

DIE BIOLOGIE VAN ENKELE FUNGUSOORTE WAT BY DIE
KOMMERSIËLE VERBOUING VAN AGARICUS BISPORUS (LANGE) IMBACH
IN SUID-AFRIKA PROBLEME SKEP

deur

JOHANNES CORNELIUS COETZEE

Voorgelê ter vervulling van 'n deel van die
vereistes vir die graad

MAGISTER SCIENTAE

in die

FAKULTEIT WIS- EN NATUURKUNDE

(Departement Plantkunde)

Universiteit van Pretoria

Pretoria

DESEMBER 1987

(i)

INHOUDSOPGAWE

	<u>Bladsy</u>
HOOFSTUK 1 : INLEIDING EN PROBLEEMSTELLING	1
1.1 ALGEMENE INLEIDING	1
1.2 PROBLEEMSTELLING	6
 HOOFSTUK 2 : LITERATUUROORSIG	 9
2.1 <u>CHROMELOSPORIUM FULVUM</u>	9
2.1.1 TAKSONOMIE EN NOMENKLATUUR	9
2.1.2 GEOGRAFIESE VERSPREIDING EN HABITAT	16
2.1.3 DIE BELANG VAN DIE VEENSKIMMEL IN SAMPPIOENKWEKKAMERS	17
2.1.4 VERDERE BELANG VAN DIE VEENSKIMMEL	22
2.1.5 KENMERKE VAN DIE VEENSKIMMEL OP SAMPPIOENBEDDINGS	23
2.1.6 BEHEERMAATREËLS	24
2.1.7 KONIDIUMONTOGENIE	29
2.1.8 DIVERSE BIOLOGIESE GEGEWENS	30
2.1.9 BESKRYWING VAN DIE VEENSKIMMEL	32
 2.2 <u>VERTICILLIUM FUNGICOLA</u>	 34
2.2.1 TAKSONOMIE EN NOMENKLATUUR	34
2.2.2 GEOGRAFIESE VERSPREIDING EN HABITAT	36
2.2.3 DIE BELANG VAN <u>VERTICILLIUM FUNGICOLA</u> IN DIE SAMPPIOENBEDRYF	38
2.2.3.1 Omvang en ekonomiese belang	38
2.2.3.2 Kompetisievermoë	39
2.2.3.3 Oorsprong en verspreiding op 'n plaas	39
2.2.3.4 Oorlewingsvermoë	42
2.2.3.5 Infeksie	43

	(ii)	
2.2.3.6	Simptome	46
2.2.3.7	Ander <u>Verticillium</u> -spesies wat in die sampioenbedryf probleme skep	50
2.2.4	DIE VOORKOMING EN BEHEER VAN <u>VERTICILLIUM FUNGICOLA</u>	51
2.2.4.1	Higiëne op die sampioenplaas	52
2.2.4.2	Ekologiese beheer	57
2.2.4.3	Bestande sampioenvariëteite	59
2.2.4.4	Biologiese beheer	60
2.2.4.5	Chemiese beheer	61
2.2.4.6	Ontwikkelingsoorsig van chemiese beheer	62
2.2.4.7	Na-oes beheer	80
2.2.4.8	Slotsom	81
2.2.5	VERDERE BELANG VAN <u>VERTICILLIUM FUNGICOLA</u>	81
2.2.6	DIVERSE BIOLOGIESE GEGEWENS MET BETREKKING TOT <u>VERTICILLIUM FUNGICOLA</u>	83
2.2.7	BESKRYWING VAN <u>VERTICILLIUM FUNGICOLA</u> VAR. <u>FUNGICOLA</u>	88
	HOOFSTUK 3 : MATERIAAL EN METODE	90
3.1	ISOLERING VAN DIE STUDIEMATERIAAL	90
3.1.1	<u>CHROMELOSPORIUM FULVUM</u>	90
3.1.2	<u>VERTICILLIUM FUNGICOLA</u>	91
3.2	MIKROSKOPIESE ONDERSOEK	91
3.3	VOEDINGSFISIOLOGIE	94
3.3.1	DIE INVLOED VAN DIE KOOLSTOFBRON OP SWAMGROEI	94
3.3.1.1	<u>Chromelosporium fulvum</u>	94
3.3.1.2	<u>Verticillium fungicola</u>	98
3.3.2	DIE INVLOED VAN DIE STIKSTOFBRON OP SWAMGROEI	99
3.3.2.1	<u>Chromelosporium fulvum</u>	99

	(iii)	
	3.3.2.2 <u>Verticillium fungicola</u>	102
3.4	DIE INVLOED VAN OMGEWINGSTOESTANDE	102
3.4.1	DIE INVLOED VAN TEMPERATUUR OP GROEI EN SPORULERING	102
3.4.1.1	<u>Chromelosporium fulvum</u>	102
3.4.1.1.1	Vegetatiewe groei	102
3.4.1.1.2	Sporulering	103
3.4.1.2	<u>Verticillium fungicola</u>	104
3.4.1.2.1	Vegetatiewe groei	104
3.4.1.2.2	Sporulering	104
3.4.2	DIE INVLOED VAN LIG OP GROEI EN SPORULERING	105
3.4.2.1	<u>Chromelosporium fulvum</u>	105
3.4.2.1.1	Vegetatiewe groei	105
3.4.2.1.2	Sporulering	107
3.4.2.2	<u>Verticillium fungicola</u>	108
3.4.2.2.1	Vegetatiewe groei en spoorkieming	108
3.4.2.2.2	Sporulering	111
3.4.3	DIE INVLOED VAN DIE WATERSTOFIOONKONSENTRASIE OP GROEI	111
3.4.3.1	<u>Chromelosporium fulvum</u>	111
3.4.3.2	<u>Verticillium fungicola</u>	112
3.4.4	GROEI IN DIE AFWESIGHEID VAN SUURSTOF	113
3.4.4.1	<u>Chromelosporium fulvum</u>	113
3.4.4.2	<u>Verticillium fungicola</u>	114
3.5	VOORTSPRUITENDE STUDIES	114
3.5.1	DIE VOORKOMS VAN <u>DICHOBOTRYS ABUNDANS</u> OP DIE SAMPIOENPLAAS	114
3.5.2	GROEI-INTERAKSIES TUSSEN <u>C.FULVUM</u> , <u>A.BISPORUS</u> EN <u>D.ABUNDANS</u>	115
3.5.2.1	Die invloed van <u>C.fulvum</u> en <u>D.abundans</u> op <u>A.bisporus</u> -groei	115
3.5.2.2	Die invloed van <u>A.bisporus</u> op die groei van <u>C.fulvum</u> en <u>D.abundans</u>	117

(iv)

3.5.3	DIE INVLOED VAN SITROENSUUR OP DIE GROEI VAN <u>C.FULVUM</u>	118
3.6	STATISTIESE VERWERKING VAN RESULTATE	119
HOOFSTUK 4 : RESULTATE EN BESPREKING		120
4.1	ISOLERING VAN DIE STUDIEMATERIAAL	120
4.1.1	<u>CHROMELOSPORIUM FULVUM</u>	120
4.1.2	<u>VERTICILLIUM FUNGICOLA</u>	123
4.2	MIKROSKOPIESE ONDERSOEK	123
4.2.1	<u>CHROMELOSPORIUM FULVUM</u>	123
4.2.2	<u>PEZIZA OSTRACODERMA</u>	123
4.2.3	<u>VERTICILLIUM FUNGICOLA</u>	131
4.3	VOEDINGSFISIOLOGIE	131
4.3.1	DIE INVLOED VAN DIE KOOLSTOFBRON OP SWAMGROEI	131
4.3.1.1	<u>Chromelosporium fulvum</u>	131
4.3.1.2	<u>Verticillium fungicola</u>	142
4.3.2	DIE INVLOED VAN DIE STIKSTOFBRON OP SWAMGROEI	148
4.3.2.1	<u>Chromelosporium fulvum</u>	148
4.3.2.2	<u>Verticillium fungicola</u>	154
4.4	DIE INVLOED VAN OMGEWINGSTOESTANDE	156
4.4.1	DIE INVLOED VAN TEMPERATUUR OP GROEI EN SPORULERING	156
4.4.1.1	<u>Chromelosporium fulvum</u>	159
4.4.1.1.1	Vegetatiewe groei	159
4.4.1.1.2	Sporulering	163
4.4.1.2	<u>Verticillium fungicola</u>	167
4.4.1.2.1	Vegetatiewe groei	167

(v)

4.4.1.2.2	Sporulering	170
4.4.2	DIE INVLOED VAN LIG OP GROEI EN SPORULERING	173
4.4.2.1	<u>Chromelosporium fulvum</u>	174
4.4.2.1.1	Vegetatiewe groei	174
4.4.2.1.2	Sporulering	177
4.4.2.2	<u>Verticillium fungicola</u>	185
4.4.2.2.1	Vegetatiewe groei en spoorkieming	185
4.4.2.2.2	Sporulering	191
4.4.3	DIE INVLOED VAN DIE WATERSTOFIOONKON- SENTRASIE OP GROEI	194
4.4.3.1	<u>Chromelosporium fulvum</u>	194
4.4.3.2	<u>Verticillium fungicola</u>	198
4.4.4	GROEI IN DIE AFWESIGHEID VAN SUURSTOF	201
4.4.4.1	<u>Chromelosporium fulvum</u>	201
4.4.4.2	<u>Verticillium fungicola</u>	203
4.5	VOORTSPRUITENDE STUDIES	204
4.5.1	DIE VOORKOMS VAN <u>D.ABUNDANS</u> OP DIE SAMPPIOENPLAAS	204
4.5.2	GROEI-INTERAKSIES TUSSEN <u>C.FULVUM</u> , <u>A.BISPORUS</u> EN <u>D.ABUNDANS</u>	205
4.5.2.1	Die invloed van <u>C.fulvum</u> en <u>D.abundans</u> op <u>A.bisporus</u> -groei	205
4.5.2.2	Die invloed van <u>A.bisporus</u> op die groei van <u>C.fulvum</u> en <u>D.abundans</u>	208
4.5.3	DIE INVLOED VAN SITROENSUUR OP DIE GROEI VAN <u>C.FULVUM</u>	210
4.6	OPSOMMENDE GEVOLGTREKKING	214
	OPSOMMING	215
	SUMMARY	217
	DANKBETUIGINGS	219

(vi)

CURRICULUM VITAE	220
BYLAE TOT DIE VERHANDELING	221
BYLAAG 1	222
BYLAAG 2	227
LITERATUURVERWYSINGS	257

HOOFSTUK EEN

INLEIDING EN PROBLEEMSTELLING

1.1 ALGEMENE INLEIDING

Agaricus bisporus (Lange) Imbach is die bekende "gewone" sampioen wat algemeen in die wit en bruin variëteite in die handel in Suid-Afrika beskikbaar is. Na aanleiding van 'n artikel deur Malloch (1976) word die naam Agaricus brunnescens Peck egter ook soms in die moderne literatuur aangetref.

Alhoewel die belangrikste, is Agaricus bisporus nie die enigste kommersieel-verboude sampioenspesie nie. Ander swamme wat ook verbou word is onder meer Agaricus bitorquis (Quél.) Sacc. (Van Zaayen en Gams, 1982), Pleurotus ostreatus (Jacq. ex Fr.) Kummer (Zadrazil, 1974), Volvariella volvacea (Bull. ex Fr.) Sing. (San Antonio en Fordyce, 1972) en Lentinus edodes (Berk.) Sing. (Akiyama et al., 1974). Waar die term "sampioen" egter vervolgens gebruik word, sal daarmee slegs Agaricus bisporus geïmpliseer word.

Sampioene word al sedert die begin van die negentiende eeu deur die Franse verbou (Atkins, 1966) en die geskiedenis van hierdie bedryf maak interessante leesstof uit wat in verskeie publikasies nagegaan kan word (Singer, 1961; Atkins, 1966; Sinden, 1971). 'n Oorsig van die ontwikkeling van die bedryf en van die moderne verbouingstegnieke val sekerlik buite die raamwerk van hierdie studie, maar verskeie omvattende handleidings (Singer, 1961; Atkins, 1966; Chang en Hayes, 1978; Vedder, 1978) kan vir inligting in dié verband geraadpleeg word.

Die sampioenbedryf het veral sedert die tweede wêreldoorlog merkwaardige modernisering ondergaan, en alhoewel dit die uitkakeling van vele vroeëre probleme en 'n ongekende opbloei in die bedryf tot gevolg gehad het (Atkins, 1966), bestaan daar

nog steeds verskeie faktore wat groot hoofbrekens aan die moderne sampioenkweker kan besorg.

Probleme waarmee die Suid-Afrikaanse kweker veral nog mee te kampe het is:

- (i) Dierlike plaë en peste, byvoorbeeld insekte, myte en aalwurms
 - (ii) Bakteriese siektes
 - (iii) Virussiektes
 - (iv) Probleme swamme
 - (v) 'n Gebrek aan geskikte verbouingsubstrate
- (Bogenoemde faktore is nie noodwendig in volgorde van belangrikheid gerangskik nie.)

Slegs die sogenaamde probleme swamme is vir hierdie studie in aanmerking geneem. Hierdie swamme kan, op grond van die nadelige uitwerking wat dit op sampioenkweking het, in drie kategorieë ingedeel word, nl:

- (i) Patogene
- (ii) Onkruidswamme
- (iii) Deterioreerders

(i) Patogeniese swamme:

Hierdie swamme val die lewendige sampioenvrugliggame (karpofesfalums) en/of -miselium direk aan om sodoende 'n siekteveroor-sakende uitwerking te hê. Die organismes is egter nie altyd obligate parasiete nie, en kan dikwels ook saprofities in die groeisubstraat oorleef waar dit met die sampioengroei mag kompeteer. Tabel 1.1 bevat 'n lys van die belangrikste patogeniese swamme wat in die sampioenbedryf probleme skep (Atkins & Atkins 1971b; Sinden, 1971; Vedder, 1978). Daar moet egter op gewys word dat alhoewel Vedder (1978) pertinent noem dat nommers 6, 7 en 8 in die tabel wel parasiete is, Sinden (1971) dit slegs as "sterk inhiberende" kompeteerders klassifiseer.

TABEL 1.1 Parasitiese of siekteveroorsoekende probleemswamme by die verbouing van A.bisporus (Beach, 1937; Bottomley, 1939; 1949-50; 1955-56; Atkins & Atkins, 1971; Sinden, 1971; Vedder, 1978).

No.	Wetenskaplike naam	Populêre naam	
		Engels	Afrikaans
1	<u>Mycogone pernicioso</u> Magn.	Bubble / Wet bubble	Natvrot*/Bruinsweetsiekte***
2	<u>Verticillium fungicola</u> (Preuss) Hassebr.	Dry bubble & Brown spot	Droëvrot* & Bruinvlek* Verticilliumsiekte***
3	<u>Verticillium psalliotae</u> Treschow	do	do
4	<u>Hypomyces rosellus</u> (Alb. & Schw.) Tul.	Cobweb disease/soft rot/ mildew	Spinneraksiekte***/sagtevrot*/ meeldou*
5	<u>Hypomyces auranteus</u> (Pers. ex Fr.) Tul. = <u>Cladobotryum variospermum</u> (Link) Hughes.**	do	do
6	<u>Chrysosporium luteum</u> (Cost.) Carm.	Yellow mould	Geelskimmel*
7	<u>Chrysosporium sulfureum</u> (Cost. & Matr.) Carm.	do	do
8	<u>Diehlomyces microsporus</u> (Diehl & Lamb.) Gil.	False truffle/Calves brains	Valstruffel*/Truffelsiekte****
9	<u>Trichoderma koningi</u> Oud.	Green mould	Groenskimmel***
10	<u>Trichoderma viride</u> Pers.	do	do
11	<u>Fusarium</u> spp.	Damping off	Stamverrotting***

* Voorgestelde Afrikaanse naam

** Anamorf

*** Volgens Bottomley, 1939 en 1949-50

**** Volgens Bottomley, 1949-50

Vanuit 'n ekonomiese oogpunt gesien is die patogene die belangrikste groep probleemswamme waarmee die sampioenkweker te make het. Dit kom algemeen voor en besmettings lei nie net tot drasties verminderde opbrengste en 'n laer kwaliteit produk nie, maar kan soms ook algehele oesverliese tot gevolg hê.

(ii) Onkruidswamme:

Gandy (1974) definieër 'n onkruidswam as "'n swam op die verkeerde plek", wat dan in hierdie geval die sampioenbeddings is. Onkruidswamme is in kompetisie gewikkel met die sampioenmiselium vir die beskikbare organiese- sowel as minerale voedingstowwe en water in die groeisubstraat (Sinden, 1971). Daarom word daar dan ook dikwels na hierdie swamme as "kompeteerdere" verwys (Gandy, 1974). Die onkruidswamme of kompeteerdere is saprofiete en val nie die sampioenmiselium direk aan nie, maar kan sampioengroei inhibeer as gevolg van die uitputting van beskikbare voedingstowwe en ook deur die vrystelling van groei-inhiberende metaboliese byprodukte (Sinden, 1971). Omdat hierdie swamme nie die sampioen direk parasiteer nie word dit dikwels aanvanklik deur kwekers oor die hoof gesien en eers later, nadat dit al goed op die plaas gevestig geraak het en wanneer dit tot grootskaalse oesverliese aanleiding kan gee (Sinden, 1971), as 'n probleem geïdentifiseer.

Omdat sekere onkruidswamme dikwels slegs onder spesifieke toestande in of op die kompos en/of deklaag voorkom, word daar soms ook van hierdie swamme as "indikatorswamme" gepraat (Sinden, 1971; Gandy, 1974). Gandy (1974) wil nie die term "kompeteerder" gebruik nie omdat sy glo dat die onkruidswamme nie daadwerklik met die sampioenmiselium kompeteer nie, maar dat die teenwoordigheid daarvan eerder 'n aanduiding is van kompos wat ongeskik vir sampioenverbouing is. Sy hou egter ook nie van die term "indikatorswam" nie omdat dit volgens haar selde duidelik is wat presies deur die indikatorswam aangedui word. Sy is 'n voorstander daarvan om slegs die minderseggende breë begrip "onkruidswam" te gebruik. Tabel 1.2 bevat 'n lys van 'n

TABEL 1.2 Onkruidswamme wat algemeen in of op sampioenbeddings voorkom (Sinden, 1971; Gandy, 1974; Hennebert en Korf, 1975; Vedder, 1978).

No.	Wetenskaplike naam	Populêre naam	
		Engels	Afrikaans*
1	<u>Chaetomium olivaceum</u> Cooke & Ellis	Olive green mould	Olyfgroenskimmel
2	<u>Coprinus fimetarius</u> (L.) Fr.	Ink caps	Inkswam
3	<u>Coprinus</u> sp. (Moontlik <u>C. niveus</u> ?)	-	-
4	<u>Doratomyces stemonitis</u> (Pers. ex Fr.) Morton & Smith	Black whisker mould	Swartstoppelbaard- skimmel
5	<u>Geotrichum</u> sp.	Lipstick mould	Lipstiffieskimmel
6	<u>Scopulariopsis fimicola</u> (Cost. & Matr.) Vuill.	White plaster mould	Wit pleisterskimmel
7	<u>Oedocephalum</u> sp.	Brown mould	Bruinskimmel
8	<u>Papulaspora byssina</u> Hotson	Brown plaster mould	Bruin pleisterskimmel
9	<u>Peziza ostracoderma</u> Korf ≠ <u>Chromelosporium fulvum</u> (Link) McGinty, Hennebert & Korf**	Peat mould	Veenskimmel
10	<u>Pythium artotragus</u> (Mont.) de By.	-	-
11	<u>Sepedomium</u> sp.	-	-
12	<u>Trichoderma viride</u> Pers.	Green mould	Groenskimmel
13	<u>Aspergillus</u> spp.	-	-
14	<u>Penicillium</u> spp.	-	-
15	<u>Cladosporium</u> spp.	-	-
16	<u>Spicaria</u> sp.	-	-

* Voorgestelde Afrikaanse naam
 ** Anamorf

aantal onkruidswamme wat algemeen in of op sampioenbeddings voorkom (Sinden, 1971; Gandy, 1974; Hennebert & Korf, 1975; Vedder, 1978).

(iii) Deterioreerders:

Behalwe die swamme wat op die sampioen self en/of die groeisubstraat voorkom, is daar 'n wye spektrum van ander swamme wat ook nog in die kweekkamers aangetref word. Veral die kweekkiste van hout word deur 'n wye reeks swamme as groeisubstraat benut. Dit sluit onder andere van die hoër basidiomisetes, wat as ernstige houtverrotters bekend is, in. Infeksie deur sulke swamme lei uit die aard van die saak tot 'n verkorte lewensduur van die kiste. Buiten die kiste is isoleringsmateriaal asook die mure (verf) in die ideale vogtige toestande in die kweekkamers, ook aan beskadiging as gevolg van swamgroei onderhewig.

Alhoewel hierdie swamme dus nie die oes direk benadeel nie, dra dit tog by tot ekstra bedryfsuitgawes (reparasies en instandhouding) wat nie deur die produsent gedra wil word nie en dus uiteindelik ook die sak van die verbruiker raak.

Bo en behalwe die genoemde primêre probleme wat die drie groepe probleemswamme veroorsaak, kan dit bykomend ook verdere ongewenste nuwe-effekte hê. Volgens Van der Vliet (1960), Kneebone en Merek (1961), Hellmers (1969) en Vedder (1978) veroorsaak swaar sporulerende spesies soos Doratomyces stemonitis (Pers. ex Steud.) Morton & G.Sm., Aspergillus flavus Link ex Gray, A.fumigatus Fres., Mucor pusillus Lindt., Chromelosporium fulvum en Spicaria sp. allergiese respiratoriese probleme onder werkers in die sampioenkweekkamers, terwyl swamme soos Sepedomium sp. en Sporotrichum sp. volgens Kneebone en Merek (1961) as voedselbronne vir groot mytopulasies kan dien.

1.2 PROBLEEMSTELLING

Die bestryding van probleemswamme was nog altyd 'n besondere

knelpunt in die sampioenbedryf want hier bevind die kweker hom in dié unieke situasie dat beide die verbouingsgewas én die probleemorganisme swamme is. Die gebruik van breë-spektrum swamdoders was dus nog nooit effektief nie, aangesien dit volgens Gandy (1978) darem baie van 'n breë-spektrum swamdoder gevra is om te onderskei tussen gewas en plaag waar beide swamme is.

Met die ontwikkeling van selektiewe swamdoders (bv. benomil) is gehoop dat die probleem vir goed opgelos is. Aanvanklik is uitstekende resultate verkry, maar die optimisme was van korte duur. In baie gevalle het natuurlik-bestande patoogenrasse deur seleksie vinnig die oorhand gekry, met die gevolg dat die eerste middels gou weer relatief oneffektief was. Die soektog na doeltreffende chemiese beheermiddels word voortgesit, maar daar bestaan geen waarborg dat dieselfde proses homself nie maar weer en weer sal herhaal nie (Gandy, 1978).

Gedagtig aan die groter bewuswording vandag ten opsigte van gesonder lewensgewoontes en die groter prominensie wat aan kommoditeite soos "gesondheidskosse" en "natuurlike produkte" verleen word, is die gebruik van chemikalieë in siektebeheer uit die aard van die saak ook minder gewens.

Dit is dus duidelik dat chemiese beheer tot op hede nie altyd werklik doeltreffend toegepas kon word nie en in 1978 wys Gandy maar weer op die absolute noodsaaklikheid van goeie higiëne in die bekamping van probleemswamme.

Sinden (1971 en 1972) bepleit 'n wegbeweeg van chemiese beheer af en stel voor dat daar meer in die rigting van beheer deur middel van omgewingsmanipulering gedink moet word. Hiervoor is 'n basiese kennis van die biologie van die probleemswamme nodig, om sodoende hul swakplekke ten opsigte van maklik en goedkoop toepasbare bekampingsmetodes te vind (Sinden, 1972; Gandy, 1974). Hierdie kennis ontbreek egter nog in 'n groot mate.

Die moderne sampioenkweker is in staat om sy boerdery in 'n absoluut gekontroleerde omgewing te bedryf. Omgewingsfaktore

kan dus na goeddunke gemanipuleer word, nie net om beter sampioenopbrengste te verkry nie, maar ook om ongunstige toestande vir ongewenste organismes in die kweekhuise te skep (Sinden, 1971; Nair, 1979). Hier word veral aan fisiese faktore soos temperatuur, humiditeit, lig, lugsirkulasie ensovoorts gedink. Dit is vir die moderne kweker ook moontlik om die beskikbaarheid van voedingstowwe, wat deur die sampioen (én sy konkurent) benodig word, asook die suurgehalte van die groeisubstraat, te beheer (Sinden, 1971).

Dit is dan in die lig van bogenoemde "ekologiese beheer" dat hierdie biologiese studie op twee probleemswamme, nl. Verticillium fungicola ('n patogeen) en Chromelosporium fulvum ('n onkruidswam), beide baie algemeen op sampioenplase in Suid-Afrika, aangepak is.

Verticillium fungicola is as studie-organisme gekies omdat dit sekerlik dié swam is wat die grootste skade op sampioenplase in Suid-Afrika aanrig. Daar is wel reeds biologiese data met betrekking tot hierdie swam gepubliseer (Treschow, 1941; Fekete, 1967; Azéma & Touzé-Soulet, 1973; Lambert en Wuest, 1979), maar dit was hoofsaaklik op Europese en Noord-Amerikaanse isolate gegrond, en fisiologiese inligting is skraps. Behalwe vir 'n bietjie gegewens oor die invloed van temperatuur op vegetatiewe groei (Lambert en Wuest, 1979) is daar nog geen inligting aangaande 'n isolaat uit Afrika beskikbaar nie.

Dit is met reg dat Barron (1972) sê die veenskimmel "is perhaps one of the most commonly encountered but least known of fungi from soil". Byna geen inligting betreffende die biologie van C. fulvum skyn in die literatuur te bestaan nie en dit, asook die feit dat hierdie swam redelik volop in Suid-Afrika voorkom, het daartoe bygedra dat C. fulvum as studie-organisme ingesluit is.

HOOFSTUK TWEELITERATUUROORSIG2.1 CHROMELOSPORIUM FULVUM

2.1.1 TAKSONOMIE EN NOMENKLATUUR

Chromelosporium fulvum staan populêr as die veenskimmel ("peat mould") bekend. Die benaming kaneelbruinskimmel ("cinnamon brown mould") word ook dikwels gebruik (Harvey, 1982; Harvey et al., 1982; Betterley, 1983). In die sampioenbedryf word dit egter ook as bruinskimmel ("brown mould") geken (Dieleman-van Zaayen, 1967; Stoller, 1968; Sinden, 1971; Van de Geijn, 1976; Vedder, 1978), maar omdat 'n ander swam, wat volgens Hennebert en Korf (1975) moontlik Phymatotrichopsis omnivora (Duggar) Hennebert mag wees, ook reeds in die sampioenbedryf as bruinskimmel bekend staan, beveel dieselfde outeurs die gebruik van die term "veenskimmel" aan.

Volgens Hennebert en Korf (1975) was C. fulvum een van die vroegste swamme om beskryf te word, en wel deur Micheli in 1729. Soos hulle maar te duidelik uiteensit, het daar egter sedert daardie eerste beskrywing geweldige verwarring betreffende die korrekte benaming daarvan geheers. Dit is alreeds nie minder nie as vyf keer deur verskillende outeurs as 'n nuwe spesie beskryf, vier uit die vyf keer onder 'n ander genus, nl.:

- (i) Byssus sericea, fulva, perelegans, tenuissima
et ramosissima, rimis terrae innascens et glebas
circumvestiens Micheli 1729.

Aangesien hierdie benaming polinomies en pre-Linneans is, beskik dit vandag oor geen status onder die Internasionale Kode vir Botaniese Nomenklatuur (I.K.B.N.) nie (Hennebert en Korf, 1975).

(ii) Dematium ollare Pers. 1801

Persoon was die eerste om die veenskimmel volgens die binomiale nomenklatuur te benaam (Hennebert en Korf, 1975). Aangesien die beginpunt vir die nomenklatuur van die Fungi tot en met die einde van Augustus 1981 nie l.v.1753 (Linnaeus) was nie (dit was l.l.1821 [Stafleu, 1978]) was hierdie naam ook ongeldig onder die I.K.B.N. wat tot en met 31 Augustus 1981 van krag was. Hennebert en Korf het egter in 1975 al 'n verandering in die Kode, waarin die begindatum tot l.v.1753 teruggeskuif sou word, voorsien, wat dan tot gevolg sou hê dat Dematium ollare Pers. die vroegste geldig-gepubliseerde naam vir hierdie swam sou word. Hennebert (1973) plaas die veenskimmel egter in die genus Chromelosporium Corda, en met dieselfde voorsiene verandering in die I.K.B.N. in gedagte, benaam hy dit as Chromelosporium ollare (Pers.) Hennebert. Hennebert en Korf (1975) rugsteun hierdie benaming, maar erken ook terselfdertyd dat Chromelosporium fulvum (Link) McGinty, Hennebert en Korf eintlik die korrekte benaming moes wees totdat die verwagte verandering in die I.K.B.N. tot stand sou kom.

Die langverwagte verandering in die I.K.B.N. is in 1981 tydens die 13de Internasionale Botaniese Kongres in Sydney, Australië, verwesentlik (Korf 1982a; 1982b; 1983) en maak vir 'n gemeenskaplike beginpunt (l.v.1753) vir die nomenklatuur vir alle swamme, met uitsondering van die fossiele swamme, voorsiening. Daar is egter terselfdertyd ook bepaal dat beskermde status aan alle name vir die roesswamme, roetswamme en gasteromisete wat deur Persoon in sy Synopsis Methodica Fungorum (1801), en aan alle name vir die "fungi caeteri" (met uitsluiting van die slymskimmels) wat deur Fries in sy Systema Mycologicum (1821-1832) en in sy Elenchus Fungorum (1828) opgeneem is, verleen word. Hierdie name wat deur Persoon en Fries gebruik is, word as "sanctioned" beskou en moet voorkeurstatus bo enige ander naam, wanneer ook al

gepubliseer, geniet (Korf, 1982a; 1982b; 1983).

Die verskuiwing in die beginpunt vir die nomenklatuur van die Fungi het dus tot gevolg gehad dat Dematium ollare Pers. die eerste geldig gepubliseerde naam vir die veenskimmel geword het. Hennebert en Korf (1975) verduidelik egter dat Fries D. ollare in 1832 in sy Systema as 'n sinoniem van Botrytis fulva Link, wat hy weer na Sporotrichum fulvum (Link) Fr. oorgeplaas het, beskou het. Aangesien laasgenoemde naam in die Systema Mycologicum opgeneem is, verkry dit nou beskermde status bo enige ander naam en derhalwe sal dit volgens Korf (1983) die geldige epiteton verskaf indien die swam weer in 'n ander genus geïnkorporeer sou word.

Hieruit kan gesien word dat solank die veenskimmel dus as behorende tot die genus Chromelosporium beskou word, C. fulvum soos deur Hennebert en Korf (1975) genoem, steeds die korrekte naam vir hierdie swam sal bly. Volgens Korf (1983) se interpretasie van die nuwe kode, sal die korrekte naam van die veenskimmel dan as volg daar uitsien: Chromelosporium fulvum (Link:Fr.) McGinty, Hennebert en Korf (Coetzee en Eicker, 1985).

(iii) Botrytis fulva Link 1824

In sy Species Hyphomycetum et Gymnomycetum beskryf Link die veenskimmel onder die naam Botrytis fulva, en erken Dematium ollare Pers. as 'n sinoniem (Hennebert en Korf, 1975). Hy het dus die swam onnodiglik herbenaam, maar omdat Fries B. fulva en nie D. ollare in sy Systema opgeneem het nie (kyk voorafgaande bespreking), kry B. fulva voorkeur as die vroegste geldige naam vir hierdie swam en dien dit dan as basioniem vir die huidige korrekte benaming Chromelosporium fulvum. Aangesien geen oorspronklike of outentieke materiaal in beide Persoon óf Link se herbariums behoue gebly het nie, wys Hennebert in 1973 'n neotipe aan (Hennebert en Korf, 1975).

(iv) Botrytis luteo-brunnea Krzem. & Bad. 1955

Krzeminiowska en Badura het 'n fungus wat hulle uit grond geïsoleer het as 'n nuwe spesie, Botrytis luteo-brunnea, beskryf. Daar is later gevind dat hierdie swam identies aan die veenskimmel is (Hennebert en Korf, 1975).

(v) Mycotypha dichotoma Wolf 1955

Wolf (1955) beskryf die veenskimmel ook as 'n nuwe spesie, naamlik as Mycotypha dichotoma, behorende tot die Mucoraceae, maar vestig kort daarna (1957) die aandag daarop dat hy 'n fout begaan het en dat die organisme eerder 'n posisie naby Oedocephalum Preuss, Botrytis Pers.:Fr. en Rhinotrichum Corda (= Olpitrichum Atkinson [Barron, 1972]) moet beklee.

Die name van verskeie ander swamme is ook al telkemale verkeerdelik ten opsigte van C. fulvum gebruik, nl.:

(i) Polyactis crystallina Bon. 1824

Bonorden het 'n nuwe spesie, Polyactis crystallina, beskryf wat later deur Saccardo na die genus Botrytis verplaas is as Botrytis crystallina (Hennebert en Korf, 1975). Hierdie naam is, en word steeds, dikwels verkeerdelik deur verskeie outeurs gebruik wanneer na C. fulvum verwys word (Van der Vliet, 1960; Dieleman-van Zaayen, 1967; Vedder, 1978). P. crystallina is volgens Hennebert en Korf (1975) sonder twyfel die swam wat vandag as Chromelosporium coerulescens (Bon.) Hennebert bekend staan.

(ii) Botrytis spectabilis Harz 1871

Hierdie naam word deur Hennebert en Korf (1975) as 'n sinoniem van Chromelosporium ochraceum Corda beskou. In

1886 word dit egter verkeerdelik deur Oudemans ten opsigte van C.fulvum gebruik. Later verander die naam Botrytis spectabilis na Clonostachys spectabilis (Harz) Oud. & Sacc., en hierna is beide name, B.spectabilis en C.spectabilis verskeie kere verkeerdelik ten opsigte van C.fulvum gebruik (Hennebert en Korf, 1975).

(iii) Botrytis epigaea Link 1824

Botrytis epigaea Link is in werklikheid 'n sinoniem van Chromelosporium tuberculatum (Pers.) Hennebert (Hennebert, 1973; Hennebert en Korf, 1975). Volgens Hennebert en Korf (1975) wys Saccardo in 1886 op 'n moontlike verwantskap tussen B.epigaea en B.crystallina en Hennebert (1960) (ook volgens Hennebert en Korf [1975]) plaas beide hierdie swamme, wysende op die verskille tussen die twee, in die genus Ostracoderma.

Terselfdertyd plaas Hennebert (1960; volgens Hennebert en Korf, 1975) B.crystallina in **twyfelagtige** sinonimie met die veenskimmel wat hy "le stade conidien Ostracoderma de Plicaria fulva R. Schneider" noem. Volgens Hennebert en Korf (1975) redeneer Hellmers (ongepubliseerde kommunikasie tussen hulle) dat, op grond van Saccardo se beskrywings van 1886, B.crystallina net 'n onvolwasse stadium van B.epigaea verteenwoordig en plaas hy B.crystallina in verkeerdelike sinonimie met B.epigaea. Hy (Hellmers) aanvaar ook die twyfelagtige sinonimie van B.crystallina met die veenskimmel as werklike sinonimie en dit veroorsaak dan dat dit van B.epigaea, volgens hom, die oudste beskikbare naam vir die veenskimmel maak. Hy gebruik dit dan ook in sy kombinasie Ostracoderma epigaeum (Link) Hennebert (Hellmers, 1965; volgens Hennebert en Korf, 1975), 'n fout wat hy weer in 1969 herhaal (Hellmers, 1969). Volgens Hennebert en Korf (1975) is die outeursitaat óók verkeerd en moet dit wees: O.epigaeum (Link) Hennebert ex Hellmers of O.epigaeum (Link) Hellmers.

Die veenskimmel is dus deur die jare in totaal al aan nege verskillende genusse toegewys, nl.: Byssus [Micheli] L.; Botrytis Pers.:Fr. Dematium Pers.; Polyactis Link; Sporotrichum Link; Ostracoderma Fr.; Chromelosporium Corda; Clonostachys Corda en Mycotypha Fenner (Hennebert en Korf, 1975).

Hennebert en Korf (1975) vestig ook die aandag op die verkeerde toepassing van name van die veenskimmel op ander verwante swamme. Chromelosporium ochraceum, C.tuberculatum en C.carneum (Ehrenb.) Hennebert is swamme wat al deur die jare verkeerdelik as die veenskimmel beskou is.

Uit die voorafgaande kort bespreking behoort die verwarring wat in die taksonomie van hierdie swamme geheers het en waaroor daar eers in 1973 deur Hennebert en later volledig deur Hennebert en Korf (1975), asook deur Coetzee en Eicker (1985) klaarheid gebring is, duidelik te spreek.

Die huidige korrekte wetenskaplike benaming vir die veenskimmel is dus Chromelosporium fulvum. In 1980 publiseer Kendrick egter sy The generic concept in Hyphomycetes - A reappraisal. In hierdie amper rewolusionêre geskrif postuleer hy dat daar tans te veel hifomiseetgenusse bestaan en dat die konsolidering van verskeie genusse (op wyses wat indruis teen huidige aanvaarde kriteriums in die hifomiseettaksonomie) wenslik is. Hy stel onder andere voor dat die genusse Phymatotrichopsis Hennebert, Amphobotrys Hennebert, Dichobotrys Hennebert, Glischroderma Fuckel, Pulchromyces Hennebert, Chromelosporium Corda, Streptobotrys Hennebert, Verrucobotrys Hennebert en Botrytis Pers.: Fr. as een genus geamalgameer behoort te word. Daar sal gewag moet word om te sien hoe die mikologiese wêreld op Kendrick se voorstelle gaan reageer en watter invloed dit op die uiteindelijke status van die veenskimmel gaan hê.

Soos reeds in Tabel 1.1 gesien kon word, is C.fulvum die anamorfe of imperfekte stadium van Peziza ostracoderma, 'n diskomiseet.

Die nomenklatuur van die perfekte-, oftewel teleomorfiëse stadium is minder gekompliseerd as dié van C.fulvum, moontlik slegs omdat daar volgens Hennebert en Korf (1975) by die teleomorf nog nie so diep in die nomenklatuur gedelf is as in die geval van die anamorf nie.

Die eerste persoon om C.fulvum met sy teleomorf in verband te bring was blykbaar W.C. Sturgis, 'n Amerikaanse plantpatoloog van die negentiende eeu. Hy het die anamorf, wat hy as Clonostachys spectabilis geïdentifiseer het, en die teleomorf saam op dieselfde substraat versamel en was oortuig daarvan dat die twee swamme slegs verskillende stadiums van een en dieselfde fungus verteenwoordig. Daar is egter geen bewys dat hy ooit askospore gekiem het nie. Hy het die perfekte stadium as 'n nuwe spesie benaam (Discina cinerophila Sturgis in Ell. & Everh. 1896) maar blykbaar nooit die beskrywing gepubliseer nie, aangesien 'n deeglike soektog van alle moontlike literatuur nie so 'n beskrywing kon opspoor nie (Hennebert en Korf, 1975). Die naam is dus 'n "nomen nudum" sonder enige nomenklatoriese betekenis.

Korf was blykbaar eers in 1948 die volgende persoon om op die verband tussen die twee organismes te wys. Hy verwys na die perfekte stadium as 'n "blykbaar onbeskryfde spesie" van Galactinia Cooke, maar publiseer nie die naam nie (Hennebert en Korf, 1975).

In 1954 beskryf Schneider die perfekte stadium van die veenskimmel en noem dit Plicaria fulva Schneider. Korf (1961) meld dat die swam wat deur Schneider beskryf is dieselfde is as die "onbeskryfde spesie van Galactinia" waarmee hy vroeër te doen gehad het, maar voel dat dit eerder in die genus Peziza Dil. ex L. tuishoort. Schneider se spesifieke epiteton "fulva" kon egter nie gebruik word nie as gevolg van 'n vroeëre homoniem en Korf (1961) stel toe die naam Peziza ostracoderma Korf voor.

In 1978 berig Dissing en Korf dat die perfekte stadium van die

veenskimmel in der waarheid alreeds in 1868 deur P.A. Karsten beskryf is. Hy benaam dit as Peziza umbilicata Karsten. Hierdie naam kan egter nie gebruik word vir die teleomorf van C.fulvum solank dit in die genus Peziza geplaas word nie, aangesien P.umbilicata Karsten 1868 'n latere homoniem van die veel vroeër beskryfde P.umbilicata Pers. 1822 is. Karsten se naam is egter van belang aangesien dit die vroegste beskikbare spesifieke epiteton bied wat gebruik moet word indien hierdie swam uit die genus Peziza verwyder sou word.

Dennis identifiseer die perfekte stadium van C.fulvum in 1957 verkeerdelik as Peziza atrovinosa Cooke & Gerard, 'n diagnose wat volgens hom deur Le Gal ondersteun is. Die feit dat twee erkende diskomiseetkenners altwee die swam as P.atrovinosa geïdentifiseer het, het daartoe bygedra dat die naam daarna verskeie kere, onder andere deur Dieleman-van Zaayen (1967), Dennis (1968) en Hellmers (1969), verkeerdelik vir die perfekte stadium van C.fulvum gebruik is. Volgens Hennebert en Korf (1975) is daar in werklikheid 'n groot verskil tussen die twee spesies.

Korf (1972; 1973) beskou die genusse Plicaria Fuckel sensu Rehm en Galactinia as sinonieme van Peziza, terwyl die genus Discina (Fries) Fries, waarin Sturgis sy materiaal geplaas het, min verwant hou met die perfekte stadium van die veenskimmel (Hennebert en Korf, 1975). Hennebert en Korf (1975) beskou dus die genus Peziza as die mees korrekte takson en gevolglik beskou hulle die naam Peziza ostracoderma Korf as die korrekte naam vir die teleomorf van C.fulvum.

