograaf van 'n stuifmeelkorrel van *E. altensteinnii* wat die moontlike afbreek van sitoplasma beklemtoon. Hierdie stuifmeel is vir 122 dae geberg by 5° C. × 9500. 5.7 'n Mikrograaf van stuifmeelkorrels van *E. lehmannii*. Stuifmeelkorrel A kan nog as kiemkragtig beskou word. B en C kan nie meer as kiemkragtig beskou word nie. Stuifmeel is vir 122 dae by 5° C geberg. ×1200. Bn.- buisnukleus, Gn.- generatiewe nukleus, I.- intien, M. mitochondrium, N.- nukleus, Ne.- neksien, Nu.- nukleolus, P.- plastied, Pn.- protallium nukleus, S.- seksien.

VERWYSINGS

- ALDRICH, H.C. & VASIL, I.K. 1970. Ultrastructure of the postmeiotic nuclear envelope in microspores of *Podocarpus macrophyllus*. *J. Ultrastructure Research* 32: 307-315.
- AUDRAN, J-C. 1965. Contribution a l'étude de la structure de la paroi du grain de pollen chez *Dioon*, *Stangeria*, *Ceratozamia*, *Cycas* et *Encephalartos*. *Ann. Univ. et de l'A.R.E.R.S.* 3: 130-144.
- AUDRAN, J-C. 1971. Contribution a l'étude de la microspirogenese chez les Cycadales: sur la presence de systemes a fonctions Autophagiques dans les cellules-meres primordiales durant leur phase de multiplication chez le *Ceratozamia mexicana* (Cycadales). *Ann. Univ. et de l'A.R.E.R.S.* 9: 106-121.
- AUDRAN, J-C. 1974. Cytologie Végétale.-Aspects ultrastructuraux de l'individualisation des microspores du *Ceratozamia mexicana* (Cycadacées). *C. R. Acad. Sc. Paris, t.* 278:1023-1026.
- AUDRAN, J-C. 1978. Cytobiologie de la microsporogenèse, et du tapis chez le *Ceratozamia mexicana* (Cycadacées). *Ann. Univ. et de l'A.R.E.R.S. Reims* 15: 1-26.
- AUDRAN, J-C. 1979. Microspores, pollen and tapetum ontogeny in *Ceratozamia mexicana* (Cycadaceae): an ultrastructural study. *Phytomorphology* 29: 350-362.
- AUDRAN, J-C 1980. Morphogenese et alterations provoquées des exines des Cycadales: apports une meilleure interpretation de leur infrastructure. *Rev. Cytol. Biol. végét.-Bot.* 3: 311-353.
- AUDRAN, J-C. 1981. Pollen and tapetum development in *Ceratozamia mexicana* (Cycadaceae): Sporal origin of the exinic sporopollenin in cycads. *Rev. Pal. Palynol.* 33: 315-346.
- AUDRAN, J-C. & MASURE, E. 1976. Précisions sur l'infrastructure de l'exine chez les Cycadales (Prespermaphytes). *Pollen et Spores*: 18: 5-26.

- AUDRAN, J.-C. & MASURE, E. 1978. La sculpture et l'infrastructure du sporoderme de *Ginkgo biloba* comparées à celles des enveloppes polliniques des Cycadales. *Rev. Pal. Palynol.* 26: 363-387.
- GULLVÅG, B.M. 1966. The fine structure of some Gymnosperm pollen walls. *Grana Palynol.* 6: 435-475.
- KARVE, V. & KULKARNI, A.R. 1989. Ultrastructure of freshly released and hydrated pollen grains of *Ricinus communis* Linn. *Asia. J. Pl. Sci.* 1: 79-87.
- KUSHIDA, H. 1974. A new method for embedding with a low viscosity resin "Quetol 651". *J. Electron Microsc.* 23: 197-197.
- MUELLER, W.C., GREENWOOD, A.D. 1978. The ultrastructure of phenolic-storing cells fixed with caffeine. *J. Exp. Bot.* 29: 757-764.
- PLANDEROVÁ, E. 1976. Morphology of exine of some species of Pteridophyta and Gymnospermae pollen, examined under stereoscanning microscope. *Biologické Práce* 22: 45-161.
- REYNOLDS, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biology* 17: 208-212.
- RODKIEWICZ, B., BEDNARA, J., KURAS, M. & MOSTOWSKA, A. 1988. Organelles and cell walls of microsporocytes in a cycad *Stangeria* during meiosis I. *Phytomorphology* 38: 99-110.
- SOUTHWORTH, D. 1988. Isolation of exines from gymnosperm pollen. *Amer. J. Bot.* 75: 15-21.
- VAN DER MERWE, C.F. & COETZEE, J. 1984. Infiltrating oily seeds with epoxy resin. *Proc. Electron Microsc. Soc. South Afr.* 14: 77-78.
- VAN DER MERWE, C.F. & COETZEE, J. 1985. Penetration of glutaraldehyde in various buffers into plant tissue and gelatin gels. *J. Microscopy* 137: 129-136.

VAN DER MERWE, C.F. & COETZEE, J. 1986. Resin hardness measurements as an aid to epoxy formulation. *Proc. Electron Microsc. Soc. South Afr.* 16: 137-138.

VAN DER MERWE, C.F. & COETZEE, J. 1992. Quetol 651 for general use: a revised formulation. *Proc. Electron Microsc. Soc. S. Afr.* 22: 31-32.

VASIL, I.K. & ALDRICH, H.C. 1970. A histochemical and ultrastructural study of the ontogeny and differentiation of pollen in *Podocarpus macrophyllus*. *Protoplasma* 71: 1-37.

OPSOMMING

Natuurlike populasies van baie broodboomsoorte het tot so 'n mate gekrimp dat hul voortbestaan afhanklik is van *ex situ* bewaring, waar kunsmatige bestuiwing 'n groot rol speel. Die bewaring van kiemkragtige stuifmeel is daarom van groot belang.

Die doel van hierdie ondersoek was om die optimale toestande waaronder berging van *Encephalartos*-stuifmeel kan plaasvind te bepaal en aanbevelings te maak vir die effektiewe berging daarvan. In hierdie studie is vier *Encephalartos*-spesies se stuifmeel ondersoek, naamlik: *E. caffer*, *E. eugene-maraisii*, *E. ferox* en *E. lehmannii*.

SEM-studies het getoon dat *Encephalartos*-stuifmeel bootvormig en bilateraal is met 'n enkel sulkus. Die grootte varieer van 32,5 tot 36,1 μm in lengte, 19,1 tot 20,2 μm in breedte. Die PAS-toets vir stysel het getoon dat daar pektiensure en moontlik ook suuragtige polisakkariedes in die stuifmeelkorrel van *E. ferox* aanwesig is. Soedanswart kleur die stuifmeelkorrelwande swart, moontlik as gevolg van die aanwesigheid van lipiedagtige stowwe in die stuifmeelkorrelwand. Amido-swart 10B kleur die inhoud van stuifmeelkorrels blou tot donkerblou, wat 'n aanduiding van proteiene is.

Vir ligmikroskopiese lewenskragtigheidstudies het kontrastering met asetokarmyn goeie resultate gelewer deurdat die inhoud van die stuifmeelkorrel duidelik rooi gekleur het en dus maklik met behulp van die ligmikroskoop waargeneem kon word. Met Alexander se kleurstof het gearborteerde stuifmeelkorrels groen en nie-gearborteerde stuifmeelkorrels rooi-pers gekleur.

Drie kiemingsmediums naamlik a) 5% sukrose en 0,005% boorsuur b) 10% sukrose en 0,005% boorsuur en c) 15% sukrose en 0,005% boorsuur opgelos in gedistilleerde water is gebruik. Hierdie drie kiemingsmediums het betroubare kiemingsdata gelewer. Stuifmeel wat by 'n temperatuur van 5° C en heersende RH geberg is was nog steeds kiemkragtig na berging van een jaar. Berging by hoër temperature (25° C) RH's hoër as 60% was oneffektief.

Die beste resultate is egter verkry met stuifmeel van *E. ferox* en *E eugene-maraisii* wat by -196° C in vloeibare stikstof geberg is of na vriesdroging by 5° C en -25° C geberg is. Na 'n tydperk van agt maande was van die stuifmeel nog steeds kiemkragtig.

Uit die TEM-studies kom dit duidelik na vore dat daar geen konsekwente verband was tussen sigbare strukturele degradasie van die stuifmeelkorrel en die tyd van berging nie. Die tot niet gaan van 'n deel van die intien was die enigste waarneembare strukturele verandering wat moontlike veroudering en verlies van kiemkragtigheid in die stuifmeelkorrel aan aangedui het.

SUMMARY

Natural populations of many cycad species had diminished to such an extent and their existence is dependent on *ex situ* conservation, where artificial pollination plays a very important role.

The objective of this study was to determine optimal storage conditions of *Encephalartos* pollen. In this study the pollen of four *Encephalartos* species was studied, namely: *E. caffer*, *E. eugene-maraisii*, *E. ferox* and *E. lehmannii*.

SEM-studies indicated that *Encephalartos* pollen grains are boatshaped with variation in the width from 19,1 to 20,2 μm and 32,5 to 36,1 μm in length, monosulcate, bilateral, with imperforate exine. PAS-reaction was used for histochemical detection of starch and certain other carbohydrates. It showed that *Encephalartos* pollen contained some acidic polysaccharides and pectic acids. Sudan Black stained the wall of the pollen grain black indicating the presence of a lipid substance in the pollen wall. Amido black 10B stained the contents of *E. ferox* pollen blue to dark blue, indicating the presence of protein

For viability tests, contrasting the pollen grains with aceto carmine gave good results. The contents of the pollen grains stained red. Differential staining using Alexanders' stain gave good results. Aborted pollen stained green and nonaborted pollen stained red.

Three germination media were used namely: a) 5% sucrose and 0,005% boric acid, b) 10% sucrose and 0,005% boric acid, and c) 15% sucrose and 0,005% boric acid dissolved in distilled water. These mediums gave reliable results.

In vitro germination tests showed that pollen that was stored at 5° C and prevailing humidity (RH) still germinated after one year of storage. Storage at higher temperatures and higher RH was ineffective.

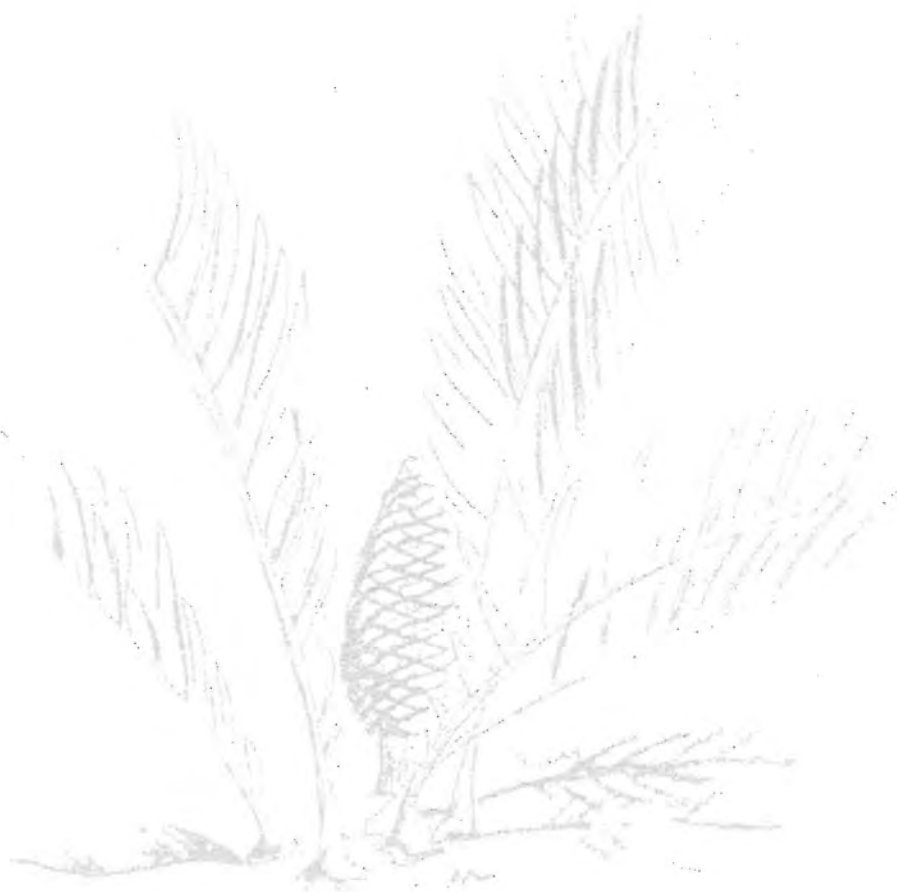
The best results came from *E. ferox*- and *E. eugene-maraisii* subsp. *eugene-maraisii*-pollen stored at -196° C and storage at 5° C and -25° C after freeze-drying. Some of these pollen grains still germinated after eight months.

TEM-studies showed that there was no relation between visible structural degradation of the pollen grain and the storage time. The disintegration of part of the intine was the only visible structural change that could possibly be correlated to the germinability of the pollen grain.

BEDANKINGS

- Dankie aan my Hemelse Vader wat telkens vir my deure oopgemaak het, sodat ek hierdie verhandeling kon klaarmaak.
- Prof. P.J. Robbertse (leier) en prof. J Coetzee (mede-leier) wat met baie geduld en ondersteuning my by gestaan het.
- Die finansiële bystand van die eertydse Magaretha Mess Instituut en die Elektronmikro=skopie Eenheid.
- Denise Holton (Rekenaarondersteuningsdienste, UP) wat nie net met die grafiese sy van die verhandeling gespook het nie, maar dikwels ook ingestaan het vir die statistiese kant.
- Dr. Irmgrad von Teichman wat my stap vir stap geleer het om sneë te maak en kleu=ringstegnieke toe te pas.
- Mev. Marie F. Smith (Biometrie -Eenheid, Landbounavorsingsraad) vir die vertolking van die statistiese verwerkings.
- Jackie Grimbeeck (Statomet, UP) vir die statistiese verwerkings.
- Mev. A.C. Pretorius vir die proeflees van die verhandeling.
- Mev. L. Pretorius vir hulp met die tik van die talle tabelle.
- My pa en ma wat onbaatsugtig ingestaan het vir alles by die huis, die versorging van my twee seuns en die koppies tee laat in die aand.
- My man, Eduard, wat my aangemoedig het om die verhandeling klaar te maak.
- My sussie, Deirdre, wat verlof geneem het om my te help met die grafiese beplanning en vervaardiging.
- Laastens my twee seuns, Michiel wat altyd vra of ek goed vorder en tot laat saam met my wakker bly en David, wat tevrede is om by die lessenaar te sit en teken totdat die slaap hom oorval.

BYLAAG



BYLAAG 3.1 'N SAMEVATTING VAN DIE AANTAL (N) WAARNEMINGS, DIE GEMIDDELDE PERSENTASIE (%) KIEMING, STANDAARD AFWYKING (STD. AFW.), MINIMUM EN MAKSIMUM PERSENTASIE KIEMING, VAN DRIE *ENCEPHALARTOS*-SPESIES SE STUIFMEEL

Spesie	Jaar	Sukrose	Boorsuur	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum	
<i>E. ferox</i>	1986	0	0,05	8	0	0	0	0	
			0,1	8	0	0	0	0	
		3	0	0,05	8	12.030	2.902	9.450	18.400
				0,1	8	4.880	1.755	2.460	8.000
					8	0	0	0	0
		5	0	0,005	8	30.288	18.577	5.660	53.330
				0,05	8	37.596	2.568	33.330	41.660
				0,1	8	23.016	6.407	14.280	33.330
				8	3.873	1.413	2.480	6.000	
<i>E. caffer</i>	1986	0	0,005	8	0	0	0	0	
			0,05	8	0	0	0	0	
			0,1	8	0	0	0	0	
		3	0	0,005	8	26.011	4.585	19.230	31.880
				0,05	8	11.757	7.448	2.900	21.430
				0,1	8	0	0	0	0
		5	0	0,005	8	26.855	20.377	7.440	53.970
				0,05	8	0.396	0,375	0	1.900
				0,1	8	0	0	0	0

Bylaag 3.1 Vervolg

Spesie	Jaar	Sukrose	Boorsuur	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	1989	0	0,005	4	0	0	0	0
			0,05	4	0	0	0	0
			0,1	4	0	0	0	0
		3	0,005	4	8.000	1.825	6.000	10.0000000
			0,05	4	0	0	0	0
			0,1	4	0	0	0	0
		5	0,005	4	10.000	4.546	5.000	16.000
			0,05	4	7.750	2.500	5.000	11.000
			0,1	4	0	0	0	0
<i>E. lehmannii</i>	1989	0	0,005	4	0	0	0	0
			0,05	4	0	0	0	0
			0,1	4	0	0	0	0

Bylaag 3.1 Vervolg

Spesie	Jaar	Sukrose	Boorsuur	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	1989	3	0,005	4	0	0	0	0
			0,05	4	0	0	0	0
			0,1	4	0	0	0	0
		5	0,005	4	0	0	0	0
			0,05	4	0	0	0	0
			0,1	4	0	0	0	0
<i>E. ferox</i>	1991	0	0,005	4	0	0	0	0
			0,05	4	0	0	0	0
			0,1	4	0	0	0	0
		3	0,005	4	25.750	2.986	22.000	29.000
			0,05	4	23.250	7.274	18.000	34.000
			0,1	4	0	0	0	0

Bylaag 3.1 Vervolg

Spesie	Jaar	Sukrose	Boorsuur	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	1991	5	0,005	4	37.250	12.419	22.000	52.000
			0,05	4	10.750	2.872	7.000	13.000
			0,1	4	13.500	10.082	5.000	28.000
<i>E. lehmannii</i>	1991	0	0,005	4	0	0	0	0
			0,05	4	0	0	0	0
			0,1	4	0	0	0	0
		3	0,005	4	0	0	0	0
			0,05	4	0.500	0.577	0	1.000
			0,1	4	0	0	0	0
		5	0,005	4	3.250	0,957	2.000	4.000
			0,05	4	7.250	2.258	5.000	10.000
			0,1	4	3.500	3.415	0	8.000

Bylaag 3.1 Vervolg

Spesie	Jaar	Sukrose	Boorsuur	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	1992	0	0,005	4	0	0	0	0
			0,05	4	0	0	0	0
			0,1	4	0	0	0	0
		3	0,005	4	0,250	0,500	0	1.000
			0,05	4	2,500	2,081	0	5.000
			0,1	4	0	0	0	0
		5	0,005	4	7.500	2.380	5.000	10.000
			0,05	4	16.500	6.027	10.000	23.000
			0,1	4	0.750	0.957	0	2.000
<i>E. lehmannii</i>	1992	0	0,005	4	0	0	0	0
			0,05	4	0	0	0	0
			0,1	4	0	0	0	0

Bylaag 3.1 Vervolg

Spesie	Jaar	Sukrose	Boorsuur	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	1992	3	0,005	4	25.000	8.981	16.000	37.000
			0,05	4	13.250	2.217	10.000	15.000
			0,1	4	4.500	2.081	2.000	7.000
		5	0,005	4	63.750	10.468	56.000	79.000
			0,05	4	52.500	11.902	40.000	65.000
			0,1	4	17.000	4.242	12.000	21.000

Bylaag 3.2

Statistiese Verwerkings

Data wat verkry is, is statisties verwerk deur die Departement Statistiek (STATOMET), Universiteit van Pretoria en die Biometrie Eenheid van die Landbounavorsingsraad.

Die statistiese verwerkings sien soos volg daaruit:

Ter aanvulling van die gewone ANOVA (variensie-analise) tegnieke is 'n eksploratiewe prosedure genaamd Xaid soos ontwikkel deur C. Heyman in 1981, gebruik. Deur hierdie tegniek kan 'n dendogram / boomdiagram verkry word waaruit gewoonlik afgelei kan word watter faktore die belangrikste is om 'n waargenome veranderlike (variasie) te verklaar. Die prosesse is kortliks soos volg:

a) Xaid

Met behulp van Xaid is die data volgens elke peil van elke faktor verdeel. Deur van T-toetse gebruik te maak, is bepaal watter peile onderling nie-betekenisvol verskil en sodanige peile is dan saamgevoeg indien nodig om 'n nuwe kategorie te vorm.

b) ANOVA-ontleding (variensie-analise)

Vervolgens is 'n gewone een faktor ANOVA ontleding vir elke faktor in die eksperiment gedoen en is vasgestel watter faktor die betekenisvolste bydrae lewer om die variasie in die waargenome veranderlikes te verklaar. Die data is dan verdeel volgens die kategorie van die "belangrikste" faktor. Die proses is herhaal totdat geen verdere verdeling moontlik was nie. Daar is deurgaans van Bonferroni-ongelykhede gebruik gemaak om die betekenisvolheid van die toetse te behou. Om te bepaal watter faktore 'n rol speel by die vasstelling van die kiemingspersentasie van die spesies, is die ANOVA-tegniek gebruik.

Eerstens is die volledige datastel geneem en bepaal watter faktore 'n betekenisvolle bydrae lewer tot die waargenome persentasie kieming. Die volgende transformasie,

$y = 2 \times \text{bgsin}((\% \text{ kieming}/100)^2)$ is op die data uitgevoer om die variansie te stabiliseer.

c) Kleinste vierkant gemiddeldes

Vervolgens is 'n meervoudige vergelykingstegniek gebruik wat gebaseer is op die kleinste vierkant gemiddeldes (LSMEANS), om vas te stel watter peile van faktor(e) betekenisvol verskil (slegs betekenisvolle faktore is geanaliseer).

d) Bepaling van verbande tussen kieming en ander veranderlikes.

Om hierdie verbande te beskryf, is die produkcorrelasie-koëffisiente van Pearson bereken.

Notasie:

N- steekproefgrootte

F-wh (P)- oorskrydingswaarskynlikheid

- waarskynlikheid dat byvoorbeeld geen verbande/verskille teenwoordig is nie.

$0,10 < P < 0,05$

$0,05 < P < 0,01$

$P < 0,001$

Tyd = Februarie 1986 tot November 1987 (Maande)

n.s. = nie betekenisvol verskillend nie.

v.g. – grade van vryheid

sk – som van kwadrate

gsk – gemiddelde som van kwadrate

F –F-toets van die behandelingseffekte

Ss%- persentasie variasie verklaar relatief tot die totale

BYLAAG 4.1 'n SAMEVATTING VAN DIE AANTAL (N) WAARNEMINGS, DIE PERSENTASIE (%) KIEMING (GEMIDDELD, MINIMUM EN MAKSIMUM) EN STANDAARDAFWYKING (STD.AFW.), VAN VIER *ENCEPHALARTOS*-SPESIES SE STUIFMEEL WAT BY 5° C EN HEERSENDE RELATIEWE HUMIDITEIT GEBERG IS.