2.1.2 GEOGRAFIESE VERSPREIDING EN HABITAT

Voor die identifisering van C.fulvum in Suid-Afrika (Coetzee en Eicker, 1983; 1985) was die swam volgens die beskikbare literatuur slegs uit Europa, Asië en Noord-Amerika (d.w.s. uit die Noordelike Halfrond) bekend. Daar word dit dikwels by potplante en in plantkweekhuise aangetref waar dit al op grond (veral klam, ge-outoklaveerde of hittegesteiriliseerde grond),

sand, veen, steenkoolas, vermikuliet, kleipotte, saailingbeddings en klam organiese materiaal soos papier, karton en ou lappe gevind is (Schneider, 1954; Rieth, 1957; Fergus, 1960; Roll-Hansen, 1961; Hellmers, 1969; Hennebert en Korf, 1975). Dit word dikwels op die deklaag (gewoonlik stoomgesteriliseerde veen) van sampioenbeddings aangetref (Van der Vliet, 1960; Stoller, 1968; Hellmers, 1969; Sinden, 1971; 1972) en is ook al uit sampioenkompos geïsoleer (Stoller, 1968; Fergus, 1978; Harvey et al., 1982).

Die swam is egter nie tot kweekhuise beperk nie en is ook al van die pleister van mure, klam strooi, gebrande hout, woudgronde, mis en vanuit die geïnfekteerde oor van 'n vark geïsoleer (Hennebert en Korf, 1975). Verder kom dit ook in die lug as 'n samestellende deel van die aerospora voor (McMillen, 1961; Hennebert en Korf, 1975), terwyl Sallbach (1979) die voorkoms daarvan in komposterende munisipale afval en rioolslyk rapporteer.

Wolf (1955) berig die voorkoms van die veenskimmel op die oppervlak van kiemende dennesade, en alhoewel Hennebert en Korf (1975) wel noem dat dit verskeie kere al op lewendige plante aangetref is, was Kilpatrick (1977) die eerste om werklik ook plantpatogenisiteit aan te toon.

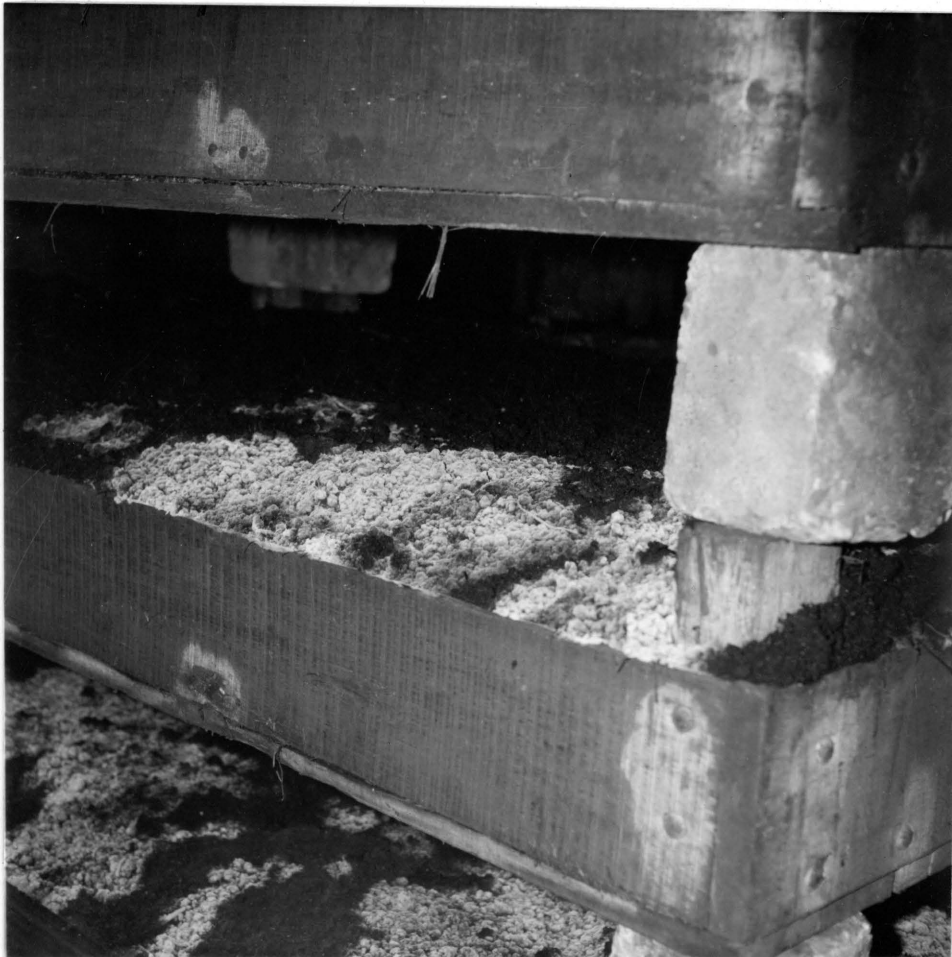
Alle versamelings van die veenskimmel wat tot op hede in Suid-Afrika gemaak is, was egter in sampioenkweekkamers in die Transvaal en Natal, waar dit op die deklaag, kweekkiste asook in die atmosfeer van kweekkamers voorgekom het.

2.1.3 DIE BELANG VAN DIE VEENSKIMMEL IN SAMPIOENKWEKKAMERS

Soos reeds gemeld, kom C.fulvum op sampioenbeddings voor waar dit as 'n onkruidswam beskou word. Volgens Sinden (1972) is dit een van die meer opvallende onkruidswamme waarmee die sampioenkweker te kampe het.

Alhoewel die veenskimmel gewoonlik as 'n onkruid van die deklaag beskou word (Van der Vliet, 1960; Hellmers, 1969; Sinden, 1971; Van de Geijn, 1976; Vedder, 1978) berig Stoller (1968) en Harvey et al. (1982) dat dit ook op en in die kompos kan voorkom en floreer. Volgens Fergus (1981) kan hierdie organisme nie fase II en die pasteurisering van die kompos daarna oorleef nie (hy noem 'n maksimumtoleransieperk van 60 minute by 55°C) en vind besmetting van die beddings dus tydens die inokulering van die kompos of daarna plaas. Indien infestasië plaasvind vóórdat die sampioenmiselium in die kompos gevestig geraak het, kan die swam dwarsdeur die kompos versprei, sporuleer en die groei van die sampioenmiselium effens vertraag, maar nie verhoed nie (Stoller, 1968). Sinden (1971) wys dan ook daarop dat C.fulvum wel effens inhiberend ten opsigte van sampioengroei is. Aangaande die vraag of hierdie inhibisie net aan inhiberende metaboliëte te wyte is, en of kompetisie ten opsigte van voedingstowwe sowel as ruimte ook 'n rol speel, heers daar volgens die literatuur nog onsekerheid. Trigiano en Fergus (1979) wys egter daarop dat C.fulvum oor sterk sellulolitiese vermoëns beskik en ook amilases en lipases produseer. Die swam is dus in staat om van die hoofbestanddele van die koringstrooi-perdemis-kompos wat by sampioenverbouing gebruik word as voedselbron te benut, en die moontlikheid van kompetisie mag dus nie uitgesluit word nie.

Volgens Stoller (1968) vind groei van C.fulvum op of in die deklaag op dieselfde wyse plaas as wat in die kompos die geval is, en verdwyn dit ook namate die sampioen beter gevestig raak (Van der Vliet, 1960; Stoller, 1968; Vedder, 1978). Vedder (1978) noem dat die veenskimmel nooit 'n digte laag op die deklaag vorm nie, maar slegs 'n wollerige groeisel bly. Dit is in teenstelling met die bevindings van outeurs soos Fergus (1960) en Stoller (1968) wat beweer dat die swam in digte matte op die deklaag kan voorkom. Hierdie digte matte van miselium en spore op die deklaag (Figuur 2.1) kan as 'n fisiese versper-ring optree wat die deurbreek van jong sampioene belemmer, terwyl die ondeurdringbaarheid daarvan ook die effektiewe benutting van die sampioenbeddings belemmer (Fergus, 1960;



FIGUUR 2.1 Chromelosporium fulvum op sampioenbeddings.

Wayland, Tongaat Mushrooms: persoonlike mededeling).

In ag genome die feit dat C.fulvum so dikwels in 'n gesteriliseerde substraat, veral waar oorsterilisering deur middel van stoom en hitte of formaldehied plaasgevind het (Van der Vliet, 1960; Vedder, 1978; Harvey, 1982; Harvey et al., 1982; Conte, 1984), dit wil sê waar kompetisie uitgeskakel is (Dennis, 1957; Fergus, 1960; Van der Vliet, 1960; Roll-Hansen, 1961; Stoller, 1968; Hellmers, 1969; Barron, 1972; Hennebert en Korf, 1975; Van de Geijn, 1976; Vedder, 1978), aangetref word, begin daar twyfel ontstaan rakende die swam se vermoë tot kompetisie. Roll-Hansen (1961) maak die stelling dat daar verskeie swamme, onder andere C.fulvum, is wat gewoonlik swak kompeteerd is en slegs onder relatief steriele toestande floreer en verdwyn wanneer die substraat weer 'n meer "normale" mikroflora verkry. Vedder (1978) gaan so ver om te sê dat die veenskimmel slegs groei waar daar geen kompeteerders voorkom nie, en Harvey (1982) noem die moontlikheid dat dit dalk selfs op die oorblyfsels van organismes wat deur die steriliseringsproses gedood is, voed. Alhoewel dit gevaarlik mag wees om te beweer dat C.fulvum glad nie tot kompetisie in staat is nie, skyn dit tog 'n swak kompeteerder van A.bisporus te wees. Stoller (1968) berig dat C.fulvum vinnig groei in die afwesigheid van sampioenmiselium, maar dat infeksie van beddings met aktief-groeiende sampioenmiselium gewoonlik tot klein kolletjies op die oppervlak beperk bly. Die veenskimmel verdwyn dan ook later vanself. Conte (1984) beweer egter dat "verswakte" sampioenmiselium nie in staat is om met C.fulvum (wat hy Botrytis crystallina noem) te kompeteer nie.

Aanvanklik reken Harvey (1981) dat dit onwaarskynlik is dat C.fulvum die finale sampioenopbrengs sal beïnvloed, maar rapporteer tog later dat dit 'n effense vermindering in opbrengs tot gevolg mag hê (Harvey et al., 1982). Hierteenoor staan die bevindinge van Chen (1981) wat beweer dat P.ostracoderma patogenies is en vir tot 59 persent laer opbrengste verantwoordelik kan wees. Na aanleiding van die illustrasies

in sy artikel ontstaan daar egter twyfel aangaande die identiteit van die swam waarmee hy te make gehad het. In ooreenstemming met Chen (1981) lys Olivier (1987) P.ostracoderma egter ook as 'n parasitiese patogeen van die gekweekte sampioen. Wat egter ook al die geval mag wees, wil dit voorkom dat 'n swaar infestasië gewoonlik tot 'n vertraging in die deurbreek van die eerste sampioene lei (Van der Vliet, 1960; Stoller, 1968; Van de Geijn, 1976; Vedder, 1978; Harvey et al., 1982), 'n verskynsel wat weer eens na inhibisie en/of kompetisie teruggevoer moet word.

Bo en behalwe die feit dat die veenskimmel sampioenmiseliëmgroei mag inhibeer en die eerste breek vertraag, het dit ook nog ander nadelige invloede in sampioenkweekhuise. Die veenskimmel is 'n swam wat baie sterk sporuleer (Stoller, 1968; Hellmers, 1969) en tydens 'n swaar uitbraak daarvan op die beddings bou geweldige spoorladings in die kweekkamers op wat tot allergiese respiratoriese probleme by werkers in die kamers kan lei (Van der Vliet, 1960; Hellmers, 1969; Van de Geijn, 1976; Vedder, 1978). Ook wys Dieleman-van Zaayen (1967) daarop dat die teleomorf, P.ostracoderma, moontlik as 'n vektor vir die sampioenvirus I kan optree.

Soos reeds genoem, word onkruidswamme soms ook as indikatorswamme beskou. Volgens Atkins (1977) beskou Fletcher en Atkinson (1976) C.fulvum as 'n indikator van 'n nat deklaag, maar soos Atkins tereg opmerk, is 'n nat deklaag 'n noodsaaklikheid vir sampioenverbouing en is dit miskien beter om soos Vedder (1978) te sê dat dit eintlik 'n té nat deklaag is wat groei van die swam bevorder. Verder kan daar uit Van der Vliet (1960) en Vedder (1978) afgelei word dat die voorkoms van die swam dalk veral op 'n oorgesteriliseerde deklaag mag dui, 'n mening wat ook deur Harvey (1982), Harvey et al. (1982) en Betterley (1983) gehuldig word. Laasgenoemde outeur beskou dit ook as indikatief van 'n oneweredige verspreiding van die plantaardige olies wat soms voor fase II, tydens die vul van die kweekkiste, by die kompos gevoeg word. So 'n oneweredige verspreiding mag,

volgens hom, oppervlakopbloei tot gevolg hê. Volgens Betterley (1983) dui die voorkoms van C.fulvum ook op oliespatsels op die houtkiste. Verdere faktore wat die groei van C.fulvum in sampioenweekkamers gunstig beïnvloed, is hoë relatiewe lughumiditeit (hoër as 90-96 persent), asook relatief hoë temperature (Van de Geijn, 1976; Vedder, 1978). Die hoër produksietempo deesdae van tot ses oeste per jaar (in vergelyking met die vroeëre een of twee oeste) bied ook aan die swam meer geleentheid tot voortplanting (sporulering), met 'n gevolglike verbeterde kans op oorlewing (Stoller, 1968). Van de Geijn (1976) en Vedder (1978) noem ook dat die veenskimmel dikwels op beddings aangetref word waar die sampioenmiselium as gevolg van afsterwingsiekte ("dieback") nie genoegsaam in die deklaag ingegroei het nie. Volgens Vedder (1978) lei enige verswakking in die groei van die sampioen daartoe dat C.fulvum meer dikwels, en in groter hoeveelhede, sal voorkom. Dit kan dalk aan die hand van die stelling van vroeër, dat die veenskimmel 'n swak kompeteerder van die sampioen is en dit moeilik vind om dieselfde habitat met die sampioen te deel, verklaar word. Word die sampioen egter verswak, is die kompetisiepotensiaal van die veenskimmel beter en kan dit dalk 'n vastrapplek op die beddings kry.

2.1.4 VERDERE BELANG VAN DIE VEENSKIMMEL

Volgens Poppe et al. (1985) word P.ostracoderma (hy noem dit Plicaria fulva), die teleomorf van die veenskimmel, ook as kompeteerder in die kommersiële verbouing van Pleurotus spesies in België aangetref.

Omdat die veenskimmel soos reeds gemeld ook baie algemeen in plantkweekhuise voorkom, is dit nie net vir die sampioenbedryf van belang nie, maar ook vir die kwekers van verskeie ander gewasse. In 1955 berig Wolf oor die voorkoms van die swam op kiemende sade van Pinus elliotti Engelm., maar meld nie of dit enige nadelige invloed op die sade of kieming gehad het nie. Roll-Hansen (1961) illustreer 'n swaar uitbraak van C.fulvum op tamatiebeddings in 'n glashuis met goeie kleurfoto's en berig dat hoewel die swam die tamatieplantjies nie direk aanval nie,

dit groot dele van die beddings bedek en die "versmoring" van jong saailinge en steggies kan veroorsaak. Dit is in ooreenstemming met Fergus (1960) se stelling dat plante wat in beddings groei wat met 'n digte laag C.fulvum bedek is, dikwels in groei vertraag word en dat die miseliale massa amper ondeurdringbaar vir water is. Hellmers (1969) berig ook dat die swam die groei van Begonia sp. en Petunia sp. saailinge in sekere Deense kwekerie, waar stoomgesteriliseerde veen gebruik is, belemmer het.

Hoewel Hennebert en Korf (1975) meld dat C.fulvum al verskeie kere in assosiasie en somtyds op lewende individue van verskeie plantgewasse waargeneem is, maak hulle geen melding van enige patogenisiteit deur die swam nie. In 1977 berig Kilpatrick egter dat die veenskimmel wel patogenies kan wees en dat dit verwelkingsiekte ("damping-off") van Crambe abyssinica Hochst. ex R.E. Vries saailinge, wat in nie-steriele veen gekweek is, veroorsaak het. C.abysinica was egter die enigste vatbare gasheer uit die 22 gewasse wat deur hulle ondersoek is.

C.fulvum is ook al deur mediese mikoloë as 'n luggedraagde laboratoriumkontaminant gerapporteer (McMillen, 1961). Verdere melding daarvan as 'n laboratoriumkontaminant kom ook van Hughes en Bisalputra (1970), terwyl Noble in 1976 skryf: "If ever a fungus earned the title 'laboratory weed' this one has...".

2.1.5 KENMERKE VAN DIE VEENSKIMMEL OP SAMPIOENBEDDINGS

Die eerste teken van 'n C.fulvum-infeksie op 'n bedding is 'n ronde kol wit miselium wat vinnig in grootte toeneem (Van de Geijn, 1976; Vedder, 1978). Stoller (1968) meld egter dat die miselium in kleur kan varieer van wit tot grys tot kleurloos en onopvallend. Vedder (1978) meld dat die miselium yl en wollerig bly, terwyl verskeie ander outeurs (kyk vroeër) dit onomwonde stel dat dik matte van miselium gevorm word. Na 'n rukkie begin die swam sporuleer en verkleur die middel van die kolonie na wat al as geelbruin (Van de Geijn, 1976), geel-kaneel (Fergus, 1960), kaneelbruin (Stoller, 1968; Vedder, 1978) en

kerriekleurig (Hellmers, 1969) beskryf is. Aan die rand, waar groei nog aktief plaasvind, behou die kolonie egter nog 'n wit kraag (Van de Geijn, 1976; Vedder, 1978). Vir Noble (1976) het die sporulerende kolonies die voorkoms van "... grains of crystalline sand."

Volgens Vedder (1978) is die veenskimmel maklik van die bruin pleisterskimmel (Papulaspora byssina Hotson) onderskeibaar deurdat laasgenoemde 'n growwer, korrelriger tekstuur het en nie soos die veenskimmel wolke spore produseer nie.

2.1.6 BEHEERMAATREËLS

Waar die veenskimmel by ander gewasse as sampioene probleme skep, sal swamdoders sekerlik die gerieflikste beheermetode bied, maar literatuur hieroor is skaars en bevat teenstrydighede.

Hellmers (1969) berig dat 'n bespuiting van die grondoppervlak van Gerbera sp.-saadbeddings met mankoseb (Dithane M-45) teen 'n sterkte van 1:500, die groei van C.fulvum doeltreffend beheer het. In gevalle van onbedekte sade beveel hy 'n sterkte van 0,5-1,0:1000 aan.

In pogings om die reeds genoemde verwelkingsiekte van Crambe abyssinica-saailinge in kommersiële veenblokkies te bestry, vind Kilpatrick (1977) dat stoomsterilisering van die blokkies slegs tydelike beheer teen C.fulvum bied en dat herinfeksie gou weer plaasvind. Hy ondersoek ook die doeltreffendheid van drenkbehandelings met die fungisiede tiram en kaptab. In beide gevalle is 'n behandeling van 50 cm³ per drenking (teen 'n konsentrasie van 1,85 mg swamdoder per dm³ water) toegedien. Twee sterktes tiram (65 persent en 75 persent aktiewe bestanddeel) is getoets en behandelings bestaande uit van drie tot vyf opeenvolgende drenkings het slegs tydelike beheer aan die buitekante van die blokkies tot gevolg gehad. In die binnekante van die blokkies kon beheer nie bewerkstellig word nie en die

saailinge het binne drie tot vier weke na behandeling gevrek. Twee tot ses opeenvolgende kaptabdrenkings (50 persent aktiewe bestanddeel) het soortgelyke resultate gelewer. In hierdie geval het die swamdoder egter ook nog die groei van die saailinge nadelig beïnvloed. Volgens Kilpatrick (1977) was tiram en kaptab dus nie doeltreffend nie, 'n bevinding teenstrydig met Roll-Hansen (1961) se aanbeveling dat kaptab beheer van C.fulvum op beddings sal bewerkstellig.

Oor die gevoeligheid van C.fulvum (in vitro op aartappel dekstrose-agar) ten opsigte van benomil (50 persent aktiewe bestanddeel) rapporteer Bollen en Fuchs (1970) 'n ED₅₀ waarde van tussen 1 en 5 mg.dm⁻³ (gebaseer op twee isolate). Aangesien die swam dus wel ook benomilgevoelig is, mag dit dalk nog 'n moontlike beheermetode bied.

Waar die gewas wat beskerm moet word 'n swam is, is die situasie soos in hoofstuk een verduidelik, meer gekompliseerd. Volgens Vedder (1978) is daar basies drie moontlike weë wat gevolg kan word in die beheer van onkruidswamme op sampioenbeddings, naamlik: (i) die gebruik van chemikalieë, (ii) die handhawing van 'n hoë graad van higiëne en (iii) 'n aanpassing van die groeimethodes en -toestande (ekologiese beheer).

Die kwessie van chemikalieë (swamdoders) versus ekologiese beheer en higiëne is reeds kortliks in hoofstuk een genoem en verdere aandag sal nie daaraan geskenk word nie. Vir die huidige sou die totale uitskakeling van alle chemikalieë egter irrasioneel wees, veral waar dit vir die handhawing van goeie higiëne, of as 'n laaste toevlugsmiddel teen probleemswamme, onontbeerlik mag wees. Met betrekking tot C.fulvum-beheer beveel Vedder (1978) aan dat nuut-bedekte beddings liggies met mankoseb- of sinebpoeier bestuif moet word, terwyl die beddings ook met benomil (15 g per dm³ water per m² groeioppervlakte) bespuit kan word. Van de Geijn (1976) sien die gebruik van bestrydingsmiddels egter as "niet zinvol" en Sinden (1971) is die mening toegedaan dat geen chemiese beheer tydens die oes

moontlik is as onkruidswamme eers gevestig geraak het nie. Soos reeds genoem, verdwyn C.fulvum darem egter gewoonlik vanself namate die sampioen self meer gevestig raak.

Indien Fergus (1981) se bevinding dat besmetting van die sampioenbeddings ná pasteurisering van die kompos plaasvind korrek is, behoort dit duidelik te wees dat goeie higiëne op die plaas van die uiterste belang in die voorkoming van C.fulvum-infeksies sal wees. Sinden (1971; 1972) noem as voorbeeld die daarstelling van betonvloere vir komposterings- en groei-areas. Die beton bied isolasie teen die grond en kan ook gewas word. Hierdie twee eienskappe dra baie tot die uitskakeling van onkruidswamme by. Ander faktore soos goed gefiltreerde ventilasie (Harvey [1981] spesifiseer 'n 90-95 persent effektiewe verwydering van alle partikels van $1\ \mu\text{m}$ en groter), deure wat dig sluit, skoon werkersklere, effektiewe insekbeheer, die gereelde verwydering van gemors en sampioenreste, na-oes ontsmetting en die gereelde ontsmetting van gereedskap, masjinerie en geboue met 'n 2 persent formaldehydoplossing is alles noodsaaklik vir die effektiewe beheer van onkruidswamme. Gereedskap behoort na elke gebruik ontsmet te word, terwyl 'n daaglikse ontsmetting van die werks gange wat tot die groeikamers toegang verleen, wenslik is.

Formaldehyd kan ook, in plaas van stoom, vir die ontsmetting van deklaaggrond aangewend word. Volgens Olivier (1987) word hierdie metode (asook die gebruik van chloor) deur sommige Franse kwekers toegepas en waarsku hy dat stoom die gevaar van Peziza-besmetting mag verhoog. Vedder (1978) beveel ongeveer $1\ \text{dm}^3$ formaldehyd per m^3 grond aan, terwyl Van de Geijn (1976) $2\ \text{dm}^3$ per $100\ \text{dm}^3$ water per $100\ \text{m}^2$ groeioppervlakte aanbeveel. Die behandelde grond moet met plastiek bedek en vir twee dae met rus gelaat word, waarna baie goeie belugting nodig is. Soos gesien, moet daar egter teen 'n oorsterilisering van die grond, wat weer gunstige toestande vir herkolonisering deur die veenskimmel tot gevolg sal hê, gewaak word. Direk nadat die deklaag op die beddings geplaas is, kan dit weer met

formaldehyd bespuit word ($0,25-0,5 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-3}$ grond), waarna die kamer oornag toegehou moet word. Goeie ventilering is daarna weer noodsaaklik. Dit is wenslik dat die formaldehyd altyd met water verdun word. Tussen breke (maar nie voor die tweede breek nie) kan die beddings verder deur bespuitings met 'n $0,2-0,3$ persent formaldehydoplossing ontsmet word. Kommersiële graad formaldehyd word deurgaans gebruik (Vedder, 1978).

Daar is reeds op die gevare van 'n oorsterilisering van die kompos en deklaag gewys. Hoewel Van de Geijn (1976) om dieselfde redes (en ook omdat dit volgens hom tot opbrengsverlagings lei) die gebruik van stoom ontmoedig, word stoomsterilisering steeds baie algemeen in die sampioenbedryf toegepas, veral vir die sterilisering van die deklaaggrond en die uitkook van die kamers en beddings aan die einde van 'n oes. In sy aanbevelings ter bekamping van C. fulvum stel Vedder (1978) dus voor dat die deklaag nie volkome gesteriliseer moet word nie. Hier mag Wuest en Moore (1972) se resultate handig te pas kom. Hulle het gevind dat 'n 30-minuut behandeling van 'n grondmonster met belugte stoom by $48,9^\circ\text{C}$ 'n algehele ontsmetting van C. fulvum bewerkstellig het, terwyl $54,5^\circ\text{C}$ genoeg was om al die probleemswamme wat ondersoek is te dood. Sulke behandelings behoort nie 'n algehele sterilisasie van die grond tot gevolg te hê nie en herinfeksie deur C. fulvum behoort dus moeiliker plaas te vind. Stoombehandeling sou natuurlik sinneloos wees nadat die substraat reeds met sampioenmiselium gekoloniseer is.

Volgens Gandy (1976) kan daar ook van metielbromiedberoking vir na-oes ontsmetting gebruik gemaak word, maar sy noem dat sommige algemeen voorkomende swamme soms so 'n beroking kan oorleef. In die betrokke artikel gee Gandy 'n goeie uiteensetting van die voor- en nadele van hierdie metode.

Vir die doeltreffende ontsmetting van groeikiste en/of ander houtvoorwerpe word bespuiting met natriumpentachloorfenolaat (Santobrite) aanbeveel (Stoller, 1968; Vedder, 1978). Na

bespuiting moet die hout oornag gelaat word vir die middel om in te dring, waarna die houtwerk baie goed met water gespoel moet word. Tans is die gebruik van hierdie middel op sampioenplase egter ontoelaatbaar.

'n Voorbeeld van 'n verandering in kweekmetode wat 'n daadwerklike vermindering van onkruidswamme tot gevolg gehad het, is die ontwikkeling van die kortkomposteringsproses. Met hierdie proses is fase I met ongeveer sewe tot tien dae verkort, met die gevolg dat oorkompostering, wat gunstige toestande vir etlike onkruidswamme skep, byna heeltemal uitgeskakel word. Die toepassing van piekverhitting tydens fase II was ook 'n groot stap vorentoe in die beheer van verskeie probleemswamme deurdat dit as 'n pasteuriseringsproses dien (Sinden, 1971).

Stoller (1968) beveel die byvoeging van ongeveer 4,5 kg fyn kalkklip per m^3 kompos aan ter voorkoming van C.fulvum. Dieselfde behandeling beheer egter nie die groei van die swam in die deklaag nie en volgens Stoller is dit onbekend watter uitwerking die kalkklip in die kompos het. Hy noem egter dat die veenskimmel op die deklaag in 'n mate in bedwang gehou kan word deur middel van bestuiwing met wat hy "limestone byproduct" noem. Laasgenoemde is 'n byproduk van die vervaardiging van sement en bestaan uit 83 persent kalsiumkarbonaat, 0,85 persent natriumoksied en 3,5 persent kaliumoksied. Volgens Stoller kan die uitwerking van hierdie stof aan die hoë alkaliniteit daarvan (pH 13,1) toegeskryf word.

Volgens Gandy (1974) is dit moeilik om 'n kompos wat heeltemal vry van onkruidswamme sal wees, te berei, en moet daar gepoog word om toestande wat spoorkieming en die groei van probleemswamme sal bevorder, te vermy. Vir C.fulvum beveel Van de Geijn (1976) aan dat die relatiewe lughumiditeit (RH) nie hoër as 95 persent moet wees nie. Vedder (1978) noem ook dat die RH nie te hoog moet wees nie, maar gaan verder en waarsku ook teen té nat deklae en té hoë temperature in die groeikamers.

In 1983 publiseer Tautorus en Townsley baie belowende resultate met betrekking tot die biologiese beheer van 'n ander onkruidswam van sampioenkweking, Chaetomium olivaceum Cooke en Ellis, wat uit die aard van die saak die hoop laat ontstaan dat iets soortgelyks in die toekoms ook dalk met C.fulvum moontlik sal wees.

2.1.7 KONIDIUMONTOGENIE

In 1970 berig Hughes en Bisalputra oor 'n deeglike elektronmikroskopiese studie van die konidiumontogenie van C.fulvum. Hulle werk bevestig die posisie van Chromelosporium onder die Botryoblastosporae soos deur Barron (1968) omskryf. Volgens hulle verloop die proses soos volg: 'n Jong, onvertakte konidiofoor ondergaan 'n swelling aan die punt en vertak dan digotomies (soms ook trigotomies [Schneider, 1954]) om twee ampullas te vorm. Vervolgens ontwikkel septums wat die twee sytakke van die hoofas afsnoer. Die twee ampullas verleng en kan verder digotoom vertak totdat daar twaalf tot sestien verlengde ampullêre sytakke op elke hoofas gedra word. Voordat konidiums op hierdie sytakke ontwikkel, swel die terminale sytakke eers effens uit. Die gelyktydige, gesinchroniseerde verskyning van klein doringagtige stekeltjies op al die ampullas van 'n konidiale hofie dui die begin van konidiumontwikkeling aan. Aan die punt van elke tandjie verskyn 'n bolagtige uitswelling wat vergroot om later die volwasse konidium te vorm. Tydens die "uitblaas" van die konidiums beweeg sitoplasma en kernmateriaal uit die ampulla in die konidium in, en wanneer die konidiumontwikkeling voltooi is, is die ampullas bykans leeg. Volgens Wolf (1955) duur dit ongeveer twee tot vier uur vanaf die verskyning van die tandjies totdat die volwasse konidiums gevorm is. Daar vind geen skeuring van die ampullawand tydens die uitswel van die konidiums plaas nie en die wand van die konidium is dus net 'n uitgroeiing aaneenlopend met die ampullawand. Na vorming van die volwasse konidium word dit deur middel van 'n septum in die tandjie van die ampulla afgesnoer. Hughes en Bisalputra (1970) som die hele proses

soos volg op: "Botryose solitary blastoconidia are produced synchronously on swollen branched ampullae through a process that involves what Kendrick et al. have termed the development of localized 'soft spots' in the ampullae which 'balloon out' to produce the conidia."

Volgens Kendrick (1971) is die konidiumontogenie dus holoblasties en kan C.fulvum soos volg by wyse van sy ontogenie-gebaseerde sisteem vir die Fungi Imperfecti geklassifiseer word: 1a, 2a, 3d, 4a, 5a, oftewel blasties, holoblasties, bepaalde stabiele konidiogene selle, enkel konidiums en veelvoudige gesinchroniseerde konidiogene lokusse respektiewelik.

Volgens Hughes en Bisalputra (1970) is 'n prominente eienskap van ontwikkelende konidiums van C.fulvum die groot aantal lomasome wat teen die wande van die tandjies en jong konidiums vasgedruk voorkom. Die funksie van hierdie vesikulêre strukture is in 'n groot mate nog onbekend, maar Hughes en Bisalputra (1970) is die mening toegedaan dat dit met aktiewe selwandsintese gemoeid mag wees.

Robinow (1981) wys daarop dat die organelle wat hy NAO'S, oftewel "nucleus-associated organelles" noem, ook al by C.fulvum waargeneem is. Tydens mitose ontstaan die mikrotubules uit hierdie organelle.

2.1.8 DIVERSE BIOLOGIESE GEGEWENS

Volgens Schneider (1954) groei C.fulvum goed op 'n breë reeks voedingsmediums en kiem konidiums by 19°C op moutagar binne 12-18 uur, terwyl konidiofore na drie dae se groei waargeneem kan word. Kieming van die konidiums vind tussen 9°C en 35°C plaas, maar die temperatuuroptimum is 31°C. Groei vind plaas in 'n pH-gebied van 4-11,4, met die pH-optimums vir vegetatiewe groei en konidiumproduksie tussen 6,6 en 7,4; en 4,9 en 5,4 onderskeidelik.

Schneider noem verder dat askospore van P.ostracoderma binne 24 tot 48 uur by 19°C op moutagar kiem. Meer as een kiembuis, wat óf dadelik in 'n konidiofoor ontwikkel, óf aan vegetatiewe miselium oorsprong gee, kan gevorm word. Na vier dae by 19°C het kolonies 'n deursnee van 45 mm bereik. Volgens Fergus (1978) bereik kolonies op 'n gisektrak en stysel gebaseerde medium 'n deursnee van 85-86 mm na vier dae by 30-32°C. By 41°C was die deursnee 10 mm, terwyl geen groei by 45°C plaasgevind het nie.

In 1971 doen Fergus 'n gedetailleerde studie van C.fulvum-spoor-kieming. Kieming by 25°C op verskeie kommersiële voedingsmediums was goed, naamlik ongeveer 25 persent na drie uur, 50 persent na ses uur en 92-98 persent na tien uur, en behalwe vir moutekstrakagar waar kieming effens geïnhibeer is, was daar min variasie op die verskillende mediums. Kieming was min of meer dieselfde op soliede en in vloeibare kultuurmediums. Na tien uur is 85 persent kieming in gedistilleerde water waargeneem en dit wil dus voorkom asof kieming nie van 'n eksterne voedingsbron afhanklik is nie. Die minimum temperatuur waarby kieming in 'n vier persent glukose-oplossing plaasgevind het was onder 3°C, terwyl die maksimum bokant 38°C gelê het. Optimale kieming is oor 'n breë temperatuur-gebied van 20-33°C waargeneem. Uit die waarnemings dat kieming by 3°C eers na 42 uur en by 20°C na slegs twee en 'n half uur 'n aanvang neem, wil dit voorkom of die latente periode voor kieming grootliks deur temperatuur beïnvloed word. Konidiums wat onder optimale temperatuurstoestande kiem, swel binne twee uur tot twee maal hul oorspronklike grootte, en na twee en 'n half uur kan 'n enkele kiembuis waargeneem word. In 'n sitraat-fosfaatbuffer het kieming tussen pH 3 en 8 (met 'n optimum by 6) plaasgevind, maar kieming by 'n pH van hoër as agt is heel waarskynlik ook moontlik. Droë konidiums by verskillende relatiewe humiditeite het glad nie gekiem nie en 'n waterfilm is dus vir kieming nodig.

Dit wil voorkom asof temperatuur 'n invloed op konidiumgrootte

het, aangesien Hennebert (1960), volgens Hellmers (1969), afmetings van 5-11 μm by 15-18°C en 10-21 μm by 27-28°C rapporteer.

Soos reeds genoem is 'n 30-minuut belugte stoombehandeling teen 48,9°C genoeg om C.fulvum te dood, maar 15 minute teen 71,1°C is ook voldoende (Wuest en Moore, 1972).

Volgens Domsch et al. (1980) berig Ilag en Curtis (1968) dat C.fulvum etileen kan produseer. In die oorspronklike artikel van Ilag en Curtis (1968) word egter net van Botrytis spectabilis, 'n sinoniem van Chromelosporium ochraceum, melding gemaak. Hoewel die naam B.spectabilis in die verlede al verkeerdelik ten opsigte van C.fulvum gebruik is, kan daar uit die literatuur nie met sekerheid vasgestel word of dit in hierdie geval ook gebeur het nie. Volgens Domsch et al. (1980) noem Domsch (1960) dat C.fulvum sellulose en stysel kan benut, en hierdie bewering word deur die werk van Trigiano en Fergus (1979), wat aangeteken het dat die swam sellulase, amilase en lipase ensieme produseer, gestaaf. Laasgenoemde outeurs kon egter geen fenol-oksidasie-aktiwiteit, wat 'n aanduiding van die swam se lignienafbraakvermoë mag wees, waarneem nie.

2.1.9 BESKRYWING VAN DIE VEENSKIMMEL

Verskeie formele beskrywings van die veenskimmel is al gepubliseer (Schneider, 1954; Wolf, 1955; Hellmers, 1969; Hennebert en Korf, 1975), maar vir die doel van hierdie literatuuroorsig word slegs die baie volledige beskrywing van Hennebert en Korf (1975) gegee.

Anamorf:

Kolonies (in die natuur of in kultuur) is vinnig-groeiend, aragnoïed, fluweel- tot katoenagtig en wit of geel, maar taan- of kaneelkleurig by sporulering.

Hifes delikaat, breed, meestal platliggend, maar met sommige ook

verhewe, los en ineengevleg, anastomerend, hialien tot bleek taankleurig, vertak, gesepteerd en dit stort maklik ineen. Konidiofore mononematies, enkel of in groepies, regop en divergerend en het oorsprong uit platliggende óf verhewe hifes, 0,3-1 mm hoog. Die konidiofoorsteel is silindries, 130-600 x 8-17 μm , hialien tot taankleurig, yl gesegmenteerd en nouer aan die basis. Die konidiofore is aan die toppunte een tot vyf keer digotoom vertak, met die digotomieë naby mekaar gespaseer, dikwels byna simmetries gesepteer by die sameloop van die digotomieë. Die vertakkings is uitstralend, 10-13 μm in deursnee en eindig in effens geswolle, knotsvormige, apikaal afgeronde konidiogene selle wat gelyktydig of progressief vanaf die eindpunte tot by die tweede digotomie daaronder, konidiums produseer. Die konidiofoor stort uiteindelik by die septums van óf die eerste óf die tweede digotomie ineen en die steel bly as 'n stompie oor. Die konidiums word enkel op 'n steeltjie of puntjie, 3 μm lank en 1 μm breed, gevorm, is dig en onreëlmatig op die oppervlak van die konidiogene sel gerangskik, bolvormig in bo-aansig, raapvormig in syaansig, dunwandig, glad, taankleurig en 5-13 μm in deursnee (dikwels met 'n gemiddeld van 7,5 μm , maar by sommige stamme is die konidiums meestal kleiner of groter as die gemiddeld). Wanneer die konidiums van die konidiogene sel losraak, bly 'n oorblyfsel van die steeltjie as 'n kragie aan die konidymbasis agter.

Teleomorfe:

Apotekiums aanvanklik diep koppie- tot kruikvormig, maar wanneer dit 'n grootte van 5-7 mm in deursnee bereik, plat dit uit tot vlak koppie- of skyfvormig. Later plat dit heeltemal af en kan die rande ook terugbuig. Dit het dikwels 'n onreëlmatige vorm, is selde op een of meer plekke geskeur en is 5-15 mm (selde tot 20 mm, en in een versameling tot 30 mm) in deursnee. Himenium taankleurig tot donkerbruin ("Brussels Brown", "Saccardo's UMBER", "Argus Brown" of "Dresden Brown" (Ridgway), Séguy S131 tot S176). Eksipulum gepruïneer, min of meer deurskynend, soms met 'n besliste sweem van violet ("Natal Brown", "Drab", "Olive Brown", "Russet", "Rood's Brown" of "Vandyke Brown" [Ridgway],

Séguy S336 tot S162 of S147). By breking van die vrugliggaam kan gesien word dat die kleur byna uitsluitlik tot die himenium beperk is, terwyl die medullêre en eksipulêre weefsels bleek-deursigtig is. In deursnee is die ektale en medullêre eksipulum ineenlopend, 750-2000 μm dik en gee die heel buitenste laag van klein selletjies oorsprong aan hife-agtige hialiene hare, 50-100 μm in lengte, dikwels onreëlmatig gegolf tot opgedraai en somtyds vertak. Die binneste ektale eksipulum en medullêre eksipulum bestaan uit 'n mengsel van sferiese tot sferies-peervormige selle (meestal 20 x 20 μm tot 50 x 70 μm) versprei tussen hifes van 6-9 μm in deursnee. Die subhimenium is nie gedifferensieerd nie. Askusse 200-320 μm x 10-12 (-15,5) μm , silindries-knotsvormig, operkulaat, jodium positief, 8-sporig (baie selde met 4 spore) en ontwikkel uit 'n askushaak. Askospore hialien, ellipsoïdaal, 10,9-12,4 (-13,6) x 6,1-7,2 (-7,5) μm (sonder die wandskulptuur), met twee oliedruppels, aanvanklik glad, later gevrat en uiteindelik by volwassenheid met 'n delikate sianofiliese retikulum. Parafises draadvormig sonder apikale swellings, ongeveer dieselfde lengte as die askusse, 2(-4) μm in deursnee en met 'n amorfe bruinerige inhoud.

2.2 VERTICILLIUM FUNGICOLA

2.2.1 TAKSONOMIE EN NOMENKLATUUR

Volgens Gams (1971) is die swam wat tans as Verticillium fungicola bekend staan alreeds in 1851 deur Preuss as Acrostalagmus fungicola Preuss benaam. In 1936 vind Hassebrauk 'n swam op Puccinia coronata Corda (= Puccinia coronifera Kleb.) en kom tot die gevolgtrekking dat dit identies aan Preuss se A.fungicola is. Intussen is die genus Acrostalagmus Corda egter met die genus Verticillium Nees:Fr. verenig (Hassebrauk, 1936), wat V.fungicola dus die korrekte naam vir hierdie swam gemaak het. Reeds in 1931 pas Jonker hierdie benaming toe (Gams, 1971), maar publiseer die naamsverandering nooit geldiglik nie. Dit is eers in 1936 dat Hassebrauk die nuwe naam wettiglik publiseer, naamlik as Verticillium fungicola (Preuss)

Hassebr.

In 1981 maak Van Zaayen van 'n nuwe Verticillium sp. patogeen van Agaricus bitorquis melding. Gams en Van Zaayen (1982) beskryf hierdie swam as 'n variëteit van V.fungicola, naamlik Verticillium fungicola var. aleophilum W. Gams en Van Zaayen. Terselfdertyd word die organisme wat in die verbouing van A.bisporus probleme skep as Verticillium fungicola (Preuss) Hassebr. var. fungicola herbeskryf. Volgens Gams en Van Zaayen (1982) is die enigste konstante verskil tussen die twee variëteite hul onderskeie maksimum groeitemperatuur. Gams en Van Zaayen (1982) beskryf ook 'n derde variëteit van V.fungicola, naamlik Verticillium fungicola var. flavidum W. Gams en Van Zaayen, maar volgens Van Zaayen en Gams (1982) is hierdie organisme nie patogenies op Agaricus spesies nie. Tensy uitdruklik anders genoem, word daar, waar daar verder in hierdie bespreking na V.fungicola verwys word, V.fungicola var. fungicola geïmpliseer.

Volgens Gams (1971) was Constantin en Dufour in 1892 die eerste om 'n gedetailleerde beskrywing van V.fungicola te gee. Hulle het die swam egter nie korrek geïdentifiseer nie en dit net as "Verticillium à petites spores" beskryf, menende dat dit slegs 'n stadium in die lewenssiklus van Mycogone perniciosa Magn. verteenwoordig. In 1924 wys Smith egter daarop dat dit in der waarheid 'n totaal ander swam is en beskryf terselfdertyd 'n Britse isolaat, wat hy as identies aan Constantin en Dufour se "Verticillium à petites spores" beskou, as Cephalosporium constantinii Smith. Volgens Gams (1971) het hy dus 'n sinonimie geskep. Ware (1933) betwyfel egter die standpunt dat C.constantinii en die "Verticillium à petites spores" een en dieselfde organisme is en Treschow (1941) is ook die mening toegedaan dat daar nie met sekerheid gesê kan word dat die twee swamme identies is nie.

In 1901 beskryf Malthouse 'n patogeeniese Verticillium spesie van Skotse sampioenwekerye. Hy benaam dit egter nie verder nie en

beskou dit ook slegs as 'n stadium van 'n Mycogone spesie. In 1933 word Verticillium malthousei egter deur Ware beskryf, en meld hy dat hierdie swam dieselfde as dié van Malthouse (1901) is. Ware tref onderskeid tussen V.malthousei en C.constantinii hoofsaaklik op grond van die konidiumgrootte, maar spekuleer terselfdertyd of Smith (1924) se C.constantinii nie dalk eintlik 'n Verticillium moes wees nie. Hoewel dit later (Gams, 1971) gevind sou word dat C.constantinii en V.malthousei dieselfde swam verteenwoordig en dat Ware (1933) net nog 'n sinoniem van V.fungicola geskep het, sou die naam V.malthousei vir baie jare daarna nog as die korrekte wetenskaplike naam vir die droëvrot veroorsakende swam by sampioene aanvaar word.

In 1941 beskryf Treschow nog 'n Verticillium-parasiet van sampioene, naamlik Verticillium psalliotae Treschow, maar hierdie swam word deur Fassatiava (1965) as 'n sinoniem van V.fungicola beskou. Isaac (1967) twyfel ook of Treschow (1941) sy onderskeid tussen V.psalliotae en V.fungicola op werklik waterdigte verskille grond. Gams (1971) en Gams en Van Zaayen (1982) erken V.psalliotae egter as 'n afsonderlike spesie, maar waarsku dat dit met V.fungicola verwar kan word.

Gams (1971) meld dat die genus Verticillium die anamorfe van verskeie verteenwoordigers van die Hypocreaceae en Clavicipitaceae insluit, maar volgens Gams en Van Zaayen (1982) kon nie een van die V.fungicola variëteite nog met 'n teleomorfe in verband gebring word nie.

2.2.2 GEOGRAFIESE VERSPREIDING EN HABITAT

Arrold (1981) beskou V.fungicola as een van die mees wydverspreide patogene van A.bisporus, terwyl Fletcher (1981) meld dat dit in alle lande met 'n noemenswaardige sampioenbedryf voorkom.

V.fungicola kom wydverspreid oor die hele Europa (Gams, 1971; Brady en Gibson, 1976; Bech en Kovacs, 1981) asook die Britse

Eilande (Malthouse, 1901; Smith, 1924; Ware, 1933; Gams, 1971; Brady en Gibson, 1976) voor, terwyl outeurs soos Kim (1975), Brady en Gibson (1976) en Chen (1981) dit reeds uit Asië gerapporteer het. Forer et al. (1974), Brady en Gibson (1976) en Gray en Morgan-Jones (1980) is onder diegene wie hierdie swam al uit die V.S.A. gerapporteer het, terwyl dit bekend is dat dit ook in Kanada voorkom (Anoniem, 1978).

V.fungicola is egter nie net tot die noordelike halfgrond beperk nie en is reeds uit Australië (Anoniem, 1954; Gams, 1971; Brady en Gibson, 1976; Nair, 1979), Nieu-Seeland (Samuels en Johnston, 1980) en Suidelike Afrika, waar dit in Zimbabwe (Brady en Gibson, 1976; Rothwell, 1983) en Suid-Afrika (Brady en Gibson, 1976; Gorter, 1977; Lambert en Wuest, 1979) voorkom, gerapporteer.

Geen literatuur met verwysing na die swam se voorkoms in Suid-Amerika kon opgespoor word nie.

Alhoewel V.fungicola hoofsaaklik parasities op verteenwoordigers van die Agaricales is (Gams, 1971; Gray en Morgan-Jones, 1980; Hawksworth, 1981) is dit ook al vanaf die roesswam Puccinia coronata geïsoleer (Hassebrauk, 1936). Dit is egter nie 'n verpligte parasiet nie en groei goed op verskeie agarvoedings-mediums (Fekete, 1967). Gams (1971) berig ook dat V.fungicola in Australië al uit grond geïsoleer is, terwyl Brady en Gibson (1976) die voorkoms daarvan op ontbindende blaarreste meld. Daar is klaarblyklik nie gegewens oor die saprofitiese groei van hierdie swam in sampioenkompos en -deklaaggrond beskikbaar nie, maar uit die werk van Cross en Jacobs (1969a) (kyk later) kan daar afgelei word dat dit maar swak is.

Volgens Trigiano en Fergus (1979) beskik V.fungicola oor 'n redelik lae sellulolitiese aktiwiteit, terwyl slegs drie van die nege ondersoekte isolate oor fenol-oksidasie-aktiwiteit beskik het. Dieselfde aantal isolate het oor amilases beskik terwyl al nege isolate lipase-aktiwiteit getoon het. Uit hierdie

gegewens wil dit dus ook voorkom dat sampioenkompos en -deklaag nie 'n baie gunstige substraat vir die saprofitiese groei van V.fungicola sal bied nie.

Vele ander faktore dra egter daartoe by dat sampioenkweekhuise 'n goeie habitat vir hierdie swam vorm.

2.2.3 DIE BELANG VAN VERTICILLIUM FUNGICOLA IN DIE SAMPIOENBEDRYF

2.2.3.1 Omvang en ekonomiese belang

Soos reeds genoem kom V.fungicola wyd verspreid as 'n patogeen van A.bisporus voor (Sinden, 1971; Arrol, 1981; Fletcher, 1981). Gray en Morgan-Jones (1981) noem dit 'n nekrotrofiese mikoparasiet, desnieteenstaande Rudakov (1978) se siening dat dit nie as sodanig nie, maar as 'n fakultatiewe biotroof geklassifiseer behoort te word. Wat egter ook al die situasie mag wees, veroorsaak dit die siektes "bruinvlek" en "droëvrot" wat in die afwesigheid van beheermaatreëls opbrengsverliese van meer as 30 persent kan veroorsaak (Russel, 1984).

Atkins en Atkins (1971a;b) beskou V.fungicola as een van die sewe belangrikste patogene van A.bisporus, terwyl Sinden (1971) noem dat dit dalk die mees destruktiewe van alle sampioenpatogene mag wees. Wuest (1983) beskou V.fungicola as dié belangrikste patogeen van A.bisporus. Gaze en Fletcher (1975) en Rucklidge (1978) noem V.fungicola as een van die drie belangrikste sampioenpatogene in Engeland en in die opname van Gaze en Fletcher (1975) word gevind dat dit op 56 persent van alle Engelse sampioenplase voorkom. Op 33 persent (48) van hierdie plase was die voorkoms daarvan ernstig en op 21 plase het dit tot opbrengsverliese van meer as vyf persent aanleiding gegee. Op vyf plase was die oesskade op meer as tien persent gestel. Uit 'n opname in die V.S.A. (Forer et al., 1974) blyk dit dat V.fungicola op 11,3 persent van die monsterpunte, op tien sampioenplase in die staat Pennsylvania, voorgekom het.

Vir die tydperk Julie 1971 tot Julie 1972 het dit 'n monetêre verlies van 6,3 miljoen dollar veroorsaak, wat nogal 'n aardige bedrag is as onthou word dat dit maar die verlies in een enkele staat verteenwoordig.

Onder toestande geskik vir spookkieming en groei, mag na-oes probleme by sampioene wat kort vóór of tydens oes besmet geraak het ook nie uit die oog verloor word nie. Stanek (1978) berig dat kunsmatig gekontamineerde geoeste sampioene na vyf en sewe dae by 22°C met die miselium van V.fungicola oortrek was.

2.2.3.2 Kompetisievermoë

Voordat V.fungicola die sampioen self aanval, word dit hoofsaaklik as 'n swam van die deklaag beskou (Wuest, 1965; Vedder, 1978) en volgens Van de Geijn (1976) is dit nie bekend dat dit in die kompos groei nie. Bech en Kovacs (1981) noem dat die spore van V.fungicola tydens kieming 'n hoë suurstofvereiste het, wat die vraag laat ontstaan of hierdie eienskap nie dalk 'n bydraende faktor tot die beperking van die swam tot die deklaag, nader aan die oppervlak, is nie.

Soos reeds vermeld is V.fungicola nie 'n obligate parasiet nie en Cross en Jacobs (1969a) noem dat dit wel welig groei en sporuleer in gesteriliseerde deklaagmateriaal. In ongesteriliseerde grond en gepasteuriseerde veen was spookkieming egter swak en het daar net kort, vinnig degenererende kiembuise ontwikkel. Hierdie verskynsel is aan fungistase toegeskryf. Hierdie bevindinge, wat deur die werk van Heuel (1980) beaam word, asook dié van Trigiano en Fergus (1979) (kyk 2.2.2) dui daarop dat die groei van V.fungicola in die deklaag maar swak sal wees, en daar sal dus van kompetisie met A.bisporus nie veel sprake wees nie.

2.2.3.3 Oorsprong en verspreiding op 'n plaas

Volgens Gandy (1972; 1978) is stof 'n baie belangrike primêre

infeksiebron en word gunstige infeksietoestande veral geskep wanneer grondversteuringswerk in die omgewing met droë, winderige toestande gepaard gaan. In die afwesigheid van nabygeleë besmette sampioenplase kan besmette wilde sampioene in die omgewing en/of die grond waarin dit groei ook as primêre infeksiebron optree (Gandy, 1978).

Cross en Jacobs (1969a) noem dat insekte (sampoenvlieë) ook as primêre vektore kan optree, maar Gandy (1972) is die mening toegedaan dat net 'n groot aantal swaar besmette vlieë tot so 'n besmetting in staat sal wees. In 1981 stel White egter eksperimenteel vas dat 'n laedigheid (75 vlieë.m^{-2}), kunsmatig besmette bevolking van Megaselia halterata Wood, wel 'n primêre V.fungicola uitbraak kan veroorsaak.

Volgens Van de Geijn (1976) is die inbring van reeds besmette deklaagmateriaal ook 'n faktor wat tot die besmetting van 'n plaas kan lei. In 'n studie deur Preece en Wong (volgens Preece, 1984) is gevind dat die deklaagmateriaal die grootste bron van besmetting was op die enkele plaas wat deur hulle gemonitor is.

As gevolg van die hittesensitiwiteit van V.fungicola (kyk later) is dit onwaarskynlik dat kompos na fase II nog enige groot infeksiepotensiaal sal hê. Dit wil verder ook voorkom asof besmette kompos nie direk tot besmetting van die sampioenvrugliggaam aanleiding kan gee nie. Poppe (1967) kon geen siekte by sampioene wat op kunsmatig swaarbesmette kompos gekweek is, induseer nie.

Wanneer 'n sampioenplaas eers eenmaal met V.fungicola besmet is, is dit baie moeilik om weer daarvan ontslae te raak en kan dit op verskeie maniere versprei:

(i) **Horisontale en vertikale migrasie:**

'n Gelokaliseerde deklaaginfeksie sal natuurlikergewys vertikaal sowel as horisontaal deur die deklaag versprei (Poppe, 1967). Dieselfde outeur het 'n horisontale migrasietempo van 40-80 mm per week gemeet.

(ii) **Lugbeweging as verspreidingsmeganisme:**

By V.fungicola word die konidiums in slymmassas gevorm en in hierdie opsig is wind nie 'n effektiewe spoorverspreider nie. Cross en Jacobs (1969a) demonstreer dan ook dat 'n wind met 'n snelheid van $10,75 \text{ m.sek}^{-1}$, oor 'n tydperk van 30 sekondes in 'n omgewing met 'n relatiewe humiditeit van 50-70 persent, geen spore vanaf 'n V.fungicola-kultuur kon loswikkell nie. Bech et al. (1982) kon deur die skud van in vitro V.fungicola-kulture ook nie daarin slaag om spoorvrystelling te bewerkstellig nie. Spore kan egter in vuiligheid op die vloere van kweekkamers versamel (waar dit volgens Gandy [1972] aan waterabsorberende materiaal, soos byvoorbeeld veen, vassit), met die gevolg dat lugbeweging dan onder stowwerige toestande as 'n belangrike verspreidingsfaktor kan optree.

(iii) **Verspreiding deur water:**

Die besproeiing van besmette sampioenbeddings skep daadwerklike probleme, aangesien water wat vanaf besmette sampioene spat 'n baie effektiewe manier vir die verspreiding van V.fungicola-spore bied (Gandy, 1982; Bech et al., 1982). Verspreiding op hierdie manier is egter net lokaal (Gandy, 1972; 1978) en min spore word aan die atmosfeer vrygestel. Water wat van die besmette beddings afdrup kan egter laerliggende rakke besmet (Gandy, 1978) en ook tot die akkumulering van spore op die vloer, vanwaar dit deur lugbeweging verder versprei kan word, lei.

(iv) **Verspreiding deur die mens:**

Werkers en hul gereedskap wat van kweekkamer tot kweekkamer beweeg, is uit die aard van die saak uitstekende potensiële verspreiders van V.fungicola. Daar is deur Cross en Jacobs (1969a) geïllustreer dat eenhonderd agtereenvolgende vingerafdrukke van 'n besmette vinger op moutagar, sonder uitsondering almal aan V.fungicola-kolonies oorsprong gegee het.

(v) **Verspreiding deur insekte en myte:**

Ware (1933) noem dat myte en insekte swaar spoorladings van V.fungicola kan dra, en dus behoort hierdie organismes ook tot die verspreiding van spore in kweekkamers in staat te wees. Fekete (1967) wys dan ook daarop dat myte wel in staat is om V.fungicola te versprei, terwyl die sogenaamde "sciaras" of sampioenvliegies ook as vektore van V.fungicola bekend is (Cross en Jacobs, 1969a; b; Gandy, 1972; Gandy, 1978). Volgens Dieleman-van Zaayen (1976) hou die hoë voorkoms van V.fungicola in die somer in Holland verband met die groot getalle sampioenvliegies wat in daardie tyd van die jaar voorkom. Hoewel White (1981) bevind dat sampioenvlieë 'n siekte-uitbraak kan inisieer, is hy die mening toegedaan dat die daaropvolgende verspreiding van die patogeen in die kweekkamers grotendeels aan die besproeiing van die beddings toegeskryf kan word. Gandy (1982) vind ook dat selfs 'n hoë vliegpopulasie nie 'n groot verspreidingsgevaar inhou nie en dat die verspreiding wat wel in die eksperimentele groeikamers voorgekom het grotendeels aan die plukkers toegeskryf kon word.

2.2.3.4 Oorlewingsvermoë

V.fungicola beskik oor geen rustende spore nie en volgens Gandy (1978) is die dunwandige konidiums swak toegerus om uitdroging te weerstaan. Die sklerotiums wat by ander Verticillium spesies voorkom en vir lang tye ongunstige toestande kan oorleef, kom ook nie by V.fungicola voor nie (Preece, 1984).

Fekete (1967) toon aan dat spore wat in die droë staat geberg word hul kiemkragtigheid na ongeveer sewe tot agt maande verloor (alhoewel die spore langer kiemkragtig gebly het toe dit by 3°C geberg is), maar Cross en Jacobs (1969a) vind dat indien die spore by 15-18°C in grond of veen (teen 50 persent waterhouvermoë) gestoor word, dit vir ten minste 12 maande kiemkragtig bly. Wat die geval ook al mag wees, wil dit dus

voorkom dat, indien die swam eers in kweekkamers aanwesig is, dit vir etlike maande in die stof in die kamers kan oorleef.

Gandy (1972) vind dat die kiemkragtigheid vinnig afneem met 'n afname in relatiewe humiditeit en dat dit na 24 uur by 73,4 persent RH heeltemal verlore gaan. Sinden (1971; 1972) is egter die mening toegedaan dat V.fungicola-miselium in "droëvrot"-sampioene in staat is om vir lang periodes (ten minste ses maande) in die droë staat te oorleef.

2.2.3.5 Infeksie

Belangrike aanleidende faktore tot V.fungicola infeksie is toestande van hoë lugvogtigheid ($RH > 95\%$) (Beach, 1937; Bottomley, 1939; 1949-50; 1955-56, Vedder, 1978), nat sampioene (Kneebone en Merek, 1961) en relatief hoë temperature (Bottomley, 1939; 1949-50; 1955-56; Kneebone en Merek, 1961; Van de Geijn, 1976) wat volgens Kneebone en Merek op ongeveer $15,6^{\circ}\text{C}$ (60°F) en volgens Bottomley (1939; 1949-50; 1955-56) op hoër as $18,3^{\circ}\text{C}$ (65°F) gestel word. Vedder (1978) noem 10°C as die minimum temperatuur vir die ontwikkeling van droëvrot. In warm, vogtige toestande behoort infeksie dus geredelik plaas te vind en in Europa is V.fungicola-siektes dan veral ook algemeen in die somermaande (Dieleman-van Zaayen, 1976; Gandy, 1978). Volgens Olivier (1987) het hittepompe in Franse kweekgrotte soms hitte-opbouings tot gevolg, met gepaardgaande toenames in die voorkoms van Verticillium. Onhigiëniese toestande in kweekkamers skep gunstige omstandighede vir die opbou en verspreiding van spoorladings en sal dus ook tot kwaaiër infeksies aanleiding gee (Beach, 1937; Bottomley, 1939; 1949-50; 1955-56).

Volgens Cross en Jacobs (1969a) benodig die konidiums van V.fungicola 'n eksterne voedingsbron vir kieming. Dit blyk ook uit die resultate van Thapa en Jandaik (1987a) wat gevind het dat kieming in die teenwoordigheid van sampioenekstrakte veral

hoog was, naamlik 98 persent teenoor 'n 35 persent kieming in steriele water. Dieselfde outeurs vind ook dat kieming in glukose, maar veral sukrose-oplossings (1000 en 5000 mg.dm^{-3}) beter as in water is. Suikerkonsentrasies van 100 mg.dm^{-3} het egter geen invloed op kieming gehad nie. Cross en Jacobs (1969a) vind dat spore in ongesteiriliseerde deklaagmateriaal swak kiem en bykans geen groei vertoon nie, maar dat dit in die direkte omgewing van sampioenhifes wel goed kiem en groei, en kom dus tot die gevolgtrekking dat die sampioen die nodige voedingstowwe verskaf. Gandy (1978) noem ook dat A.bisporus die kieming van V.fungicola-spore stimuleer. In teenstelling hiermee beweer Wuest en Forer (1971) egter dat uitskeidings en vlugtige stowwe van risomorfe van A.bisporus geen invloed op V.fungicola spoorkieming gehad het nie. Dieselfde outeurs (1975) neem in der waarheid selfs 'n effense inhibering deur vlugtige stowwe by sekere temperature waar. In 1979 maak Olivier *et al.* ook daarvan melding dat vlugtige stowwe uit met sampioen geïnkuleerde kompos, 'n inhiberende uitwerking op V.fungicola het. In *in vitro* kon Poppe (1967) geen antagonisme tussen A.bisporus en V.fungicola waarneem nie, maar Gray en Morgan-Jones (1981) vind dat A.bisporus die *in vitro* groeitempo van V.fungicola-miselium wel vertraag. Desnieteenstaande is die parasiet tog daartoe in staat om die gasheer te oorgroei en ernstige nekrose te veroorsaak (Gray en Morgan-Jones, 1981). Alle V.fungicola-isolate is egter nie ewe patogenies nie (Heuel en Weltzien, 1982).

Die effek van die inokulumdigtheid op infeksie word in 1967 deur Poppe ondersoek. Hy vind dat 'n lading van 2000 spore per kg deklaaggrond te laag was om 'n uitbraak op A.bisporus te inisieer, maar dat 200 000 spore per kg 'n opbrengsverlaging van 46 persent tot gevolg gehad het. Met 20 miljoen spore per kg is 'n opbrengsverlies van 95 persent gely. Volgens Moore en Wuest (1973) is daar 'n direkte verband tussen siektevoorkoms en inokulumdigtheid, terwyl 'n inverse korrelasie tussen opbrengs en inokulumdigtheid waar te neem is.

Moore en Wuest (1973) wys daarop dat die temperatuur waarteen die deklaag voor gebruik gepasteuriseer word, ook 'n groot invloed op infeksie het. Deklaaggronde is 30-minuut stoombehandelings by 60; 82 en 90°C respektiewelik toegedien, waarna dit met V.fungicola-spore geïnokuleer is. Opbrengsresultate het duidelik aangetoon dat hoe hoër die pasteurisasie-temperatuur, hoe laer die opbrengs gesonde sampioene.

Die pH van die deklaag speel ook 'n rol by infeksie. Op deklae van pH 7,2; 8,2 en 9,2 het die voorkoms van siek sampioene (na kunsmatige inokulasie van die deklae met V.fungicola) volgens Poppe (1967) afgeneem met toenemende pH. In die onbesmette kontrole het die sampioenopbrengs met toenemende pH toegeneem.

Cross en Jacobs (1969a) vind dat sampioene deur spore wat op enige vlak in die deklaag voorkom, geïnfekteer kan word, maar dit blyk dat infeksie groter is hoe nader die spore aan die oppervlak voorkom. Interessant is ook die waarneming van dieselfde outeurs dat sampioenhifes as sulks nie geïnfekteer raak nie, maar dat infeksie eers kan plaasvind wanneer vrugliggaamvorming 'n aanvang neem. Dit wil dus voorkom of sampioenhifes in staat is om weerstand teen infeksie te bied, terwyl vrugliggaamprimordiums en vrugliggame nie oor dieselfde vermoë beskik nie.

Indien die deklaag net na die eerste breek opsetlik met V.fungicola-spore geïnokuleer word, kan droëvrot volgens Poppe (1967) alreeds ses dae later waargeneem word. Holmes (1971a) het sampioenbeddings op verskillende stadiums nadat die deklaag opgesit is, met V.fungicola-spore geïnokuleer en gevind dat beddings wat 14 dae na bedekking geïnokuleer is, die swaarste besmetting getoon en die laagste sampioenopbrengs gelewer het. Op beddings wat 28 dae na bedekking geïnokuleer is, was die voorkoms van V.fungicola slegs effens hoër as by die kontrole.

Infeksie kan plaasvind tydens enige stadium in die ontwikkeling van 'n sampioen (Kneebone en Merek, 1961; Anoniem, 1978).

V.fungicola produseer ten minste één proteolitiese ensiem wat volgens hipotese dalk 'n hidrolisering van die proteïene in die sampioenselwand mag teweegbring, 'n reaksie wat 'n eerste stap in die infeksieproses mag verteenwoordig (Kalberer, 1984). Die miselium van 'n gekiemde spoor parasiteer die oppervlakweefsel van die groeiende sampioen en produseer terselfdertyd ensieme wat die differensiasie van die sampioen disorganiseer. Dit veroorsaak dan die misvormde sampioene wat kenmerkend van V.fungicola-infeksies is (Gandy, 1978). Hieruit volg dit dan dat hoe vroeër 'n sampioen geïnfecteer word, hoe erger sal die beskadiging wees (Gandy, 1972; 1978). Antibiotikumproduksie deur die parasiet (Rudakov, 1978) mag ook 'n faktor in die beskadiging van die gasheerweefsel wees. Alhoewel Poppe in 1967 reeds daarop wys dat die ontwikkeling van Verticillium-siekte geensins van wondinfeksie afhanklik is nie, berig Bech et al. (1982) tog dat beskadigde sampioene meer vatbaar vir infeksie is. Volgens Kneebone en Merek (1961) bly die infeksie tot die oppervlak van die sampioen beperk, maar kan dit sydelings versprei. Die ouer miselium in die middel van die letsels produseer groot hoeveelhede spore wat dan deur middel van meganismes wat reeds bespreek is, versprei kan word.

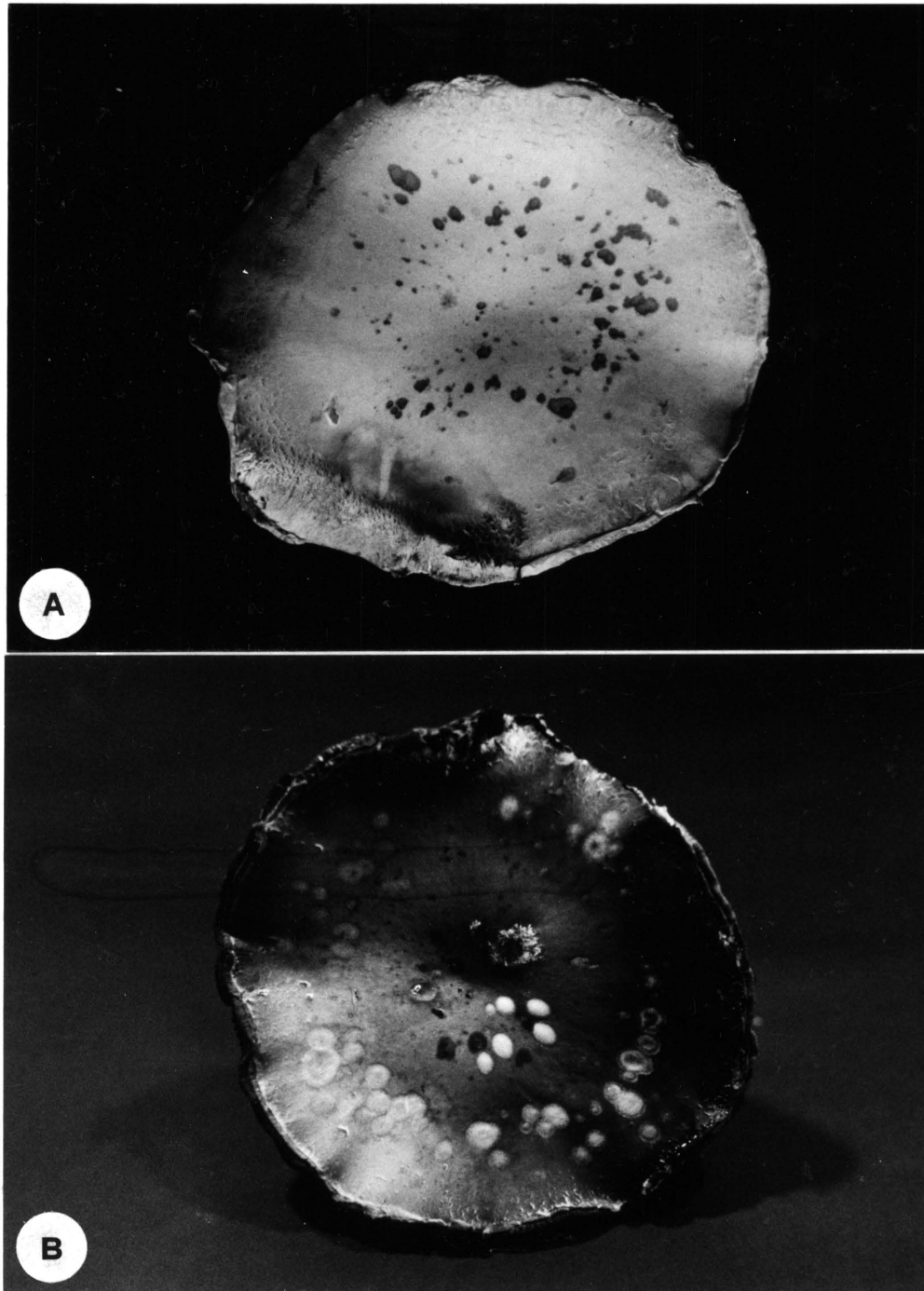
2.2.3.6 Simptome

Volgens Fletcher (1984) word die simptome van V.fungicola en dié van Mycogone perniciososa dikwels met mekaar verwar. 'n Korrekte diagnosering is egter uiters noodsaaklik, aangesien V.fungicola gewoonlik 'n groter toleransie ten opsigte van beheermaatreëls as M.perniciososa het, met die gevolg dat 'n behandeling wat vir die beheer van Mycogone voldoende sal wees, min indruk op Verticillium mag maak (Bech en Kovacs, 1981). Verticillium-siekte kom op drie maniere tot uiting:

- (i) Indien infeksie na ontwikkeling van die sampioensteel en -pileus plaasvind, is die simptome beperk en word slegs oppervlakkige bruin vlekke op die pileus gevorm (Kneebone en Merek, 1961; Gandy, 1978). Die vlekke begin as klein ligbruin of kaneelbruin kolletjies wat in deursnee toeneem

en saamsmelt om groot bruin letsels op die pileus te vorm (Figuur 2.2a) (Beach, 1937; Kneebone en Merek, 1961; Atkins en Atkins, 1971a;b). Hierdie siektetoestand staan as "bruinvlek" bekend en moet volgens Nair (1979) nie met bakteriese vlek (veroorzaak deur Pseudomonas tolaasii) verwar word nie. Volgens Gandy (1972) ontwikkel die letsels binne twee dae na die kunsmatige inokulering van sampioene in die knopiestadium en is sporulering alreeds op selfs die kleinste van hierdie jong letsels waargeneem. Hierteenoor noem Harvey et al. (1982) egter dat die simptome van V.fungicola-besmetting eers tien tot 14 dae na infeksie waargeneem kan word (vergelyk hierdie gegewens ook met dié van Poppe (1967), genoem in 2.2.3.5). Volgens Kneebone en Merek (1961) is hierdie nekrotiese letsels nie so donker soos dié wat as gevolg van bakteriese vlek gevorm word nie. Matthews en Gandy (1982) noem dat die letsels die gevolg is van selwandafbrekende ensieme van die patogeen wat 'n ineenstorting van die gasheerselle veroorsaak. Namate die vlekke ouer raak, raak dit effens versonke en vertoon veral die middel daarvan ligter in kleur (grys tot wit) as gevolg van swaar sporulering deur die parasiet (Figuur 2.2b) (Beach, 1937; Kneebone en Merek, 1961; Atkins en Atkins, 1971a;b). Volgens Atkins en Atkins (1971a;b) vind 'n inkrimping van die pileusoppervlak plaas waar die vlekke voorkom en raak dit droog en leeragtig en kom barsies soms voor. Hulle noem ook dat die bruin verkleuring slegs die gevolg van nekrose is en nie as gevolg van 'n pigmentasie in die patogeen se miselium nie. Beach (1937) meld dat geen onaangename reuke met hierdie nekrose gepaard gaan nie. V.fungicola lei nooit tot 'n nat vrot nie, maar lei eerder tot droë, leeragtige sampioene, vandaar die naam "droëvrot".

- (ii) Indien infeksie op 'n vroeër stadium, dit wil sê tydens die ontwikkeling van die sampioen, plaasvind, ontstaan daar ernstiger simptome, beginnende met 'n swelling en/of afwaartse skeuring van die steel (Kneebone en Merek, 1961;



FIGUUR 2.2 Bruinvlek op sampioene veroorsaak deur Verticillium fungicola.
(A) Vroeë toestand.
(B) Gevorderde toestand.

Atkins en Atkins, 1971a;b; Gandy, 1978) Hierdie steuring in die ontwikkeling van die steel lei dan tot die tipiese verdwergde, gekartelde en misvormde (haaslip) pileusse, kenmerkend van hierdie vorm van die siekte. Dit wil voorkom dat die parasiet eerder geneig is om opwaarts (vertikaal) as sydelings (horisontaal) in die steel te versprei. 'n Ligte infeksie van die steel mag tot uiting kom as slegs 'n klein lengteverlopende strepie, effens gesonke en dikwels met hifes oortrek.

- (iii) Infeksie van jong sampioenprimordiums (die speldekop-stadium) verhoed enige verdere differensiasie (Gandy, 1978) en klein droë, leeragtige sferiese liggaampies of onreëlmatige massas weefsel (6-13 mm in deursnee) is al wat ontwikkel (Kneebone en Merek, 1961; Atkins en Atkins, 1971a;b; Sinden, 1971; Gandy, 1978). Hierdie droë massas weefsel is grys of ligpers van kleur (Atkins en Atkins, 1971a;b) en bestaan grotendeels uit fungushifes en konidiums. Atkins en Atkins (1971a;b) noem dat die vorming van hierdie strukture nie net aan V.fungicola toegeskryf kan word nie, maar wanneer hierdie verskynsel gelyktydig met die twee ander genoemde simptome voorkom, is dit 'n aanduiding van 'n swaar V.fungicola-uitbraak. Hierdie stadium van die siekte het tot die Engelse benaming "dry bubble" aanleiding gegee.

Die volgende interne simptome kan waargeneem word (Atkins en Atkins, 1971a;b):

- (i) 'n Bruin verkleuring van weefsel tot op 'n diepte van een tot twee millimeter in geval van 'n ligte infeksie en tot in die middel van die steel in geval van ernstiger infeksies.
- (ii) Die verkleurde dele is droër en meer leeragtig as normale weefsel.
- (iii) By misvormde sampioene mag 'n holte by die aanhegting van

die steel en pileus ontstaan, en hoewel dit ook by sampioene wat normaalweg verleng mag gebeur, kom 'n groot aantal hifes en spore in die holtes van besmette sampioene voor.

- (iv) Die parasitiese hifes mag dwarsdeur die sampioenweefsel groei maar nie noodwendig tot verbruining aanleiding gee nie.

Geïnfekteerde sampioene kan óf enkel óf in groepe op die beddings voorkom. Al die sampioene in 'n groep sal nie noodwendig simptome vertoon nie, maar tog kan die parasiet wel dikwels uit (op die oog af) gesonde sampioene geïsoleer word. Die miselium van die parasiet kan ook veroorsaak dat die aangetaste sampioene soms baie wit vertoon. Volgens Nair (1979) kom V.fungicola normaalweg nie op die lamelle van die sampioen voor nie.

Volgens Thapa en Jandaik (1987b) het V.fungicola geen daadwerklike verandering in die fisiochemiese samestelling van geïnfekteerde sampioenvrugliggame tot gevolg nie.

2.2.3.7 Ander Verticillium-spesies wat in die sampioenbedryf probleme skep

Benewens V.fungicola is V.psalliotae en Verticillium lamellicola (F.E.V. Smith) W. Gams ook as parasiete van A.bisporus bekend (Gams, 1971). Van hierdie twee swamme word V.psalliotae as die belangrikste beskou (Isaac, 1967). Treschow (1941) en Atkins (1948) noem dat hierdie swam basies dieselfde simptome as V.fungicola veroorsaak, maar Treschow (1941) is die mening toegedaan dat dit slegs tot die bruin variëteite van A.bisporus beperk is. In 1947 berig Atkins egter dat V.psalliotae in Engeland ook op wit sampioene aangetref is. Upstone en Carter (1979) noem 'n geval waar V.psalliotae op 'n plaas in Engeland tot Agaricus bitorquis beperk was, terwyl V.fungicola terselfdertyd net op A.bisporus voorgekom het. Van Zaayen en Gams bevestig die identiteit van Upstone en Carter (1979) se

V.psalliotae-isolaat in 1982. Volgens Treschow (1941) kan V.psalliotae en V.fungicola hoofsaaklik op grond van hul konidiums van mekaar onderskei word.

V.lamellicola is verantwoordelik vir 'n siekte wat as kiefmeel-dou bekend staan en veroorsaak effens misvormde kiewe waarop fyn, webagtige miseliumgroei waargeneem kan word (Smith, 1924). Van Zaayen en Gams (1982) noem ook dat dit klein bruin spikkels en insinkings op die pileus van A.bitorquis kan veroorsaak.

In 1981 beskryf Van Zaayen 'n "nuwe" Verticillium-siekte van A.bitorquis. Soos in 2.2.1 genoem, is die veroorsakende organisme as V.fungicola var. aleophilum beskryf (Gams en Van Zaayen, 1982). Hoewel gewoonlik ernstiger by A.bitorquis, veroorsaak hierdie organisme volgens Van Zaayen en Gams (1982) ook opbrengsverliese (tot so hoog as 50 persent) by A.bisporus, waar dit bruin vlekke en droëvrot van sekere sampioenvariëteite tot gevolg kan hê. Die vlekke stem ooreen met dié wat deur V.fungicola var. fungicola veroorsaak word, maar die droëvrotsimptome verskil en word volledig deur Van Zaayen en Gams (1982) beskryf.

V.fungicola var. aleophilum het 'n optimum groeitemperatuur van 24-27°C (maksimum:33°C) teenoor 'n optimum van 20-24°C (maksimum:27°C) vir V.fungicola var. fungicola (Gams en Van Zaayen, 1982). Volgens Van Zaayen en Gams (1982) kom V.fungicola var. aleophilum dalk al lank onopgemerk in A.bisporus kweekkamers voor en sal dit ernstiger gevolge hê by temperature hoër as dié wat normaalweg tydens A.bisporus-verbouing gehandhaaf word.

2.2.4 DIE VOORKOMING EN BEHEER VAN VERTICILLIUM FUNGICOLA

Die geykte uitdrukking dat voorkoming beter as genesing is, geld ook vir V.fungicola by sampioene. Dit is moeilik om van V.fungicola ontslae te raak as dit eers op 'n plaas kop uitgesteek het en gevolglik is die voorkoming daarvan deur middel van goeie higiëne en bestuurspraktyke veral belangrik.

Die beheermaatreëls ten opsigte van V.fungicola val onder ses hoofde, naamlik (i) die handhawing van goeie higiëne; (ii) 'n aanpassing in die verbouingsmetodes en -toestande (oftewel ekologiese beheer); (iii) die gebruik van bestande sampioenvariëteite; (iv) biologiese beheer; (v) die gebruik van chemikalieë en (vi) bestraling.

2.2.4.1 Higiëne op die sampioenplaas

Vele outeurs soos Beach (1937), Bottomley (1939; 1949-50; 1955-56), Wuest (1965), Atkins en Atkins (1971a;b), Atkins (1975), Bollen en Van Zaayen (1975), Van de Geijn (1976), Gandy (1978), Rucklidge (1978) en Vedder (1978) wys op die absolute noodsaaklikheid van goeie higiëne tydens sampioenverbouing en in 1981 noem Gandy dat daar vir 'n hoë graad van higiëne voorsiening gemaak moet word tydens die beplanning van nuwe kweekuitlegte.

Dit wat reeds vroeër met betrekking tot Chromelosporium fulvum gesê is, geld ook vir V.fungicola, en in 1981 wys Arrol, sowel as Gandy, wéér op die belang van goeie lugfiltrering in die kweekkamers. 'n Gereëlde ontsmetting van die kweekkamers is noodsaaklik (Beach, 1937; Van de Geijn, 1976; Gandy, 1978; Rucklidge, 1978). Beach (1937) noem in hierdie verband beroking met formaldehyd en brandende swael asook bespuiting met middels soos vier persent formalien, kopersulfaat, karbolsuur, kalkswael en Bordeaux-mengsel. Alhoewel Wuest (1965) van mening is dat metielbromied nie letaal teen V.fungicola is nie, noem Gandy (1978) dat metielbromiedberoking, indien korrek uitgevoer, wel effektief is.

Bech en Kovacs (1981) verskaf heelwat inligting aangaande die in vitro toksisiteit van 'n aantal ontsmettingsmiddels ten opsigte van V.fungicola. Volgens Lelley (1984) is ontsmettingsmiddels met fenol- of aldehidbasiswa doeltreffender as organiese stikstof- en kwaternêre ammoniumverbindings.

Klam vloere verminder stof in die kweekhuise en dus ook

spoorverspreiding (Gooding, 1981). Volgens Gandy (1978) kan klam vloere daargestel word deur dit met sout te besprinkel. Ten einde stof verder te beperk, behoort vloere ook nie gevee te word nie (Anoniem, 1985).

'n Patogeen-vrye deklaag is van die uiterste belang (Beach, 1937; Van de Geijn, 1976; Gandy, 1978). Die deklaag kan met behulp van chemikalieë soos chloorpikrien (Wuest, 1965), metielbromied (Atkins en Atkins, 1971a;b) en 0,5 persent formalien (Van de Geijn, 1976) ontsmet word, maar die gebruik van stoom is meer algemeen (Wuest, 1965; Gandy, 1978) en volgens Beach (1937) bo formaldehyd aan te bevole. Hoëdruk stoombehandeling is nie nodig nie (Gandy, 1978) en die meeste kwekers gebruik laedruk stoom met die gevolg dat die grond nie temperature van hoër as 100°C kan bereik nie (Wuest, 1965). Stoom dood egter nie selektief nie en alle organismes wat vir die betrokke temperature gevoelig is mag geëlimineer word (Wuest, 1965). Volgens Wuest (1965) skep dit die probleem van maklike rekontaminasie, aangesien enige kontaminant maklik in die "biologiese vakuum" wat ontstaan, kan posvat. Die gesteriliseerde deklaaggrond moet dus versigtig en higiënies hanteer word.

Poppe (1967) noem dat die verskyning van siektesimptome tot na die vierde breek-vertraag is in proewe met kunsmatig besmette deklae, waar die deklae na besmetting ook aan 'n hittebehandeling van een uur by 63°C onderwerp is. 'n Identies geïnkuleerde deklaag wat nie die hittebehandeling ondergaan het nie, het 'n opbrengsverlaging van 95 persent in vergelyking met 'n onbesmette, onbehandelde deklaag tot gevolg gehad.