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std.Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i> (vars)	5	Febr 86	8	37.596	2.569	33.330	41.660
	10	Febr 86	8	57.186	5.513	52.000	66.660
	15	Febr 86	8	35.094	6.186	29.410	45.160
	5	Mrt 86	8	19.684	6.311	11.110	27.780
		Apr 86	8	18.467	3.935	14.390	27.000
		Mei 86	8	24.173	3.467	20.000	30.760
		Jul 86	8	38.665	7.557	29.030	48.280
		Aug 86	8	1.905	1.923	0	5.400
		Sept 86	8	16.000	4.263	11.760	22.220
		Febr 87	8	5.783	0.766	4.000	6.450
		Mrt 87	8	13.843	3.657	8.890	17.890
		Apr 87	8	22.396	5.731	13.210	27.940
		Mei 87	8	5.000	2.390	2.000	8.000
	10	Jun 87	8	2.000	1.512	0	4.000
		Jul 87	8	11.206	4.823	4.000	17.650
		Aug 87	8	0.500	0.926	0	2.000
		Sept 87	8	0	0	0	0
		Mrt 86	8	29.678	4.201	23.810	34.380
		Apr 86	8	38.069	5.093	30.250	45.320
		Mei 86	8	51.975	7.083	40.440	60.000
		Jul 86	8	46.693	9.758	33.330	56.710
Aug 86	8	20.806	8.377	9.5200	33.330		
Sept 86	8	33.121	11.408	20.000	46.150		
Febr 87	8	6.743	0.999	5.260	7.930		

Bylaag 4.1 Vervolg

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std.Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	10	Mar 87	8	6.943	2.433	2.780	10.000
		Apr 87	8	14.463	4.147	9.620	21.820
		Mei 87	8	2.000	1.511	0	4.000
		Jun 87	8	0.750	1.035	0	2.000
		Jul 87	8	0	0	0	0
		Aug 87	8	0.709	0.983	0	2.000
		Sept 87	8	0	0	0	0
<i>E. ferox</i>	15	Mrt 86	8	32.896	4.177	26.570	37.210
		Apr 86	8	28.179	2.571	23.330	32.000
		Mei 86	8	22.774	3.323	18.440	29.410
		Jul 86	8	30.423	2.955	25.560	34.000
		Aug 86	8	16.362	2.499	10.530	18.760
		Sept 86	8	9.006	3.079	3.450	12.500
		Febr 87	8	3.500	1.772	2.000	6.000
		Mrt 87	8	7.271	3.442	1.640	11.110
		Apr 87	8	39.640	4.181	30.230	44.440
		Mei 87	8	11.250	5.119	4.000	18.000
		Jun 87	8	3.750	2.712	2.000	8.000
		Jul 87	8	31.073	12.578	18.000	49.020
		Aug 87	8	10.830	5.735	4.000	22.640
Sept 87	8	4.755	3.365	2.000	12.000		
<i>E. caffer</i> (Vars)	5	Febr 86	8	26.855	20.377	7.440	53.970
	10	Febr 86	8	27.286	11.133	14.120	46.250
	15	Febr 86	8	37.338	4.683	31.520	44.440

Bylaag 4.1 Vervolg

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. caffer</i>	5	Mrt 86	8	18.688	8.652	4.000	31.250
		Apr 86	8	52.577	8.684	37.500	61.540
		Mei 86	8	41.536	4.569	37.500	50.000
		Jul 86	8	54.011	14.936	32.690	79.570
		Aug 86	8	52.682	13.711	31.250	66.660
		Sept 86	8	44.051	10.094	30.770	57.140
		Febr 87	8	39.047	13.499	26.470	60.870
		Mrt 87	8	42.808	8.801	28.570	54.290
		Apr 87	8	49.386	8.631	36.920	63.890
		Mei 87	8	48.500	9.606	38.000	62.000
		Jun 87	8	27.990	2.209	25.000	32.000
		Jul 87	8	65.250	8.811	60.000	86.000
		Aug 87	8	84.058	6.421	76.000	92.000
		Sept 87	8	51.500	5.631	44.000	60.000
	10	Mrt 86	8	39.126	8.905	22.220	53.570
		Apr 86	8	64.782	8.293	54.900	80.000
		Mei 86	8	35.223	8.719	23.070	47.360
		Jul 86	8	66.636	8.496	59.260	84.620
		Aug 86	8	36.627	15.257	21.880	65.520
		Sept 86	8	14.877	4.963	9.090	25.000
		Febr 87	8	21.815	10.975	10.260	36.760
		Mrt 87	8	46.680	2.266	42.860	50.000
		Apr 87	8	49.690	7.570	37.930	57.140
		Mei 87	8	2.000	1.851	0	4.000
		Jun 87	8	17.181	0.992	16.000	18.000
		Jul 87	8	3.250	1.035	2.000	4.000
Aug 87	8	92.250	2.251	90.000	96.000		

Bylaag 4.1 Vervolg

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. caffer</i>	10	Sept 87	8	68.750	6.670	60.000	80.000
	15	Mrt 86	8	44.903	10.728	30.770	64.000
		Apr 86	8	55.322	5.518	48.670	66.660
		Mei 86	8	24.392	5.515	19.040	36.840
		Jul 86	8	3.650	0.500	2.500	4.100
		Aug 86	8	24.331	2.387	21.740	29.270
		Sept 86	8	0.716	1.013	0	2.330
		Febr 87	8	15.145	4.387	10.220	21.620
		Mrt 87	8	28.488	3.587	24.140	35.000
		Apr 87	8	21.750	3.615	16.000	26.000
		Mei 87	8	44.250	3.615	40.000	50.000
		Jun 87	8	27.625	5.449	20.000	34.000
		Jul 87	8	21.000	7.171	8.000	34.000
		Aug 87	8	86.250	3.615	82.000	92.000
		Sept 87	8	68.000	3.854	62.000	74.000
<i>E. lehmannii</i> (vars)	5	Apr 86	8	25.427	6.259	15.000	35.710
	10	Apr 86	8	40.141	8.370	22.220	50.000
	15	Apr 86	8	17.110	3.592	12.670	23.770
	5	Mei 86	8	45.970	5.977	38.460	57.140
		Jul 86	8	23.403	5.555	14.290	34.480
		Aug 86	8	31.585	3.868	27.000	38.090
		Sept 86	8	24.768	1.853	22.730	27.78
		Febr 87	8	16.007	8.789	6.450	34.620
		Mrt 87	8	11.915	5.566	3.640	20.510

Bylaag 4.1 Vervolg

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std Afw	Minimum	Maksimum	
<i>E. lehmannii</i>	5	Apr 87	8	31.792	6.004	24.190	40.320	
		Mei 87	8	20.000	6.088	14.000	30.000	
		Jun 87	8	1.250	1.488	0	4.000	
		Jul 87	8	22.625	2.875	20.000	28.000	
		Aug 87	8	14.216	1.292	12.000	16.000	
		Sept 87	8	10.000	2.618	6.000	14.000	
	10	Mei 86	8	27.482	1.492	25.000	29.410	
		Jul 86	8	45.688	5.554	40.000	57.140	
		Aug 86	8	13.857	2.489	11.680	18.750	
		Sept 86	8	24.843	2.135	21.430	27.780	
		Febr 87	8	14.667	3.873	8.70	20.000	
		Mrt 87	8	6.185	2.219	3.130	9.430	
		Apr 87	8	37.687	7.275	28.000	50.720	
		Mei 87	8	9.000	3.545	6.000	16.000	
		Jun 87	8	10.206	4.988	4.000	17.650	
		Jul 87	8	0	0	0	0	
		Aug 87	8	9.250	2.121	6.000	12.000	
		Sept 87	8	3.250	1.488	2.000	6.000	
		15	Mei 86	8	3.881	0.371	3.000	4.160
			Jul 86	8	12.545	2.033	8.460	14.350
	Aug 86		8	17.215	0.833	15.790	18.760	
	Sept 86		8	1.275	1.891	0	5.000	
	Febr 87		8	15.751	6.507	5.450	23.080	
	Mrt 87		8	0	0	0	0	

Bylaag 4.1 Vervolg

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	15	Apr 87	8	0	0	0	0
		Mei 87	8	28.750	4.527	22.000	34.000
		Jun 87	8	22.507	2.114	20.000	25.490
		Jul 87	8	24.438	3.686	18.870	30.000
		Aug 87	8	10.708	2.797	6.000	14.000
		Sept 87	8	5.500	3.817	2.000	12.000
<i>E. eugene-maraisii</i> (Vars)	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
	10	Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
	15	Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Mrt 87	4	19.367	1.106	18.360	20.900
		Apr 87	4	45.942	2.124	43.100	47.920
		Mei 87	4	59.342	1.897	57.060	61.540
		Jun 87	4	22.422	1.838	20.000	24.000
		Jul 87	4	2.345	1.139	1.390	4.000
		Aug 87	4	12.500	1.914	10.000	14.000
		Sept 87	4	13.000	1.154	12.000	14.000
		Okt 87	4	2.657	1.321	1.990	4.640
	10	Mrt 87	4	45.102	1.644	42.650	46.150
		Apr 87	4	64.480	2.343	61.330	66.300
		Mei 87	4	67.167	2.516	64.000	70.000
		Jun 87	4	29.102	1.000	28.000	30.430
		Jul 87	4	3.000	1.154	2.000	4.000
		Aug 87	4	13.500	3.415	10.000	18.000
		Sept 87	4	46.000	2.449	43.000	48.000
		Okt 87	4	36.360	1.784	34.000	38.000

Bylaag 4.1 Vervolg

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	15	Mrt 87	4	45.740	0,400	45.410	46.270
		Apr 87	4	68.152	1.311	66.500	69.440
		Mei 87	4	47.457	1.683	46.000	48.980
		Jun 87	4	15.092	0.837	14.000	16.000
		Jul 87	4	4.227	1.625	2.700	6.520
		Aug 87	4	16.500	3.000	14.000	20.000
		Sept 87	4	41.000	3.829	38.000	46.000
		Okt 87	4	20.500	3.000	18.000	24.000

Bylaag 4.1 Vervolg

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i> (Vars)	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.060
		Febr 87	4	10.467	7.433	3.850	17.860
		Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Mrt 87	4	25.902	2.1400	24.290	29.000
		Apr 87	4	36.0175	3.239	32.000	39.640
		Mei 87	4	34.395	0.796	33.990	35.590
		Jun 87	4	8.892	1.081	7.930	10.000
		Jul 87	4	1.872	0.248	1.500	2.000
		Aug 87	4	2.995	1.148	2.000	4.000
		Sept 87	4	5.000	2.581	2.000	8.000
		Okt 87	4	3.000	2.000	2.000	6.000
		10	Mrt 87	4	56.147	1.293	54.410
	Apr 87		4	44.590	1.649	43.520	47.050
	Mei 87		4	50.315	2.495	47.060	53.000
	Jun 87		4	13.422	0.959	12.000	14.000
	Jul 87		4	3.330	0.940	2.000	4.000
	Aug 87		4	5.000	2.581	2.000	8.000
	Sept 87		4	34.500	2.516	32.000	38.000
	Okt 87		4	25.750	1.707	24.000	28.000
	15		Mrt 87	4	15.512	2.399	12.070
		Apr 87	4	47.947	1.709	45.830	49.480
		Mei 87	4	52.830	2.098	50.000	54.900
		Jun 87	4	18.720	1.193	17.450	20.000
		Jul 87	4	2.372	0.481	1.990	3.000
		Aug 87	4	33.500	1.914	32.000	36.000
		Sept 87	4	44.000	2.828	40.000	46.000
		Okt 87	4	40.500	1.914	38.000	42.000

BYLAAG 4.2 'N SAMEVATTING VAN DRIE *ENCEPHALARTOS*-SPESIES SE STUIFMEEL SE PERSENTASIE KIEMING (GEMIDDELD, MINIMUM EN MAKSIMUM), DIE AANTAL (N) WAARNEMINGS EN DIE STANDAARD AFWYKING(STD.AFW.) VAN STUIFMEEL GEBERG IN OOP OF DIGSLUITENDE HOERS BY 25° C EN HEERSENDE RELATIEWE HUMIDITEIT

Spesie	Houer	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std.Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	Vars stuif= meel	5	Feb86	8	37.596	2.568	33.330	41.660
		10	Feb86	8	57.186	5.513	52.000	66.660
		15	Feb86	8	35.093	6.185	29.4100	45.160
	Oop	5	Mrt86	8	24.528	2.397	21.1300	28.000
			Apr86	8	16.950	3.029	10.000	19.090
			Mei86	8	10.405	1.472	8.000	12.370
			Jun86	8	6.752	1.505	5.000	9.090
			Jul86	8	8.987	1.016	7.210	10.380
			Aug86	8	0.725	0.790	0	1.750
			Sept86	8	4.055	1.838	2.000	7.490
			Okt86	8	0	0	0	0
			Nov86	8	0	0	0	0
			10	Mrt86	8	17.072	3.343	10.850
		Apr86		8	0	0	0	0
		Mei86		8	12.733	1.801	10.000	15.200
		Jun86		8	9.186	2.752	5.560	13.330
		Jul86		8	3.731	1.588	1.980	6.000
		Aug86		8	0	0	0	0
		Sept86		8	0	0	0	0
		Okt86	8	0	0	0	0	
Nov86	8	0	0	0	0			