Volgens Wuest *et al.* (1970) kan hoë temperature chemiese en fisiese veranderinge, wat vir die sampioen nadelig mag wees, in die grond teweegbring. Yoder *et al.* (1951) noem dan ook dat hulle opbrengsverliese van ongeveer tien tot vyftien persent met gesteriliseerde deklae ondervind het.

Die genoemde probleme kan egter geminimaliseer word deur van

belugte stoom (stoom gemeng met saamgeperste lug), waardeur die temperature tot 82,2°C of laer afgebring word, gebruik te maak (Wuest, 1965). Wuest et al. (1970) berig dat 'n 30-minuut behandeling met belugte stoom teen 54,4°C genoeg was om V.fungicola heeltemal uit 'n deklaagmateriaal te elimineer. In 1972 vind Wuest en Moore dat 30 minute teen 48,9°C, asook 15 minute teen 54,4°C, net so effektief was. Wuest en Moore (1972) noem ook dat die kolonisering van deklaaggrond deur patogene en kompeteerdere met 'n behandeling van 30 minute teen 60°C vertraag word, en spekuleer dat laer temperature en korter behandelingstye tot 'n groter inhibering aanleiding mag gee as wanneer gronde by hoër temperature en vir langer tye behandel word. In 1973 vind Moore en Wuest dan ook dat kontaminasie deur 'n kunsmatige V.fungicola-inokulum na twee 30-minuut behandelings teen 60°C en 82°C onderskeidelik, meer geïnhibeer is as by 98°C. By die twee laer temperature was daar 'n afname in spoorkieming en kiembuislengte en was die opbrengs gesonde sampioene hoër as in die geval van die 98°C behandeling. In 1974 berig Happ en Wuest oor die invloed wat verskillende deklaagmateriale asook verskillende behandelings met belugte stoom (30, 90 en 240 minute teen 60°C) op V.fungicola-spoorkieming en kiembuisgroei gehad het. Hulle resultate toon dat beide die deklaag sowel as die behandelingsduur 'n invloed op V.fungicola het. Oor die algemeen is kieming by die 30-minuut behandeling meer geïnhibeer as by die 90 en 240-minuut behandelings. Die kleinste persentasie kieming is by 'n 30-minuut behandelde leemgrond waargeneem, maar terselfdertyd het 'n 240-minuut behandelde veendeklaag dergelike inhibering getoon. Dit is dus noodsaaklik om die deklaagmateriaal by 'n besluit oor 'n geskikte belugte stoombehandeling in ag te neem.

In 1979 brei Happ en Wuest op hul oorspronklike werk uit en vind dat die tipe deklaagmateriaal, die temperatuur waarteen dit gepasteuriseer word asook die tyd waarteen infeksie plaasvind, 'n invloed op die sampioenopbrengs én die voorkoms van V.fungicola het.

Uit die aard van die saak is goeie higiëne tydens die werklike

produksietyd ook baie belangrik (Beach, 1937) en in die deel oor Chromelosporium fulvum is daar dan ook alreeds iets hieroor gesê.

Jacobs (1965) beveel aan dat die werkers in die kweekkamers as 'n elitegroep behandel moet word ten einde 'n hoë mate van motivering ten opsigte van higiëne en siektebeheer aan te moedig. Elke kweekkamer behoort ook oor 'n eie stel gereedskap, wat gereeld gesteriliseer moet word, te beskik. Wuest (1965) en Van de Geijn (1976) beveel aan dat die daaglikse werk in die kweekkamers moet begin in daardie kamers waarin die jongste oes voorkom en dat daar dan daarvandaan na die "ouer" kamers gewerk moet word. Gandy (1978) noem dat 'n ontsmettingsmiddel byderhand moet wees sodat veral die hande en messe van werkers ontsmet kan word voordat 'n volgende kamer binnegegaan word. Voetbaddens met 'n fenol- of kresol-ontsmettingsmiddel sal ook die kans van verspreiding van V.fungicola van een kamer na 'n ander verminder (Anoniem, 1985). Cross en Jacobs (1967; 1969b) voel selfs dat die aanstelling van werkers wat nét met siektebeheer te doen het, essensieël is en gee verder waardevolle inligting met betrekking tot higiëne en die werksaamhede in die kweekkamers.

Volgehoue inspeksie van die beddings is noodsaaklik (Jacobs, 1965; Atkins, 1975) en volgens Atkins (1975) en Vedder (1978) moet enige sampioen wat selfs die geringste teken van infeksie toon onmiddellik verwyder word. Volgens Atkins (1975) sal so 'n optrede verhoed dat die "bloei stadium", waartydens sterk sporulering plaasvind, ooit bereik word en word 'n ernstige bron van probleme uitgeskakel.

Munns (1975) bevraagteken egter die sampioenkweker se vermoë om altyd die eerste stadium van infeksie korrek te identifiseer en om alle geïnfecteerde sampioene te verwyder. Dieselfde standpunt word deur Cross en Jacobs (1967; 1969b) gehuldig, terwyl Sinden in 1971 ook noem dat die blote verwydering van aangetaste sampioene nie 'n baie effektiewe beheermaatreël is nie. In hierdie verband wys Gandy (1978; 1981) op die belang

van goeie beligting in die kweekkamers, aangesien dit die moontlikheid dat aangetaste sampioene misgekyk sal word heelwat verminder in vergelyking met wat die geval in donker kweekkamers sou wees. Munns (1975) beveel die sogenaamde "pottegniek", soos deur Jacobs (1965) en Harvey Sorensen (1982) beskryf en soos deur Jacobs (1967, 1969b) aanbeveel word, aan. Hierdie tegniek doen met die verwydering van die siek sampioene weg en behels die isolering daarvan deur plastiekpotjies vir die duur van die oes oor die aangetaste sampioene te plaas. Volgens Jacobs (1965) verg hierdie proses minder tyd as die verwydering van siek sampioene en kan besproeiing van die beddings sonder die gevaar van siekteverspreiding geskied. Volgens Cross en Jacobs (1967; 1969b) en Munns (1975) is die kans goed dat die pluk van besmette sampioene tot herbesmetting van gesonde sampioene kan lei deur middel van besmette werkershande en gereedskap.

Hoewel Munns (1975) dramatiese sukses in die vermindering van V.fungicola met die pottegniek ervaar het (sonder die hulp van ander metodes soos byvoorbeeld chemiese beheer), erken hy ook dat dit nie altyd ewe geslaagd was nie. Van die suksesse wat Munns (1975) behaal het, het ook met 'n drastiese afname in die sampioenvlieggetalle in die kweekkamers gepaard gegaan en dit is dus moeilik om presies te bepaal wat werklik vir die afname van V.fungicola verantwoordelik was; die pottegniek of die vermindering in die vlieggetalle. Munns (1975) noem egter dat algemene higiëne noodsaaklik is as die pottegniek suksesvol uitgevoer wil word.

Waar besmetting so erg is dat dit die pottegniek heeltemal onprakties maak, beveel Jacobs (1965) en Cross en Jacobs (1967; 1969b) aan dat die bedding met 'n middel soos formalien ontsmet word en dan met formaliendeurdrenkte koerantpapier of politeenvelle bedek word.

Atkins en Atkins (1971a;b) beveel ook die pottegniek aan, maar volgens Sinden (1971) glo min kwekers daaraan vanweë te veel onsekerheid en die tydrowendheid van die tegniek. Munns (1975) wys egter tereg daarop dat die pottegniek glad nie meer

tydrowend as die verwydering van siek sampioene is nie.

Alhoewel Gandy (1978) glo dat die pottegniek 'n handige beheermetode bied, wys sy daarop dat die omliggende deklaag, wat amper sekerlik ook besmet is, onbehandeld bly. Sy beveel derhalwe 'n bedekking van die sampioene met sout aan, omdat dit nie net die sampioen isoleer nie, maar ook die omliggende deklaag behandel. Van de Geijn (1976) beveel ook die gebruik van sout aan.

Daar moet versigtig te werk gegaan word met die besproeiing van die beddings ten einde die spatverspreiding van V.fungicola-spore, asook die afloop, tot 'n minimum te beperk (Gandy, 1978). Cross en Jacobs (1967; 1969b) beveel aan dat siektebeheer deur middel van die pottegniek, besproeiing moet voorafgaan.

'n Deeglike na-oes ontsmetting van die beddings en kweekkamers is ook van die uiterste belang en kan met behulp van stoom (die sogenaamde "uitkook") of metielbromiedberoking gedoen word (Atkins en Atkins, 1971a;b; Van de Geijn, 1976; Gandy, 1978). Cross en Jacobs (1967; 1969b) beveel die gebruik van stoom met formaldehyd aan.

Nieteenstaande al die nadruk wat soveel outeurs al op goeie higiëne gelê het, vind Gaze en Fletcher (1975) in hul opname van sampioensiektes in Engeland vir die tydperk 1974 tot 1975 dat 68 persent van die ondersoekte plase steeds geen vorm van lugfiltrering toegepas het nie en dat daar op 72 persent van die plase nie van stoom óf metielbromied vir na-oes ontsmetting gebruik gemaak is nie.

2.2.4.2 Ekologiese beheer

Soos reeds genoem, is die moderne sampioenkweker in staat om sy boerdery in 'n absoluut gekontroleerde omgewing te bedryf. Omgewingsfaktore kan dus na goeddunke gemanipuleer word, nie net om beter sampioenopbrengste te verkry nie, maar ook om ongunstige toestande vir ongewenste organismes in die kweekkamers te

skep (Sinden, 1971; Nair, 1979). Alhoewel Rucklidge (1978) noem dat sommige kenners beweer dat V.fungicola volledig deur middel van omgewingsmanipulering alleen beheer kan word, is Sinden (1971) die mening toegedaan dat dit moeilik beheerbaar is sonder dat dit vir die kweker nodig word om hom ook tot chemiese middels te wend.

Verskeie outeurs (Bottomley, 1939; 1949-50; 1955-56; Kneebone en Merek, 1961; Atkins en Atkins, 1971a;b; Sinden, 1971; Anoniem, 1978; Rucklidge, 1978; Vedder, 1978) noem dat 'n verlaging van die temperatuur en relatiewe humiditeit in die kweekkamers tot 'n daling in die voorkoms van V.fungicola aanleiding sal gee. Volgens Sinden (1971) is hierdie afname dramaties wanneer die temperatuur tot 14°C en die relatiewe humiditeit van 90-95 persent tot 80-85 persent verminder word. Die verlaging in temperatuur en relatiewe humiditeit rek egter die tydperke tussen breke en het ook kleiner sampioene tot gevolg, wat hierdie metode by baie kwekers in onguns bring (Sinden, 1971). Atkins en Atkins (1971a;b) noem óók dat sampioengroei by die laer temperature baie vertraag word, en beveel slegs 'n verlaging van die temperatuur in gevalle van baie ernstige V.fungicola-uitbrake aan.

Na bespröeiing is dit wenslik om die sampioenoppervlak so gou as moontlik weer te laat droog word. Dit sal sporkieming en infeksie bemoeilik en kan bewerkstellig word deur 'n tydelike verhoging in die lugtemperatuur of verhoogde ventilasie in die kweekkamers (Anoniem, 1985).

Volgens Sinden (1971) is die uitwissing van V.fungicola op geïnfekteerde beddings moeilik en moet daar eerder na 'n algehele uitskakeling van die patogeen van die begin af, gestreef word. In hierdie opsig is kort oessiklusse van groot waarde, aangesien V.fungicola benadeel word deurdat die tydperk vir die opbou van spoorladings in die kweekkamers verkort word (Sinden, 1971). As die kweekkamers egter nie steeds na elke oes gedisinfekteer word nie, sal 'n kort oessiklus ook geen nut hê nie.

Sinden (1971) noem dat 'n goed uitgevoerde fase II tydens kompostering, die uitskakeling van patogeeniese swamme in die kompos tot gevolg sal hê.

2.2.4.3 Bestande sampioenvariëteite

Volgens Wuest en Harvey (1979) is daar nog min aandag aan siektebestandheid by die ontwikkeling van nuwe sampioenstamme gegee. Cross en Jacobs (1967; 1969b) en Dieleman-van Zaayen (1976) sien die ontwikkeling van siektebestande sampioene egter as 'n toekomsmoontlikheid.

Poppe (1972) is die mening toegedaan dat A.bitorquis minder gevoelig ten opsigte van Verticillium as A.bisporus is, en in 1976 bevestig Dieleman-van Zaayen hierdie standpunt. Upstone en Carter (1979) berig ook oor 'n oënskynlike geval van bestandheid by A.bitorquis. Latere inligting sou egter die vraag laat ontstaan of bestandheid hier ter sprake was, en of die afwesigheid of lae voorkoms van V.fungicola (var. fungicola)-besmettings nie eerder aan die spesifieke verbouingspraktyke van A.bitorquis toegeskryf kon word nie (kyk 2.2.5).

Verdere gegewens met betrekking tot die bestandheid van A.bisporus ten opsigte van V.fungicola, word deur Wuest en Harvey (1979) verskaf. Hulle ondersoek drie sampioenvariëteite en vind dat almal eers teen die vierde breek siektesimptome getoon het. Daarna egter het die siekte die verskillende variëteite verskillend geaffekteer en tydens breke nommers vyf, ses en sewe was die wit variëteit baie meer geaffekteer as die vuilwit ("off white") en roomkleurige variëteite. Wuest en Harvey (1979) is van mening dat siektebestandheid by die vuilwit en roomkleurige variëteite aan twee weerstandsmeganismes, naamlik een wat die patoogen se siekteveroorsoekende vermoë reduseer en een wat die lewenssiklus van die patoogen vertraag, toegeskryf kan word. Volgens Tschierpe (1983) is daar ongetwyfeld verskille in bestandheid tussen die verskillende A.bisporus-rasse en noem hy óók dat die suiwer wit rasse gevoeliger ten opsigte van V.fungicola as die vuilwit rasse is.

In 1967 maak Poppe melding van 'n bruin ras van A.bisporus wat volgens sy resultate minder vatbaar vir Verticillium-infeksie as wit variëteite was. In 1972 berig Sinden ook dat sommige Amerikaanse kwekers van 'n bruin variëteit van A.bisporus, wat volgens hulle virusbestand sou wees, gebruik maak.

'n Interessante nuwe benadering ten opsigte van die ontwikkeling van bestandheid by sampioene word deur Elliott en Challen (1982; 1985a) en Challen en Elliott (1985), wie se werk op die ontwikkeling van swamdoderbestande sampioenvariëteite gemik is, gevolg. Volgens Elliott en Challen (1985b) en Challen en Elliott (1987) is daar al 'n redelike mate van sukses in die ontwikkeling van karboksin- en benodanilbestande rasse behaal. Dit bring mee dat swamdoders wat normaalweg toksies ten opsigte van A.bisporus is, nou ook tot nut vir die sampioenkweker mag raak.

2.2.4.4 Biologiese beheer

In soverre dit biologiese beheer aanbetref, berig De Trogoff en Ricard in 1976 dat 'n bespuiting van die deklaag met 'n suspensie (Binab T Seppic) bevattende 100×10^6 Trichoderma viride sensu Bisby en Trichoderma polysporum Rifai sp. aggr. propagule per dm^3 , teen 'n dosis van $1 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$, V.fungicola net so effektief as die sistemiese swamdoder benomil (kyk later) beheer het. Gandy en Spencer (1981b) behaal egter onbevredigende resultate met hierdie middel sowel as met 'n selfbereide Trichoderma spp. spoorsuspensie bestaande uit $1,4 \times 10^6$ spore. cm^{-3} , wat 17 dae na die plasing van die deklaag teen 'n dosis van $360 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ toegedien is. Volgens Olivier (1987) was 'n soortgelyke behandeling wel effektief teen Verticillium, maar het dit 'n sterk toename in die voorkoms van die bakteriese patogeen Pseudomonas tolaasii tot gevolg gehad. In 1979 berig Gandy ook dat die groei van Mycogone perniciososa deur Acremonium strictum W. Gams geïnhibeer word, maar dat dieselfde swam nóg die groeitempo nóg die morfologie van V.fungicola enigsins beïnvloed.

Volgens Fletcher (1984) is daar met 'n projek in Engeland begin waarin swamme en bakterieë vir antagonisme teenoor V.fungicola geëvalueer word, en is daar al ten minste een belowende isolaat gevind. Preece (1984) berig dat hy en sy kollega Wong ook reeds bakterieë wat uiters dodelik ten opsigte van V.fungicola is en wat hoop op verdere navorsing op die gebied van biologiese beheer bied, geïsoleer het.

In vitro, op glukose-peptonagar, is veral Trichoderma harzianum, T.hamatum en Penicillium nigricans, maar ook Geocladium roseum en G.virens in staat om die miseliumgroei van V.fungicola te inhibeer (Hindorf en Ketterer, 1984). Metaboliese produkte van dieselfde swamme was egter nie in staat om die vlak van V.fungicola-infeksie op kunsmatig besmette sampioene te verlaag nie.

2.2.4.5 Chemiese beheer

Die kwessie met betrekking tot chemiese beheer is reeds kortliks in hoofstuk een en in die deel oor Chromelosporium fulvum genoem. Soos gesien, bepleit Sinden (1971; 1972) 'n wegbeweging van chemiese beheer af en Gandy (1978) is ook die mening toegedaan dat chemiese beheer nie die antwoord is nie. Is daar dan nog enige sin in die gebruik van chemikalieë? Hierop gee Gandy (1978) die antwoord. Al mag sommige fungisiede nie altyd baie effektief wees nie, en al mag dit die sampioen selfs tot nadeel strek, is die opbrengs van gesonde sampioene van 'n kleiner, chemies-behandelde oes dikwels hoër as dié van 'n groter, onbehandelde oes, en dit verskaf al genoeg rede vir die gebruik van chemikalieë. Tweedens sal 'n onbehandelde besmette oes 'n maksimum hoeveelheid infektiewe materiaal tot gevolg hê, en as chemikalieë só iets kan verhoed, moet dit gebruik word. Tot tyd en wyl daar dan 'n geskikte alternatief vir chemiese beheer gevind word, is die gebruik van chemikalieë, waar dit tot nut kan wees, tog raadsaam. Ganney en Atkins (1972) is die mening toegedaan dat geld wat met die gebruik van chemikalieë gespaar word (as gevolg van kleiner oesverliese en minder arbeid), op die verbetering van kweektoestande bestee behoort te

word, om sodoende toestande daar te stel wat met die voorkoming van die siekte sal help, eerder as om voortdurend net op chemikalieë te vertrou. Nadruk moet egter daarop gelê word dat chemiese beheer steeds hand aan hand met die hoogste graad van higiëne tydens die kweekproses moet gaan (Fletcher, 1983; Preece, 1984).

2.2.4.6 Ontwikkelingsoorsig van chemiese beheer

Tot 'n bietjie minder as 40 jaar gelede kon die sampioenbedryf maar min doen om V.fungicola-uitbrake chemies te beheer. Yoder et al. (1951) berig dat die bekende Bordeaux-mengsel al in 1917 met 'n mate van sukses gebruik is, maar dat dit geensins 'n veilige middel is nie, aangesien dit sampioene wat tydens toediening op die beddings voorkom, onbemarkbaar beskadig. Volgens Malthouse (1901) berig Constantin en Dufour (1893) dat 'n twee persent lysol-oplossing die effektiëfste was om V.fungicola-spore te dood, gevolg deur 'n 2,5 persent timol- en twee persent kopersulfaatoplossing.

Na 'n baie swaar V.fungicola-uitbraak in 1947 kom Yoder et al. (1951) tot die volgende gevolgtrekking: "The only reasonable solution appeared to be the discovery of a fungicide that could be applied to the beds to kill the pathogens without injuring the mushrooms." Hieroor sê Hey (1951): "This ought not to be an impossibility, but will probably take a long time to work out." Dit sou egter nie so lank duur as wat hy gereken het nie.

Gedurende die paar jaar voor 1947 is daar aan die ontwikkeling van verskeie swamdoders met tiokarbamaat as die basiese radikaal gewerk. Hierdie nuwe middels was baie meer spesifiek teen sekere patogene as die ander swael of swaarmetaalverbindinge wat destyds beskikbaar was. Volgens Yoder et al. (1951) hang die toksisiteit van die tiokarbamate blykbaar van die aanwesigheid van 'n ensiemsisteem in die swam, wat die swael in die tiokarbamaat reduceer tot waterstofsulfied (H_2S), wat toksies vir die swam is, af. Die eerste gegewens in verband met die

moontlike toepassing van hierdie middels in die sampioenbedryf kom van Sinden en Yoder (1949), maar oor dieselfde werk berig Yoder et al. in 1951 heelwat vollediger. Drie van die nuwe middels, naamlik Fermate (die ystersout van dimetiolditiokarbamaat), Zerlate (die sinksout van dimetiolditiokarbamaat) en Parzate (sinekatileen-1,-2-bisditiokarbamaat), wat later as sineb bekend sou staan, is getoets.

Alhoewel al hierdie middels baie belowend gelyk het, wou dit tog voorkom of Fermate die sampioenmiselium effens nadelig beïnvloed het en het dit ook 'n onooglike donkergrys neerslag op die sampioene gelaat. Behandelings met Parzate en Zerlate het groter opbrengste van gesonde sampioene tot gevolg gehad as Fermate. Zerlate-toedienings teen konsentrasies van $0,5-1 \text{ g.dm}^{-3}$ (die dosis word nie duidelik genoem nie) het egter 'n verlaging van die totale sampioenopbrengs tot gevolg gehad, terwyl 'n Parzate- (sineb) konsentrasie van tot so hoog as 4 g.dm^{-3} ($0,6 \text{ dm}^3, 0,9 \text{ m}^{-2}$) geen nadelige effek gehad het nie. 'n Effense verbruining van die sampioensteelbassis was die enigste merkbare beskadiging. Een gram sineb per dm^3 was egter reeds genoeg om effektiewe beheer te bewerkstellig en hierdie behandeling het ook tot 'n merkbare verbetering in die gemiddelde grootte van die sampioene aanleiding gegee. Yoder et al. (1951) het dus om hierdie redes die gebruik van sineb bo Zerlate verkies. Interessant is ook die verskynsel dat sineb die vorming van 'n lagie sampioenmiselium oor die deklaag, wat benatting van die beddings belemmer en die eerste breekvertraag, verhoed het (Yoder et al., 1951).

In die eksperimente van Yoder et al. (1951) is die swamdoder telkens as 'n enkele behandeling toegedien voordat enige sampioenmiselium op die deklaag sigbaar was. Daar is gevind dat 'n bestuiwing van die beddings net so effektief as drenkingsbehandelings was. Yoder et al. (1951) noem dat sinebbestuiwing (15 persent poeier met talk as draer, twee maal per week) met sukses in die beheer van V.fungicola op 'n sampioenplaas in die V.S.A. toegepas is.

Op plase in Switserland is ook sukses met sineb behaal, maar 'n effense vertraging in die eerste breek is waargeneem. Daar was egter nie 'n afname in totale produksie nie (Yoder et al., 1951). Hoewel daar volgens Yoder et al. (1951) klagtes was dat sineb in sommige gevalle groot oesverliese veroorsaak het, was hierdie berigte onvolledig en onbetroubaar.

Volgens Yoder et al. (1951) wil dit voorkom of sineb ook effektief aangewend kan word nadat V.fungicola reeds op die beddings verskyn het. Dit is dus volgens hulle nie net 'n voorkomingsmiddel nie, maar ook 'n korrektiewe middel. Smith (1970) weerspreek egter hierdie standpunt.

Tydens die evaluering van die drie nuwe middels het Yoder et al. (1951) ook weer na Bordeaux-mengsel en "Copper-A" (koperoksichloriedsulfataat) gekyk, maar weer is daar bevestig dat hierdie middels die sampioen beskadig.

Volgens Stoller (1954) vind Duncan (1951) dat tetrametieltiuraamdisulfied (tiram) net so doeltreffend as sineb is, maar volgens Challen en Elliott (1985) is tiram meer toksies teenoor A.bisporus as teenoor V.fungicola. Hierteenoor het Poppe in 1968 gevind dat tiram die sampioenopbrengs nie benadeel nie, alhoewel in vitro toetse getoon het dat dit miseliumgroei wel inhibeer.

Ayers en Lambert (1955) berig oor die gebruik van gechlorineerde water in die beheer van sampioensiektes en in 1961 beveel Kneebone en Merek dit ook vir die beheer van V.fungicola aan. Gechlorineerde water word egter vinnig geïnaktiveer en is dus nie baie effektief nie. Chloor en sineb moet ook nie saam gebruik word nie, aangesien die chloor met die sineb reageer en dit inaktiveer (Wuest, 1965). Cross en Jacobs (1967, 1969b) gee meer inligting oor die gebruik van chloor en die ditiokarbamaatfungisiede.

In 1965 beveel Wuest die lokale gebruik van 70 persent kalsiumhipochloried vir die uitroeiing van V.fungicola aan. Dieselfde

outeur noem terselfdertyd dat die gebruik van kalk nie aan te beveel is nie. Smith (1970) het ook met 'n verhoging van die chloorinhoud van die besproeiingswater (tot 175 mg.dm^{-3}) geëksperimenteer, maar dit het geen V.fungicola-beheer tot gevolg gehad nie. Oor die gebruik van natriumchloried (sout) is daar alreeds iets in die deel oor higiëne gesê.

Volgens Atkins (1976b) berig Gandy in 1969, ten opsigte van die in situ toediening van formalien, dat vyf persent formalien nie letaal ten opsigte van V.fungicola was nie. Intendeel, dit het 'n spatverspreiding van kiemkragtige spore tot gevolg gehad, terwyl die oes ook vertraag is. Formalien is ook nadelig vir die werkers in die sampioenweekhuise en Orbivet ('n mengsel van aldehiede en alkohol) is al as 'n baie effektiewe alternatief aanbeveel (Anoniem, 1981). Volgens Van Zaayen en Rutjens (1980) is Orbivet egter niks beter as formalien nie en is dit ook veel duurder.

Vir baie jare sou sineb egter die standaard swamdoder vir die bestryding van V.fungicola by sampioene wees. Dit tree hoofsaaklik as 'n fungistatiese middel op en nie soseer as 'n fungisied nie, wat beteken dat spoorkieming geïnhibeer word eerder as wat die miselium gedood word (Holmes, 1971b).

Sineb moet nie in die twee dae voordat die sampioene geoes word, toegedien word nie (Anoniem, 1978).

In 1970 berig Wuest en Cole dat sommige kwekers probleme ten opsigte van die beheer van V.fungicola met sineb ondervind, maar hulle kon na 'n ondersoek geen teken van sinebbestandheid by V.fungicola vind nie. Die redes vir die swak resultate met sineb het dus onbekend gebly. In 1971 rapporteer Holmes egter (Holmes, 1971b) dat daar in die twintig jaar wat sineb op 'n sampioenplaas in die V.S.A. gebruik is, soms baie variërende resultate waargeneem is. Na 'n ondersoek is vasgestel dat die produkte van verskillende vervaardigers, asook verskillende lotte van een en dieselfde vervaardiger grootliks kan varieër in hul vermoëns om spoorkieming te inhibeer. Na 'n evaluasie van

66 verskillende sinebmonsters is gevind dat sommige daarvan bevredigende beheer gelewer het teen konsentrasies van so laag as 14 mg.dm^{-3} , terwyl meer as 451 mg.dm^{-3} nodig was in 'n ander geval. Holmes (1971b) vind ook dat verskillende V.fungicola-isolate in hul sensitiwiteit ten opsigte van sineb verskil.

Desondanks al die probleme wat met sineb ondervind is, het die vraag daarna bly voortbestaan. Tans heers daar egter onsekerheid oor die voortgesette beskikbaarheid van die middel nadat die Amerikaanse gesondheidsowerhede agtergekom het dat daar nooit aan sekere veiligheidsvereistes (soos byvoorbeeld die uitvoering van grondwaterbesoedelingstudies) met betrekking tot die middel uitvoering gegee is nie. Onder die huidige omstandighede sou dergelike studies ekonomies moeilik geregverdig kon word en ten minste een groot vervaardiger het reeds besluit om produksie van die middel te staak (Zanzinger, 1985).

Die mislukkings wat met sineb ondervind is, het aanleiding daartoe gegee dat daar weer na ander moontlike selektiewe swamdoders begin soek is en in 1970 maak Wuest en Cole van maneb (mangaanetileen-1,-2-bisditiokarbamaat) en benomil (metiel-1-[butielkarbamoïel-] bensimidazol-2-ielkarbamaat) as moontlike plaasvervangers vir sineb melding. Geeneen van die twee nuwe middels het enige nadelige invloed op A.bisporus gehad nie, maar daar is gevind dat die invloed van benomil op V.fungicola heelwat gevarieer het afhangende van die V.fungicola-isolaat wat gebruik is.

In 1965 berig Fekete en Kuhn dat die middel Vertomyc, 'n mengsel van maneb en mankoseb (sink/mangaanetileen-bisditiokarbamaat) (Fekete, 1967) beter resultate as sineb gelewer het. Vertomyc is egter nadelig vir die vegetatiewe groei van A.bisporus (Fekete en Kuhn, 1965; Fekete, 1967). In 'n ondersoek na die moontlikhede van maneb en mankoseb (Fekete, 1967) is gevind dat die mengsel Vertomyc beter resultate met betrekking tot die inhibering van V.fungicola-spoorkieming as enige van die twee middels alleen gelewer het. In 1970 wys Smith ook kortliks op

die gebruik van mankoseb en Vertomyc, maar uit sy gegewens blyk dit dat mankoseb alleen, effens beter as Vertomyc is.

In 'n ondersoek deur Poppe (1967) na die invloed van swamdoders in die deklaag op V.fungicola het kaptab die beste resultate (ook beter as sineb) gelewer. Mankoseb het ook beter as sineb presteer, terwyl middels soos thioquinox en veral trichloor- en pentachloornitrobenseen ondoeltreffend was. Volgens Poppe (1968) is kaptab in vitro sterk inhiberend teenoor sampioenmiselium, maar het dit die sampioenopbrengs in 'n in vivo eksperiment minder as sineb óf maneb benadeel. Gandy (1972) weerspreek egter Poppe (1967; 1968) se resultate. Haar werk dui daarop dat kaptab geen beheer teen V.fungicola bied nie en dat dit die sampioenopbrengs in werklikheid verlaag. Hierdie bevindinge word deur dié van Challen en Elliott (1985), dat kaptab meer toksies teenoor A. bisporus as teenoor V.fungicola is, ondersteun.

In 1971 doen Snel en Fletcher oor benomil, asook tiabendasool (2-[tiasol-4-iel]bensimidasool) as beheermiddels teen V.fungicola verslag. In in vitro eksperimente is gevind dat benomil ongeveer twee maal so fungitoksies as tiabendasool was. Die ED₅₀ waardes (50 persent inhibisie van miseliumgroei) ten opsigte van V.fungicola was 0,8 mg.dm⁻³ vir tiabendasool, en 0,4 mg.dm⁻³ vir benomil. Tiabendasool was egter veiliger vir gebruik by sampioene en hier was die ED₅₀ waardes 48 mg.dm⁻³ vir benomil en 100 mg.dm⁻³ vir tiabendasool. Uit die literatuur blyk dit egter dat daar 'n variasie in die sensitiwiteit van A.bisporus en veral V.fungicola (soos later in meer detail bespreek sal word) ten opsigte van benomil bestaan. Fukui et al. (1974) berig uit Japan dat die ED₅₀ waarde vir benomil ten opsigte van A.bisporus tussen 5 en 10 mg.dm⁻³ (50 mg.dm⁻³ het miseliumgroei heeltemal geïnhibeer) en ten opsigte van V.fungicola tussen 0,1 en 0,25 mg.dm⁻³, lê. 'n Konsentrasie van 0,25 mg.dm⁻³ was genoeg om groei van hulle V.fungicola-isolaat heeltemal te onderdruk. In in vivo het beide benomil en tiabendasool volledige beheer van Mycogone perniciosus gebied teen konsentrasies van 10 mg.dm⁻³ en was daar geen vertraging

in vrugliggaamvorming nie (Snel en Fletcher, 1971). Tagtig persent van die sampioene van die kontrole was besmet. Gandy (1972) vind tiabendasool egter baie minder effektief as benomil. In teenstelling hiermee beveel Rucklidge (1978) die gebruik van tiabendasool aan, omdat dit volgens hom meer toksies teenoor V.fungicola en heelwat minder toksies as benomil teenoor die sampioen is. Hy behaal uitstekende resultate met die inkorporering van $1,8 \text{ g tiabendasool.m}^{-2}$ deklaag, wat na die eerste breek met 'n weeklikse drenkbehandeling van $0,6 \text{ g tiabendasool in } 2\text{dm}^3 \text{ water.m}^{-2}$, tesame met $2,4 \text{ g Coppamate.m}^{-2}$, opgevolg word. Coppamate, 'n tiokarbamaat, het egter karsinogeniese afbraakprodukte en gevolglik is die gebruik daarvan uiters onwenslik. Rucklidge (1978) se optimisme ten opsigte van tiabendasool word in 1981 deur Sokolski ondersteun. Hy plaas egter nadruk daarop dat tiabendasool slegs fungistaties optree en die siekte nie uitwis nie, wat die toepassing van korrekte higiëniese plaasbestuur steeds 'n noodsaaklikheid maak.

In 1971 rapporteer Holmes et al. oor die suksesvolle gebruik van benomil in die beheer van V.fungicola op kommersiële skaal sowel as op kunsmatig geïnfekteerde beddings in 'n loodsaanleg. Sampioenbeddings is direk na bedekking en op verskillende stadiums daarna met 'n benomilsuspensie in water bespuit. Onder kommersiële toestande is effektiewe beheer verkry met 'n enkele toediening van $0,25 \text{ g.dm}^{-3}$ (ongeveer $0,6 \text{ dm}^3.0,9 \text{ m}^{-2}$) net ná bedekking, maar vóór die eerste benatting van die beddings. Ook in 1971 bespreek Gandy die moontlikhede van benomil, bekend onder die handelsnaam "Benlate". Sy vind dat $1,0 \text{ g aktiewe bestanddeel.m}^{-2}$, op die oppervlak toegedien, naby die optimum behandeling moet wees en dat dit klaarblyklik geen nadelige invloed op die sampioen gehad het nie. Hierdie immuniteit van A.bisporus teen benomil is in ooreenstemming met Bollen en Fuchs (1970) en Edgington et al. (1971) se bevindinge ten opsigte van die Agaricales. Gandy (1971) vind ook dat die beste resultate behaal word as toediening nie later as twee weke na bedekking geskied nie. Resultate wat met benomil behaal is, was heelwat beter as dié met sineb in 'n parallelle eksperiment.

Alhoewel die vervaardigers van benomil 2,4 g aanbeveel, noem Ganney en Atkins (1972) dat 1,2-1,8 g.m⁻² in 2 dm³ water voldoende is om beskerming te bied waar die inokulum nie te swaar is nie, maar dat swaarder toedienings onder ernstiger toestande nodig sal wees. Toedienings van benomil op onbehandelde beddings wat later besmet geraak het, het na toediening tot siektevrye breke aanleiding gegee. Ganney en Atkins (1972) noem ook die moontlikheid dat die inkorporering van benomil in die deklaag effektiewer beskerming by 'n besmette deklaag sal bied. Alhoewel die sampioen self redelik benomilbestand is, vind Ganney en Atkins (1972) egter dat 'n toediening kort voor die sampioenprimordiums begin vorm, tot 'n vertraging in, en effense verswakking van, die eerste breek gelei het. Dieselfde twee outeurs maak ook van 'n praktiese probleem melding, naamlik dat benomil baie swak oplosbaar in water is en dus tydens toediening gedurig geroer moet word.

Dumbreck (1972) noem dat 'n tweede toediening van benomil (1,2 g.m⁻² na vier weke) sampioengroei vir twee weke daarna feitlik heeltemal geïnhibeer het. Hy noem egter dat dit aan die einde van 'n oes plaasgevind het. In 'n evaluering van 24 fungisiede vind Gandy (1972) egter dat benomil telkens die beste resultate gelewer het.

Die invloed van benomil op sewe verskillende sampioenrasse is in 1972 deur Wuest *et al.* geëvalueer. Verskillende konsentrasies (tussen 0,45 tot 4,54 kg.380 dm⁻³) van 'n 50 persent aktiewe bestanddeel benomilpoeier is teen 'n dosis van 0,568 cm³.0,93 m⁻² siektevrye bedding toegedien. Toediening is óf net na bedekking óf na die eerste breek gemaak, terwyl die invloed van herhaaldelike toedienings (vir tot sewe weke na die eerste breek) ook ondersoek is. Teen konsentrasies van 0,45 of 0,91 kg.380 dm⁻³ is geen verlaging in opbrengs by enige toediening waargeneem nie, maar teen 'n konsentrasie van 4,54 kg.380 dm⁻³ was daar op een uitsondering na 'n konstante oesverlaging en vertraging in sporokarpontwikkeling.

In 1977 berig Lemke oor die invloed van verskillende benomilbe-

handelings (op drie verskillende deklae) op die opbrengste van twee verskillende sampioenvariëteite. Geen vermindering in opbrengs kon waargeneem word wanneer die deklaag 25-50 persent (volume) swartveen bevat het nie. 'n Betekenisvolle oesvermindering is egter waargeneem waar 'n tien persent veenbevattende deklaag een week na bedekking met benomil behandel is.

Kim (1975) bespreek die voordele van benomil en MBC, oftewel karbendasim (metielbensimidiasol-2-ielkarbamaat) en vind dat beide middels effektiewer as maneb in die beheer van V.fungicola is.

Tydens 'n opname gedurende 1974/75 is gevind dat bensimidiasool-fungisiede op 135 uit die 146 ondersoekte sampioenplase in Engeland gebruik is (Gaze en Fletcher, 1975), en dat op 129 van hierdie plase van benomil gebruik gemaak is. Dosisse het gewissel van 0,3-12,5 g.m⁻². Benomil is in 1970 in Engeland begin gebruik en in 1976 berig Fletcher et al. dat daar op 124 uit 139 ondersoekte plase daarvan gebruik gemaak is.

Reeds in 1970 vind Wuest en Cole dat verskillende V.fungicola-isolate grootliks in hul sensitiwiteit ten opsigte van benomil kan varieer en in 1972 bespreek Ganney en Atkins die moontlikheid van die ontwikkeling van benomilbestandheid by V.fungicola. Dit het dan ook nie lank geduur voordat die eerste berig van 'n bestande V.fungicola ras verskyn het nie (Wuest en Cole, 1973). Alhoewel hierdie bestande isolaat nie baie virulent was nie, sinspeel Wuest et al. (1974) daarop dat daar dalk wel meer virulente en potensieel gevaarliker bestande stamme in die natuur mag voorkom. In 1974 noem Wuest et al. dat die bestande isolaat van Wuest en Cole (1973) alreeds in 1958, dit wil sê lank voor die gebruik van benomil 'n aanvang geneem het, versamel is. Dit dui dus daarop dat daar natuurlik-bestande rasse bestaan en dat bestandheid in die eerste plek nie noodwendig in reaksie op die gebruik van benomil ontwikkel het nie. Littrell (1976) sê dan ook dat bestandheid teen benomil as gevolg van seleksiedruk op die natuurlike populasie ontstaan.

In in vitro studies met ses Deense V.fungicola-isolate kon benomilbestandheid nie geïnduseer word deur kweking op voedingsmediums waarin die swamdoder geïnkorporeer is nie (Kovacs et al., 1983). Laasgenoemde outeurs is ook van mening dat bestandheid reeds voor die bekendstelling van benomil bestaan het en daarna verder ontwikkel het.

Slegs 'n jaar nadat goedkeuring vir die gebruik van bensimidasoolfungisiede op Nederlandse sampioenplase verleen is, het bestande V.fungicola-stamme hul verskyning in daardie land gemaak (Bollen en Van Zaayen, 1975). Die ondersoekte isolate het grootliks ten opsigte van hul sensitiwiteit teenoor die swamdoder verskil. Dieselfde outeurs vind dat benomilbestande stamme in vitro ook kruisbestand ten opsigte van ander bensimidasoolfungisiede, onder andere karbendasim en tiofanaat-metiel (TM) was. Twee nuwe fungisiede (imasalil en vinklosolin) was nie bevredigende alternatiewe teen bestande isolate nie (Bollen en Van Zaayen, 1975).

In 'n in vitro evaluering van 229 V.fungicola-isolate vind Fletcher en Yarham in 1976 dat 63 persent van die isolate in 'n mate benomiltolerant was, terwyl 53 persent van die isolate baie bestand, met ED₅₀ waardes van hoër as 50 mg.dm⁻³ was. By 19 persent van die isolate was daar selfs 'n stimulering van groei te bespeur op bakkies wat 5 mg.dm⁻³ benomil bevat het. Die resultate van Fletcher en Yarham (1976) dui ook op kruisbestandheid ten opsigte van tiabendasool en TM. Interessant in hierdie verband is die bevindinge van Lambert en Wuest (1975; 1979) dat benomilbestande V.fungicola-stamme sensitiewer ten opsigte van sineb as nie-bestande rasse is. Volgens Atkins (1976a) beveel Wuest die gelyktydige gebruik van sineb én benomil aan, menende dat dit minder kans vir die ontwikkeling van benomiltolerante stamme sal bied. Atkins (1976b) noem ook dat, waar benomiltoleransie bevestig is, daar vir die duur van drie oeste slegs van mankoseb of sineb gebruik gemaak moet word, waarna benomil weer, om die beurt met sineb, gebruik kan word. Soos reeds genoem, heers daar egter onsekerheid oor die voortgesette beskikbaarheid van sineb.

In 1974 berig Lambert en Wuest dat benomilbestandheid by V.fungicola met die swam se vermoë tot in vitro suurvorming op 'n agarvoedingsbodem korreleerbaar is. In 1976 spekuleer dieselfde outeurs dat die bestandheid van hierdie swam deur 'n verandering in die swam se metabolisme, wat moontlik 'n pH-gereguleerde vermindering in die opname of binding van die fungisied mag wees, veroorsaak mag word.

Volgens Fletcher et al. (1976) moet mislukkinge in die beheer van V.fungicola met benomil nie altyd dadelik aan bestandheid toegeskryf word nie, aangesien daar volgens hulle biologiese faktore (bakterieë) in die deklaag aanwesig mag wees wat daartoe in staat is om die benomil in 'n tydperk van so kort as vier dae na toediening totaal en al af te breek. Die isolering van drie sterk benomilafbrekende bakterieë uit deklaaggrond (Fletcher et al., 1980) verleen dan ook getuienis ter ondersteuning van hierdie standpunt. Nair en Baker (1978) vind egter dat probleme in die beheer van Mycogone perniciososa toegeskryf kon word aan die onbeskikbaarheid van die benomil as gevolg van absorpsie aan die deklaagmateriaal.

Rucklidge (1978) bespreek kortliks die werking van benomil en noem dat dit hoofsaaklik met proteïensintese en selvermeerdering inmeng deurdat dit, ten koste van adenien en guanien, in die DNA-molekuul geïnkorporeer kan word en sodoende 'n afbraak van die DNA tot gevolg het.

In teenstelling met Snel en Fletcher (1971) wat noem dat geen benomil of benomilafbraakprodukte in benomilbehandelde sampioene voorkom nie, het latere werkers die teendeel gevind. In 1976 noem Dabrowski en Czarnik die maksimum benomilkonsentrasies in sampioene wat met 1 g swamdoder in 100-500 cm³ vloeistof per m² bedding behandel is as 0,5 en 0,7 mg.kg⁻¹. Hierdie konsentrasie is heelwat laer as die maksimum toelaatbare konsentrasie van 1,5 mg.kg⁻¹ soos neergelê deur die Codex Alimentarius (Dabrowski en Czarnik, 1976). Jalali en Anderson vind in 1976 ook dat benomilreste in behandelde sampioene voorkom. Toedienings van 40 µg benatbare poeier (50 persent

aktiewe bestanddeel) per gram kompos (70 persent H₂O) is op verskillende tye, naamlik tydens inokulering van die kompos, by bedekking en tydens die eerste breek, toegedien. In alle gevalle is benomil in die sampioene waargeneem, maar nooit in hoë konsentrasies (wat gewissel het van 0,67 tot 3,6 mg.kg⁻¹ vars massa) nie. Die sampioene wat tydens die eerste breek behandel is, het die grootste konsentrasie benomilreste bevat. Sampioene op beddings wat tydens die inokulering van die kompos behandel is, het die kleinste konsentrasie reste bevat, maar die bevinding dat daar wel 'n residu in hierdie sampioene aanwesig was, was 'n aanduiding daarvan dat benomil vanaf die vegetatiewe hifes na die vrugliggame getranslokeer kan word. Geen ophoping van die middel kon egter in die vrugliggame waargeneem word nie. Benomil moet egter nie in die twee dae wat die oes van die sampioene voorafgaan, toegedien word nie (Anoniem, 1978).

Desnieteenstaande die probleme met benomil en die kruisbestandheid van V.fungicola teen ander bensimidasooldswamdoders berig Fletcher (1981) dat tiabendasool steeds goeie siektebeheer kan verleen in gevalle waar ander bensimidasoole oneffektief is. Eicker (1984) vind ook dat 'n tiabendasool toediening van 1,838 g aktiewe bestanddeel.m⁻² na die oorplaas van die deklaag, gevolg deur toedienings van 1,44 g aktiewe bestanddeel.m⁻² na elke pluk, veilige, suksesvolle beheer van V.fungicola in Suid-Afrika tot gevolg gehad het.

As gevolg van die probleme met die bensimidasoolfungisiede, en benomil in besonder, het die soektog na alternatiewe middels voortgeduur. In 1975 berig Patton et al. oor beperkte sistemiese aktiwiteit van chlorotalonil ten opsigte van V.fungicola. Chlorotalonil het nie spoorkieming onderdruk nie, maar eerder spoorvorming geïnhibeer. 'n Toediening van 0,1 g aktiewe bestanddeel.0,37 m⁻² by bedekking, en dan weer by knopvorming, asook tien- tot 12-daaglik daarna (tot 'n totaal van agt toedienings), het geen negatiewe invloed op die sampioen gehad nie. Oók in 1975 berig Wuest et al. egter dat hoe swaarder die infeksie, hoe minder effektief is chlorotalonil.

Gandy (1975) noem dat chlorotalonil op sy effektiefste, steeds minder toksies ten opsigte van V.fungicola en meer toksies ten opsigte van die sampioen as die bensimidasoolfungisiede is, en dat sampioene eers 24 uur na toediening geoes kan word. Chlorotalonil is 'n langwerkende middel en Gandy (1975) vind dat 'n toediening van $1,3 \text{ g.m}^{-2}$ tot 'n betekenisvolle siektevermindering aanleiding gegee het. Sy vind egter dat die inkorporering van die fungisied in die deklaag die oes vertraag en die opbrengs verlaag, en dat 'n drenkbehandeling ongeveer een week na bedekking, die beste resultate lewer. In gevalle waar V.fungicola daarna nóg probleme skep, beveel sy 'n tweede toediening, nie later as twee weke na die eerste nie, aan. Meer toedienings of groter dosisse het nie beter resultate tot gevolg gehad nie. Gandy (1975) noem verder dat chlorotalonil eerder as 'n hulpmiddel tot goeie higiëne gebruik moet word en dat daar nie verwag moet word dat dit V.fungicola heeltemal sal uitroei nie. Volgens haar is die moontlikheid dat weerstandbiedendheid teen chlorotalonil sal ontwikkel maar min as gevolg van die breë toksisiteitspektrum daarvan.

In 1976 gee Gandy en Spencer 'n volledige bespreking oor die gebruiksmoontlikhede van chlorotalonil (Daconit 2787, 75 persent aktiewe bestanddeel benatbare poeier) en meld dat dit wel die voorkoms van 'n bensimidasoelbestande V.fungicola-isolaat op sampioene verminder het. Slegs een toediening was nodig en beter beheer as met sineb is verkry. Chlorotalonil het ook nie die sporokarpe gevlék nie. Omdat chlorotalonil egter 'n breëspektrumfungisied is, kan dit ook die sampioenmiselium beskadig en Gandy en Spencer noem in 1976 weer dat die inkorporering van hierdie middel in die deklaag die opbrengs benadeel. Kontak tussen die fungisied en die sampioen moet dus so lank as moontlik uitgestel word en daarom sal die stadium wanneer die deklaag alreeds met miselium deurtrek is, maar net voordat knopvorming 'n aanvang neem, die beste tyd vir die toediening van chlorotalonil wees. In hierdie verband egter is Van Zaayen en Rutjens (1978) die mening toegedaan dat hoewel 'n verkeerde toediening die miseliumgroei mag inhibeer, dit nie 'n uiteindelijke betekenisvolle vermindering in die opbrengs tot

gevolg sal hê nie.

Volgens Gandy en Spencer (1976) het chlorotalonil nie totale beheer van V.fungicola bewerkstellig nie, maar ten minste vir 'n verdubbeling in die opbrengs gesonde sampioene gesorg. Benomil is egter steeds aanbeveel as die middel om te gebruik waar bestandheid nie 'n probleem was nie. Chlorotalonil word as 'n alternatief vir sineb beskou en het volgens Gandy en Spencer (1976) hoofsaaklik dié voordeel dat net een toediening nodig is en die middel dwarsdeur die oes effektief bly.

Hierteenoor berig Olivier (1987) dat chlorotalonil, onder die toestande in Franse grotte, vir alle praktiese doeleindes heeltemal ondoeltreffend is.

In 'n vergelykende ondersoek (Van Zaayen, 1978a;b) met chlorotalonil en pirasofos (Curamil), vind sy dat chlorotalonil steeds beter resultate lewer en dat pirasofos 'n groter opbrengsverlaging tot gevolg het. Beide middels was toenemend effektief met 'n verlaging van die V.fungicola-inokulum in die deklaag.

Oók in 1978 bepaal Gandy en Spencer die invloed van vyf fungisiede, naamlik chlorotalonil, LS74-783, oksikarboksin, benodanil en pirakarbolid op ses verskillende sampioenrasse. Pirakarbolid was die enigste middel wat 'n betekenisvolle nadelige invloed op die ses rasse in geheel gesien, gehad het, alhoewel chlorotalonil en benodanil ook 'n betekenisvolle opbrengsverlaging by die mees sensitiewe ras, Sinden A6, tot gevolg gehad het. Dit blyk dus hieruit dat daar deeglik met die sampioenras rekening gehou moet word by die toepassing van chemiese beheermaatreëls. Wat die beheer van V.fungicola aanbetref, het chlorotalonil oor die algemeen die beste resultate gelewer, maar was dit steeds heelwat minder effektief as die bensimidiasoolmiddels voordat toleransie daarteen ingetree het. Benodanil was desnieteenstaande die middel se negatiewe effek op gesonde sampioene, na chlorotalonil verantwoordelik vir

die beste siektebeheer (Gandy en Spencer, 1978). Gandy (1981) waarsku dat pirakarbolid, sowel as die middel iprodioon nie vir gebruik op sampioene aanbeveel kan word nie.

Samuels en Johnston (1980) berig dat 'n mankoseb/karbendasim-mengsel genaamd "Delsene MX" meer effektief as benomil teen V.fungicola was. Die middel kan egter nie aanbeveel word nie, aangesien daar aanduidings is dat dit sampioengroei ook inhibeer. Dieselfde outeurs wys ook op die waarde van die gebruik van ED₉₅ in stede van ED₅₀ waardes by die in vitro evaluering van swamdoders.

Gandy en Spencer (1981a) vergelyk twaalf fungisiede, naamlik dimetirimol, fenarimol, imasalil, tridemorf, triforien, disiklidien, etridiasool, prochloras, SN66752, natriumdichlorisosianuraat, triadimefon en 'n mengsel van karbendasim en maneb (genoem Delsene-M) met chlorotalonil, tiabendasool en benomil. Triforien, dimetirimol en tridemorf was fitotoksies ten opsigte van die sampioen, maar vir die eerste keer is daar ook middels wat effektiewer as chlorotalonil was, gevind, naamlik prochloras en die karbendasim/manebmengsel. Daar is egter gevind dat sekere prochlorasformulerings fitotoksies ten opsigte van die sampioen kan wees, terwyl Delsene-M die behandelde sampioene onaanvaarbaar gevlek het, moontlik as gevolg van die maneb in die mengsel. In 'n vergelyking van chlorotalonil met tiabendasool is gevind dat chlorotalonil die beste resultate gelewer het, en het dit dus maar die beste middel teen benomilbestande V.fungicola-rasse gebly. Vanweë die relatiewe hoë toksisiteit van chlorotalonil was dit egter nie in alle kringe ewe gewild nie en is tiabendasool soms steeds verkies (Sokolski, 1981).

In 1981 berig Stoller oor die gebruik van natriumhidroksi-metaan-sulfaat, 'n verbinding verkry deur die vermenging van formaldehyd en natriumbisulfië, as 'n alternatief vir benomil en sineb. Volgens hom is dit nie skadelik vir die sampioenmiselium nie en het dit die voordeel dat dit reukloos,

nie-vlugtig en skadeloos ten opsigte van die slymvliese (en dus in 'n geslote ruimte bruikbaar) is. Dit is goedkoop, voorkom en/of verminder V.fungicola-besmetting en geïnkorporeer in die deklaag stel dit geleidelik formalien vry sodat dit 'n langdurige werking het.

Volgens Fletcher en Himms (1981) is kaptafol ook effektief in die beheer van V.fungicola, maar het dit 'n negatiewe invloed op die sampioenopbrengs. In 1983 berig Fletcher et al. wéér dat daar in eksperimentele werk 'n mate van sukses met kaptafol behaal is. Volgens Challen en Elliott (1985) egter, is kaptafol meer toksies vir A.bisporus as vir V.fungicola.

Volgens Gandy en Spencer (1982) lei die gebruik van bitertanol op kunsmatig-geïnfekteerde beddings tot 'n betekenisvolle hoër opbrengs gesonde sampioene as die opbrengs vanaf die kontrole. Pyroxyfur egter het die sampioen geïnhibeer.

Na Gandy en Spencer (1981a) se eerste kykie na prochloras sou daar gou meer optimisme ten opsigte van hierdie middel ontstaan. Fletcher en Hims (1981) berig dat nie alle prochlorasmiddels opbrengsverlagings tot gevolg het nie. Volgens hulle is 'n prochloras-mangaan kompleks (50 persent benatbare poeier [Fletcher, 1981]) baie geskik om, sonder enige nadelige effek, op sampioene te gebruik. Inkorporering van die fungusied in die deklaag het wel opbrengsverliese tot gevolg, maar 'n sproei-toediening binne sewe dae nadat die deklaag oorgeplaas is, en daarna 'n opvolgtoediening elke twee weke, het die voorkoms van droëvrot met 70-90 persent verminder, sonder enige nadelige effek op die sampioen. 'n Toediening van $60 \text{ g} \cdot 100 \text{ m}^{-2}$ het goeie resultate gelewer. Ook Gandy en Spencer (1981b) behaal belowende resultate met 'n soortgelyke prochloras-mangaan kompleks.

In vitro toetse op tien V.fungicola-isolate uit Duitsland en Switserland het aangetoon dat 'n konsentrasie van $10 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ prochloras, swamgroei volledig inhibeer, met 'n ED₅₀ waarde

van onder die 2 mg.dm^{-3} (Heuel en Weltzien, 1982). Soortgelyke werk deur Eicker (1987) met Sportak 50 persent benatbare poeier op 'n Suid-Afrikaanse isolaat van V.fungicola, dui op 'n ED₅₀ waarde van ongeveer 2 mg.dm^{-3} . Konsentrasies van so hoog as 10 mg.dm^{-3} het geen invloed op die miseliumgroei van A.bisporus gehad nie.

In 1982 ondersoek Van Zaayen en Van Adrichem die gebruik van 'n prochloras-mangaan kompleks onder kweektoestande in die Nederlande. 'n Benatbare poeier (50 persent aktiewe bestanddeel) genaamd Sportak 50 WP (FBC) was meer suksesvol as 'n 45 persent aktiewe bestanddeel emulsifiseerbare konsentraat van prochloras sonder mangaan (Sportak 45 EC). Laasgenoemde het die opbrengs benadeel. Volgens dieselfde outeurs verskaf die benatbare poeier goeie beheer teen V.fungicola op beddings wat agt tot nege dae nadat die deklaag oorgeplaas is, kunsmatig met die patogeen geïnkuleer is. Hulle beveel 'n enkele sproeitoediening van $1,5 \text{ g aktiewe bestanddeel.m}^{-2}$, nege dae nadat die deklaag oorgeplaas is, aan. Teen hierdie hoeveelheid is die middel nie nadelig vir die sampioen nie, is die smaak van die sampioen nie geïmpak nie en was dit uit 'n arbeids-sowel as 'n swamdoderresidu-oogpunt gesien, die beste manier van toediening. Van Zaayen en Van Adrichem (1982) se aanbevelings is aanvaar en in 1983 is prochloras volgens hulle aanwysings vir gebruik op sampioene in Nederland geregistreer (Anonim, 1983). Uit Frankryk berig Olivier (1987) ook dat prochloras ($0,4\text{-}0,5 \text{ g aktiewe bestanddeel.m}^{-2}$) sedert 1983 só suksesvol in grotte gebruik word dat Verticillium asook sommige ander siektes vir alle praktiese doeleindes heeltemal verdwyn het.

Russel (1984) waarsku egter dat aanbevelings wat in een land geld, weens verskille in kweekmetodes en omstandighede nie noodwendig in 'n ander land ook van toepassing sal wees nie. In Engeland vind Fletcher et al. (1983) dan dat drie afsonderlike sproeitoedienings ($0,3 \text{ g aktiewe bestanddeel prochloras-mangaan kompleks per m}^2 \text{ per toediening}$), 7; 21 en 25 dae nadat die deklaag oorgeplaas is, die beste beheer van patogene tot gevolg gehad het.

Volgens Russell (1984) bestaan daar drie beheeralternatiewe met prochloras. Sou 'n Verticillium-uitbraak reeds met die eerste breek verwag word, is 'n behandeling soos aanbeveel vir gebruik in Nederland, die korrekte prosedure om te volg. As 'n uitbraak eers met die tweede breek verwag word, word 'n toediening van 0,3 g aktiewe bestanddeel.m⁻², sewe dae na bedekking en weer na die eerste en derde breke aanbeveel. Word 'n uitbraak eers tydens die derde breek of later verwag, word twee applikasies van 0,6 g aktiewe bestanddeel aanbeveel, met die eerste applikasie sewe tot nege dae na bedekking en die tweede tussen die tweede en derde breke.

Nadat tekens van weerstandbiedendheid ten opsigte van tiabendasoel in Suid-Afrika opgemerk is, is die potensiaal van die prochloras-mangaan kompleks ook hier ondersoek (Eicker, 1987). Sportak 50 WP, oftewel "Sporgon", was baie effektief in die bekamping van V.fungicola teen 'n toediening van 1,5 g aktiewe bestanddeel.m⁻², nege dae na bedekking, opgevolg met dieselfde hoeveelheid toegedien tussen die tweede en derde breke. Geeneen van die sampioenrasse (wit sowel as bruin) wat getoets is, is nadelig beïnvloed nie.

Volgens Fletcher et al. (1983) is 2 mg prochloras.kg⁻¹ vars sampioenmassa 'n aanvaarbare residulimiet vir hierdie middel. Volgens Eicker (1987) het selfs 'n verdubbeling van die dosis soos deur hom aanbeveel (kyk vorige paragraaf), drie dae na toediening maar 'n prochlorasresidu van 0,18 mg.kg⁻¹ sampioene tot gevolg gehad, 'n syfer binne perke van die genoemde 2 mg.kg⁻¹.

Uit die literatuur blyk dit dus dat Sporgon die eerste middel na benomil was wat weer met dieselfde doeltreffendheid teen V.fungicola ingespan kon word. Volgens Fletcher (1984) is dit ook onwaarskynlik dat Sporgon, soos benomil, sy doeltreffendheid as gevolg van bestandheid sal verloor. Desondanks die intensiewe gebruik van prochloras in Frankryk sedert 1983, is daar volgens Olivier (1987) nog geen teken van bestandheid

bespeur nie.

Volgens Fletcher (1984) is daar ook al beweer dat metiel-N-(3,5-dichloorfeniel)-karbamaat (MDPC) hoogs effektief in die bestryding van benomiltolerante swamme, maar minder effektief teen benomilsensitiewe vorme, is. Volgens Nathaniels *et al.* (1985) is daar ook aanduidings dat hierdie negatief gekorreleerde kruisbestandheid wel by V.fungicola-isolate uit die Verenigde Koninkryk mag voorkom.

Die beheer van V.fungicola var. aleophilum: Benomil (0,75 g aktiewe bestanddeel.m⁻²) was oneffektief in die beheer van V.fungicola var. aleophilum, terwyl chlorotalonil (2,2 g aktiewe bestanddeel.m⁻²) wel effektiewe beheer van die organisme bewerkstellig het. *In vitro* reageer die swam eenaardig ten opsigte van benomil: die ED₅₀ waarde is minder as 1 mg.dm⁻³ voedingsmedium, maar 'n verhoging in konsentrasie het geen addisionele inhibering tot gevolg nie. Volgens Gams en Van Zaayen (1982) verklaar dit dalk waarom die bensimidasoolfungisiede oneffektief in die beheer van hierdie swam is. Hierteenoor berig Fletcher (1984) egter dat daar wel aanduidings bestaan dat V.fungicola var. aleophilum sensitief ten opsigte van benomil is.

2.2.4.7 Na-oesbeheer

Fordyce (1968) bevind dat V.fungicola ook na-oesprobleme skep wat tot 'n vermindering in die rakkleef tyd van sampioene lei. Oënskynlik gesonde sampioene is dikwels met V.fungicola-spore besmet, en dit lei tot verdere infeksie onder na-oestoestande. 'n Natriumbisulfiëetbehandeling is oneffektief gevind vir 'n verlenging van die rakkleef tyd.

Stanek (1978) berig dat gammabestraling (250 k rad) vir alle praktiese doeleindes volkome na-oesbeheer van die patogeen sal verleen.

2.2.4.8 Slotsom

Uit die voorafgaande bespreking blyk dit dat daar soms verskillende menings aangaande die doeltreffende beheer van V.fungicola bestaan, en dit mag verwarring skep by diegene wat beheermaatreëls moet implimenteer. Daar bestaan egter algemene handleidings waarin aanbevelings met betrekking tot die doeltreffende voorkoming en beheer van V.fungicola gemaak word. Hiervan is dié van Atkins en Atkins (1971a;b), Anoniem (1978), Gandy, (1978), Vedder (1978) en Fletcher et al. (1986) van die meer resente. In hierdie werke word daar maar deurgaans weer na die belangrikheid van voorkoming deur middel van goeie higiëne en bestuurspraktyke gewys. Vedder (1978) bied ook 'n baie handige en beknopte opsomming van 'n hele aantal chemiese middels en hul aanwendingsmetodes aan.

Ten einde doeltreffende V.fungicola-beheer toe te pas sou dit raadsaam wees om nie slegs die genoemde (óf ander) handleidings slaafs na te volg nie, maar om die inhoud daarvan saam met die relevante eksperimentele getuienis, waarvan daar in 2.2.4 'n opsomming gegee word, te evalueer, alvorens daar op beheermaatreëls besluit word.

2.2.5 VERDERE BELANG VAN VERTICILLIUM FUNGICOLA

Tydens 'n uitbraak van kommersieelverboude Pleurotus ostreatus-sampioene in Kalifornië is V.fungicola as die veroorsakende organisme geïsoleer (Marlowe en Romaine, 1982). Volgens Poppe et al. (1985) is V.fungicola een van die mees algemene vrugliggaampatogene van kommersieelverboude Pleurotus spp. in België, maar kan dit blykbaar met benomil, TM, iprodioon, vinklosolin, prochloras of chlorotalonil in toom gehou word.

Alhoewel Poppe (1972) en Upstone en Carter (1979) melding maak van V.fungicola (var. fungicola) besmettings van A.bitorquis is Van Zaayen en Gams (1982) die mening toegedaan dat hierdie patoogen nie 'n probleem behoort te wees so lank as wat daar by

die korrekte optimale temperatuurvereistes vir A.bitorquis-verbouing gehou word nie. Laasgenoemde outeurs skryf dit aan die hoë temperature wat by die verbouing van A.bitorquis gehandhaaf word, waaronder hulle ook geen kunsmatige infeksie met V.fungicola kon bewerkstellig het nie, toe.

V.fungicola is ook parasities op wilde sampioene (Gams, 1971; Gray en Morgan-Jones, 1980), maar is volgens die literatuur klaarblyklik nie van veel verdere belang buite die sampioenbedryf nie.

Hoewel gewoonlik 'n eksogene parasiet van basidiokarpe, is V.fungicola volgens Rudakov (1978) ook in staat tot intrasel-lulêre indringing van sekere filamentagtige swamme. Dit is dan ook al as 'n parasiet van 'n roesswam aangeteken (Hassebrauk, 1936), wat 'n mens onwillekeurig laat wonder oor die moontlik-hede wat dit as 'n biologiese beheerorganisme mag inhou. In 1975 berig Hassebrauk en Roebbelen dan ook dat V.fungicola vir die beheer van geelroes, oftewel Puccinia striiformis West., gebruik kan word.

V.fungicola is oënskynlik ook nie slegs 'n fungusparasiet nie. In 1982 rapporteer Davletshina et al. 'n nuwe siekte van Kochia prostrata (L.) Schrad (in 'n woestynomgewing) wat deur V.fungicola veroorsaak word. Simptome bestaan uit 'n afsterwing van die blare, wortelvrot en 'n verrotting van die medulla.

Antibiotikumproduksie deur V.fungicola is al waargeneem (Rudakov, 1978), maar ongelukkig verstrek hy geen verdere besonderhede in dié verband nie.

Volgens Rudakov et al. (1978) is verskeie outeurs die mening toegedaan dat die modifikasie van bekende antibiotikums in toekomstige jare die belowendste metode vir die ontwikkeling van nuwe antibiotikums gaan bied. Bekende vorms van penisillien kan deur mikrobiologiese en chemiese transformasies, wat met die vorming van 6-aminopenisillaansuur (6-APS) gepaard gaan,

gemodifiseer word. Die ensiem wat die peptiedband van penisillien (met die gevolglike vorming van 6-APS), hidroliseer, staan onder meer as asielase bekend. 'n Eienskap van hierdie ensiemhidrolise is dat katalise van die omgekeerde reaksie bewerkstellig kan word, met die gevolglike sintese van nuwe vorms van antibiotikums.

Asielase-ensieme kom ook in swamme voor en in die soektog na goeie asielase-produseerders is verskeie parasitiese swamme ondersoek (Rudakov et al, 1978). Daar is gevind dat V.fungicola 'n relatief hoë asielase-aktiwiteit ten opsigte van ampisillien getoon het.

2.2.6 DIVERSE BIOLOGIESE GEGEWENS MET BETREKKING TOT VERTICILLIUM FUNGICOLA

Volgens Fekete (1967), wat met drie verskillende isolate gewerk het, varieer die temperatuurspektrums vir die vegetatiewe groei van V.fungicola as volg: isolaat no 10, 6-27°C; isolaat no 26, 0-33°C en isolaat no 104, 3-27°C. Hy beskou 18-24°C as die optimumgebied. Volgens Gams en Van Zaayen (1982) se onderskeid tussen V.fungicola var. fungicola en V.fungicola var. aleophilum (kyk 2.2.3.7) wil dit dus voorkom dat Fekete (1967) se isolaat no 26 eerder V.fungicola var. aleophilum as V.fungicola var. fungicola kon gewees het. In 'n studie van tien V.fungicola-isolate vind Heuel en Weltzien (1982) 'n optimum groeitemperatuur van 20-25°C. Drie van die isolate het egter by 30°C nog groei getoon, wat die vraag laat ontstaan of hulle nie ook met beide V.fungicola-variëteite te doen gehad het nie. Heuel en Weltzien (1982) noem ook dat die optimumtemperatuur vir vegetatiewe groei en sporulering nie noodwendig dieselfde is nie en dat sporulering in sommige gevalle beter was by laer temperature. Hierdie werk stem goed met Treschow (1941) se vroeëre bevindings van optimum en maksimum groeitemperatuur van 22 en 30°C onderskeidelik, ooreen.

Volgens Lambert en Wuest (1973; 1979) wil dit voorkom of V.fungicola uit ekologiese of geografiese rasse bestaan, aangesien die gemiddelde somertemperature in die gebiede van die verskillende isolate se oorsprong, 'n direkte verband met die isolate se groei by 30°C getoon het. (Vergelyk dan ook Gams en Van Zaayen [1982] wat drie variëteite van V.fungicola erken.) Lambert en Wuest (1979) meld dat sporulering geweldig van isolaat tot isolaat kan varieër.

In 1967 vind Fekete dat alle lewenskragtige konidiums van sy isolate nommers 10 en 104 binne 'n tydperk van 48 uur by 18-33°C kiem. Tussen 30 en 33°C degenereer die kiembuise egter gou en vind daar geen groei plaas nie. Die optimumtemperatuur vir spoorkieming lê tussen 21 en 24°C, maar 'n kiemingspersentasie van tussen 90 en 96 persent is nog tussen 12 en 27°C waargeneem. Spore wat eers by 36°C gehou, en toe na 'n laer temperatuur oorgeplaas is, het glad nie gekiem nie, terwyl spore wat eers by 0°C gehou is, later normaal gekiem het by hoër temperatuur. Wuest en Forer (1975) berig ook dat geen spore by 36°C kiem nie. Dieselfde outeurs meld dat kieming binne drie ure by temperatuur van 18-30°C waargeneem kan word. Volgens Fekete (1967) is 95 persent spoorkieming na 'n tydperk van 24 uur teen 20°C waar te neem. Teen 30°C was die kiemingspersentasie maar 40 persent, terwyl dit by 10°C net oor die 50 persent was. In hierdie verband berig Wuest en Forer (1975) dat 90 persent spoorkieming na nege uur teen 24 en 30°C; 12 uur teen 18°C en 24 uur teen 12°C plaasgevind het. Volgens Thapa en Jandaik (1987a) is 10 en 35°C na 16 uur die minimum- en maksimumtemperatuur vir spoorkieming in steriele water, met kiemingspersentasies van 2,5 en 2,19 persent onderskeidelik. Optimum kieming (53,62 persent) het by 25°C plaasgevind. Bech en Kovacs (1981) het gevind dat 17-21 dae oue spore 100 persent kiemkragtigheid op aartappel-dekstrose-agar getoon het.

V.fungicola is swak hittebestand en volgens Ware (1933) is 'n

blootstelling van 'n kultuur (op agar in 'n proefbuis) vir ses uur teen 40°C volkome letaal. Blootstellings van een tot drie uur het die swam nie gedood nie, terwyl daar na behandelings van vier tot vyf uur nog in sommige buise groei waarneembaar was. Volgens Poppe (1967) is die spoorkiemingsvermoë na een uur teen 63°C bykans totaal vernietig. Hy noem egter nie of sy werk met droë of nat hitte uitgevoer is nie. Volgens Lambert en Ayers (1957) noem Gandy (1954) dat 'n 24 uur stoom en formalienbehandeling teen 48,9°C genoeg was om V.fungicola te dood, terwyl Anderson (1956), óók volgens Lambert en Ayers (1957), noem dat 30 minute teen 60°C of twee uur teen 50°C (nat spore) voldoende is. Fekete (1967) gee meer detail met betrekking tot die invloed van nat hitte op die oorlewingsvermoë van V.fungicola en vind dat konidiums 'n temperatuur van 40°C vir een uur lank goed kan weerstaan. Na drie ure egter, kiem nog net ses persent van die spore, terwyl minder as een persent kieming na vyf uur waargeneem is. By 42°C was die spoorkieming na een uur slegs vyf persent, terwyl dit by 45°C minder as een persent was. By 48°C is geen kieming meer waargeneem nie en na vyf minute teen 54°C was die kieming minder as een persent. Fekete (1967) kom tot die gevolgtrekking dat V.fungicola spore baie temperatuurgevoelig is. Soos reeds genoem vind Wuest en Moore (1972) dat dit moontlik is om deklaaggrond wat met V.fungicola besmet is, met 'n belugte stoombehandeling van 48,9°C vir 30 minute of 54,4°C vir 15 minute, te ontsmet.

In 1981 noem Van Zaayen en Rutjens dat die gegewens van Lambert en Ayers (1957) nie altyd heeltemal betroubaar is nie, en dat Wuest et al. (1970) en Wuest en Moore (1972) nie die spesifieke temperatuur waarteen V.fungicola gedood word, noem nie. Hulle het gevolglik twee V.fungicola-isolate ondersoek en gevind dat spoorsuspensies van die twee isolate deur behandelings van 30 minute teen 38°C en 39°C onderskeidelik, gedood word. (Vir V.fungicola var. aleophilum is die temperatuur 42°C [Gams en Van Zaayen, 1982]).

Oók in 1981 beskryf Bech en Kovacs die invloed van verskillende droë asook nat hittebehandelings op die kieming van V.fungicola-spore, terwyl die invloed van verskillende ontsmettingsmiddels en swamdoders ook bespreek word. Die resultate van hierdie outeurs ten opsigte van die effek van temperatuur op spoorsuspensies van V.fungicola stem goed met die bevindinge van Van Zaayen en Rutjens (1981) ooreen. Volgens Bech en Kovacs (1981) het hulle V.fungicola-kultuur na 19 dae 'n sporulering van $1,2 \times 10^6$ spore.cm⁻² getoon (die temperatuur word nie genoem nie). Hierdie spore was meer temperatuur- en chemikaliebestand as Mycogone perniciosa-spore wat in parallelle eksperimente ondersoek is.

Volgens Fekete (1967) is die konidiumkonsentrasie ook van belang by spoorkieming. By konsentrasies van 7×10^2 tot 7×10^6 spore.cm⁻³ het slegs 50 persent kieming plaasgevind.

Daar is aangetoon dat V.fungicola in staat is om min of meer ewe goed op 'n breë reeks voedingsmediums te groei, alhoewel sporulering wel effens mag varieër (Fekete, 1967). Volgens Heuel en Weltzien (1982) kan verskillende isolate egter in die benutting van sekere groeisubstrate varieër.

Geen verskille kon tussen kulture wat in die lig gekweek is en dié wat in die donker gehou is, waargeneem word nie (Fekete, 1967).

In 1973 bepaal Azéma en Touzé-Soulet die invloed van twaalf verskillende koolstof- en tien verskillende stikstofbronne op die groei van V.fungicola in 'n vloeibare medium. Glukose was die beste koolstofbron, terwyl die pentoses en organiese sure minder geskik was. Van die stikstofbronne het α -alanien die beste groei tot gevolg gehad, terwyl die ammoniumioon ook 'n goeie stikstofbron was. In teenstelling hiermee was die nitrate swak bronne van stikstof, maar ammoniumnitraat het egter uitstekende groei tot gevolg gehad. Ureum was 'n redelike swak stikstofbron, terwyl 'n kaseïnhidrolisaat, ryk aan

aminosure, goed benut is.

Die konsentrasie van sowel die koolstof- as die stikstofbron is ook belangrik en Azéma en Touzé-Soulet (1973) berig dat konsentrasies van 0,4 en 0,8 persent koolstof (glukose) die beste groei gelewer het, terwyl 'n stikstofkonsentrasie van 0,021 persent (α -alanien sowel as NH_4NO_3) die beste was.

Die invloed van verskillende vitamieë op die groei van V.fungicola is ook ondersoek (Azéma en Touzé-Soulet, 1973), maar die resultate was deurgaans ongeveer dieselfde, behalwe vir piridoksien waar groei vertraag is. Die uiteindelijke opbrengs was egter in ooreenstemming met dié van die ander vitamieë.

Volgens Lambert en Wuest (1979) verskil verskillende isolate in hul vermoë om op 'n koperchloried (CuCl_2) verrykte medium te groei.

Wat die invloed van die aanvanklike pH van die voedingsmedium op die groei van V.fungicola aanbetref, berig Azéma en Touzé-Soulet in 1973 dat die pH-optimum tussen drie en vier lê, met α -alanien óf glutamiensuur as die stikstofbron. In die geval van glutamiensuur was daar ook 'n tweede optimum by pH 6 te bespeur, terwyl groei met α -alanien as stikstofbron geleidelik afgeneem het hoe hoër die aanvangs-pH bokant vier was. Hierteenoor het Treschow in 1941 reeds 'n optimum van pH 5,6 vasgestel. Volgens Thapa en Jandaik (1987a) lê die optimum pH vir spoorkieming in steriele water, na 18 uur by 25°C, tussen pH 5 en 5,5.

Azéma en Touzé-Soulet (1973) het hulle werk met 'n bepaling van die groei van V.fungicola in 'n medium met 'n pH van drie en met glukose as koolstof- en α -alanien as stikstofbron, afgesluit. Die konidiums kiem vinnig en na drie dae was daar al 'n massatoename meetbaar. Daarna het groei vinnig toegeneem met 'n maksimum groeitempo tussen dag vier en dag sewe. Na dag sewe was daar 'n dramatiese daling in die groeikromme vanweë

outolise, maar teen dag tien het die kromme weer gestyg en is daar gevind dat konidiums weer begin kiem en dat nuwe miselium gevorm is.

Azéma en Touzé-Soulet (1973) is van mening dat V.fungicola geen buitengewone voedingsvereistes het nie. Al hulle werk is in die donker by 24°C uitgevoer en daar is deurgaans van 250 cm³ erlenmeyerflesse met 30 cm³ voedingsmedium gebruik gemaak.

2.2.7 BESKRYWING VAN VERTICILLIUM FUNGICOLA VAR. FUNGICOLA

Daar is reeds verskeie formele beskrywings van V.fungicola gepubliseer, onder andere deur Smith (1924), Ware (1933), Fassatiova (1965), Atkins en Atkins (1971a;b), Gams (1971), Brady en Gibson (1976), Gray en Morgan-Jones (1980) en Domsch et al. (1980). In 1947 gee La Touche 'n beskrywing van konidiumvorming by hierdie swam, terwyl Fekete (1967), sowel as Lambert en Wuest (1979) meld dat daar 'n variasie in die konidiumafmetings van verskillende isolate bestaan. Vir die doel van hierdie literatuuroorsig word slegs die beskrywing van Gams en Van Zaayen (1982) weergegee.

Kolonies op MEA 23-28 mm in deursnee na tien dae by 20°C, wit tot roomkleurig, stowwerig tot fluweelagtig, somtyds (veral by degenererende kulture) ook watte-agtig. Reuk onbeduidend. Vegetatiewe hifes 0,7-2,5 μm in deursnee. Sporulering is baie sterk en die konidiofore ontstaan tipies vanaf hifes binne-in die medium. Die konidiale hofies van afsonderlike fialiede vloei dikwels in groot slymmassas saam. Die onderkant van die kulture is kleurloos of bleekgeel. Vele oktaëdriese kristalle word dikwels in die substraat gevorm. Konidiofore regop, 3,5-4 μm breed aan die basis, dikwandig, met 2-5, (in ouer kulture tot meer as 10) fialiedkranse van 3-7 fialiede elk. Uiteindelik dikwels na een kant toe gebuig. Die fialiede staan met skerp hoeke van die konidiofore af weg, is 14-20 (-35) μm lank, en vanaf 2,0-2,5 μm geleidelik tot 0,5-1,0 μm vernou. Konidiums in slymerige sferiese hofies, lank ellipsoïdaal tot

silindries, dikwels met konies vernoude (maar nie skerp gepunt nie) eindes, en met die onderpunte skaars merkbaar afgesnoei. Die konidium is dikwels in die lengte gekrom, asimmetries bikonveks tot konkaf-konveks en swak sekelvormig, gladwandig, $3,8-7,2 \times 1,2-2,4 \mu\text{m}$ en met 'n lengte tot breedte verhouding van 2,5-4,5. Een tot twee onopvallende oliedruppels kom voor. Op 'n natuurlike substraat (soos sampioene) kom die ellipsoïede vorm hoofsaaklik voor, terwyl die spoelvormige tipe algemeen in in vitro kulture voorkom. Chlamidospore ontbreek en die teleomorf is onbekend. Optimum temperatuur vir groei: 20-24°C (geen groei by 27°C).

Lambert en Wuest (1979) beweer egter dat chlamidospore wel yl by sekere isolate op aartappel-dekstrose-agar voorkom.

HOOFSTUK DRIE

MATERIAAL EN METODEDES

3.1 ISOLERING VAN DIE STUDIEMATERIAAL

3.1.1 CHROMELOSPORIUM FULVUM

C.fulvum is vroeg in 1978 vanaf die deklaag van sigbaar besmette sampioenbeddings op die Waterford-plaas van Tongaat Mushrooms (Transvaal) Edms. Beperk, te Diepsloot, in die Pretoria distrik, geïsoleer deur van die Warcup grondplaatmetode (Warcup, 1950) gebruik te maak. Aartappel-dekstrose-agar (Difco, kyk Bylaag 1) met 'n byvoeging van $0,25 \text{ g.dm}^{-3}$ Albamycin-T (Upjohn) is as isoleringsmedium gebruik. Albamycin is 'n antibiotikum wat uit gelyke dele Albamycin (novobiosien, in die vorm van die natriumsout) en tetrasiklienhydrochloried bestaan. Die grondplate is by 25°C geïnkubeer en subkulture van die C.fulvum kolonies wat hierop ontstaan het is gemaak deur 'n verdere oorenting en inkubering by 25°C op dieselfde medium. 'n Spoorsuspensie berei van een van hierdie subkulture is gebruik om, deur middel van 'n verdunningsplaatreeks, enkelspoorkulture te verkry. Laasgenoemde kulture is gemaak deur individuele kiemende spore met behulp van 'n stereomikroskoop en steriele naald uit die verdunningsplaat uit te sny en op aartappel-dekstrose-agar (ADA) oor te plaas. Uit hierdie enkelspoorkulture is 'n sterk groeiende, goed sporulerende isolaat geselekteer en deur middel van periodieke oorentings op vars ADA of moutekstrak-agar (MEA; Difco, kyk Bylaag 1) onderhou.

Peziza ostracoderma, die teleomorf van C.fulvum is ook vanaf beddings op die Diepsloot-plaas versamel en in FAA (formalien-asynsuur-alkohol, kyk Bylaag 1) bewaar vir latere mikroskopiese ondersoek.

3.1.2 VERTICILLIUM FUNGICOLA

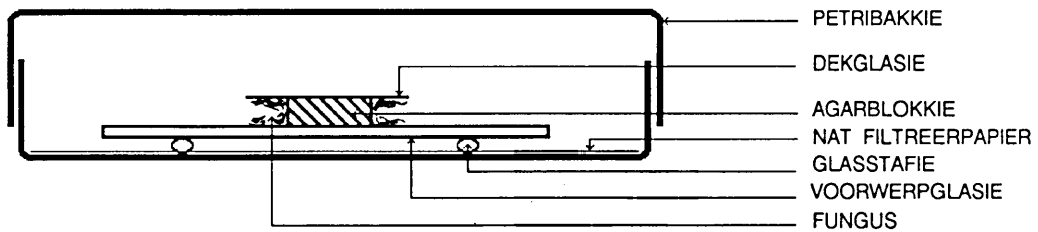
V.fungicola is vanuit besmette sampioene vanaf die Waterford-plaas genoem in 3.1.1, geïsoleer. Soos reeds gemeld (2.2.3.6) ontstaan daar soms 'n holte met hifes en spore van die patogeen by die aanhegting van die steel en pileus van besmette sampioene. In sodanige holtes kom die parasiet dan as 'n "reinkultuur" voor. Besmette sampioene is oopgebreek om die holtes met V.fungicola te ontbloot en die parasiet is asepties met behulp van 'n oorentnaald vanaf die holtes op voedingsbodems bestaande uit óf ADA óf MEA oorgeënt en by 25°C geïnkubeer. 'n Sterk groeiende kultuur is vir die latere fisiologiese werk geselekteer en op ADA onderhou.

3.2 MIKROSKOPIESE ONDERSOEK

Ten einde die identiteit van die swamme bo alle twyfel vas te stel, is albei ligmikroskopiese ondersoek en met bestaande beskrywings (Gams, 1971; Hennebert en Korf, 1975) vergelyk.

Vir die mikroskopiese ondersoek is dekglasskulture volgens die metode van Riddell (1950), asook volgens 'n variasie daarop, gemaak.