Bylaag 4.2 Vervolg

Spesie	Houer	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	Oop	15	Mrt 86	8	11.802	1.721	10.000	15.770
			Apr 86	8	0	0	0	0
			Mei 86	8	0	0	0	0
			Jun 86	8	0	0	0	0
			Jul 86	8	0	0	0	0
			Aug 86	8	0	0	0	0
			Sept 86	8	0	0	0	0
			Okt 86	8	0	0	0	0
			Nov 86	8	0	0	0	0
	Digsluitende houer	5	Mrt 86	8	11.472	0.346	11.050	12.000
			Apr 86	8	4.126	0.225	3.800	4.450
			Mei 86	8	8.368	2.006	6.270	12.000
			Jun 86	8	9.968	2.677	6.250	14.290
			Jul 86	8	9.351	1.262	8.000	11.310
			Aug 86	8	5.862	1.568	3.270	7.6900
			Sept 86	8	0	0	0	0
			Okt 86	8	0	0	0	0
			Nov 86	8	2.531	7.058	0	20.000

Bylaag 4.2 Vervolg

Spesie	Houer	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	Digsluitende houer	10	Mrt 86	8	24.867	5.812	16.670	33.330
			Apr 86	8	9.423	1.830	7.140	11.760
			Mei 86	8	3.806	0.864	2.890	5.430
			Jun 86	8	0	0	0	0
			Jul 86	8	0	0	0	0
			Aug 86	8	0	0	0	0
			Sept 86	8	0	0	0	0
			Okt 86	8	0	0	0	0
			Nov 86	8	0	0	0	0
			15	Mrt 86	8	16.138	2.225	11.760
		Apr 86		8	0	0	0	0
		Mei 86		8	9.478	1.698	7.340	12.000
		Jun 86		8	0	0	0	0
		Jul 86		8	7.056	1.439	5.320	9.450
		Aug 86		8	3.397	2.158	0	5.260
		Sept 86		8	0	0	0	0
		Okt 86		8	0	0	0	0
		Nov86		8	0	0	0	0

Bylaag 4.2 Vervolg

Spesie	Houer	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw	Minimum	Maksimum	
<i>E. caffer</i>	Vars	5	Febr 86	8	26.855	20.378	7.440	53.970	
		10	Febr 86	8	27.286	11.133	14.120	46.250	
		15	Febr 86	8	37.338	4.683	31.520	44.440	
	Oop	5	Mrt 86	8	60.480	10.190	50.000	76.920	
			Apr 86	8	82.697	6.170	72.720	88.880	
			Mei 86	8	16.176	1.265	14.000	17.770	
			Jun 86	8	22.461	3.953	16.670	26.670	
			Jul 86	8	16.016	3.441	12.650	22.000	
			Aug 86	8	18.625	4.023	11.540	23.810	
			Sept 86	8	36.476	4.129	30.000	42.110	
			Okt 86	8	0	0	0	0	
			Nov 86	8	0	0	0	0	
			10	Mrt 86	8	61.403	5.916	54.550	71.430
				Apr 86	8	19.242	5.454	10.000	26.500
				Mei 86	8	17.432	4.569	11.110	26.320
Jun 86	8	14.688		2.923	10.000	18.430			
Jul 86	8	9.605		2.444	6.000	12.670			
Aug 86	8	2.675	0.813	1.530	3.700				

Bylaag 4.2 Vervolg

Spesie	Houer	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	St.d Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. caffer</i>	Oop	10	Sept 86	8	0	0	0	0
			Okt 86	8	0	0	0	0
			Nov 86	8	0	0	0	0
		15	Mrt 86	8	47.781	8.522	38.000	57.890
			Apr 86	8	21.213	4.859	16.000	30.000
			Mei 86	8	0	0	0	0
			Jun 86	8	0	0	0	0
			Jul 86	8	0	0	0	0
			Aug 86	8	0	0	0	0
	Digsluitende houer	5	Mrt 86	8	0	5.489	41.670	57.970
			Apr 86	8	0	5.635	10.000	25.000
			Mei 86	8	0	0	0	0
				Jun 86	8	0	0	0
				Jul 86	8	0	0	0
				Aug 86	8	0	0	0
				Sept 86	8	0	0	0
				Okt 86	8	0	0	0
				Nov 86	8	0	0	0

Bylaag 4.2 Vervolg

Spesie	Houer	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. caffer</i>	Digsluitende houer	10	Mrt 86	8	55.678	5.722	48.720	65.220
			Apr 86	8	18.836	5.148	10.000	26.500
			Mei 86	8	14.932	1.570	13.440	18.370
			Jun 86	8	0	0	0	0
			Jul 86	8	0	0	0	0
			Aug 86	8	0	0	0	0
			Sept 86	8	0	0	0	0
			Okt 86	8	0	0	0	0
			Nov 86	8	0	0	0	0
		15	Mrt 86	8	56.152	3.516	51.720	61.090
			Apr 86	8	20.228	4.731	13.630	28.570
			Mei 86	8	0	0	0	0
			Jun 86	8	0	0	0	0
			Jul 86	8	0	0	0	0
			Aug 86	8	0	0	0	0
			Sept 86	8	0	0	0	0
			Okt 86	8	0	0	0	0
			Nov 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.2 Vervolg

Spesie	Houer	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std.Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	Vars	5	Apr 86	8	25.427	6.259	15.000	35.710
		10	Apr 86	8	40.141	8.370	22.220	50.000
		15	Apr 86	8	17.110	3.592	12.670	23.770
	Oop	5	Mei 86	8	28.276	2.338	25.000	31.250
			Jun 86	8	11.653	0.807	10.300	12.500
			Jul 86	8	14.208	2.247	11.330	16.770
			Aug 86	8	14.190	1.398	12.000	16.320
			Sept 86	8	7.732	1.013	6.250	9.090
			Okt 86	8	0	0	0	0
			Nov 86	8	0	0	0	0
			10	Mei 86	8	15.940	2.538	12.750
		Jun 86		8	8.930	2.293	4.330	11.760
		Jul 86		8	6.666	1.935	1.640	10.330
		Aug 86		8	3.727	1.840	0	6.890
		Sept 86		8	1.330	0.939	0	2.780
		Okt 86		8	0	0	0	0
		Nov 86		8	0	0	0	0
		15		Mei 86	8	0	0	0
			Jun 86	8	0	0	0	10.540
			Jul 86	8	9.301	0.895	8.000	0
			Aug 86	8	21.533	3.323	17.690	26.320
	Sept 86		8	3.773	1.462	1.700	0	
	Okt 86		8	0	0	0	6.060	
	Nov 86		8	0	0	0	0	

Bylaag 4.2 Vervolg

Spesie	Houer	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	Digsluitende houer	5	Mei 86	8	18.175	3.190	14.000	24.000
			Jun 86	8	14.098	2.691	10.000	18.340
			Jul 86	8	11.292	1.133	9.450	13.390
			Aug 86	8	8.523	1.904	5.560	12.000
			Sept 86	8	4.706	2.268	2.110	7.690
			Okt 86	8	0	0	0	0
			Nov 86	8	0	0	0	0
		10	Mei 86	8	23.785	3.687	20.380	32.000
			Jun 86	8	4.726	1.179	2.500	6.2500
			Jul 86	8	6.328	2.651	2.000	10.000
			Aug 86	8	18.495	2.141	15.390	21.540
			Sept 86	8	0	0	0	0
			Okt 86	8	0	0	0	0
			Nov 86	8	0	0	0	0
		15	Mei 86	8	12.582	1.405	10.000	14.000
			Jun 86	8	7.651	1.743	5.330	10.530
			Jul 86	8	6.353	1.240	4.000	7.870
			Aug 86	8	6.671	2.438	2.860	10.710
			Sept 86	8	0	0	0	0
			Okt 86	8	0	0	0	0
			Nov 86	8	0	0	0	0

BYLAAG 4.3 MAANDELIKSE PERSENTASIE KIEMING VAN DRIE *ENCEPHALARTOS*-SPESIES SE STUIFMEEL WAT BY 'N TEMPERATUUR VAN 5° C EN BEHEERDE RELATIEWE HUMIDITEIT (RH) GEBERG IS. N-AANTAL WAARNEMINGS, Std. Afw.-STANDAARD AFWYKING, GEMIDDELD-GEMIDDELD VAN PERSENTASIE (%) KIEMING, MINIMUM EN MAKSIMUM PERSENTASIE KIEMING

RH = 20%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 86	8	37.596	2.568	33.330	41.660
		Febr 86	8	57.186	57.186	52.000	66.660
		Febr 86	8	35.093	35.093	29.410	45.160
	5	Apr 86	8	26.282	0.824	25.490	27.840
		Mei 86	8	11.246	0.569	10.500	12.000
		Jun 86	8	8.156	0.448	7.700	8.860
		Jul 86	8	6.230	0.396	5.830	6.870
		Aug 86	8	4.711	1.390	2.270	6.250
		Sept 86	8	3.406	0.466	2.750	4.000
		Okt 86	8	0	0	0	0
		10	Apr 86	8	32.315	1.847	30.440
	Mei 86		8	20.731	1.559	19.070	24.000
	Jun 86		8	15.625	0.806	14.380	16.720
	Jul 86		8	12.426	1.908	10.300	15.480
	Aug 86		8	12.806	1.252	11.110	14.390
	Sept 86		8	2.197	0.530	1.500	3.000
	Okt 86		8	0	0	0	0
	15		Apr 86	8	23.258	1.302	21.750
		Mei 86	8	15.098	0.732	14.000	16.000
		Jun 86	8	9.997	0.780	8.320	10.750
		Jul 86	8	5.122	0.686	4.000	6.000
		Aug 86	8	2.125	0.430	1.500	2.980
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 40%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 86	8	37.596	2.568	33.330	41.660
	10	Febr 86	8	57.186	5.513	52.000	66.660
	15	Febr 86	8	35.093	6.185	29.410	45.160
	5	Apr 86	8	11.800	1.385	10.000	14.380
		Mei 86	8	6.743	0.570	5.840	7.390
		Jun 86	8	4.565	0.602	3.330	5.210
		Jul 86	8	2.242	0.349	1.800	2.750
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
	10	Apr 86	8	20.645	1.322	18.990	22.450
		Mei 86	8	11.935	1.158	10.000	13.670
		Jun 86	8	2.721	0.548	2.000	3.810
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
	15	Apr 86	8	17.706	1.554	16.000	20.000
		Mei 86	8	4.535	0.472	4.000	5.310
		Jun 86	8	2.008	0.220	1.7500	2.500
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 60%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 86	8	37.596	2.568	31.340	41.660
	10	Febr 86	8	57.186	5.513	31.480	66.660
	15	Febr 65	8	35.093	6.185	15.790	45.160
	5	Apr 86	8	21.620	1.654	19.670	24.000
		Mei 86	8	8.803	0.885	7.140	10.000
		Jun 86	8	5.682	0.701	4.930	6.960
		Jul 86	8	4.147	0.280	3.800	4.710
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
	10	Apr 86	8	39.238	0.909	38.000	40.410
		Mei 86	8	13.687	0.856	12.310	15.000
		Jun 86	8	3.883	0.470	3.030	4.650
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
	15	Apr 86	8	30.336	1.147	29.010	32.000
		Mei 86	8	16.796	0.595	16.000	17.600
		Jun 86	8	1.890	0.184	1.610	2.1400
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 80%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 86	8	37.596	2.568	33.330	41.660
		Febr 86	8	57.186	5.513	52.000	66.660
		Febr 86	8	35.093	6.185	29.410	45.160
	5	Apr 86	8	9.271	0.908	8.000	10.740
		Mei 86	8	4.020	0.313	3.330	4.3600
		Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
		10	Apr 86	8	11.826	0.496	11.060
	Mei 86		8	2.761	0.521	2.000	3.830
	Jun 86		8	0	0	0	0
	Jul 86		8	0	0	0	0
	Aug 86		8	0	0	0	0
	Sept 86		8	0	0	0	0
	Okt 86		8	0	0	0	0
	15	Apr 86	8	15.522	0.894	14.000	16.710
		Mei 86	8	1.6212	0.284	1.260	2.00
		Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
Aug 86		8	0	0	0	0	
Sept 86		8	0	0	0	0	
Okt 86		8	0	0	0	0	