Riddell se metode is as volg: 'n Glasptribakkie wat as vogkamer moet dien, word met filtreerpapier uitgevoer en gesteriliseer, waarna 'n steriele U- of Z-vormige glasstafie op die filtreerpapier geplaas word om as ondersteuning vir 'n steriele voorwerpglasie te dien. 'n Blokkie agarvoedingsmedium van ongeveer 10 x 10 x 2 mm word op die voorwerpglasie geplaas en op al vier sye met die swam wat ondersoek moet word geïnkuleer. Daarna word 'n steriele dekglassie op die agar geplaas. Die filtreerpapier word met 'n bevoegtiger (steriele water of steriele 20 persent gliserol in water) deurdrenk, die deksel van die petribakkie word teruggeplaas en inkubering vind by 'n geskikte temperatuur plaas. Die swam groei oor die agaroppervlak én die oppervlakke van die voorwerp- en dekglassie, soos in Figuur 3.1 uitgebeeld.

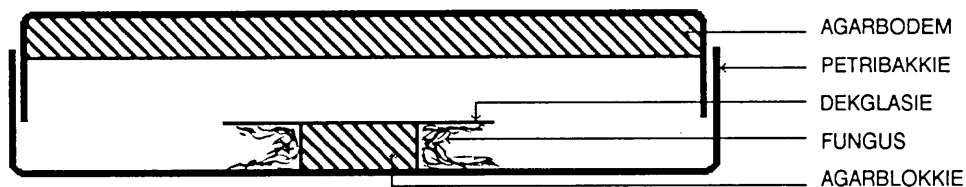


FIGUUR 3.1 Diagrammatiese voorstelling van 'n dekglas-kultuur soos beskryf deur Riddell (1950).

Na sporulering word die dekglasie versigtig verwyder en in 'n druppel monteervloeistof op 'n skoon voorwerpglasie geplaas. Die agarblokkie op die oorspronklike voorwerpglasie word verwyder en 'n druppel monteervloeistof word in die plek daarvan geplaas, met 'n skoon dekglasie bo-oor. Sodoende word twee mikroskooppreparate met een dekglaskultuur verkry.

Om eerstens die tydrowende voorbereiding van die vogkamer van die Riddelltegniek uit te skakel en tweedens die probleem van uitdroging en die gedurige herbenatting van die vogkamers te oorkom, is daar later van 'n improvisasie op Riddell se metode gebruik gemaak (Figuur 3.2). Volgens hierdie metode word daar eerstens 'n blokkie agar van ongeveer 1 cm^2 uit 'n voedingsbodem in 'n petribakkie gesny. Die petribakkie word dan onderstebo gedraai en die agarblokkie word op die binneste oppervlak van die petribakkiedeksel geplaas. Net soos in Riddell se metode word die agarblokkie dan op al vier sykante geïnkuleer en met 'n steriele dekglasie bedek. Die petribakkiehelfte met die voedingsbodem daarin dien nou as deksel vir die dekglaskultuur. Die agar in hierdie "deksel" tree as

vogreservoir op om die atmosfeer in die petribakkie humid te hou en uitdroging van die agarblokkie te verhoed. Die petribakkie kan ook, sonder enige gevaar van beskadiging, omgedraai word sodat die agarblokkie en dekglasie aan die boonste helfte van die petribakkie hang, wat 'n mikroskopiese ondersoek deur die deksel moontlik maak. Swamgroei vind net soos in die geval van Riddell se metode plaas en na sporulering word die dekglasie weer eens soos voorheen verwyder en in 'n druppel monteervloeistof op 'n skoon voorwerpglasie gemonteer. 'n Nadeel van hierdie metode is dat slegs een preparaat per kultuur moontlik is.



FIGUUR 3.2 Diagrammatiese voorstelling van 'n dekglas-kultuur soos vereenvoudig en aangepas vanaf die tegniek van Riddell (1950).

Amman se laktofenol (Smith, 1960) met anilienblou (kyk Bylaag 1) is deurgaans as monteervloeistof gebruik.

Die vrugliggame van die teleomorf van C.fulvum, P.ostracoderma, is met behulp van papdrukpreparate, met óf laktofenol en anilienblou óf Gram se jodiumoplossing (Eicker et al., 1978; kyk Bylaag 1) as monteervloeistof, ondersoek.

Daar is hoofsaaklik van 'n Carl Zeiss, asook 'n Reichert

navorsingsmikroskoop gebruik gemaak. Alle meetwerk is met behulp van 'n Leitz 12,5 okulêrmikrometer op die Carl Zeiss mikroskoop uitgevoer.

3.3 VOEDINGSFISIOLOGIE

3.3.1 DIE INVLOED VAN DIE KOOLSTOFBRON OP SWAMGROEI

3.3.1.1 Chromelosporium fulvum

'n Kwantitatiewe ondersoek na die groei van C.fulvum op dertien verskillende koolstofbronne, nl: fruktose, galaktose, glukose, inositol, laktose, maltose, mannitol, mannose, raffinose, sellobiose, sorbitol, sorbose en sukrose is uitgevoer. Tabel 3.1 verskaf meer besonderhede aangaande hierdie koolstofbronne.

Met die uitsondering van sellobiose, is die massatoename van die swam in 'n vloeibare voedingsmedium as groeimaatstaf gebruik. Hiervoor is die basale medium van Olutiola (1976), in 'n soortgelyke studie op Aspergillus flavus Link, as geskik gevind. Tabel 3.2 bevat volledige besonderhede betreffende hierdie medium. Die verskillende koolstowwe is by die basale medium gevoeg om telkens 'n volledige medium met twee persent koolstof (m/v) te lewer.

Die kulture is in 250 cm³ erlenmeyerflesse, wat vooraf deeglik skoongemaak is deur dit eerstens vir ten minste twaalf uur in 'n vyf persent Teepol (Shell Chemical) of Contrad (Hickman en Kleber, onder lisensie van Decon Laboratories) oplossing te week en dan deeglik te skrop, gekweek. Die reinigingsmiddel is verwyder deur die flesse deeglik met kraanwater (ses maal) en laastens met gedistilleerde water (twee maal) te spoel. Nadat die gewaste flesse in 'n oond gedroog is, is 100 cm³ voedingsmedium in elk geplaas en van 'n watteprop met aluminiumkappie voorsien. Die flesse met medium is gesteriliseer deur dit vir 15 minute by 125°C te outoklafeer.

TABEL 3.1 Koolstofbronne soos gebruik in die voedingsfisiologiestudies met *C.fulvum* en *V.fungicola*.

Koolstofbron	Oor- sprong	Suifer- heids- graad ⁽²⁾	Molekulêre formule	Mol- massa(g)	Aantal C-atome per molekule	Massa C per Mol (g)	Hoeveelheid benodig vir 8g C.dm ⁻³ voedingsoplossing ⁽³⁾
D(-) Arabinose	Merck	B	C ₅ H ₁₀ O ₅	150,13	5	60,055	19,998 g
D(-) Ribose	Merck	B	C ₅ H ₁₀ O ₅	150,13	5	60,055	19,998 g
D Xilose	Merck		C ₅ H ₁₀ O ₅	150,13	5	60,055	19,998 g
D(-) Fruktose	Merck	B,C	C ₆ H ₁₂ O ₆	180,16	6	72,066	19,999 g
D(+) Galaktose	Merck	B	C ₆ H ₁₂ O ₆	180,16	6	72,066	19,999 g
D Glukose	Merck	B	C ₆ H ₁₂ O ₆	180,16	6	72,066	19,999 g
D(+) Mannose	Merck	B,C	C ₆ H ₁₂ O ₆	180,16	6	72,066	19,999 g
L(-) Sorbose	Merck	B	C ₆ H ₁₂ O ₆	180,16	6	72,066	19,999 g
D Mannitol	NBC ⁽¹⁾		C ₆ H ₁₄ O ₆	182,17	6	72,066	20,222 g
Sorbitol	BDH	D	C ₆ H ₁₄ O ₆	182,17	6	72,066	20,222 g
Laktose (Monohidraat)		C	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ .H ₂ O	360,32	12	144,132	19,999 g
Maltose (Monohidraat)	Merck		C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ .H ₂ O	360,32	12	144,132	19,999 g
Sellobiose	Merck	B	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342,30	12	144,132	18,999 g
Sukrose	Merck	A	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342,30	12	144,132	18,999 g
Raffinose(Pentahidraat)	Merck	B,C	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆ .5H ₂ O	594,52	18	216,198	21,999 g

(1) : NBC = Nutritional Biochemicals Corporation

(2) : A = ekstra suifer ("extra pure")

B = vir biochemie

C = vir mikrobiologie

D = algemene doeleinde reagens ("general purpose reagent")

(3) : Formule vir berekening: $\frac{ab}{c} = x$, waar :

a = 8

b = die Molmassa van die C-bron

c = die massa C per Mol C-bron

x = die hoeveelheid C-bron benodig vir 8g C.1000 cm⁻³ voedingsoplossing

TABEL 3.2 Samestelling van die basale medium van Olutiola (1976) soos gebruik in die ondersoeke na die invloed van verskillende koolstof- en stikstofbronne op die groei van C. fulvum en V. fungicola.

Volgens Olutiola (1976)		Soos gebruik in hierdie ondersoek	
Bestanddeel	Hoeveelheid	Oorsprong	Suiwerheidsgraad*
Natriumnitraat (NaNO ₃)	29,4 mM	Protea	A
Kaliumdiwaterstofortofosfaat (KH ₂ PO ₄)	7,4 mM	Protea	A
Magnesiumsulfaat.heptahidraat (MgSO ₄ .7H ₂ O)	1,0 mM	Merck	A
Kalsiumsulfaat.dihidraat (CaSO ₄ .2H ₂ O)	37 μM	Analar	A
Ferrosulfaat.heptahidraat (FeSO ₄ .7H ₂ O)	18 μM	Protea	A
Mangaansulfaat.tetrahidraat (MnSO ₄ .4H ₂ O)	16 μM	Merck	A
Sinksulfaat.heptahidraat (ZnSO ₄ .7H ₂ O)	3 μM	Protea	C
Tiamien	2,97 μM	Merck	B
Biotien	0,02 μM	Merck	B

(*): A = analitiese graad

B = vir biochemie

C = chemies suiwer

Vir die inokulering van die voedingsmedium is 'n spoorsuspensie berei deur 'n stukkie van 'n sterk groeiende en sterk sporulerende C. fulvum-kultuur op ADA vir vyf minute in steriele gedistilleerde water op te skud. Nadat die gesteriliseerde voedingsmedium tot kamertemperatuur afgekoel het, is die verskillende flesse met gelyke volumes van hierdie suspensie geïnokuleer. Tydens inokulering is die spore in die inokulumsuspensie gesuspendeer gehou met behulp van 'n magnetiese roerder. Die geïnokuleerde flesse is by 25°C in die fitotron van die Departement Plantkunde, Universiteit van Pretoria, op 'n roterende skudmasjien geïnkubeer. Dit is algemeen bekend dat belugting van die medium deur middel van skudkulture beter groei as stilkulture lewer (Lilly, 1965; Garraway en Evans, 1984). Na 'n groeiperiode van tien dae is die swam herwin deur die inhoud van die flesse deur vooraf geweegde, oondgedroogde (24 uur by 80°C) filtreerpapier (Whatman no 4) te filtreer. Die massa van die herwonne miselium is na 'n verdere oonddrogingsperiode van 24 uur by 80°C met behulp van 'n Mettler analitiese balans bepaal. Daar was vyf herhalings per koolstofbron. Die eksperiment is later met glukose, maltose, mannose en sukrose (sewe herhalings elk), asook laktose en raffinose (vier herhalings elk) herhaal.

Die benutting van sellobiose as koolstofbron is op soliede agarplate met die benutting van glukose en maltose vergelyk. As groeimedium is ASTM-soutagar (Difco, kyk Bylaag 1), waarby die koolstofbron teen 'n konsentrasie van 8 g koolstof.dm⁻³ voedingsmedium geïnkorporeer is, gebruik. Na sterilisering van die medium (15 minute by 125°C) is 6-7 mm diep voedingsbodems in 90 mm deursnee plastiekpetribakkies gegiet en nadat die agar gestol het, is twee loodregte asse, beide deur die middelpunt van die bakkie, aan die onderkant van elk van die onderste petribakkiehelftes getrek. Met behulp van 'n kurkboor is 5 mm deursnee propies uit 'n goed sporulerende nege dae oue C. fulvum-kultuur gesny en die agarplate is daarmee geïnokuleer deur een so 'n propie, swamkant na onder, reg bokant die snypunt van die asse op die onderkant van die bakkie, op die medium te plaas.

Die geïnkuleerde bakkies is by 22°C in 'n onbeligte, temperatuurbeheerde groeikabinet geïnkubeer en die deursneë van die swamkolonies is periodiek gemeet. Die gemiddelde koloniedeursneë op die twee kruisasse is as maatstaf vir die koloniegrootte geneem. Daar was ses herhalings per koolstofbron.

Sellulose as koolstofbron: Vir hierdie ondersoek is 'n metode gebaseer op 'n tegniek wat volgens Eggins en Pugh (1962) in 1958 deur Hazra *et al.* beskryf is, gebruik. 'n Sellulose-agarmedium is berei deur 5 g fyngemaalde suiwer sellulose met behulp van 'n Virtisblender in 200 cm³ gedistilleerde water te suspendeer en dan met 'n oplossing van 18,1 g ASTM-voedingsoutagar (Difco) in 800 cm³ gedistilleerde water te meng om 'n totale volume van 1 dm³ te gee. Elke bakkie is met 'n 4 mm deursnee propjie wat met behulp van 'n kurkboor uit 'n aktiefgroeiende C.fulvum-kultuur gesny is en swamkant na onder in die middel van die agarplaat geplaas is, geïnkuleer. Groeiwaarnemings is na drie dae by 25°C gemaak, waarna die bakkies met 'n chloor-sink-jodiumoplossing (kyk Bylaag 1) oorspoel is om die gebied van sellulase-aktiwiteit te bepaal. Areas waar sellulose-afbraak plaasvind, verkleur ligter as die res van die medium. Die herhaling was vier maal.

3.3.1.2 Verticillium fungicola

Die doeltreffendheid van die volgende vyftien suikers en suikeralkohole om as koolstofbron vir V.fungicola te dien is ondersoek: arabinose, fruktose, galaktose, glukose, laktose, maltose, mannitol, mannose, raffinose, ribose, sellobiose, sorbitol, sorbose, sukrose en xilose (Tabel 3.1).

Daar is weer eens van die basale medium van Olutiola (1976) gebruik gemaak en die verskillende koolstofbronne is by hierdie medium gevoeg om telkens 'n konsentrasie van 8 g koolstof.dm⁻³ te gee. Die medium is gesteriliseer en geïnkubeer soos reeds beskryf vir C.fulvum (3.3.1.1). Die pH's van die mediums is

voor outoklaving, na outoklaving en na afloop van die eksperiment gemonitor. Elke fles is met vier druppels spoorsuspensie geïnokuleer en die inkuberingstoestand was soos vir die eksperiment met C.fulvum.

Na 'n groeiperiode van 16 dae is die eksperiment stopgesit en is die swammateriaal herwin deur filtrering deur Sartorius SM 134 30 glasvesel prefilters in Gelman filterhouers (produk no. 4200). Die filtermassas is vooraf bepaal nadat dit eers in 'n oond by 80°C tot konstante massa gedroog is. Die herwonne miselium is op dieselfde wyse gedroog, waarna die massa met behulp van 'n analitiese balans (Mettler) bepaal is. Die aantal herhalings vir elke koolstofbron was as volg: fruktose, laktose, maltose, mannitol, mannose, sellobiose, sukrose en xilose:- tien maal; arabinose, galaktose, glukose, raffinose, sorbitol en sorbose:- nege maal; ribose:- agt maal.

Sellulose as koolstofbron: Hierdie ondersoek is uitgevoer soos beskryf vir C.fulvum. Waarnemings is egter in hierdie geval eers na agt dae uitgevoer. Die herhaling was vyf maal.

3.3.2 DIE INVLOED VAN DIE STIKSTOFBRON OP SWAMGROEI

3.3.2.1 Chromelosporium fulvum

Die groei van C.fulvum is kwantitatief op nege verskillende stikstofbronne, naamlik ammoniumnitraat, ammoniumsulfaat, arginien, asparagien, glutamien, glutamiensuur, natriumnitraat, natriumnitriet en ureum ondersoek. Tabel 3.4 bevat meer besonderhede met betrekking tot hierdie stikstofbronne. Soos in die geval van die koolstofbron-ondersoeke is die massatoename van die swam in 'n vloeibare voedingsmedium as groeimaatstaf geneem.

Die moontlikheid om die eenvoudiger basale medium van Chandra en Purkayastha (1977) in hierdie ondersoek te gebruik, is nagegaan, maar geen groei het in die betrokke medium (Tabel 3.3)

plaasgevind nie. Gevolglik is die basale medium van Olutiola (1976) steeds gebruik.

TABEL 3.3 Samestelling van Chandra en Purkayastha (1977) se glukose-natriumnitratmedium.

Bestanddeel	Hoeveelheid
Glukose	10,0 g
NaNO ₃ (Natriumnitrat)	2,0 g
KH ₂ PO ₄ (Kaliumdiwaterstofortofosfaat)	0,5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O (Magnesiumsulfaat.heptahidraat)	0,5 g
Gedistilleerde water	1000 cm ³

In hierdie eksperiment is die natriumnitrat in die oorspronklike formulering van Olutiola (1976) met die verskillende stikstofbronne vervang om telkens 'n konsentrasie van 1,39 g stikstof.dm⁻³ voedingsmedium te lewer. As koolstofbron is dekstrose (Merck) teen 'n konsentrasie van 8 g koolstof.dm⁻³ voedingsoplossing gebruik. Die volledige mediums is ver fles en gesteriliseer soos beskryf in 3.3.1.1. Na sterilisasie is die pH van die verskillende mediums op pH 6 ingestel deur die byvoeging van steriele 0,1 M soutsuur en 0,1 M natriumhidrok-sied. 'n Inokulum is berei soos beskryf in 3.3.1.1, en elke fles is met drie druppels spoorsuspensie geïnkuleer. Die geïnkuleerde flesse is daarna by 26°C op 'n roterende skudmasjien in die fitotron van die Departement Plantkunde, U.P. geïnkubeer. Na vyf dae is die droëmassa van die miselium wat tydens die groeiperiode ontwikkel het bepaal soos beskryf in 3.3.1.2. Daar was nege herhalings per stikstofbron. Die eksperimente is ook met natriumnitrat, kaliumnitrat en asparagien, maar met twee persent maltose as koolstofbron, uitgevoer. Na tien dae by kamertemperatuur is die swammassa bepaal. Die herhaling was vier maal.

TABEL 3.4 Stikstofbronne soos gebruik in die voedingsfisiologiestudies met C.fulvum en V.fungicola.

Stikstofbron	Oor- sprong	Suiwer- heids- graad ⁽³⁾	Molekulêre formule	Mol- massa(g)	Aantal N-atome per molekule	Massa N per Mol (g)	Hoeveelheid benodig vir 1,39g N.dm ⁻³ voedingsoplossing ⁽⁴⁾
Ammoniumnitraat	Merck	D	NH ₄ NO ₃	80,04	2	28,013	3,972
Ammoniumsulfaat	Protea	A	(NH ₄) ₂ SO ₄	132,14	2	28,013	6,557
Natriumnitraat	Protea	A	NaNO ₃	84,99	1	14,007	8,435
Natriumnitriet	Merck	C	NaNO ₂	69,00	1	14,007	6,847
L (+) Arginien	Merck	B	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	174,20	4	56,027	4,322
DL Asparagien	NBC ⁽¹⁾		C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	132,12	2	28,013	6,556
L (+) Glutamien	Merck	B	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	146,15	2	28,013	7,252
L Glutamiensuur	NBC		C ₅ H ₉ NO ₄	147,13	1	14,007	14,601
DL Leusien	CCBR ⁽²⁾	A	C ₆ H ₁₃ NO ₂	131,17	1	14,007	13,017
Ureum	Merck	D	CH ₄ N ₂ O	60,06	2	28,013	2,980

(1) : NBC = Nutritional Biochemicals Corporation

(2) : CCBR = California Corporation for Biochemical Research

(3) : A = analitiese graad

B = vir biochemie

C = ekstra suiwer ("extra pure")

D = suiwer ("rein")

(4) : Formule vir berekening: $\frac{ab}{c} = x$, waar :

a = 1,39

b = die Molmassa van die N-bron

c = die massa N per Mol N-bron

x = die hoeveelheid N-bron benodig vir 1,39g N.1000 cm⁻³ voedingsoplossing

3.3.2.2 Verticillium fungicola

Die ondersoek na die invloed van die stikstofbron op die groei van V.fungicola is op dieselfde wyse as wat in 3.3.2.1 vir C.fulvum beskryf is, uitgevoer. Leusien is egter as addisionele stikstofbron ondersoek. Die aantal herhalings per stikstofbron was as volg: ammoniumsulfaat, arginien, glutamien, natrium-nitraat, natriumnitriet en ureum:- nege maal; ammoniumnitraat en asparagien:- agt maal; glutamiensuur:- sewe maal; en leusien: ses maal.

3.4 DIE INVLOED VAN OMGEWINGSTOESTANDE

3.4.1 DIE INVLOED VAN TEMPERATUUR OP GROEI EN SPORULERING

3.4.1.1 Chromelosporium fulvum

3.4.1.1.1 Vegetatiewe groei

Die vegetatiewe groei van C.fulvum is by 4;9;12;17;22;28;32;37 en 42°C op 6 tot 7 mm diep ADA voedingsbodems in 90 mm deursnee plastiekpetribakkies ondersoek. Soos vir die eksperiment met sellobiose (3.3.1.1) is 'n kruis op die onderkant van elke petribakkie getrek. Vier mm deursnee propies is uit 'n sterk sporulerende C.fulvum-kultuur op ADA gesny en gebruik om die bakkies te inokuleer soos ook reeds in 3.3.1.1. beskryf is. Die geïnokuleerde bakkies is in die donker (in koperhouers, kyk Figuur 3.3) in groeikabinette by konstante temperatuur geïnkubeer en die koloniedeursneë is periodiek gemeet. Die kruis op die onderkant van die bakkies het verseker dat die koloniedeursneë telkens op dieselfde radiusse gemeet is. Die gemiddelde radiale groei op die twee kruisasse is as groeimaatstaf geneem. Die herhalings vir die verskillende temperatuurbehandelings was as volg: 4;9 en 42°C:- tien maal; 17;22;28 en 32°C: nege maal; 12°C:- agt maal en 37°C:- ses maal.



FIGUUR 3.3 Koperpetribakkiehouer soos gebruik vir die inkubering van swamkulture.

Om 'n beter idee van die swam se groeigedrag tussen 28°C en 32°C te verkry, is die eksperiment soos hierbo in 140 mm deursnee glasptribakkies by 27°C en 30°C herhaal. In hierdie geval was die inokulumproppies egter 5 mm in deursnee en is die bakkies steeds in die donker, maar nie in die koperhouers nie, geïnkubeer. Vir beide temperature was die herhaling ses maal.

3.4.1.1.2 Sporulering

Ondersoek is ingestel na die sporulering van C. fulvum by 17;22;28;31 en 36°C op 6-7 mm diep ADA voedingsbodems in 90 mm deursnee plastiekpetribakkies. Die middelpunt van elke bakkie is met een druppel van 'n spoorsuspensie, verkry deur 'n 10 mm deursnee proppe wat met 'n kurkboor uit 'n sterk sporulerende

C.fulvum-kultuur gesny is vir vyf minute in 100 cm³ steriele gedistilleerde water op te skud, geïnkuleer. Die geïnkuleerde bakkies is oornag by kamertemperatuur gelaat vir die inokulumdruppel om droog te word, waarna dit in die donker in groeikabinette by konstante temperatuur geïnkubeer is. Na vier dae is 8 mm deursnee proppies met 'n kurkboor op twee plekke, naamlik 20 en 40 mm vanaf die middel van die kultuur, uit elke petribakkie gesny. Elkeen van hierdie proppies is in 'n McCartney-bottel met 10 cm³ steriele gedistilleerde water geplaas, met tien druppels jood-jood-kalium (kyk Bylaag 1) gefikseer om sporkieming te voorkom (R.C. Sinclair, persoonlike mededeling) en vir 15 minute hewig op 'n Griffen skudmasjien geskud om die spore in suspensie te kry. Spoortellings van die spoorsuspensies is met 'n "Improved" Neubauer hemasitometer gedoen volgens die voorskrifte van Peacock (1966). Die herhaling was deurgaans tien maal, behalwe vir die bakkies by 31°C waar daar slegs agt replikate was.

3.4.1.2 Verticillium fungicola

3.4.1.2.1 Vegetatiewe groei

Die groei van V.fungicola is by 4;10;17;22;24;27;30;32;35;37 en 40°C ondersoek soos beskryf vir C.fulvum in 3.4.1.1.1. In hierdie geval egter, is die bakkies geïnkuleer deur slegs met 'n steriele oorentnaald aan 'n sterk sporulerende V.fungicola-kultuur te raak en dit dan in die middel van die petribakkie, loodreg deur die agar, te steek. Die herhaling in hierdie eksperiment was deurgaans tien maal, behalwe vir die bakkies by 22°C en 27°C waar daar nege replikate per behandeling was.

3.4.1.2.2 Sporulering

Die sporulering van V.fungicola is by 12;17;23; en 27°C ondersoek soos beskryf vir C.fulvum in 3.4.1.1.2. Die inokulering van die bakkies het egter geskied soos beskryf in 3.4.1.2.1. Spoortellings is na 12 dae gedoen en die herhaling

per behandeling was deurgaans tien maal.

3.4.2 DIE INVLOED VAN LIG OP GROEI EN SPORULERING

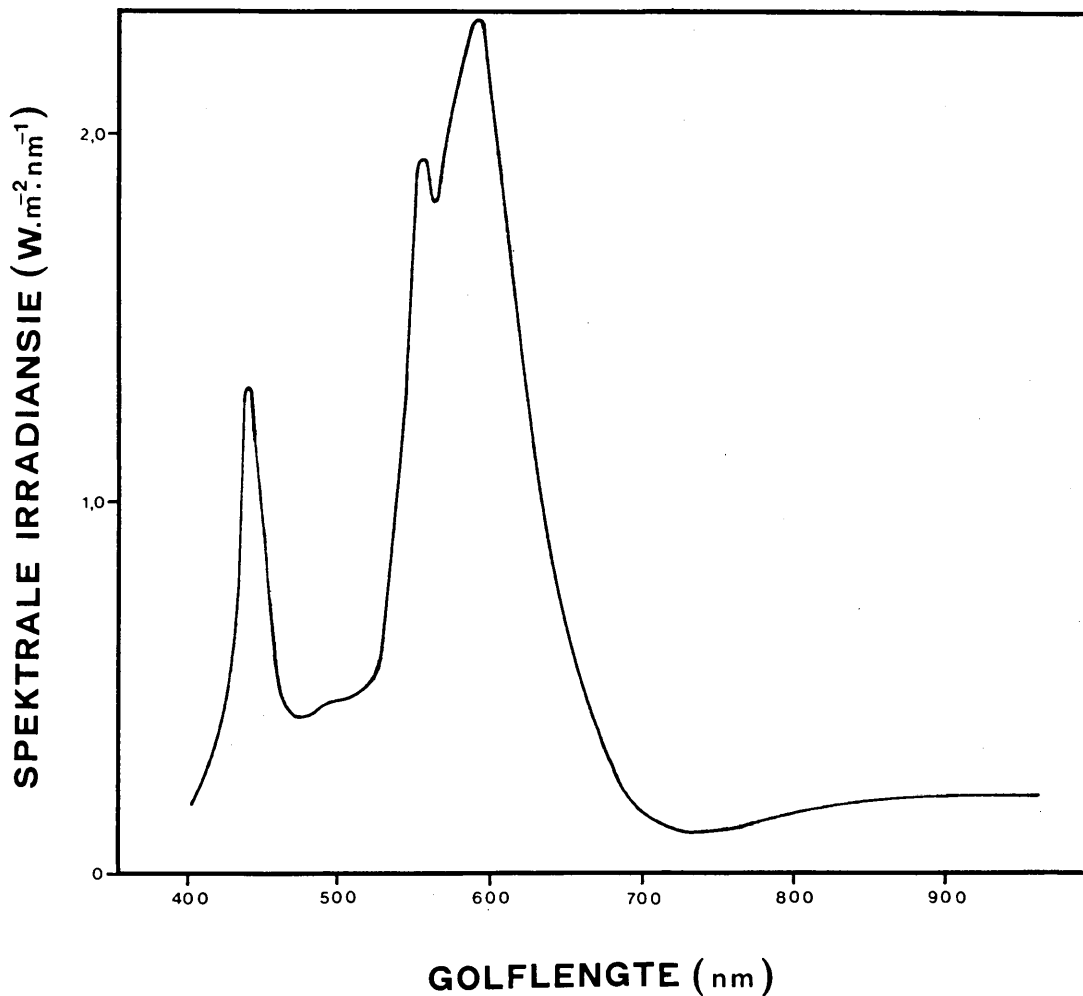
3.4.2.1 Chromelosporium fulvum

3.4.2.1.1 Vegetatiewe groei

Die vegetatiewe groei van C. fulvum is onder toestande van permanente lig; permanente donker en twee situasies van twaalf uur afwisselende periodes lig en donker, die een beginnende met 'n ligperiode en die ander met 'n donkerperiode, ondersoek. Vloeibare sowel as soliede voedingsmediums is gebruik. In die geval van die soliede medium is die effek van naby-ultraviolet lig (NUV) oftewel "black light" ook ondersoek.

Die ligbron het uit 'n kombinasie van twee Sylvania Powertube "cool white" fluoresserende buislampe (2,33 m elk) en twee Sylvania Lifeline fluoresserende buislampe (1,75 m elk) en veertien 15 Watt "Osram" wolframgloeilampe, in 'n witgeverfde vertrek met afmetings 2,25 m x 3,1 m x 2,5 m in die fitotron van die Departement Plantkunde, U.P., bestaan. Wanneer daar vervolgens na wit lig verwys word, word daar na die lig wat deur hierdie ligbron uitgestraal is, verwys. Die spektraalsamestelling van die wit lig, soos gemeet met 'n Isco-SR spektrometer (Instrumentation Specialties, Lincoln), word in Figuur 3.4 geïllustreer.

Vir die doel van die ondersoek waar daar van 'n vloeibare groeimedium gebruik gemaak is, was die groeimedium 100 cm³ hoeveelhede moutekstrakvoedingsoplossing (Difco; afk.: MEB, kyk Bylaag 1) in skoon 250 cm³ erlenmeyerflesse. Die flesse is verseël en gesteriliseer soos beskryf in 3.3.1.1. Die medium is met vyf druppels van 'n spoorsuspensie (kyk 3.4.1.1.2) geïnokuleer. Die flesse wat aan die lig blootgestel is, is op 'n plat oppervlak, 150 cm onder die ligbron, geplaas. Die flesse van die donkerbehandeling is op dieselfde oppervlak in 'n



FIGUUR 3.4 Grafiese voorstelling van die spektraalsamestelling en irradiansie van die wit lig soos op die vlak van die swamkulture.

kartondoos wat met aluminiumfoelie toegedraai is, gehou, terwyl die flesse wat aan afwisselende lig- en donkerperiodes onderwerp is ook onder dieselfde toestande afwisselend binne en buite aluminiumfoelie-oorgetrekte kartondose geïnkubeer is. Die flesse is ten minste een maal per dag geskud en na 'n groeityd van vyf dae is die swam herwin en is die droëmassa bepaal soos beskryf in 3.3.1.2. Op die vlak van die groeiflesse was die kwantumvloeddigtheid vanaf die ligbron $11,65 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. 'n T+J Crump kwantummeter toegerus met 'n LI-COR kwantumsensor is gebruik om die kwantumvloeddigtheid te meet. Die temperatuur in die fitotronkamer is konstant gehou op 28°C . Daar was nege

herhalings per behandeling. Ses tot sewe mm diep MEA voedingsbodems in 90 mm deursnee plastiekpetribakkies is as groeimedium in die ondersoek na die invloed van lig op die groei van C. fulvum, op 'n soliede substraat, gebruik. Die bakkies is geïnokuleer soos beskryf in 3.4.1.1.2, maar is dadelik by die verskillende ligbehandelings geplaas. Die inkuberingstoestand was, met uitsondering van die bakkies wat aan NUV lig blootgestel is, dieselfde as vir die vloeibare kulture. Die kulture wat die NUV-ligbehandeling ondergaan het, is op 'n afstand van ongeveer 30 cm met 'n ligbron bestaande uit drie 1,17 m lang Phillips TL 40W/08 F40T12 BLB en drie ewe lang Sylvania Lifeline F40 "cool white" buislampe bestraal vir periodes van twaalf uur, afwisselend met twaalf uur periodes wit lig. Die eksperiment is by 28°C in dieselfde vertrek as die ander ligbehandelings uitgevoer, maar die temperatuur onder die ligbron was \pm 30°C. Die herhaling was nege maal. Die herhaling vir die ander ligbehandelings was tien maal, behalwe in die geval van die kulture wat in permanente donker gehou is waar daar 30 kulture voorberei is. Met elke meting is die deursnee van slegs tien van hierdie "donker" kulture bepaal, waarna dit dan aan die eksperiment onttrek is. Sodoende is verseker dat die kulture wel onder permanente donkertoestand gebly het en nie met elke ondersoek aan lig blootgestel is nie. Die nadeel hieraan verbonde egter is dat die groei nie deurgaans op dieselfde tien bakkies gemonitor kon word nie en dat die daaglikse data telkens van tien verskillende kulture afkomstig was.

Die ontwikkeling van die kulture op die agarplate is vir al die handelings vanaf die tweede tot en met die vierde dag na inokulering gemonitor.

3.4.2.1.2 Sporulering

Dieselfde MEA kulture wat hierbo (3.4.2.1.1) beskryf is, is ook gebruik om die invloed van lig op die sporulering van C. fulvum te ondersoek. Bo en behalwe die genoemde ligbehandelings egter,

is daar terselfdertyd met behulp van identies voorbereide kulture en onder identiese toestande ook gekyk na die effek van blou, groen, rooi, en verrooi lig. Om lig van hierdie verskillende spektraalsamestellings te verkry, is wit lig (kyk 3.4.2.1.1) deur cinemoëdfilters gefiltreer (Smith, 1975; Botha, 1982). Blou lig met 'n kwantumvloeddigtheid van $0,56 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ op die vlak van die petribakkies is verkry deur die bakkies met een laag no 20 cinemoëdfilter oor te trek. Groen lig is verkry deur die gebruik van een laag no 39 cinemoëdfilter en dit het 'n kwantumvloeddigtheid van $0,655 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ gelewer. 'n Kombinasie van een laag elk van no 1 en no 14 cinemoëdfilters het rooi lig met 'n kwantumvloeddigtheid van $1,9 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ gelewer, terwyl verrooi lig verkry is deur die wit lig deur 'n kombinasie van een laag no 50 en een laag no 20 cinemoëdfilters te filtreer om 'n kwantumvloeddigtheid van $0,0855 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ te gee. Die spektraalsamestelling en irradiansie van elk van hierdie ligbehandelings word in Figure 3.5 en 3.6 weergegee.

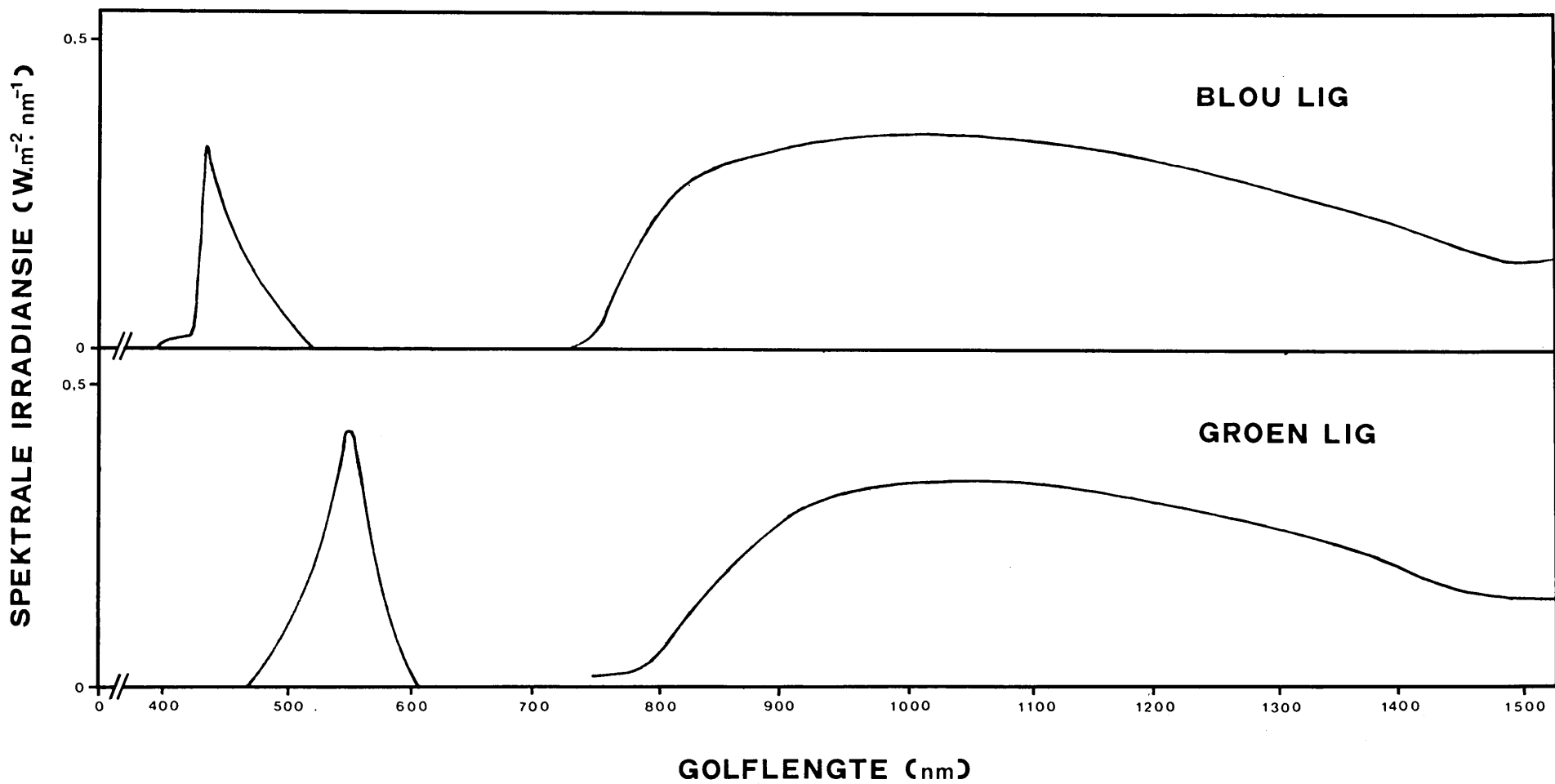
Soos beskryf in 3.4.1.1.2, is twee 8 mm deursnee propies na vyf dae op twee plekke uit elke kultuur gesny vir die bereiding van spoorsuspensies. Spoortellings is uitgevoer soos beskryf in 3.4.1.1.2. Daar was tussen sewe en tien herhalings per behandeling.

3.4.2.2 Verticillium fungicola

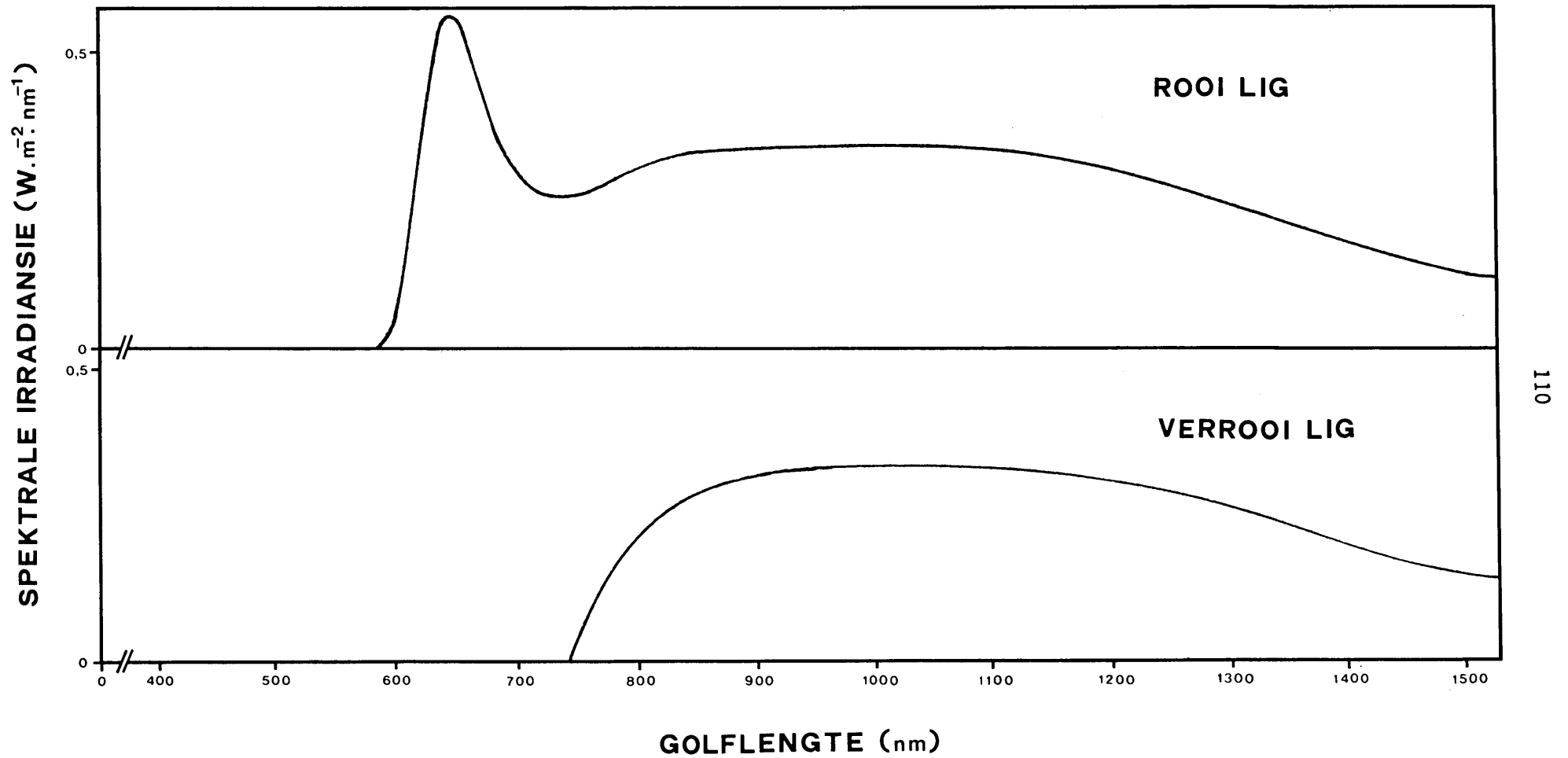
3.4.2.2.1 Vegetatiewe groei en spoorkieming

Die invloed van lig op die vegetatiewe groei van V.fungicola in vloeibare kulture is ondersoek soos beskryf vir C.fulvum in 3.4.2.1.1. Inkubering het egter vir 'n tydperk van 12 dae by 23°C geskied.

Die invloed van lig op die groei op 'n soliede voedingsmedium is ook ondersoek soos beskryf vir C.fulvum in 3.4.2.1.1. Die eksperiment is egter op ADA in 65 mm deursnee petribakkies



FIGUUR 3.5 Grafiese voorstelling van die spektraalsamestelling en irradiansie van die blou en groen lig soos op die vlak van die swamkulture.



FIGUUR 3.6 Grafiese voorstelling van die spektraalsamestelling en irradiansie van die rooi en verrooi lig soos op die vlak van die swamkulture.

uitgevoer, met 'n inkuberingstyd van elf dae by 23°C. Die ontwikkeling van die kolonies is deurentyd gemonitor. Die herhaling per behandeling was nege maal, behalwe vir die donkerbehandeling waar daar 54 bakkies voorberei is om, soos in 3.4.2.1.1 verduidelik is, 'n nuwe stel bakkies vir elke waarneming beskikbaar te hê.

Vir die ondersoek na die invloed van lig op spoorkieming is 'n spoorsuspensie berei deur twee 5 mm deursnee proppies met behulp van 'n kurkboor uit 'n 21 dae oue V.fungicola-kultuur te sny en in 10 cm³ steriele gedistilleerde water op te skud. Drie druppels van hierdie spoorsuspensie is op die ADA (Merck) voedingsbodem in elk van vier petribakkies uitgestryk, waarna twee bakkies in die lig (sonlig gedurende die dag en fluoresserende buisligte oornag) en twee in die donker by kamertemperatuur (+ 20-22°C) gelaat is vir spoorkieming om plaas te vind. Na 22 uur is spoor- en kiemingstellings gedoen deur dekglasies op die agaroppervlak te plaas en die bakkies direk onder 'n mikroskoop te ondersoek. Tien mikroskoopvelde per bakkie is getel.

3.4.2.2.2 Sporulering

Die ADA kulture wat in 3.4.2.2.1 genoem is, is ook gebruik in die ondersoek na die invloed van wit lig, blou lig, groen lig, rooi lig, verrooi lig en permanente donker op die sporulering van V.fungicola. Na elf dae by 23°C is 'n 7 mm deursnee proppie 20 mm vanaf die middelpunt uit elke kultuur gesny vir die voorbereiding van spoorsuspensies soos beskryf in 3.4.1.1.2. Spoorstellings is uitgevoer soos beskryf in dieselfde paragraaf.

3.4.3 DIE INVLOED VAN DIE WATERSTOFIOONKONSENTRASIE OP GROEI:

3.4.3.1 Chromelosporium fulvum

Die invloed van die pH van die voedingsmedium op die groei van C.fulvum is in vloeibare kulture ondersoek. Een honderd en

vyftien cm^3 hoeveelhede MEB is in skoon 250 cm^3 erlenmeyer-flesse afgemeet en gesteriliseer, waarna steriele natriumhidroksied of soutsuur bygevoeg is om die volgende pH reeks te gee: 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5 en 8. Die voedingsmedium is geïnkuleer met drie druppels van 'n spoorsuspensie wat verkry is deur 'n sterk sporulerende skuinskultuur van C. fulvum (op ADA in 'n McCartney bottel) in 50 cm^3 steriele gedistilleerde water op te skud. Na 'n inkuberingstyd van vier dae by 25°C in die donker, is die pH's van die mediums weer bepaal. Die swammateriaal is herwin en die droëmassa bepaal soos beskryf in 3.3.1.2. Daar was vyf herhalings per behandeling.

In 'n tweede eksperiment is 'n voedingsmedium met 'n sitroensuur-dinatriumwaterstoffosfaatbuffer (McIlvaine se buffer) voorberei. Voorraadoplossings van 0,1 molaar sitroensuur en 0,2 molaar dinatriumwaterstoffosfaat (Na_2HPO_4) is opgemaak en volgens die voorskrifte van Diem (1962) gemeng (kyk Bylaag 1) om 'n pH reeks van 3,5; 4; 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5 en 8 te gee. Hierdie mengsels is gebruik om ADA mee aan te maak wat na outoklaving uiteindelik die volgende pH reeks tot gevolg gehad het: 3,7; 4; 4,8; 5,4; 5,85; 6,3; 6,75; 7 en 7. Daar was tien herhalings per behandeling en die koloniedeursnee sou as groeimaatstaf gebruik word.

3.4.3.2 Verticillium fungicola

Die invloed van die pH van die voedingsmedium op die groei van V. fungicola is in vloeibare kulture wat as volg voorberei is, ondersoek. Sorensen se fosfaatbuffer is volgens die voorskrifte van Myburgh (1981) opgemaak om 'n pH reeks van 5; 6; 7 en 8 te gee, terwyl Loomis en Shull (1937) se aanwysings gevolg is in die voorbereiding van Clark en Lubs se buffers om 'n reeks oplossings met pH 3; 4 en 9 te gee (kyk Bylaag 1). Hierdie buffers is gebruik vir die aanmaak van 'n reeks Czapek Dox-voedingsoplossings (Difco, kyk Bylaag 1) van verskillende pH waardes. Nadat 75 cm^3 hoeveelhede van hierdie voedings-

mediums in 250 cm³ erlenmeyerflesse uitgemeet is, is die flesse van proppe voorsien (kyk 3.3.1.1) en gesteriliseer deur dit vir 20 minute by 125°C te outoklaveer. Na outoklaving was die uiteindelijke pH's van die reeks voedingsmediums as volg: 3,15; 4,2; 5,7; 6,1; 7,05; 8,0 en 9,1.

Elke fles is met ses druppels van 'n spoorsuspensie, wat verkry is deur twee 5 mm proppies met 'n kurkboor uit 'n sterk sporulerende V.fungicola-kultuur te sny en in 100 cm³ steriele gedistilleerde water op te skud, geïnkuleer. Die geïnkuleerde flesse is vir agt dae by 27°C in die lig geïnkubeer, waarna die swammateriaal herwin en die droëmassa daarvan bepaal is soos beskryf in 3.3.1.2. Daar was tien herhalings per behandeling, behalwe vir die flesse by pH 4 waar die herhaling nege maal was. Aan die einde van die eksperiment is die pH's van die groeimedium weer bepaal.

3.4.4 GROEI IN DIE AFWESIGHEID VAN SUURSTOF

3.4.4.1 Chromelosporium fulvum

Die invloed van 'n totale suurstofgebrek op die groei van C.fulvum is op ADA (Merck) in 90 mm deursnee plastiekpetri-bakkies ondersoek. Daar was tien herhalings. Elke bakkie is met 'n 5 mm deursnee proppe wat met behulp van 'n kurkboor uit 'n aktiefgroeiende C.fulvum-kultuur gesny is, geïnkuleer (kyk ook 3.3.1.1) en in 'n hermeties-verseëlde anaerobiese groeifles geplaas. Anaerobiese toestande is met behulp van 'n Oxoid "Gas generating kit" geskep en met behulp van 'n Oxoid anaerobiese indikator (resasurien, wat pienk is in die teenwoordigheid van lug, maar ontkleur onder anaerobiese toestande) bevestig. Onder sodanige toestande van suurstofreduksie deur waterstof, behoort daar volgens Griffin (1981) uiteindelik nog 'n atmosferiese koolstofdiksied-vlak in die fles teenwoordig te wees. Tien bakkies is op dieselfde wyse as hierbo voorberei en onder aerobiese toestande gehou as kontrole. Alle bakkies is by 25°C in die donker geïnkubeer en na twee dae is die groei

gemeet soos beskryf in 3.3.1.1. Op daardie stadium is die bakkies omgeruil, dit wil sê die bakkies wat aanvanklik anaerobies geïnkubeer is, is onder aerobiese toestande geplaas en omgekeerd. Na 'n verdere twee dae by 25°C is die groei weer gemeet.

3.4.4.2 Verticillium fungicola

Die invloed van die afwesigheid van suurstof op die groei van V.fungicola is op dieselfde wyse as vir C.fulvum (3.4.4.1) ondersoek. Die ADA was egter deur Difco; inokulering was soos beskryf in 3.4.1.2.1; inkubering was by 23°C in die lig en die groeitydperk was sewe dae.

3.5 VOORTSPRUITENDE STUDIES

3.5.1 DIE VOORKOMS VAN DICHOBOTRYS ABUNDANS OP DIE SAMPIOENPLAAS

Vrae het ontstaan met betrekking tot die voorkoms van D.abundans op die Waterford-plaas van Tongaat Mushrooms (Transvaal) (Edms) Beperk te Diepsloot in die Pretoria distrik (kyk ook 4.1.1), en aangesien die swam droë spore produseer is aangeneem dat 'n aerospora-opname van die atmosfeer op die plaas 'n maklike metode ter bepaling van die aanwesigheid daarvan al dan nie, sou bied.

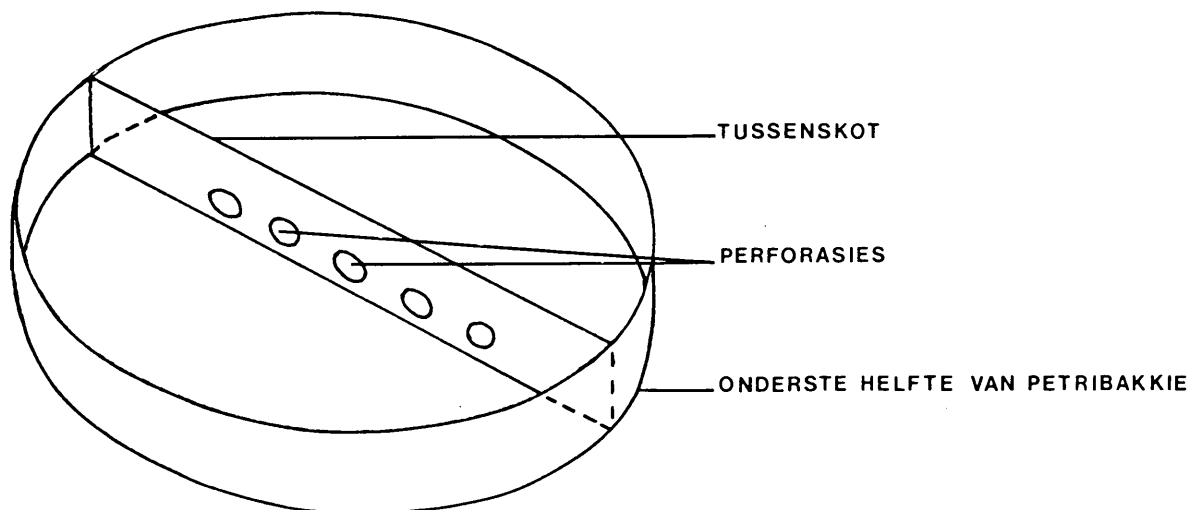
Voedingsbodems van Littman-beesgalagar (Difco, kyk Bylaag 1), met 125 mg Albamycin-T.dm⁻³, in 90 mm deursnee plastiekpetri-bakkies is voorberei om by vyf geleenthede oor 'n tydperk van 45 dae, vanaf 30/4/79 tot 13/6/79, in die aerospora-opname gebruik te word. By elke geleentheid is tien bakkies elk vir 'n tydperk van vyf minute aan die atmosfeer blootgestel. Blootstellings het plaasgevind in die kweekkamers, in die gange tussen die kamers en in die onderdakgedeelte van die komposteringswerf. Na blootstelling is die petri-bakkies by 27°C geïnkubeer vir 'n tydperk lank genoeg vir die gedeponeerde spore om te kiem en in

duidelik onderskeibare kolonies te ontwikkel. Daarna is elke kolonie op ADA oorgeënt en by 32°C geïnkubeer. Mikroskooppreparate is van hierdie kulture gemaak en ligmikroskopies ondersoek en geïdentifiseer.

3.5.2 GROEI-INTERAKSIES TUSSEN C.FULVUM, A.BISPORUS EN D.ABUNDANS

3.5.2.1 Die invloed van C.fulvum, en D.abundans op A.bisporus-groei

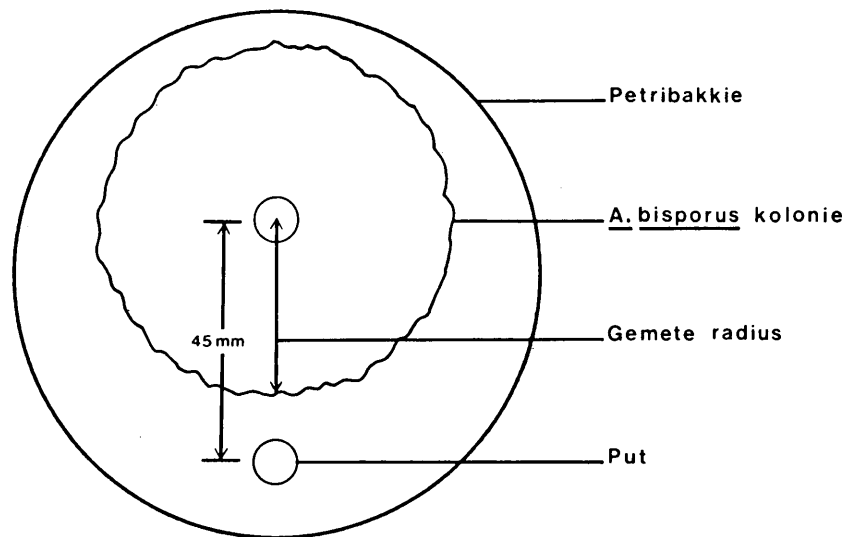
Tweekompartement-plastiekpetribakkies (90 mm deursnee) is gemodifiseer deur die tussenskot onder aseptiese toestande met behulp van 'n warm oorentnaald van vyf perforasiegate te voorsien (Figuur 3.7).



FIGUUR 3.7 Skets van die tweekompartement-petribakkie om die posisie van die perforasies in die tussenskot aan te dui.

'n ADA (Merck) voedingsmedium is tot bokant die vlak van die perforasies in die gemodifiseerde bakkies gegiet, met die gevolg dat die medium in die twee kompartemente aaneenlopend was. Die een helfte van elke bakkie is met 'n 5 mm deursnee proppie, wat met behulp van 'n kurkboor uit die rand van 'n aktiefgroeiende A.bisporus-kultuur (Var. Ax 60.4) gesny is, geïnkuleer en onder afwisselende lig en donker by kamertemperatuur (maksimum 26°C) geïnkubeer. Na vier dae (toe die A.bisporus-kulture deursneë van ongeveer 12 mm bereik het) is die ander helftes van die petribakkies op dieselfde manier as vir A.bisporus, met óf C.fulvum óf D.abundans geïnkuleer. Daar was ses herhalings per swam en vyf bakkies sonder C.fulvum óf D.abundans het as kontroles gedien. Die koloniedeursnee van A.bisporus is periodiek gemeet.

In 'n tweede eksperiment is C.fulvum en D.abundans onderskeidelik in MEB gekweek (100 cm³ MEB in 250 cm³ erlenmeyerflesse is met drie 5 mm deursnee kurkboorproppies van die onderskeie swamme geïnkuleer en vir vyf dae by 26°C geïnkubeer), waarna die groeimedium deur middel van filtrering deur Whatman no 1 filtreerpapier herwin is. Hierdie filtraat is deur middel van filtrering deur Millex-GV 0,22 µm filtereenhede (Millipore) gesteriliseer. Vervolgens is petribakkies met tien dae oue A.bisporus-kulture op ADA (Merck) geneem en is 5 mm deursneë proppies agar met behulp van 'n kurkboor op 'n afstand, 4,5 cm vanaf die middel van die A.bisporus-kolonie uit die voedingsbodems verwyder om 'n put van ongeveer 5 mm diep in die skoon agar agter te laat (Figuur 3.8). Hierdie putte is met die steriele groeimedium van óf C.fulvum óf D.abundans gevul. Nadat al die vloeistof in die agar ingediffundeer het, is die putte 'n tweede maal volgemaak. Daar was ses herhalings per swam, en vyf bakkies waarvan die putte slegs met suiwer MEB gevul is, het as kontroles gedien. Inkuberingstoestande was dieselfde as vir die voorafgaande eksperiment soos hierbo beskryf. Die A.bisporus-kolonieradius in lyn met en tussen die inokulumpunt en die put in die groeimedium is periodiek gemeet.

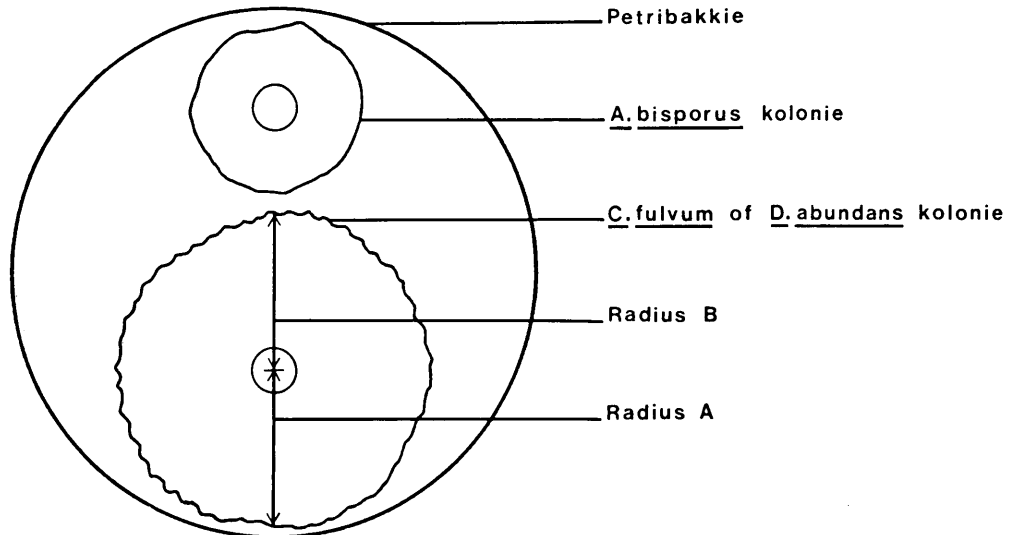


FIGUUR 3.8 Eksperimentele opset soos in die ondersoek na die invloed van groei-ekstrakte van C.fulvum en D.abundans op die groei van A.bisporus.

3.5.2.2 Die invloed van A.bisporus op die groei van C.fulvum en D.abundans

Om vas te stel of A.bisporus 'n invloed op die groei van C.fulvum en D.abundans uitoefen, is soos volg te werk gegaan: 'n ADA (Merck) voedingsbodem in 90 mm deursnee plastiekpetri-bakkies is met A.bisporus geïnkuleer soos beskryf in 3.5.2.1 en geïllustreer in Figuur 3.9. Die geïnkuleerde bakkies is by kamertemperatuur onder afwisselende lig en donker geïnkubeer. Na ses dae is vyf van die bakkies, op dieselfde wyse as met A.bisporus, ook met C.fulvum en vyf met D.abundans geïnkuleer (kyk Figuur 3.9). Die bakkies met C.fulvum is by 26°C en dié met D.abundans by 24°C geïnkubeer onder afwisselende lig en donker. Die radiusse van die C.fulvum en D.abundans-kolonies in lyn met die A.bisporus-inokulumpunt is periodiek gemeet (na Yee en Chang-Ho, 1980). Die radius aan die teenoorgestelde kant van die A.bisporus-kolonie is radius A genoem, terwyl die radius aan die kant van die A.bisporus-kolonie as radius B

bekend gestaan het. Die verskil tussen B en A was 'n aanduiding van inhibering deur A.bisporus.



FIGUUR 3.9 Eksperimentele opset soos in die ondersoek na die invloed van A.bisporus op die groei van C.fulvum en D.abundans.

3.5.3 DIE INVLOED VAN SITROENSUUR OP DIE GROEI VAN C.FULVUM

Ekstra suiwer-graad sitroensuur (Merck) en gedistilleerde water is gebruik om 1000 mg.dm^{-3} en 10000 mg.dm^{-3} sitroensuurvoor-raadoplossings voor te berei, waarvan die nodige hoeveelhede deur middel van filtrering deur Millex-GV $0,22 \mu\text{m}$ filtereenhede (Millipore) gesteriliseer en by koel (40°C) steriele gesmelte ADA (Merck) gevoeg is om 'n sitroensuur-konsentrasiereeks van 0; 5; 25; 50; 100; 500; 1000 mg.dm^{-3} te lewer. Hierdie ADA met sitroensuur is gebruik om voedingsbodems in 90 mm deursnee plastiekpetribakkies te giet. Die bakkies is voorberei en met C.fulvum geïnkuleer soos beskryf in 3.3.1.1, en by 25°C onder afwisselende lig en donker geïnkubeer. Die koloniedeursnee is na drie dae gemeet en die koloniedeursnee minus die inokulumdeursnee is as groeimaatstaf gebruik. Daar was sewe herhalings per behandeling.

3.6 STATISTIESE VERWERKING VAN RESULTATE

Die standaardafwyking vir alle resultate is bereken en om te bepaal of daar statisties betekenisvolle verskille in die resultate van die verskillende behandelings op die toetsorganismes was, is dit aan Student se t-toets (Clarke, 1969), wat as volg daar uitsien, onderwerp:

$$t_{(N_1 + N_2) - 2} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{N_1} + \frac{s_2^2}{N_2}}}, \text{ waar}$$

t = toetsingsgrootheid

$(N_1 + N_2) - 2$ = aantal grade van vryheid

\bar{x}_1 = gemiddeld van eerste behandeling

\bar{x}_2 = gemiddeld van tweede behandeling

s_1 = standaardafwyking van eerste behandeling

s_2 = standaardafwyking van tweede behandeling

N_1 = aantal replikate in eerste behandeling

N_2 = aantal replikate in tweede behandeling

Indien die toetsingsgrootheid groter as die getabuleerde waarde (Clarke, 1969) is, kan aanvaar word dat die behandelings by die gekose betroubaarheidspeil, betekenisvol verskil. Indien dit egter nie die geval is nie, moet die nul-hipotese, dit wil sê dat die invloed van die behandelings dieselfde was, aanvaar word.

Alle berekeninge is met behulp van 'n Sharp EL-506H sakrekenaar uitgevoer.

HOOFSTUK VIER

RESULTATE EN BESPREKING

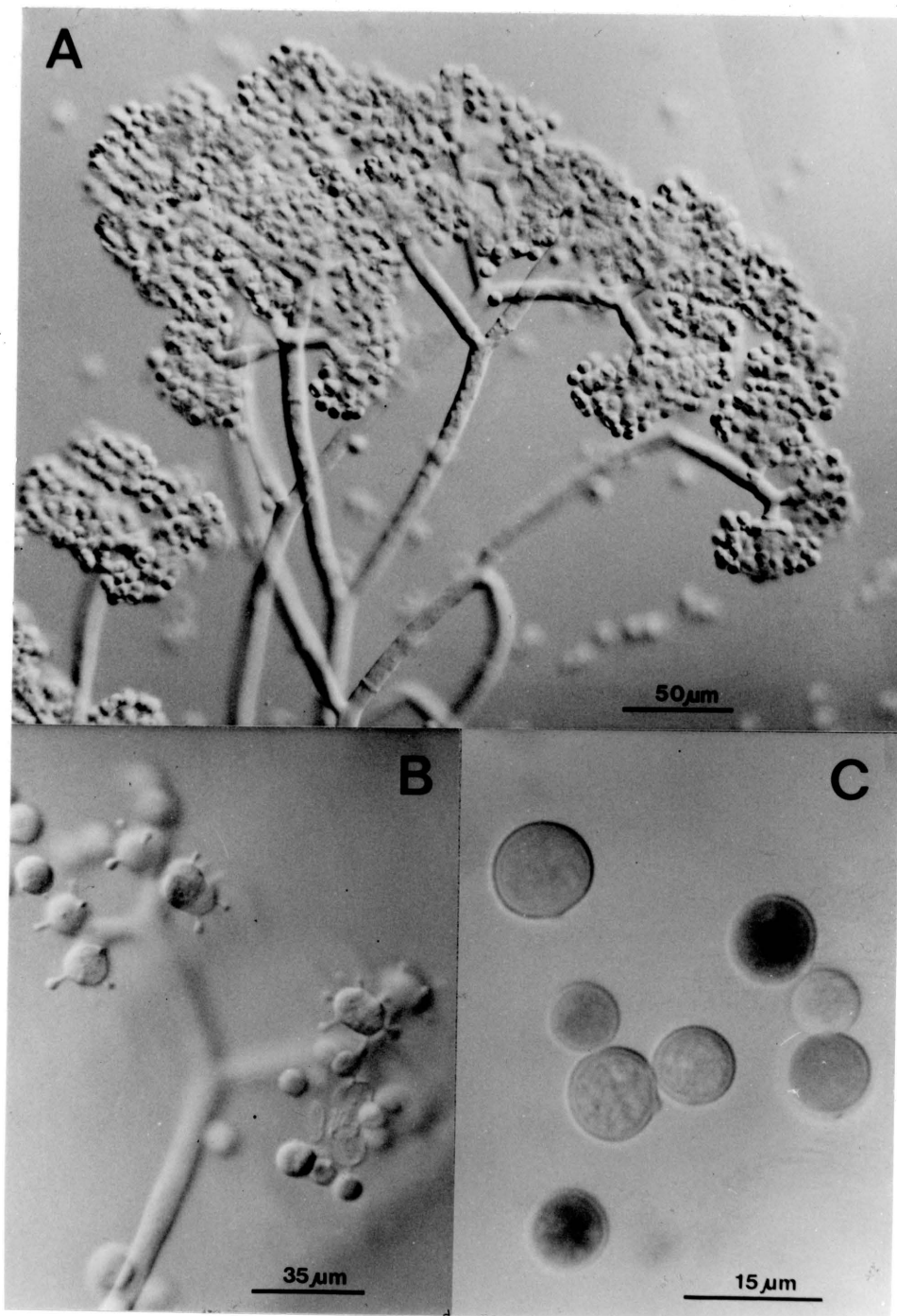
4.1 ISOLERING VAN DIE STUDIEMATERIAAL

4.1.1 CHROMELOSPORIUM FULVUM

C.fulvum is sonder probleme uit al die ondersoekte deklaagmonsters geïsoleer. Alhoewel die monsters op duidelik sigbare, swaar besmette kolle op die sampioenbeddings geneem is, het daar altyd ook ander swamme as C.fulvum op die grondplate voorgekom. Vanweë die vinnige groei en karakteristieke koloniekeenmerke van C.fulvum was dit egter maklik om laasgenoemde van die ander swamme te onderskei en in reinkultuur te isoleer.

Soos reeds gemeld in 3.1.1, is enkelspoorkulture van hierdie "reinkulture" gemaak ten einde absolute sekerheid ten opsigte van die suiwerheid daarvan te verkry. Die verdunningsplate van een C.fulvum-isolaat het 'n interessante resultaat tot gevolg gehad deurdat sommige kolonies heelwat vinniger as die ander gegroei het.

Isolate van die "stadige" kolonies is as C.fulvum herken, terwyl die "vinnige" kolonies later as Dichobotryx abundans Hennebert geïdentifiseer is (Figuur 4.1). Die identiteit van hierdie swam is in 1981 deur Hennebert self tydens 'n kort besoek aan die Departement Plantkunde, Universiteit van Pretoria, bevestig. D.abundans is die anamorf van Trichophaea abundans (Karst.) Boud. (Hennebert, 1973), 'n organisme wat volgens El-Abyat en Webster (1968) pirofilies van aard is. Dit was dus nie eienaardig om hierdie swam op die stoomgepasteuriseerde deklaag aan te tref nie, maar die vraag het ontstaan hoe algemeen dit met sampioenwekerye geassosieer is. Hennebert (1981, persoonlike mededeling) het so 'n assosiasie betwyfel en was van mening dat die swam eerder as 'n lugkontaminant met



FIGUUR 4.1 *Dichobotrys abundans*

(A) Konidiofore met konidiums.

(B) Konidiofore met konidiogene selle en (jong) konidiums.

(C) Konidiums.

die C.fulvum-kultuur deurmekaar kon geraak het. D.abundans het egter nooit vantevore óf sedertdien as 'n lugkontaminant in die mikologielaboratoriums van die Departement Plantkunde, Universiteit van Pretoria, voorgekom nie. Inteendeel, dit is vóór hierdie isolasie nog nooit in Suid-Afrika geïsoleer óf aangeteken nie en gevolglik verteenwoordig hierdie isolaat 'n nuwe rekord vir Suid-Afrika. Alhoewel die moontlikheid van lugkontaminasie nie heeltemal uitgesluit kon word nie, het bogenoemde feite bygedra tot die oortuiging dat die oorsprong van die swam wel by die sampioenplaas gelê het. Hierdie oortuiging is dan ook bevestig deur die uitslag van 'n aerospora-opname van die atmosfeer van die Waterford-sampioenplaas (kyk 4.5.1).

Indien die pas gemelde assosiasie dan wel sou bestaan, ontstaan die vraag waarom daar dan so min melding van gemaak word in die literatuur. Een moontlikheid is dat D.abundans moontlik onopvallend en relatief skaars is. 'n Verdere moontlikheid egter is dat dit dalk meer algemeen op sampioenbeddings voorkom as wat dit uit die literatuur mag blyk, maar dat die ware identiteit daarvan dikwels weens inkorrekte identifisering verborge bly. In kultuur vertoon D.abundans byna identies aan C.fulvum en kan die twee met 'n onge oefende oog moeilik van mekaar onderskei word. Die moontlikheid dat D.abundans dus wel op sampioenbeddings voorkom, maar met die blote oog onopgemerk verbygaan (soos inderdaad ook aanvanklik met hierdie isolasie die geval was) en deur sampioenkwekers vir C.fulvum aangesien word, kan op hierdie stadium nie sonder meer verwerp word nie. 'n Uitgebreide mikologiese ondersoek, wat buite die bestek van hierdie projek val, is nodig om hierdie vraag finaal te beantwoord.

Indien daar egter so 'n verwarring van die twee swamme sou bestaan, ontstaan die vraag ook of 'n verklaring vir die meningsverskil in die literatuur ten opsigte van die invloed van C.fulvum op die groei en ontwikkeling van A.bisporus (kyk 2.1.3), nie dalk onder meer hierin gesoek kan word nie. Om

hierdie moontlikheid verder te ondersoek is die vergelykende studie na die invloed van C.fulvum en D.abundans op A.bisporus, soos beskryf in 3.5.2.1, en waarvan die resultate in 4.5.2.1 bespreek word, uitgevoer.

4.1.2 VERTICILLIUM FUNGICOLA

Die tegniek soos in 3.1.2 beskryf, werk uitstekend en die holtes het deurgaans inokulums wat direkte reinkulture op die agarbodems tot gevolg gehad het, verskaf.

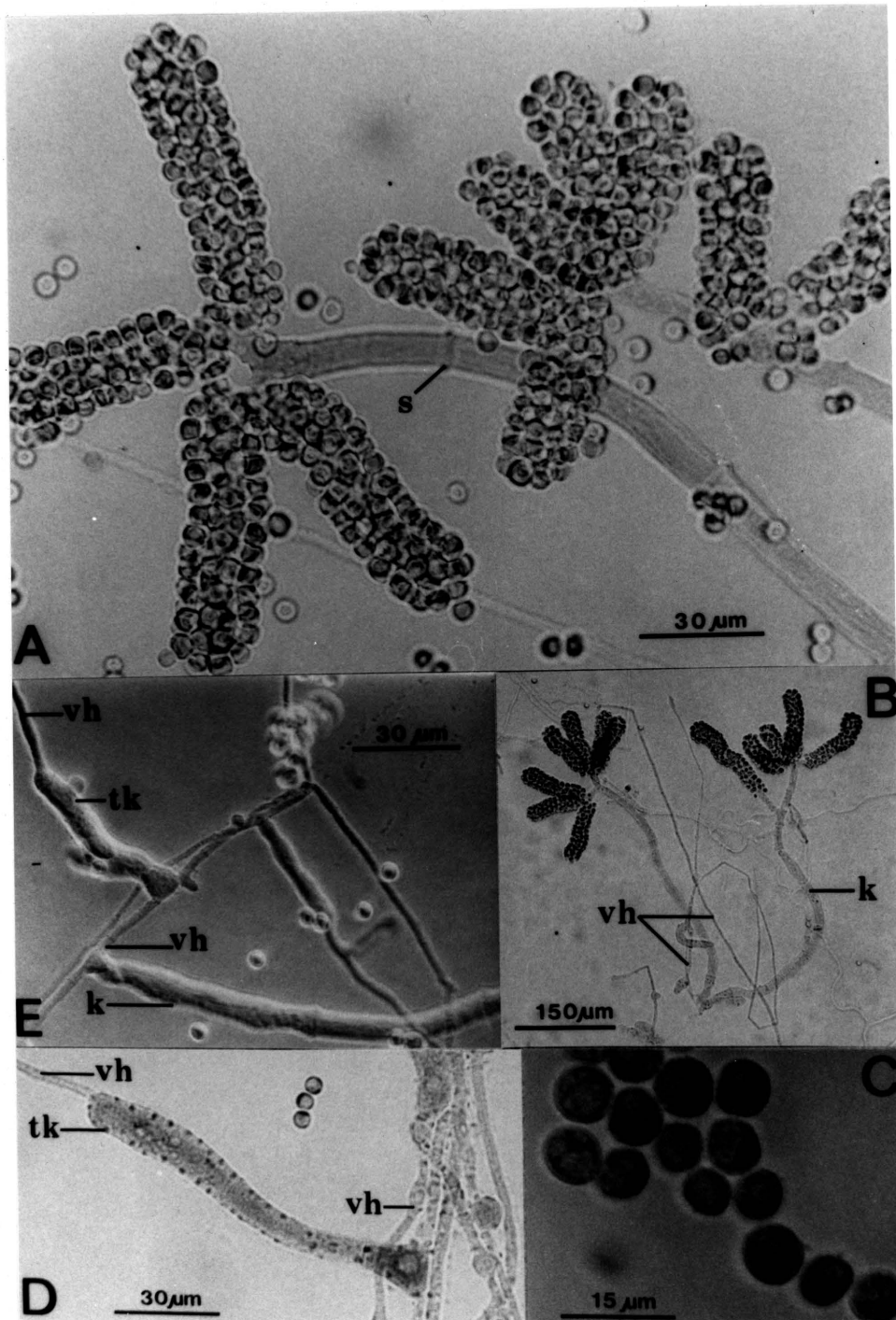
4.2 MIKROSKOPIESE ONDERSOEK

4.2.1 CHROMELOSPORIUM FULVUM

Met die ligmikroskopiese ondersoek is die identiteit van C.fulvum (Figuur 4.2) aan die hand van die beskrywing van Hennebert en Korf (1975; kyk 2.1.9) bevestig. Hennebert het in 1981 ook persoonlik na die swam gekyk en weer eens die identiteit daarvan bevestig. Volgens Hennebert en Korf (1975) varieer die konidiumgrootte van C.fulvum tussen 5 en 13 μm in deursnee. Die grootte van die konidiums wat in hierdie ondersoek gemeet is, het egter net van 5 tot 8 μm in deursnee gevarieer. In die literatuur (Schneider, 1954; Wolf, 1955; Hellmers, 1969; Hennebert en Korf, 1975) word daar slegs van vertakte konidiofore melding gemaak, maar daar is ook onvertakte konidiofore in hierdie studie waargeneem (Figuur 4.3). 'n Punt wat ook nie in die literatuur genoem word nie is die verskynsel dat jong konidiofore nie altyd tot spoorvorming oorgaan nie, maar dat die ontwikkeling daarvan kan termineer, waarna dit dan weer as vegetatiewe hifes voortgroei (Figuur 4.2, D en E).

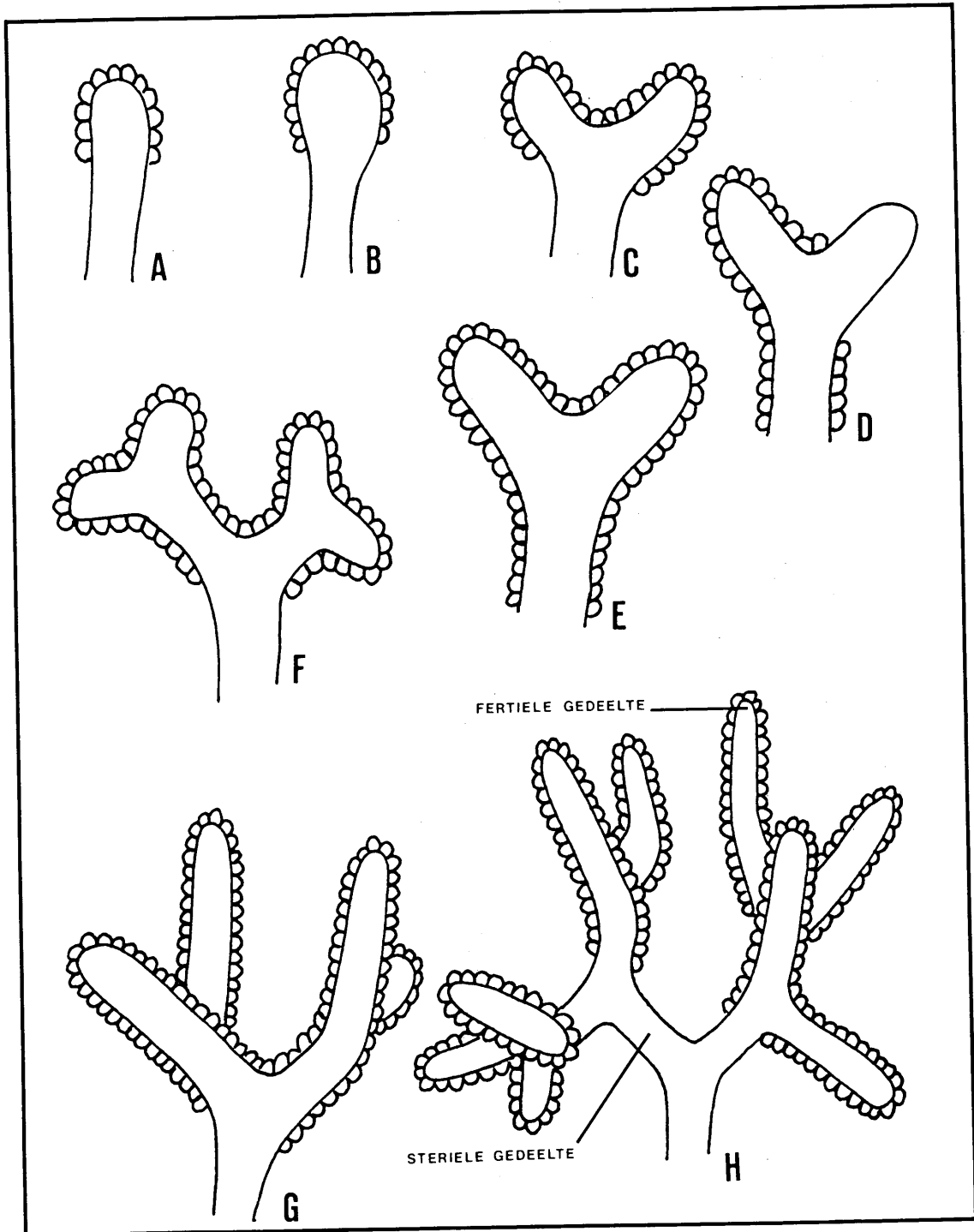
4.2.2 PEZIZA OSTRACODERMA

Tydens die bestudering van die apotekiums wat op die sampioenbeddings versamel is (Figure 4.4 en 4.5), is die afmetings van 25 van elk van die apotekiums in geheel; die askusse; die askospore



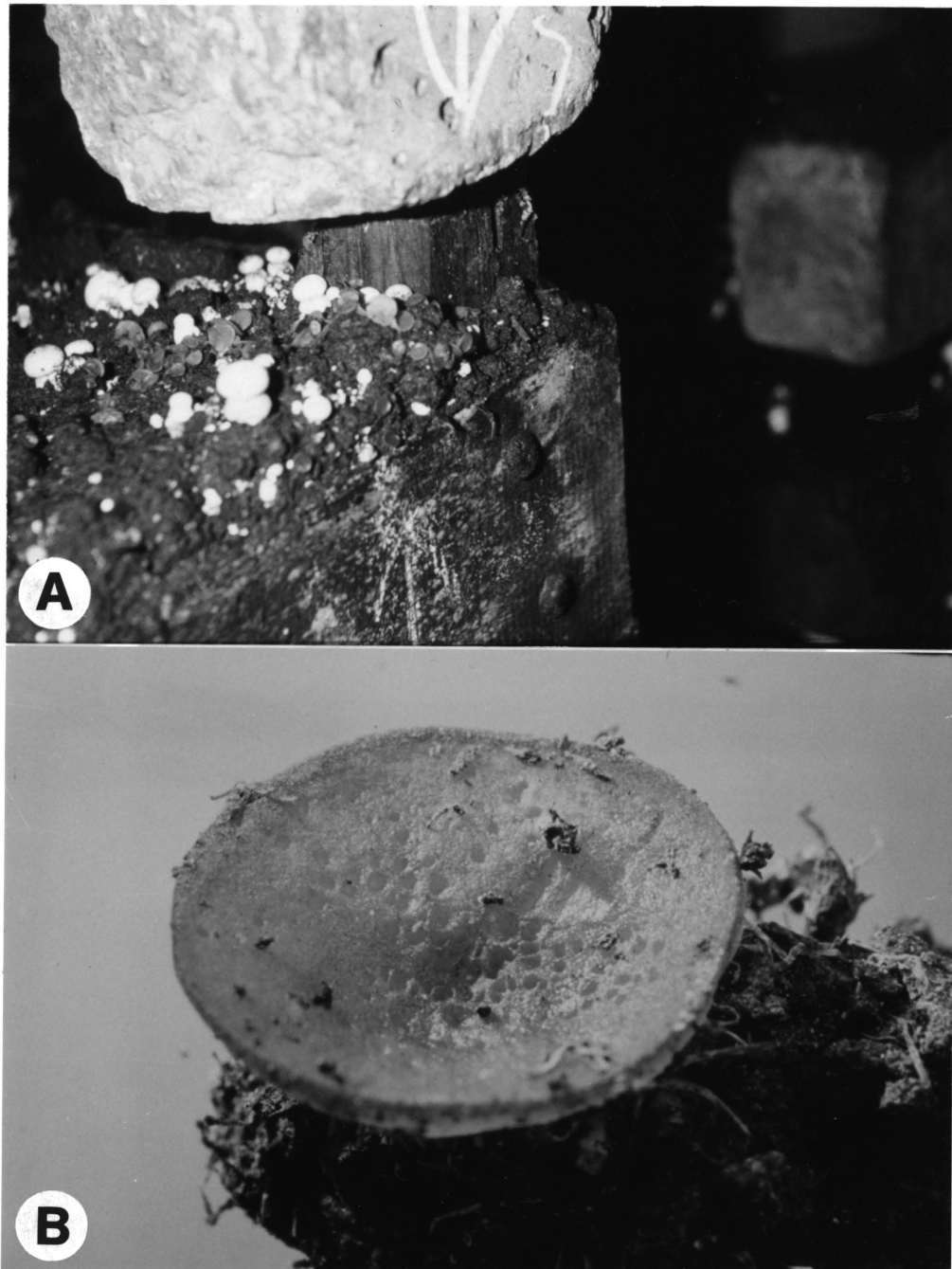
FIGUUR 4.2 Chromelosporium fulvum

- (A) Konidiofore met konidiums.
 - (B) Konidiofore ontstaan uit die vegetatiewe hifes.
 - (C) Konidiums.
 - (D en E) Konidiofore wat ontwikkeling staak en vegetatief voortgroei.
- k = konidiofoor; tk = getermineerde konidiofoor; s = septum;
vh = vegetatiewe hife.