Bylaag 4.3 Vervolg

%RH = 90%

Spesie	Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 86	8	37.596	2.568	33.330	41.660
	10	Febr 86	8	57.186	5.513	52.000	66.660
	15	Febr 86	8	35.093	6.185	29.410	45.160
	5	Apr 86	8	3.795	0.484	3.000	4.230
		Mei 86	8	0	0	0	0
		Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
	10	Apr 86	8	2.911	0.394	2.070	3.330
		Mei 86	8	0	0	0	0
		Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
	15	Apr 86	8	1.600	0.482	1.060	2.470
		Mei 86	8	0	0	0	0
		JUn 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 20%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	5	Apr 86	8	25.427	6.259	15.000	35.710
		Apr 86	8	40.141	8.370	22.220	50.000
		Apr 86	8	17.110	3.592	12.670	23.770
	5	Jun 86	8	12.636	2.141	10.000	16.840
		Jul 86	8	15.870	2.282	13.040	20.000
		Aug 86	8	42.437	2.046	40.000	45.000
		Sept 86	8	37.801	1.623	35.290	40.630
		Okt 86	8	18.397	1.949	15.380	21.110
		Nov 86	8	10.642	0.661	9.860	11.820
		Des 86	8	8.270	0.600	7.430	9.040
		Jan 87	8	5.552	0.815	4.000	6.510
		Febr 87	8	1.890	0.376	1.320	2.380
		Mrt 87	8	0	0	0	0
	10	Jun 86	8	15.205	1.645	13.330	18.720
		Jul 86	8	24.730	0.833	23.330	25.750
		Aug 86	8	19.716	1.037	18.000	21.340
		Sept 86	8	16.265	1.063	14.290	17.840
		Okt 86	8	54.980	2.177	52.380	58.420
		Nov 86	8	20.648	0.862	19.640	22.000
		Des 86	8	16.338	0.992	14.730	18.000
		Jan 87	8	10.590	0.778	9.330	11.570
		Febr 87	8	5.718	0.900	4.000	6.920
		Mrt 87	8	0	0	0	0
15	Jun 86	8	20.500	1.182	18.430	22.000	
	Jul 86	8	29.497	1.151	28.000	31.430	

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 20%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmanni</i>	15	Aug 86	8	35.172	0,820	34,000	36,130
		Sept 86	8	21.603	0,980	20,000	22,700
		Okt 86	8	35.392	0,757	34,000	36,230
		Nov 86	8	16.565	1,136	15,270	18,610
		Des 86	8	9.121	0,906	8,000	10,430
		Jan 87	8	11.742	1,120	10,000	13,340
		Febr 87	8	3.735	0,637	2,600	4,670
		Mrt 87	8	0	0	0	0

RH = 40%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmanni</i>	5	Apr 86	8	25.427	6.259	15.000	35.710
		Apr 86	8	40.141	8.370	22.220	50.000
		Apr 86	8	17.110	3.592	12.670	23.770
	5	Jun 86	8	17.142	0.916	16.000	18.430
		Jul 86	8	23.403	1.293	21.160	25.000
		Aug 86	8	28.871	1.330	27.210	31.420
		Sept 86	8	45.485	0.919	44.440	46.840
		Okt 86	8	25.042	3.043	21.110	29.630
		Nov 86	8	17.255	0.883	16.000	18.640
		Des 86	8	10.113	0.678	9.080	11.010
		Jan 87	8	5.393	0.750	4.000	6.210
		Febr 87	8	0	0	0	0
	Mrt 87	8	0	0	0	0	
	10	Jun 86	8	13.550	1.333	11.470	15.000
		Jul 86	8	19.753	0.882	18.070	21.040
		Aug 86	8	21.540	1.455	20.000	24.000

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 40%

Spesie	Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afd.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	10	Sept 86	8	26.431	1.880	23.580	28.570
		Okt 86	8	35.575	2.831	31.250	38.570
		Nov 86	8	23.021	0.762	22.000	24.000
		Des 86	8	12.706	0.967	11.200	14.000
		Jan 87	8	4.268	0.409	3.870	4.930
		Febr 87	8	0	0	0	0
		Mrt 87	8	0	0	0	0
		15	Jun 86	8	20.516	0.607	19.820
	Jul 87		8	27.258	0.918	26.000	28.430
	Aug 86		8	37.377	0.938	36.000	38.420
	Sept 86		8	33.220	0.998	31.410	34.030
	Okt 86		8	23.693	1.700	21.390	26.000
	Nov 86		8	14.405	0.863	13.020	15.61
	Des 86		8	5.563	1.031	4.000	6.800
	Jan 87		8	2.426	0.546	1.940	3.240
	Febr 87		8	0	0	0	0
	Mrt 87		8	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 60%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	5	Apr 86	8	25.427	6.259	15.000	35.710
		Apr 86	8	40.141	8.370	22.220	50.000
		Apr 86	8	17.110	3.592	12.670	23.770
	5	Jun 86	8	29.030	0.710	28.000	30.000
		Jul 86	8	45.322	1.711	43.620	48.150
		Aug 86	8	31.937	1.627	29.750	34.000
		Sept 86	8	17.251	0.784	16.000	18.500
		Okt 86	8	22.593	1.995	20.000	25.640
		Nov 86	8	14.678	0.652	13.690	15.750
		Des 86	8	9.675	1.145	8.000	11.320
		Jan 87	8	2.695	0.648	1.980	3.680
		Febr 87	8	0	0	0	0
		Mrt 87	8	0	0	0	0
	10	Jun 86	8	21.041	0.736	20.000	22.000
		Jul 86	8	15.038	0.814	13.870	16.030
		Aug 86	8	26.016	1.278	24.000	27.840
		Sept 86	8	34.301	2.583	30.000	38.100
		Okt 86	8	58.350	1.204	56.840	60.660
		Nov 86	8	28.888	0.683	28.000	30.000
		Des 86	8	14.030	1.030	12.000	15.310
Jan 87		8	5.221	0.741	4.000	6.410	
Febr 87		8	0	0	0	0	
Mrt 87		8	0	0	0	0	

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 60%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	15	Jun 86	8	34.377	1.905	30.760	36.810
		Jul 86	8	21.126	0.977	19.390	22.470
		Aug 86	8	31.642	2.509	27.740	35.000
		Sept 86	8	51.631	2.172	48.370	55.000
		Okt 86	8	32.585	2.117	30.000	35.840
		Nov 86	8	21.115	1.524	19.470	24.310
		Des 86	8	4.913	0.764	3.980	6.000
		Jan 87	8	1.790	0.560	1.060	2.530
		Febr 87	8	0	0	0	0
		Mrt 87	8	0	0	0	0

RH = 80%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	5	Apr 86	8	25.427	6.259	15.000	35.710
	10	Apr 86	8	40.141	8.370	22.220	50.000
	15	Apr 86	8	17.110	3.592	12.670	23.770
	5	Jun 86	8	20.130	1.711	18.000	22.830
		Jul 86	8	18.568	0.249	18.180	19.000
		Aug 86	8	10.442	1.143	8.320	12.000
		Sept 86	8	8.095	0.836	7.210	9.260
		Okt 86	8	24.680	0.983	23.780	26.740
		Nov 86	8	13.763	1.510	11.310	15.530
		Des 86	8	3.011	0.567	2.000	3.740
		Jan 87	8	0	0	0	0
		Febr 87	8	0	0	0	0
	Mrt 87	8	0	0	0	0	

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 80%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std.Afw.	Minimum	Maksimum	
<i>E. lehmannii</i>	10	Jun 86	8	9.317	0.805	8.000	10.360	
		Jul 86	8	15.193	0.814	14.000	16.380	
		Aug 86	8	20.867	0.797	19.980	22.000	
		Sept 86	8	34.517	1.051	32.680	36.000	
		Okt 86	8	27.885	2.128	25.000	30.770	
		Nov 86	8	21.291	0.760	20.000	22.380	
		Des 86	8	5.922	0.923	4.320	7.5200	
		Jan 87	8	0	0	0	0	
		Febr 87	8	0	0	0	0	
		Mrt 87	8	0	0	0	0	
		15	Jun 86	8	14.288	0.957	13.080	16.000
			Jul 86	8	25.260	0.953	24.000	26.780
	Aug 86		8	30.498	0.967	29.090	32.000	
	Sept 86		8	21.1525	0.652	20.310	22.000	
	Okt 86		8	15.473	0.878	14.000	16.390	
	Nov 86		8	9.916	0.928	8.000	10.710	
	Des 86		8	1.930	0.428	1.250	2.570	
	Jan 87		8	0	0	0	0	
	Febr 87		8	0	0	0	0	
	Mrt 87		8	0	0	0	0	

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 90%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmanni</i>	5	Apr 86	8	25.427	6.259	15.000	35.710
		Apr 86	8	40.141	8.370	22.220	50.000
		Apr 86	8	17.110	3.592	12.670	23.770
	5	Jun 86	8	24.463	0.888	23.320	26.000
		Jul 86	8	12.495	1.766	10.710	15.790
		Aug 86	8	30.007	1.383	28.000	32.000
		Sept 86	8	20.956	0.894	19.760	22.040
		Okt 86	8	0	0	0	0
		Nov 86	8	0	0	0	0
		Des 86	8	0	0	0	0
		Jan 87	8	0	0	0	0
		Febr 87	8	0	0	0	0
		Mrt 87	8	0	0	0	0
	10	Jun 86	8	14.093	1.012	12.010	15.340
		Jul 86	8	20.645	0.987	19.330	22.000
		Aug 86	8	37.497	0.978	36.000	38.860
		Sept 86	8	15.253	1.103	14.000	17.390
		Okt 86	8	0	0	0	0
		Nov 86	8	0	0	0	0
		Des 86	8	0	0	0	0
		Jan 87	8	0	0	0	0
Febr 87		8	0	0	0	0	
Mrt 87		8	0	0	0	0	

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 90%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	15	Jun 86	8	9.975	1.029	8.000	11.370
		Jul 86	8	17.345	1.114	15.940	18.740
		Aug 86	8	18.780	1.353	17.060	20.640
		Sept 86	8	10.375	0.572	9.430	11.210
		Okt 86	8	0	0	0	0
		Nov 86	8	0	0	0	0
		Des 86	8	0	0	0	0
		Jan 87	8	0	0	0	0
		Febr 87	8	0	0	0	0
		Mrt 87	8	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 20%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
	10	Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
	15	Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Mrt 87	4	34.607	5.856	30.560	43.280
		Apr 87	4	63.500	4.725	60.000	70.000
		Mei 87	4	15.047	3.764	12.960	20.690
		Jun 87	4	15.935	0.407	15.380	16.360
		Jul 87	4	28.635	7.197	20.000	35.190
		Aug 87	4	21.412	3.537	17.650	26.000
		Sept 87	4	23.412	0.895	22.000	24.000
	10	Mrt 87	4	47.595	15.601	31.370	62.260
		Apr 87	4	50.062	4.436	46.000	56.250
		Mei 87	4	53.727	3.231	50.000	57.890
		Jun 87	4	61.500	1.914	60.000	64.000
		Jul 87	4	77.680	1.764	75.930	80.000
		Aug 87	4	61.695	1.743	60.000	64.000
		Sept 87	4	67.307	0.924	66.000	68.000
	15	Mrt 87	4	19.540	5.788	10.870	22.810
		Apr 87	4	39.500	6.191	34.000	48.000
		Mei 87	4	71.500	3.415	68.000	76.000
		Jun 87	4	72.660	2.583	69.090	75.000
Jul 87		4	83.367	4.047	80.000	88.640	
Aug 87		4	69.217	0.870	68.000	70.000	
Sept 87		4	72.425	1.053	71.150	73.470	

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 40%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
	10	Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
	15	Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Mrt 87	4	35.457	1.098	34.000	36.540
		Apr 87	4	47.730	2.058	45.000	50.000
		Mei 87	4	26.842	1.714	25.000	28.850
		Jun 87	4	21.000	2.581	18.000	24.000
		Jul 87	4	22.282	1.996	19.610	24.190
		Aug 87	4	17.900	1.367	16.000	19.230
		Sept 87	4	21.892	1.647	20.000	24.000
	10	Mrt 87	4	29.250	1.015	28.000	30.150
		Apr 87	4	42.505	2.117	40.000	45.000
		Mei 87	4	51.077	0.947	50.000	52.310
		Jun 87	4	22.715	0.896	22.000	24.000
		Jul 87	4	28.787	2.268	26.000	31.150
		Aug 87	4	21.402	2.023	19.610	24.000
		Sept 87	4	29.547	1.035	28.000	30.190
	15	Mrt 87	4	21.992	1.435	20.000	23.330
		Apr 87	4	50.500	6.658	45.000	60.000
		Mei 87	4	55.030	3.629	50.000	58.620
		Jun 87	4	37.510	2.078	35.000	40.000
		Jul 87	4	81.500	1.914	80.000	84.000
		Aug 87	4	57.362	3.218	53.450	60.000
		Sept 87	4	65.060	0.940	63.790	66.000

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 60%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
		Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
		Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Mrt 87	4	28.855	0.841	28.000	30.000
		Apr 87	4	33.967	1.905	32.000	36.540
		Mei 87	4	26.135	1.619	24.000	27.870
		Jun 87	4	18.000	1.632	16.000	20.000
		Jul 87	4	25.500	4.434	20.000	30.000
		Aug 87	4	15.790	1.698	14.000	18.000
		Sept 87	4	0	0	0	0
		10	Mrt 87	4	22.160	1.664	20.000
	Apr 87		4	29.412	2.176	26.390	31.570
	Mei 87		4	62.242	1.353	60.710	64.000
	Jun 87		4	29.192	1.412	28.000	30.770
	Jul 87		4	25.827	1.294	24.000	26.920
	Aug 87		4	13.952	2.686	10.000	16.000
	Sept 87		4	0	0	0	0
	15	Mat 87	4	19.382	1.811	17.860	21.670
		Apr 87	4	31.917	1.641	30.000	34.000
		Mei 87	4	48.337	1.166	47.270	50.000
		Jun 87	4	30.642	2.851	28.000	34.000
		Jul 87	4	54.102	5.780	46.150	60.000
		Aug 87	4	21.045	0.863	20.000	22.000
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 80%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
	10	Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
	15	Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Mrt 87	4	30.000	1.632	28.000	32.000
		Apr 87	4	31.235	2.199	29.310	34.000
		Mei 87	4	18.000	1.632	16.000	20.000
		Jun 87	4	12.000	2.828	8.000	14.000
		Jul 87	4	4.500	1.914	2.000	6.000
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
		10	Mrt 87	4	27.000	2.581	24.000
	Apr 87		4	14.000	4.320	8.000	18.000
	Mei 87		4	10.000	1.632	8.000	12.000
	Jun 87		4	5.500	1.914	4.000	8.000
	Jul 87		4	0	0	0	0
	Aug 87		4	0	0	0	0
	Sept 87		4	0	0	0	0
	15		Mrt 87	4	18.210	1.275	16.980
		Apr 87	4	14.505	1.191	13.210	16.000
		Mei 87	4	10.135	0.703	9.430	11.110
		Jun 87	4	7.000	1.154	6.000	8.000
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 90%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
	10	Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
	15	Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Mrt 87	4	12.500	1.914	10.000	14.000
		Apr 87	4	3.500	1.914	2.000	6.000
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
		10	Mrt 87	4	14.500	1.914	12.000
	Apr 87		4	5.000	1.154	4.000	6.000
	Mei 87		4	0	0	0	0
	Jun 87		4	0	0	0	0
	Jul 87		4	0	0	0	0
	Aug 87		4	0	0	0	0
	Sept 87		4	0	0	0	0
	15		Mrt 87	4	11.500	1.914	10.0000000
		Apr 87	4	8.000	1.632	6.0000000	10.000
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 20%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.060
		Febr 87	4	10.674	7.433	3.850	17.860
		Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Mrt 87	4	20.655	1.359	19.610	22.640
		Apr 87	4	22.787	0.658	21.880	23.330
		Mei 87	4	5.365	3.967	2.000	11.110
		Jun 87	4	5.500	1.914	4.000	8.000
		Jul 87	4	3.995	2.689	2.000	7.690
		Aug 87	4	1.000	1.154	0	2.000
		Sept 87	4	0	0	0	0
		10	Mrt 87	4	20.000	1.632	18.000
	Apr 87		4	26.427	5.288	19.350	30.910
	Mei 87		4	6.000	2.828	4.000	10.000
	Jun 87		4	3.000	1.154	2.000	4.000
	Jul 87		4	2.500	1.000	2.000	4.000
	Aug 87		4	0	0	0	0
	Sept 87		4	0	0	0	0
	15		Mrt 87	4	34.500	4.434	30.000
		Apr 87	4	75.727	6.735	65.960	80.390
		Mei 87	4	9.405	0.953	8.000	10.000
		Jun 87	4	3.500	1.914	2.000	6.000
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 40%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.060
		Febr 87	4	10.467	7.433	3.850	17.860
		Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Mrt 87	4	28.745	6.580	22.220	36.730
		Apr 87	4	22.662	3.490	19.490	26.670
		Mei 87	4	6.000	2.828	4.000	10.000
		Jun 87	4	4.000	2.828	2.000	8.000
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
		10	Mrt 87	4	17.855	2.724	15.220
	Apr 87		4	5.145	3.476	2.080	10.000
	Mei 87		4	3.000	3.464	0	6.000
	Jun 87		4	3.000	1.154	2.000	4.000
	Jul 87		4	0	0	0	0
	Aug 87		4	0	0	0	0
	Sept 87		4	0	0	0	0
	15		Mrt 87	4	2.465	0.603	1.890
		Apr 87	4	37.947	5.942	32.310	46.300
		Mei 87	4	2.500	3.000	0	6.000
		Jun 87	4	1.500	1.000	0	2.000
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH = 60%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.060
	10	Febr 87	4	10.467	7.433	3.850	17.860
	15	Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Mrt 87	4	29.350	1.421	28.000	30.910
		Apr 87	4	14.527	0.623	14.000	15.220
		Mei 87	4	3.000	1.154	2.000	4.000
		Jun 87	4	3.915	1.655	1.960	6.000
		Jul 87	4	3.500	1.914	2.000	6.000
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	10	Mrt 87	4	22.165	2.661	20.000	25.450
		Apr 87	4	4.500	1.914	2.000	6.000
		Mei 87	4	7.000	2.581	4.000	10.000
		Jun 87	4	2.365	0.805	1.890	3.570
		Jul 87	4	2.500	1.000	2.000	4.000
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	15	Mrt 87	4	15.327	1.905	14.290	18.180
		Apr 87	4	20.585	3.544	16.000	24.000
		Mei 87	4	8.000	2.828	4.000	10.000
		Jun 87	4	2.707	0.929	1.850	3.570
		Jul 87	4	2.000	1.632	0	4.000
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH=80%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.060
		Febr 87	4	10.467	7.433	3.850	17.860
		Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Mrt 87	4	4.422	1.055	3.770	6.000
		Apr 87	4	3.000	2.581	0	6.000
		Mei 87	4	4.000	1.632	2.000	6.000
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
		10	Mrt 87	4	2.662	0.856	1.920
	Apr 87		4	0	0	0	0
	Mei 87		4	1.000	1.154	0	2.000
	Jun 87		4	0	0	0	0
	Jul 87		4	0	0	0	0
	Aug 87		4	0	0	0	0
	Sept 87		4	0	0	0	0
	15		Mrt 87	4	2.372	0.799	1.920
		Apr 87	4	4.500	1.914	2.000	6.000
		Mei 87	4	6.000	1.632	4.000	8.000
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.3 Vervolg

RH=90%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.060
	10	Febr 87	4	10.467	7.433	3.850	17.860
	15	Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Mrt 87	4	6.840	2.682	4.000	10.000
		Apr 87	4	12.000	4.320	8.000	18.000
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	10	Mrt 87	4	2.325	0.751	1.890	3.450
		Apr 87	4	1.000	1.154	0	2.000
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Scpt 87	4	0	0	0	0
	15	Mrt 87	4	21.075	2.213	18.870	24.000
		Apr 87	4	36.672	6.322	32.000	46.000
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
Jul 87		4	0	0	0	0	
Aug 87		4	0	0	0	0	
Sept 87		4	0	0	0	0	

BYLAAG 4.4 MAANDELIKSE VERWERKTE DATA VAN DIE PERSENTASIE KIEMING VAN *E.ferox*, *E.lehmannii* en *E.eugene-maraisii* - STUIFMEEL WAT BY BEHEERDE RELATIEWE HUMIDITEIT (RH) EN 25° C GEBERG IS. N- AANTAL WAARNEMINGS, GEMIDDELD- GEMIDDELD VAN PERSENTASIE KIEMINGS, Std.. Afw.- STANDAARD AFWYKING, MINIMUM EN MAKSIMUM PERSENTASIE KIEMING

RH = 20%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i> (1986)	5	Febr 86	8	37.596	2.568	33.330	41.660
		Febr 87	8	57.186	5.513	52.000	66.660
		Febr 86	8	35.093	6.185	29.410	45.160
	5	Apr 86	8	26.551	1.035	25.000	28.000
		Mei 86	8	9.925	0.723	8.530	10.730
		Jun 86	8	2.340	1.047	1.290	4.000
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
		10	Apr 86	8	32.122	1.201	30.000
	Mei 86		8	17.271	0.802	16.000	18.230
	Jun 86		8	3.006	0.735	2.000	4.230
	Jul 86		8	0	0	0	0
	Aug 86		8	0	0	0	0
	Sept 86		8	0	0	0	0
	Okt 86		8	0	0	0	0
	15		Apr 86	8	22.997	0.948	21.780
		Mei 86	8	8.447	0.441	7.970	9.090
		Jun 86	8	1.602	0.233	1.230	1.950
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 40%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i> (1986)	5	Febr 86	8	37.596	2.568	33.330	41.660
	10	Febr 86	8	57.186	5.513	52.000	66.660
	15	Febr 86	8	35.093	6.185	29.410	45.160
	5	Apr 86	8	23.746	0.424	22.840	24.230
		Mei 86	8	7.040	0.583	6.000	7.800
		Jun 86	8	1.683	0.333	1.200	2.000
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
	10	Apr 86	8	29.847	1.015	28.000	30.840
		Mei 86	8	11.222	0.710	10.380	12.380
		Jun 86	8	4.123	0.419	3.330	4.750
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
	15	Apr 86	8	27.171	0.806	26.000	28.430
		Mei 86	8	9.190	0.828	8.000	10.000
		Jun 86	8	2.781	0.491	2.000	3.490
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 60%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i> (1986)	5	Febr 86	8	37.596	2.568	33.330	41.660
	10	Febr 86	8	57.186	5.513	52.000	66.660
	15	Febr 86	8	35.093	6.185	29.410	45.160
	5	Apr 86	8	24.111	0.458	23.480	24.780
		Mei 86	8	9.538	0.940	8.000	10.750
		Jun 86	8	3.288	0.613	2.500	4.000
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
	10	Apr 86	8	27.165	0.759	26.000	28.000
		Mei 86	8	5.113	1.336	3.210	7.360
		Jun 86	8	1.596	0.308	1.230	2.000
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
	15	Apr 86	8	21.186	0.757	20.000	22.000
		Mei 86	8	2.545	0.642	1.980	3.680
		Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	9	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH 80%

Spesie	Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum	
<i>E. ferox</i>	5	Febr 86	8	37.596	2.568	33.330	41.660	
	10	Febr 86	8	57.186	5.513	52.000	66.660	
	15	Febr 86	8	35.093	6.185	29.410	45.160	
	5		Apr 86	8	0	0	0	0
			Mei 86	8	0	0	0	0
			Jun 86	8	0	0	0	0
			Jul 86	8	0	0	0	0
			Aug 86	8	0	0	0	0
			Sept 86	8	0	0	0	0
			Okt 86	8	0	0	0	0
	10		Apr 86	8	0	0	0	0
			Mei 86	8	0	0	0	0
			Jun 86	8	0	0	0	0
			Jul 86	8	0	0	0	0
			Aug 86	8	0	0	0	0
			Sept 86	8	0	0	0	0
			Okt 86	8	0	0	0	0
	15		Apr 86	8	0	0	0	0
			Mei 86	8	0	0	0	0
			Jun 86	8	0	0	0	0
			Jul 86	8	0	0	0	0
			Aug 86	8	0	0	0	0
			Sept 86	8	0	0	0	0
			Okt 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 90%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i> (1986)	5	Febr 86	8	37.596	2.568	33.330	41.660
	10	Febr 86	8	57.186	5.513	52.000	66.660
	15	Febr 86	8	35.093	6.185	29.410	45.160
	5	Apr 86	8	0	0	0	0
		Mei 86	8	0	0	0	0
		Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
	10	Apr 86	8	0	0	0	0
		Mei 86	8	0	0	0	0
		Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
	15	Apr 86	8	0	0	0	0
		Mei 86	8	0	0	0	0
		Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 20%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i> (1987)	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.060
		Febr 87	4	10.467	7.433	3.850	17.860
		Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Mrt 87	4	14.432	1.052	13.730	16.000
		Apr 87	4	20.475	1.073	19.530	22.000
		Mei 87	4	4.000	1.632	2.000	6.000
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
		10	Mrt 87	4	18.042	0.358	17.650
	Apr 87		4	23.787	0.472	23.080	24.070
	Mei 87		4	2.500	1.000	2.000	4.000
	Jun 87		4	0	0	0	0
	Jul 87		4	0	0	0	0
	Aug 87		4	0	0	0	0
	Sept 87		4	0	0	0	0
	15	Mrt 87	4	20.767	1.128	19.640	22.000
		Apr 87	4	26.115	1.427	24.530	28.000
		Mei 87	4	2.000	1.632	0	4.000
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 40%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i> (1987)	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.060
		Febr 87	4	10.467	7.433	3.850	17.860
		Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Mrt 87	4	7.887	0.225	7.5500000	8.000
		Apr 87	4	11.565	1.087	10.0000000	12.500
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
		10	Mrt 87	4	6.842	0.921	6.000
	Apr 87		4	8.905	1.056	8.000	10.000
	Mei 87		4	0	0	0	0
	Jun 87		4	0	0	0	0
	Jul 87		4	0	0	0	0
	Aug 87		4	0	0	0	0
	Sept 87		4	0	0	0	0
	15		Mrt 87	4	8.925	0.823	8.000
		Apr 87	4	13.755	0.696	12.730	14.290
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 60%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i> (1987)	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1,330	5.060
	10	Febr 87	4	10.476	7.433	3.850	17.860
	15	Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Mrt 87	4	9.347	0.980	8.000	10.340
		Apr 87	4	11.465	0.978	10.000	12.000
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
		10	Mrt 87	4	7.972	0.686	7.410
	Apr 87		4	12.252	0.744	11.320	12.960
	Mei 87		4	0	0	0	0
	Jun 87		4	0	0	0	0
	Jul 87		4	0	0	0	0
	Aug 87		4	0	0	0	0
	Sept 87		4	0	0	0	0
	15		Mrt 87	4	11.417	0.957	10.000
		Apr 87	4	14.710	0.888	14.000	16.000
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.7 Vervolg

RH = 80%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i> (1987)	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.060
	10	Febr 87	4	10.467	7.433	3.850	17.860
	15	Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Mrt 87	4	0	0	0	0
		Apr 87	4	0	0	0	0
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	10	Mrt 87	4	0	0	0	0
		Apr 87	4	0	0	0	0
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	15	Mrt 87	4	0	0	0	0
		Apr 87	4	0	0	0	0
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 90%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i> (1987)	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.0600
		Febr 87	4	10.467	7.433	3.850	17.860
		Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Mrt 87	4	0	0	0	0
		Apr 87	4	0	0	0	0
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
		10	Mrt 87	4	0	0	0
	Apr 87		4	0	0	0	0
	Mei 87		4	0	0	0	0
	Jun 87		4	0	0	0	0
	Jul 87		4	0	0	0	0
	Aug 87		4	0	0	0	0
	Sept 87		4	0	0	0	0
	15	Mrt 87	4	0	0	0	0
		Apr 87	4	0	0	0	0
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 20%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	5	Apr 86	8	25.427	6.259	15.000	35.710
	10	Apr 86	8	40.141	8.370	22.220	50.000
	15	Apr 86	8	17.110	3.592	12.670	23.7700000
	5	Jun 86	8	26.391	1.347	24.000	28.000
		Jul 86	8	25.445	2.514	22.220	29.410
		Aug 86	8	16.085	0.737	15.000	17.330
		Sept 86	8	11.035	0.832	10.000	12.400
		Okt 86	8	8.293	0.539	7.500	9.230
		Nov 86	8	2.338	1.028	1.340	4.760
		Des 86	8	0	0	0	0
		10	Jun 86	8	29.573	0.850	28.000
	Jul 86		8	18.698	1.566	16.670	20.530
	Aug 86		8	12.200	1.248	10.500	14.000
	Sept 86		8	10.782	0.795	9.380	11.800
	Okt 86		8	6.958	1.299	5.170	0.050
	Nov 86		8	2.283	0.323	1.830	2.680
	Des 86		8	0	0	0	0
	15		Jun 86	8	36.197	1.469	34.000
		Jul 86	8	27.577	1.909	24.580	30.000
		Aug 86	8	14.443	0.639	13.570	15.320
		Sept 86	8	8.543	0.742	7.320	9.540
		Okt 86	8	5.668	1.553	4.000	8.450
		Nov 86	8	1.585	0.307	1.200	2.040
		Des 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 40%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	5	Apr 86	8	25.427	6.259	15.000	35.710
	10	Apr 86	8	40.141	8.370	22.220	50.000
	15	Apr 86	8	17.110	3.592	12.670	23.770
	5	Jun 86	8	29.445	0.893	28.000	30.760
		Jul 86	8	16.860	0.902	15.380	18.180
		Aug 86	8	9.042	0.667	8.000	10.000
		Sept 86	8	11.076	0.715	10.250	12.000
		Okt 86	8	15.232	0.809	14.000	16.130
		Nov 86	8	2.707	0.645	1.980	3.750
		Des 86	8	0	0	0	0
		10	Jun 86	8	33.653	1.313	32.000
	Jul 86		8	14.841	0.582	14.000	15.880
	Aug 86		8	12.491	1.053	11.020	14.000
	Sept 86		8	6.607	0.706	6.000	7.890
	Okt 86		8	10.652	1.265	9.090	13.000
	Nov 86		8	1.770	0.440	1.250	2.650
	Des 86		8	0	0	0	0
	15		Jun 86	8	36.981	0.905	35.610
		Jul 86	8	19.416	0.746	18.000	20.150
		Aug 86	8	16.057	0.887	14.750	17.350
		Sept 86	8	8.992	0.569	8.000	9.990
		Okt 86	8	12.491	0.916	11.430	14.000
		Nov 86	8	2.190	0.440	1.500	2.700
		Des 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 60%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	5	Apr 86	8	25.427	6.269	15.000	35.710
	10	Apr 86	8	40.141	8.370	22.220	50.000
	15	Apr 86	8	17.110	3.592	12.670	23.770
	5	Jun 86	8	10.677	0.988	9.090	12.000
		Jul 86	8	2.815	0.922	1.450	3.780
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
		Nov 86	8	0	0	0	0
		Des 86	8	0	0	0	0
		10	Jun 86	8	12.377	1.663	10.000
	Jul 86		8	0	0	0	0
	Aug 86		8	0	0	0	0
	Sept 86		8	0	0	0	0
	Okt 86		8	0	0	0	0
	Nov 86		8	0	0	0	0
	Des 86		8	0	0	0	0
	15		Jun 86	8	7.028	0.894	6.000
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
Okt 86		8	0	0	0	0	
Nov 86		8	0	0	0	0	
Des 86		8	0	0	0	0	

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 80%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	5	Apr 86	8	25.427	6.259	15.000	35.710
		Apr 86	8	40.141	8.370	22.220	50.000
		Apr 86	8	17.110	3.592	12.670	23.770
	5	Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
		Nov 86	8	0	0	0	0
		Des 86	8	0	0	0	0
	10	Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
		Nov 86	8	0	0	0	0
		Des 86	8	0	0	0	0
	15	Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
		Nov 86	8	0	0	0	0
		Des 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 90%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. lehmannii</i>	5	Apr 86	8	25.4275	6.259	15.000	35.710
		Apr 86	8	40.1412	8.370	22.220	50.000
		Apr 86	8	17.110	3.592	12.670	23.770
	5	Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
		Nov 86	8	0	0	0	0
		Des 86	8	0	0	0	0
	10	Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
		Nov 86	8	0	0	0	0
		Des 86	8	0	0	0	0
	15	Jun 86	8	0	0	0	0
		Jul 86	8	0	0	0	0
		Aug 86	8	0	0	0	0
		Sept 86	8	0	0	0	0
		Okt 86	8	0	0	0	0
		Nov 86	8	0	0	0	0
		Des 86	8	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 20%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
		Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
		Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Mrt 87	4	25.020	4.174	20.000	29.630
		Apr 87	4	21.892	1.647	20.000	24.000
		Mei 87	4	21.102	3.661	18.000	26.410
		Jun 87	4	12.477	2.289	10.000	14.800
		Jul 87	4	7.500	3.000	4.000	10.000
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
		10	Mrt 87	4	21.000	2.581	18.000
	Apr 87		4	20.000	2.828	16.000	22.000
	Mei 87		4	24.250	5.909	18.000	32.000
	Jun 87		4	21.770	1.385	20.690	23.640
	Jul 87		4	10.000	5.416	6.000	18.000
	Aug 87		4	5.000	1.154	4.000	6.000
	Sept 87		4	0	0	0	0
	15	Mrt 87	4	20.787	0.973	20.000	22.000
		Apr 87	4	16.750	1.089	15.690	18.000
		Mei 87	4	13.922	1.509	12.000	15.690
		Jun 87	4	3.000	1.154	2.000	4.000
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 40%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
	10	Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
	15	Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Mrt 87	4	28.770	1.236	27.450	30.000
		Apr 87	4	23.392	2.035	21.570	26.000
		Mei 87	4	24.927	8.072	18.000	36.000
		Jun 87	4	5.540	3.821	0	8.160
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	10	Mrt 87	4	30.842	1.006	30.000	32.000
		Apr 87	4	25.302	2.147	23.210	28.000
		Mei 87	4	16.432	3.077	13.730	20.000
		Jun 87	4	4.942	1.964	2.000	6.000
		Jul 87	4	4.000	2.828	2.000	8.000
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	15	Mrt 87	4	21.687	1.748	20.000	24.000
		Apr 87	4	19.412	2.011	17.650	22.000
		Mei 87	4	30.062	5.213	25.000	37.250
		Jun 87	4	18.720	2.553	16.000	22.000
		Jul 87	4	6.922	1.072	6.000	8.000
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 60%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
	10	Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
	15	Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Mrt 87	4	23.000	2.581	20.000	26.000
		Apr 87	4	8.500	3.415	4.000	12.000
		Mei 87	4	1.500	1.914	0	4.000
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	10	Mrt 87	4	18.500	2.516	16.000	22.000
		Apr 87	4	14.000	4.320	10.000	20.000
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	15	Mrt 87	4	12.500	1.914	10.000	14.000
		Apr 87	4	6.000	1.632	4.000	8.000
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
	Jul 87	4	0	0	0	0	
	Aug 87	4	0	0	0	0	
	Sept 87	4	0	0	0	0	

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 80%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
	10	Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
	15	Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Mrt 87	4	18.500	1.914	16.000	20.000
		Apr 87	4	0	0	0	0
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	10	Mrt 87	4	12.000	1.632	10.000	14.000
		Apr 87	4	0	0	0	0
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	15	Mrt 87	4	6.677	2.544	4.000	9.800
		Apr 87	4	0	0	0	0
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0

Bylaag 4.4 Vervolg

RH = 90%

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
	10	Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
	15	Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Mrt 87	4	12.500	1.914	10.000	14.000
		Apr 87	4	0	0	0	0
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	10	Mrt 87	4	10.000	1.632	8.000	12.000
		Apr 87	4	0	0	0	0
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
		Jul 87	4	0	0	0	0
		Aug 87	4	0	0	0	0
		Sept 87	4	0	0	0	0
	15	Mrt 87	4	4.480	1.014	3.920	6.000
		Apr 87	4	0	0	0	0
		Mei 87	4	0	0	0	0
		Jun 87	4	0	0	0	0
	Jul 87	4	0	0	0	0	
	Aug 87	4	0	0	0	0	
	Sept 87	4	0	0	0	0	

BYLAAG 4.5 MAANDELIKSE VERWERKTE KIEMINGSPERSENTASIES VAN *E. ferox*- EN *E. eugene-maraisii*-STUIFMEEL WAT IN VLOEIBARE STIKSTOF (-196°) GEBERG IS. N-AANTAL WAARNEMINGS, Std. Afw. – STANDAARD AFWYKING, MINIMUM EN MAKSIMUM PERSENTASIE KIEMING

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
	10	Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
	15	Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Apr 87	4	52.682	2.563	49.120	55.170
		Mei 87	4	33.500	3.415	30.000	38.000
		Jun 87	4	3.897	1.141	2.700	5.410
		Jul 87	4	30.857	3.530	28.000	36.000
		Aug 87	4	16.000	1.632	14.000	18.000
		Sept 87	4	22.500	3.000	20.000	26.000
		Okt. 87	4	3.500	1.000	2.000	4.000
		10	Apr 87	4	57.380	3.252	54.450
	Mei 87		4	33.500	3.785	28.000	36.000
	Jun 87		4	5.532	2.077	2.860	7.890
	Jul 87		4	22.500	1.914	20.000	24.000
	Aug 87		4	53.500	3.415	50.000	58.000
	Sept 87		4	40.500	1.914	38.000	42.000
	Okt. 87		4	33.277	1.470	32.000	35.000
	15		Apr 87	4	53.235	4.237	48.610
		Mei 87	4	42.500	2.516	40.000	46.000
		Jun 87	4	12.947	0.373	12.500	13.400
		Jul 87	4	23.095	2.539	20.000	26.000
		Aug 87	4	11.777	1.692	10.000	14.000
		Sept 87	4	45.500	1.914	44.000	48.000
		Okt. 87	4	29.000	2.581	26.000	32.000

Bylaag 4.5 Vervolg

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.060
	10	Febr 87	4	10.467	7.433	3.850	17.860
	15	Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Apr 87	4	35.620	2.241	32.370	37.500
		Mei 87	4	34.032	2.347	32.000	36.150
		Jun 87	4	2.287	0.345	1.980	2.630
		Jul 87	4	53.500	3.000	50.000	56.000
		Aug 87	4	5.330	0.942	4.000	6.000
		Sept 87	4	24.000	2.309	22.000	26.000
		Okt. 87	4	14.500	3.000	12.000	18.000
	10	Apr 87	4	45.760	2.215	42.870	48.140
		Mei 87	4	42.250	1.707	40.000	44.000
		Jun 87	4	4.830	0.884	4.000	6.000
		Jul 87	4	35.000	2.581	32.000	38.000
		Aug 87	4	34.000	2.828	30.000	36.000
		Sept 87	4	33.500	1.914	32.000	36.0000
		Okt. 87	4	28.000	3.265	24.000	32.000
	15	Apr 87	4	32.717	1.228	31.920	34.550
		Mei 87	4	59.870	2.959	57.480	64.000
		Jun 87	4	3.930	1.289	2.780	5.710
		Jul 87	4	3.370	0.942	2.000	4.000
		Aug 87	4	23.000	2.581	20.000	26.000
		Sept 87	4	51.500	3.415	48.000	56.000
		Okt. 87	4	40.000	3.651	36.000	44.000

BYLAAG 4.6 MAANDELIKSE VERWERKTE DATA VAN DIE KIEMINGSPERSENTASIES VAN *E. ferox*- EN *E. eugene-maraisii*-STUIFMEEL WAT GEVRIESDROOG IS EN BY 5° C GEBERG IS. N-AANTAL WAARNEMINGS, Std. Afw. – STANDAARD AFWYKING, MINIMUM EN MAKSIMUM PERSENTASIE KIEMING

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.060
	10	Febr 87	4	10.467	7.433	3.850	17.860
	15	Febr 87	4	3.462	1.334	2.000	4.760
	5	Apr 87	4	47.695	1.869	46.020	50.000
		Mei 87	4	45.000	2.581	42.000	48.000
		Jun 87	4	2.025	0.655	1.110	2.500
		Jul 87	4	16.000	1.632	14.000	18.000
		Aug 87	4	2.000	0	2.000	2.000
		Sept 87	4	35.500	3.000	32.000	38.000
		Okt. 87	4	24.00	1.632	22.000	26.000
		10	Apr 87	4	55.727	2.065	52.940
	Mei 87		4	34.000	3.651	30.000	38.000
	Jun 87		4	7.180	0.278	6.900	7.500
	Jul 87		4	20.000	1.632	18.000	22.000
	Aug 87		4	13.500	3.415	10.000	18.000
	Sept 87		4	43.25	1.892	42.000	46.000
	Okt. 87		4	29.857	1.409	28.000	31.430
	15		Apr 87	4	50.657	2.608	47.620
		Mei 87	4	17.000	1.154	16.000	18.000
		Jun 87	4	16.392	2.311	13.510	18.500
		Jul 87	4	53.250	3.774	50.000	57.000
		Aug 87	4	45.000	2.581	42.000	48.000
		Sept 87	4	53.000	2.581	50.000	56.000
		Okt. 87	4	34.277	0.763	33.330	35.000

Bylaag 4.6 Vervolg

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.8350	4.920	31.340	42.420
	10	Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
	15	Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Apr 87	4	67.047	1.502	65.280	68.440
		Mei 87	4	39.000	1.154	38.000	40.000
		Jun 87	4	2.437	0.444	2.0000	3.030
		Jul 87	4	19.55	1.381	18.000	21.230
		Aug 87	4	35.000	2.581	32.000	38.000
		Sept 87	4	32.120	1.650	30.000	34.000
		Okt. 87	4	26.835	1.001	26.000	28.000
	10	Apr 87	4	65.432	1.735	63.420	67.500
		Mei 87	4	58.000	2.828	54.000	60.000
		Jun 87	4	26.022	1.329	24.280	27.500
		Jul 87	4	35.500	2.081	33.000	38.000
		Aug 87	4	14.000	2.828	12.000	18.000
		Sept 87	4	35.750	1.707	34.000	38.000
		Okt. 87	4	24.500	2.516	22.000	28.000
	15	Apr 87	4	67.162	2.023	65.900	70.150
		Mei 87	4	56.000	3.651	52.000	60.000
		Jun 87	4	21.712	2.709	17.690	23.400
		Jul 87	4	63.000	2.581	60.000	66.000
		Aug 87	4	33.000	1.154	32.000	34.000
		Sept 87	4	41.500	1.000	40.000	42.000
		Okt. 87	4	32.662	2.102	30.000	34.650

BYLAAG 4.7 MAANDELIKSE VERWERKTE DATA VAN DIE KIEMINGSPERSENTASIE VAN *E. ferox* EN *E. eugene-maraisii*-STUIFMEEL WAT GEVRIESDROOG IS EN BY -25° C GEBERG IS. N-AANTAL WAARNEMINGS, Std. Afw. – STANDAARD AFWYKING, MINIMUM EN MAKSIMUM PERSENTASIE KIEMING

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std. Afw.	Minimum	Maksimum
<i>E. eugene-maraisii</i>	5	Febr 87	4	37.835	4.920	31.340	42.420
	10	Febr 87	4	33.597	3.044	31.480	38.100
	15	Febr 87	4	21.135	3.950	15.790	24.240
	5	Apr 87	4	63.215	1.727	61.320	64.890
		Mei 87	4	44.000	1.632	42.000	46.000
		Jun 87	4	2.2600	0.213	1.990	2.500
		Jul 87	4	14.000	2.828	12.000	18.000
		Aug 87	4	27.000	4.163	22.000	32.000
		Sept 87	4	24.500	2.516	22.000	28.000
		Okt. 87	4	11.277	0.949	10.000	12.000
	10	Apr 87	4	61.905	2.115	60.000	64.900
		Mei 87	4	48.000	2.309	46.000	50.000
		Jun 87	4	4.562	1.731	2.220	6.380
		Jul 87	4	19.750	2.362	18.000	23.000
		Aug 87	4	13.500	1.000	12.000	14.000
		Sept 87	4	51.000	3.464	48.000	56.000
		Okt. 87	4	28.357	1.782	26.000	30.000
	15	Apr 87	4	76.390	2.608	73.630	78.750
		Mei 87	4	35.000	3.829	32.000	40.000
		Jun 87	4	13.810	1.628	12.000	15.910
		Jul 87	4	32.500	1.914	30.000	34.000
		Aug 87	4	53.500	1.914	52.000	56.000
		Sept 87	4	30.000	2.828	28.000	34.000
		Okt. 87	4	15.092	0.837	14.000	16.000

Bylaag 4.7 Vervolg

Spesie	% Sukrose	Maand	N	Gemiddeld	Std.Afw	Minimum	Maksimum
<i>E. ferox</i>	5	Febr 87	4	3.610	1.618	1.330	5.0600
	10	Febr 87	4	10.467	7.433	3.850	17.860
	15	Febr 87	4	3.462	1.133	2.000	4.760
	5	Apr 87	4	56.232	1.690	53.850	57.580
		Mei 87	4	53.000	2.581	50.000	56.000
		Jun 87	4	5.207	1.078	4.260	6.670
		Jul 87	4	12.250	1.707	10.000	14.000
		Aug 87	4	18.000	2.828	16.000	22.000
		Sept 87	4	29.000	3.464	26.000	34.000
		Okt. 87	4	18.000	1.632	16.000	20.000
	10	Apr 87	4	53.430	0.915	52.690	54.720
		Mei 87	4	33.500	3.000	32.000	38.000
		Jun 87	4	9.4150	1.951	6.980	11.110
		Jul 87	4	19.992	1.633	18.000	22.000
		Aug 87	4	12.000	1.632	10.000	14.000
		Sept 87	4	55.000	2.581	52.000	58.000
		Okt. 87	4	28.357	1.782	26.000	30.000
	15	Apr 87	4	29.302	1.197	28.130	30.910
		Mei 87	4	55.000	2.581	52.000	58.000
		Jun 87	4	10.430	1.997	7.500	12.000
		Jul 87	4	33.500	3.415	30.000	38.000
		Aug 87	4	42.750	2.986	40.000	47.000
		Sept 87	4	52.000	2.828	48.000	54.000
		Okt. 87	4	36.750	1.500	35.000	38.000