FIGUUR 4.3 Konidiofoorvariasie by Chromelosporium fulvum.

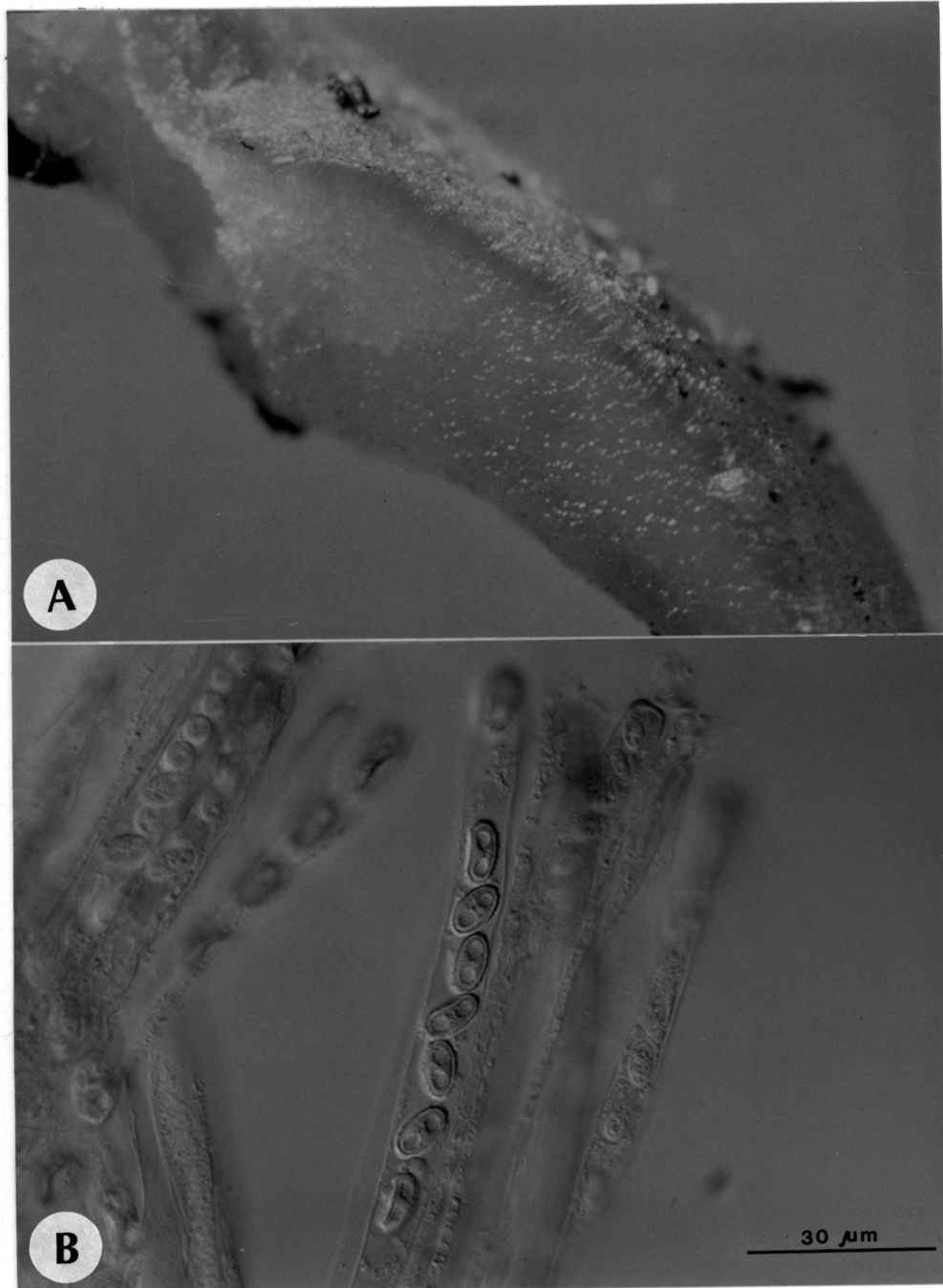
- A - B : onvertak
- C - E : een maal vertak
- F - G : twee maal vertak
- H : vier maal vertak



FIGUUR 4.4 Peziza ostracoderma

(A) Apotekiums op die deklaag van 'n sampioen-
bedding.

(B) Apotekium.



FIGUUR 4.5 Peziza ostracoderma

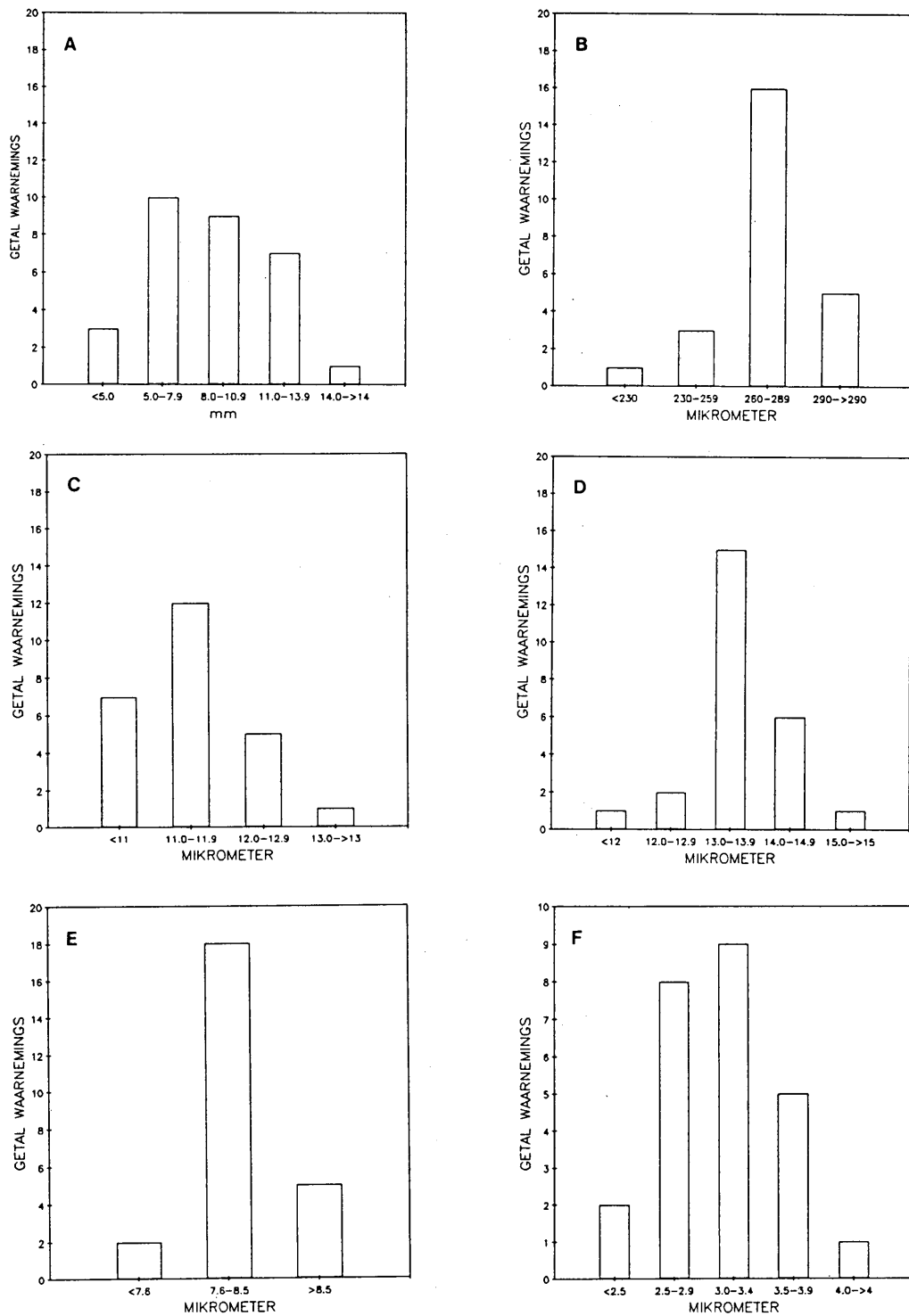
- (A) Deursnee deur 'n apotekium. Let op dat die kleur van die apotekium hoofsaaklik tot die himenium beperk is.
- (B) Askusse met askospore. Let op die kenmerkende geretikuleerde selwand van, en twee oliedruppels in, elke askospor.

en laastens die parafises, bepaal (Tabel B2.1, Bylaag 2).

Soos uit Tabel B2.1 gesien kan word varieer die grootte van die apotekiums van 2-14 mm in deursnee. Die askusse varieer van ongeveer 230-310 μm in lengte en 10,5-13 μm in breedte, maar 'n frekwensieverspreiding van die afmetings (Figuur 4.6) toon aan dat die meeste in die gebied van 260-290 μm (lengte) en 11-12 μm (breedte) val. Die parafises het ongeveer dieselfde lengte as die askusse en varieer van 2,4-4,1 μm in deursnee, met die meeste tussen 2,5 en 3,5 μm . Die askospore wat in hierdie ondersoek gemeet is, het van 11,6-15,3 μm in lengte en van 7,5-9,4 μm in breedte gevarieer, met die meeste in die omgewing van 13-14 μm lank en 7,5-8,5 μm breed. Hierdie spore is dus effens groter as wat deur Hennebert en Korf (1975) vir P.ostracoderma beskryf is, maar stem met die beskrywing van Schneider (1954) ooreen.

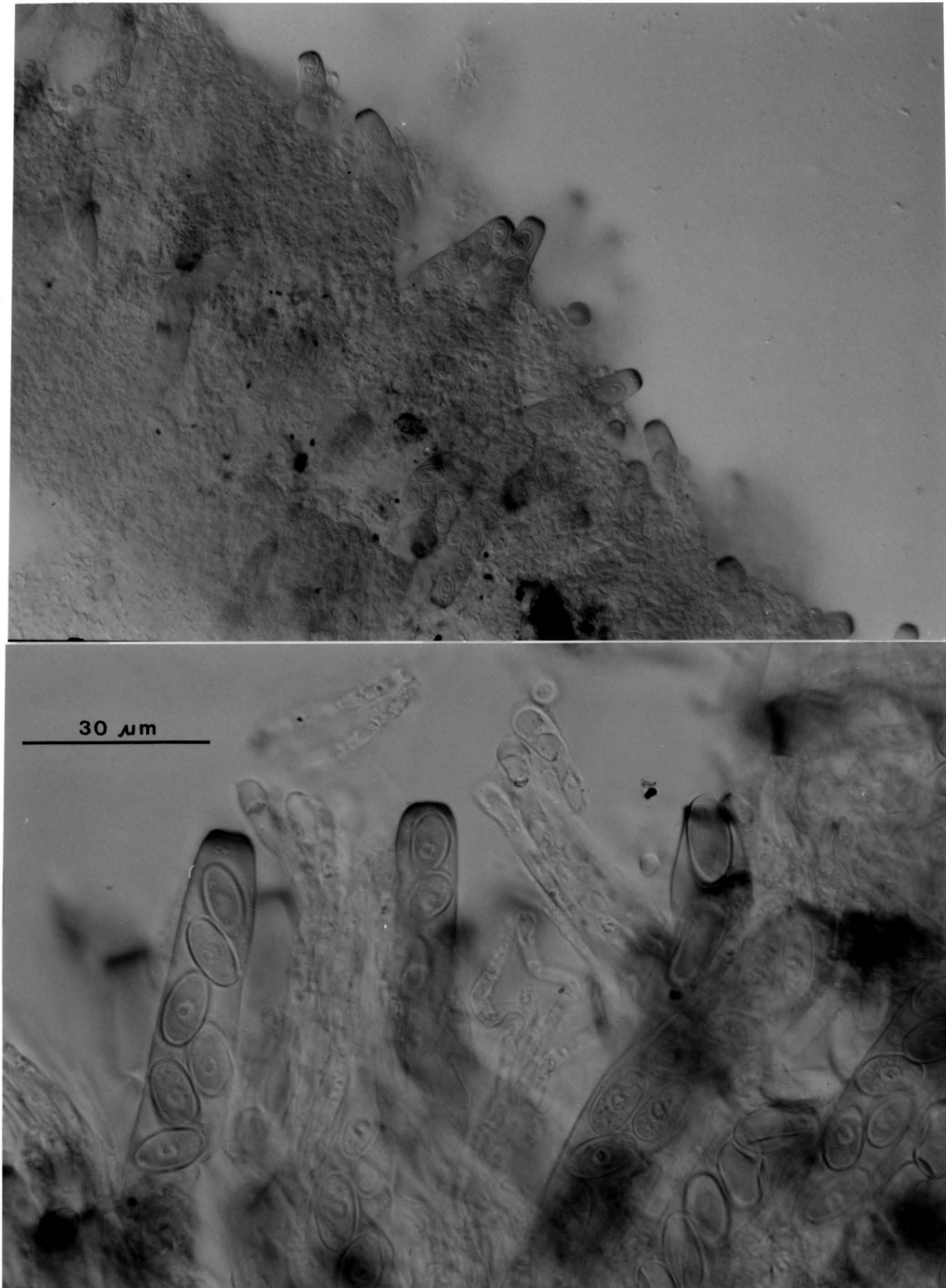
Na aanleiding van bogenoemde en ander eienskappe van die apotekiums, is dit aan die hand van die beskrywings van Schneider (1954) en Hennebert en Korf (1975) as P.ostracoderma, die teleomorf van C.fulvum, geïdentifiseer. Dit verteenwoordig 'n nuwe rekord vir Suid-Afrika.

Tydens hierdie ondersoek is daar ook apotekiums vanaf die deklaag versamel wat op die oog af dieselfde as P.ostracoderma voorgekom het (en inderdaad ook as sodanig versamel is), maar wat askospore besit wat totaal en al van dié van P.ostracoderma verskil (Figuur 4.7). Die identiteit van hierdie ander apotekium is nog nie bo alle twyfel vasgestel nie, maar is beslis nie Trichophaea abundans, die teleomorf van D.abundans nie. Hieruit blyk dit dus duidelik dat daar maklik foute kan insluip by die identifisering van apotekiums wat op sampioenbeddings voorkom. Dit is nie noodwendig altyd P.ostracoderma nie en 'n mikroskopiese ondersoek ter bevestiging van die identiteit daarvan is 'n noodsaaklikheid.



FIGUUR 4.6 Frekwensieverspreidingsdiagramme van die afmetings van die apotekiumstrukture van *Peziza ostracoderma*.

- (A) Apotekiumdeursnee; (B) Askuslengte;
(C) Askusbreedte; (D) Askospoorlengte; (E) Askospoorbreedte; (F) Parafisedeursnee. Kyk Tabel B2.1 van Bylaag 2 vir volledige stel data.



FIGUUR 4.7 Askusse en askospore van apotekiums wat as C. fulvum op sampioenbeddings versamel is, maar na 'n mikroskopiese ondersoek as 'n vreemde organisme geïdentifiseer is.

4.2.3 VERTICILLIUM FUNGICOLA

Die identiteit van die Verticillium-isolate (Figuur 4.8) is aan die hand van die siektesimptome op die sampioene waarvan dit geïsoleer is, asook mikroskopies, aan die hand van Gams (1971) se beskrywing, as V.fungicola bevestig.

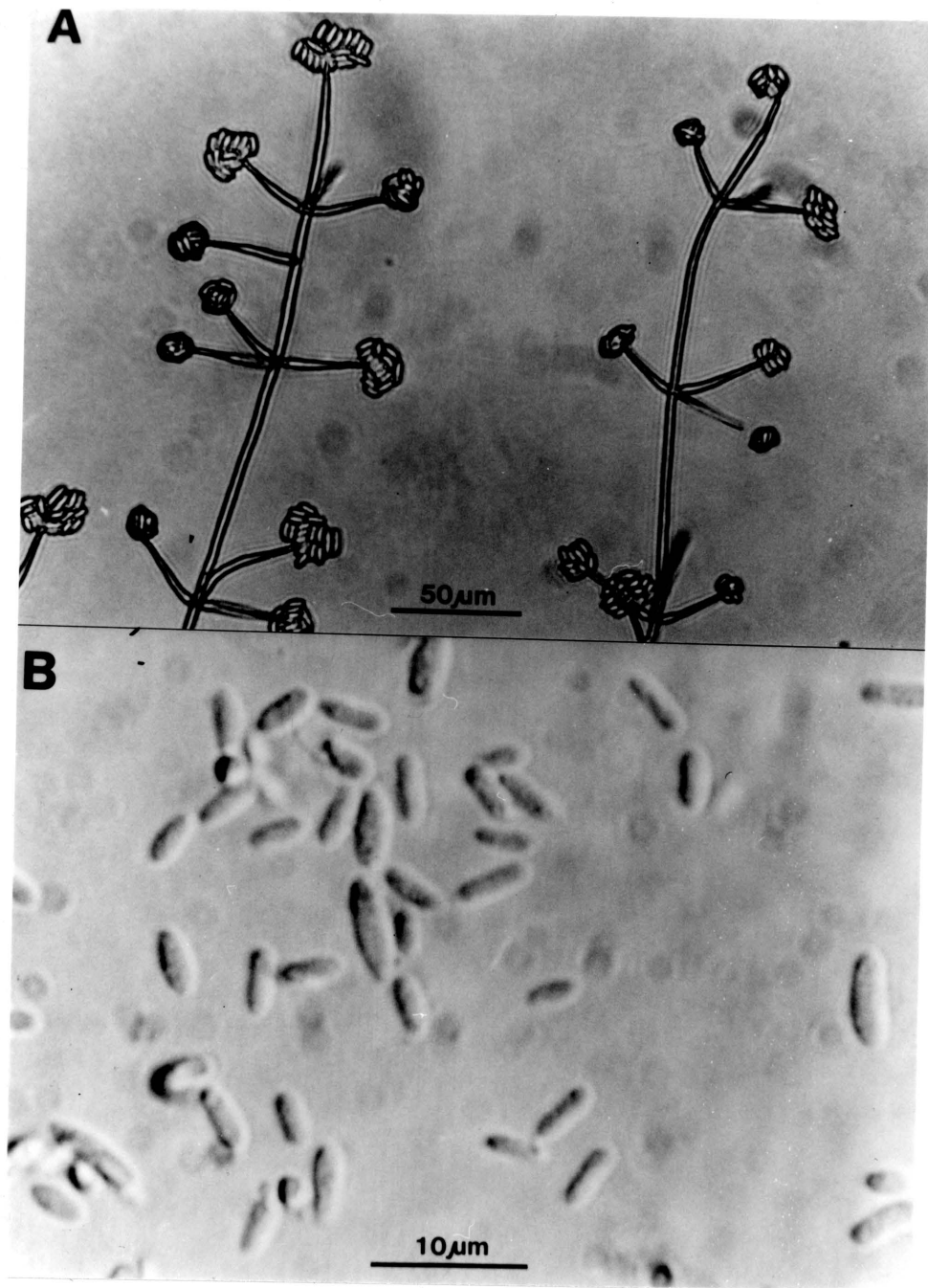
4.3 VOEDINGSFISIOLOGIE

4.3.1 DIE INVLOED VAN DIE KOOLSTOFBRON OP SWAMGROEI

By die interpretering van hierdie resultate moet in gedagte gehou word dat alle mediums deur middel van outoklaving gesteriliseer is nadat die koolstofbron by die res van die medium gevoeg is. Sommige suikers soos fruktose en sorbose breek tydens outoklaving na 5-hidroksiemetielfurfural af en hierdie afbraak word versnel in die teenwoordigheid van fosfaat (Cochrane, 1958). Meer betroubare resultate sou dus verkry gewees het indien die suikers apart van die res van die medium gesteriliseer is. Koue sterilisering sou egter nóg beter as outoklaving gewees het.

4.3.1.1 Chromelosporium fulvum

Uit Tabel 4.1 (waarvan die gegewens in Figuur 4.9 grafies voorgestel word) kan gesien word dat die resultate van die twee koolstofbroneksperimente grootliks ooreengestem het, met mannose in beide gevalle die beste presteerder. Alhoewel dit uit die literatuur (Wolf en Wolf, 1947; Hawker, 1950; Lilly en Barnett, 1951; Cochrane, 1958; Griffin, 1981) duidelik is dat glukose die mees algemeen benutte, en soms verkose koolstofbron by die Fungi is, word mannose en fruktose dikwels net so goed benut (Hawker, 1950; Cochrane, 1958; Griffin, 1981). Volgens Hawker (1950) is mannose egter oor die geheel gesien 'n swakker koolstofbron ten opsigte van swamvoeding as glukose. Hierteenoor vermeld Cochrane (1958) egter dat mannose soms wel, om onverklaarbare redes, beter resultate as glukose lewer.

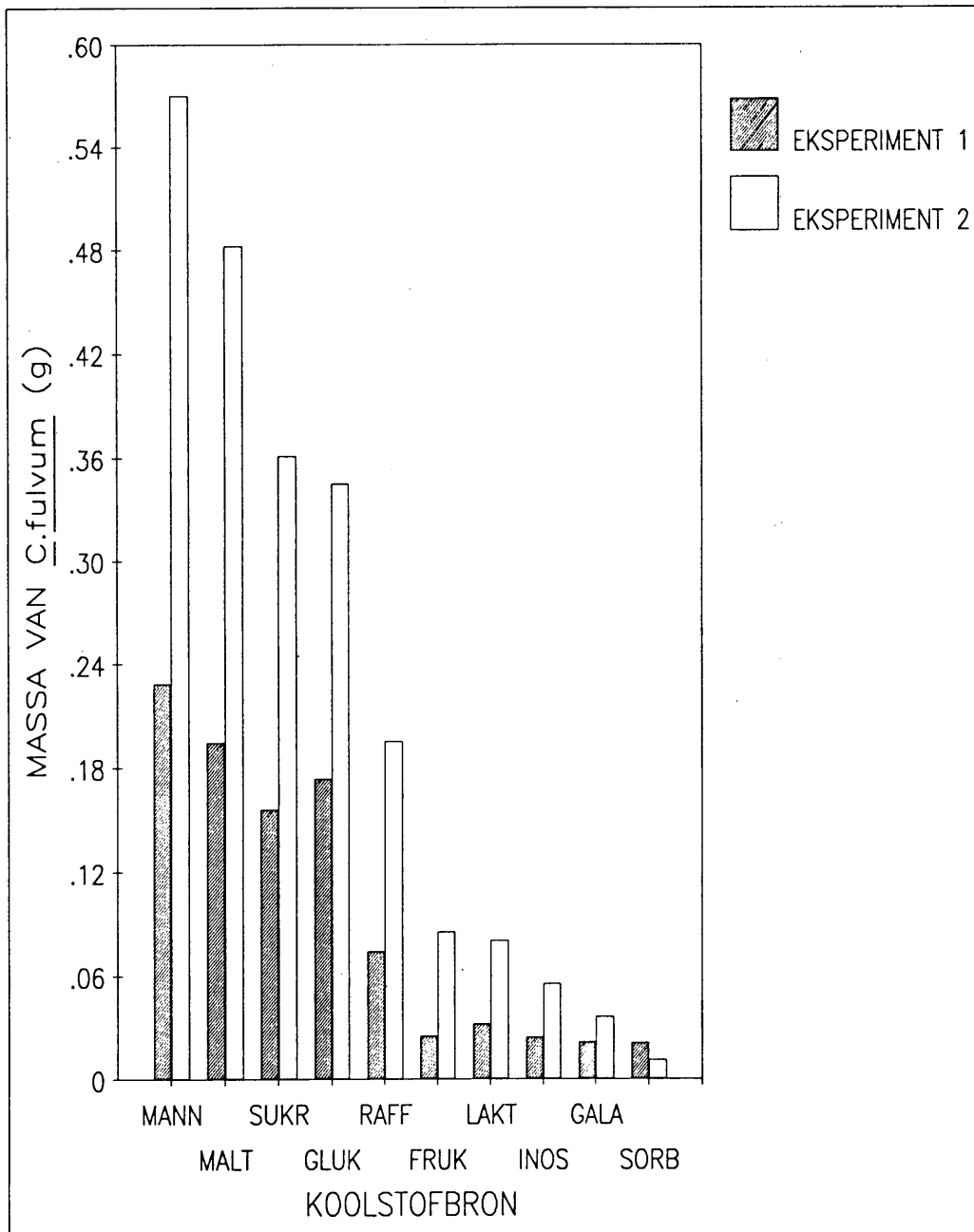


FIGUUR 4.8 *Verticillium fungicola*
(A) Konidiofore met konidiums.
(B) Konidiums.

TABEL 4.1 Gemiddelde* droëmassa van C. fulvum-kulture na kweking in vloeibare mediums met verskillende koolstofbronne (in afnemende volgorde).

Eksperiment 1		Eksperiment 2	
Koolstofbron	Massa van <u>C. fulvum</u> (g)	Koolstofbron	Massa van <u>C. fulvum</u> (g)
Mannose	0,2286	Mannose	0,5707
Maltose	0,1947	Maltose	0,4826
Glukose	0,1737	Sukrose	0,3616
Sukrose	0,1562	Glukose	0,3452
Raffinose	0,0744	Raffinose	0,1952
Laktose	0,0325	Fruktose	0,0856
Fruktose	0,0254	Laktose	0,0804
Inositol	0,0248	Inositol	0,0555
Galaktose	0,0217	Galaktose	0,0367
Sorbose	0,0216	Sorbose	0,0116

(*) Volledige stel data is in Tabelle B2.2 en B2.3 van Bylaag 2 saamgevat.



FIGUUR 4.9 Grafiese voorstelling van die gemiddelde droë-massa van *C. fulvum* na kweking in vloeibare mediums met verskillende koolstofbronne vir 10 dae by 25°C. Die afkortings vir die koolstofbronne op die X-as is as volg: mann=mannose; malt=maltose; sukr=sukrose; gluk=glukose; raff=raffinose; fruk=fruktose; lakt=laktose; inos=inositol; gala=galaktose; sorb=sorbose.

Normaalweg word geredeneer dat oligosakkariede eers tot hul samestellende monosakkariedeenhede gehidroliseer moet word alvorens dit as koolstofbronne benut kan word (Cochrane, 1958; Griffin, 1981). So 'n hidroliseproses is van ensieme afhanklik wat (dikwels geïnduseerd) deur die swam vervaardig en afgeskei word. Maltose is 'n disakkaried bestaande uit twee glukosemolekule en gesien in die lig hiervan is die waarneming dat maltose na 'n tydperk van tien dae beter as glukose benut is, interessant. In die geval van maltose, wat wel deur die meeste swamme benut word (Cochrane, 1958) is daar volgens Garraway en Evans (1984) egter al aangetoon dat sekere swamme deur middel van 'n draersisteem oor die vermoë tot 'n direkte opname van hierdie disakkaried beskik. Indien C.fulvum ook oor dié vermoë, gekoppel aan 'n vermoë tot die intrasellulêre hidrolisering van maltose beskik, sou dit moontlik kon meehelp ter verklarung van die oënskynlik, onwaarskynlik effektiewe maltosebenutting. Dit sou dan effektief daarop neerkom dat elke draermolekuul telkens twee glukosemolekule die sel binne-neem.

Sukrose is dikwels 'n goeie koolstofbron vir swamgroei (Hawker, 1950; Cochrane, 1958), maar word nie so algemeen as maltose benut nie (Lilly en Barnett, 1951; Cochrane, 1958). Sukrosebenutting is van invertaseproduksie deur die swam (Hawker, 1950), en die gevolglike hidrolisering van die disakkaried na sy glukose en fruktose boustene, afhanklik. Fruktose, wat dikwels as 'n goeie koolstofbron vir swamgroei beskou word (Wolf en Wolf, 1947; Cochrane, 1958; Griffin, 1981) is egter volgens hierdie resultate 'n swak koolstofbron vir C.fulvum. Gesien in die lig van die swam se klaarblyklike swak vermoë tot fruktosebenutting wil dit dus ongerymd voorkom dat die opbrengste met sukrose en glukose so ooreenstem. Volgens Hawker (1950) en Griffin (1981) is dit egter moontlik dat koolstofbronne wat op hulle eie swak, of selfs glad nie deur 'n swam benut word nie, goed benut kan word wanneer dit in 'n mengsel met ander koolstofbronne voorkom. Hierdie verskynsel verklaar dan moontlik ook die goeie benutting van sukrose in vergelyking met glukose.

In hierdie eksperimente is raffinose relatief swak benut en volgens Hawker (1950) is raffinose dan ook 'n swak koolstofbron vir swamgroei. Volgens Lilly en Barnett (1951) is die oorgrote meerderheid van swamme nie in staat om raffinose te benut nie. 'n Swam se onvermoë om 'n spesifieke oligosakkaried te benut kan toegeskryf word aan óf 'n onvermoë om die suiker te hidroliseer, óf 'n onvermoë om die hidroliseprodukte te benut. In die geval van raffinose lewer 'n hidrolisering van die trisakkaried ekwivalente hoeveelhede glukose, fruktose en galaktose. Indien C.fulvum tot 'n hidrolisering van die raffinosemolekuul in staat sou wees, sou glukose die enigste effektief-benutbare koolstofbron in die hidrolisemengsel verteenwoordig, en uit die aard van die resultate wil dit voorkom asof die "mengseleffek" soos hierbo beskryf, nie 'n noemenswaardige verbetering in die benutting van fruktose óf galaktose tot gevolg kon gehad het nie. In teenstelling met Hawker (1950) en Lilly en Barnett (1951), is Cochrane (1958) die mening toegedaan dat dit wil voorkom asof die meeste swamme wel in staat is om raffinose tot 'n mate te benut. Hy erken egter dat twyfel ten opsigte van hierdie benutting ontstaan in ag genome Blank en Talley (1941) se bevindings dat outoklaafgesteriliseerde raffinose in staat is om groei van Phymatotrichum omnivorum te onderhou, terwyl alkoholgesteriliseerde raffinose dit nie kon doen nie. Die moontlikheid dus dat C.fulvum nie in staat is om raffinose te hidroliseer nie, maar dat die outoklavering van die medium 'n hidrolisering van die raffinose tot gevolg kon gehad het en dat dit hiërdie hidroliseprodukte is wat uiteindelik deur die swam benut is, kan nie uitgeskakel word nie.

Die swak opbrengs met laktose is in ooreenstemming met Cochrane (1958) en Moore-Landecker (1972) wat dit as 'n swak koolstofbron vir swamgroei beskryf. Interessant egter is dat daar geen betekenisvolle verskil tussen die benutting van fruktose, wat soos reeds genoem gewoonlik as 'n goeie koolstofbron beskou word, en laktose waargeneem kon word nie (Tabel 4.2). Dit wil dus voorkom asof C.fulvum een van die minderheid van swamme is wat nie in staat is om fruktose goed te benut nie.

TABEL 4.2 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry uit die koolstofbroneksperimente met *C.fulvum* (kyk ook Figuur 4.9 en Tabelle 4.1; B2.2 en B2.3). Kruisies verteenwoordig betekenisvolle verskille tussen behandelings ($P=0,05$).

A : eerste eksperiment

B : tweede eksperiment

A

Mannose									
Maltose	X		Maltose						
Glukose	X	X	Glukose						
Sukrose	X	X	X	Sukrose					
Raffinose	X	X	X	X	Raffinose				
Laktose	X	X	X	X	X	Laktose			
Fruktose	X	X	X	X	X	0	Fruktose		
Inositol	X	X	X	X	X	0	0	Inositol	
Galaktose	X	X	X	X	X	X	0	0	Galaktose
Sorbose	X	X	X	X	X	X	0	0	0

B

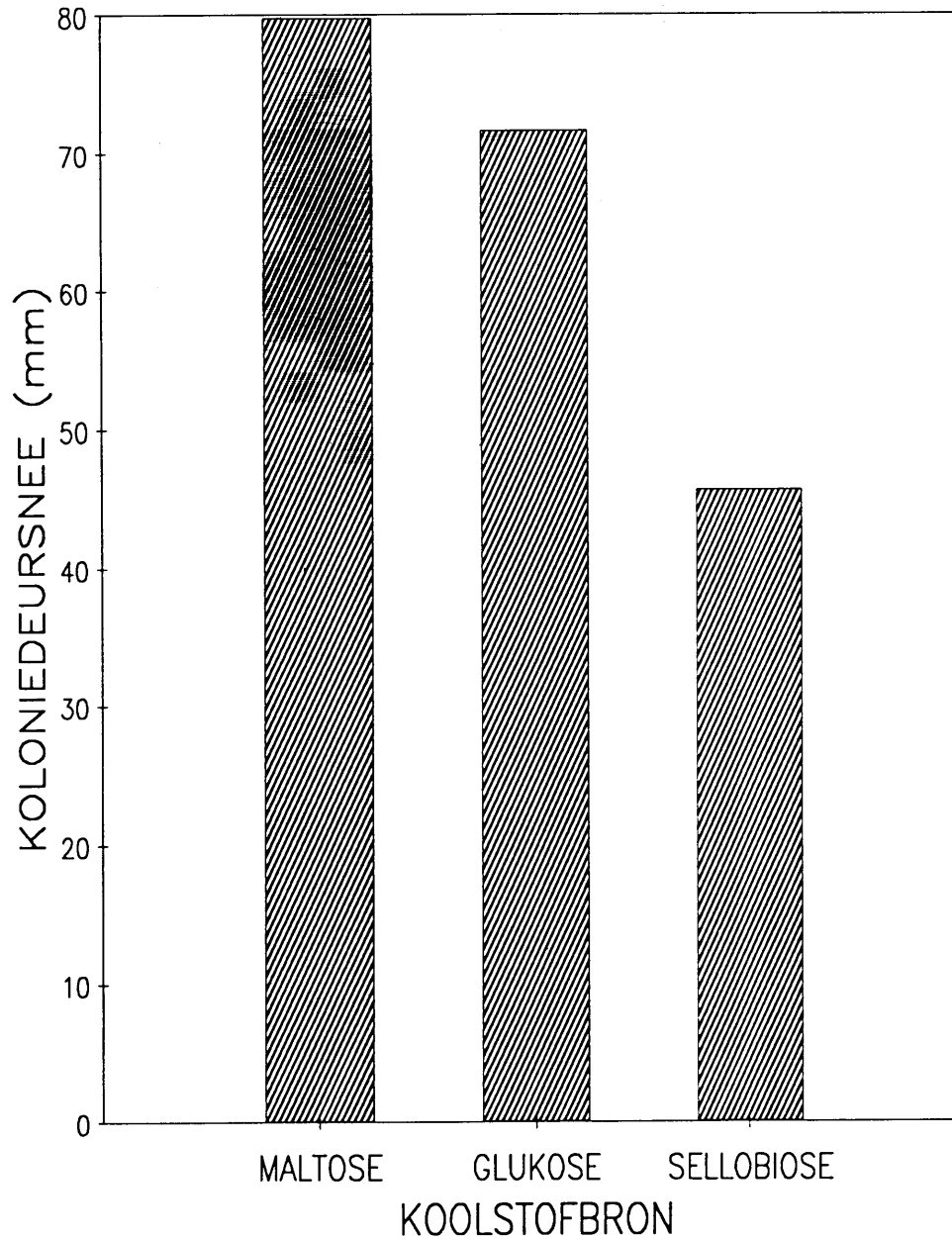
Mannose									
Maltose	X		Maltose						
Sukrose	X	X	Sukrose						
Glukose	X	X	0	Glukose					
Raffinose	X	X	X	X	Raffinose				
Fruktose	X	X	X	X	X	Fruktose			
Laktose	X	X	X	X	X	0	Laktose		
Inositol	X	X	X	X	X	0	0	Inositol	
Galaktose	X	X	X	X	X	X	X	0	Galaktose
Sorbose	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Volgens Cochrane (1958) word galaktose deur die meeste swamme benut, maar is dit gewoonlik nie so 'n goeie substraat as glukose nie. Uit die huidige resultate blyk dit egter dat hierdie suiker ook baie swak deur C. fulvum benut word. In ooreenstemming met die stellings van Lilly en Barnett (1951) en Cochrane (1958) is sorbose ook gevind om 'n baie swak koolstofbron te wees.

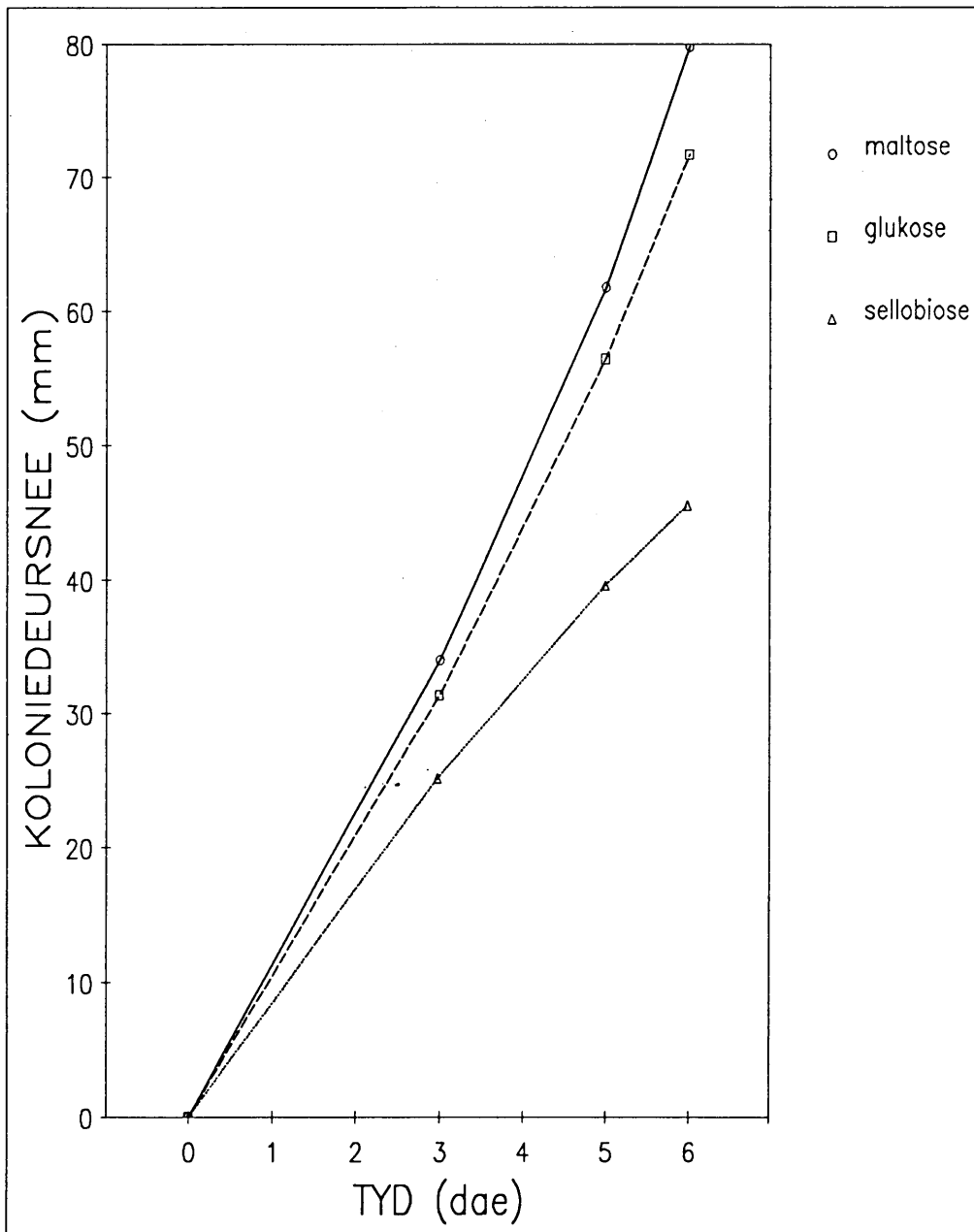
Uit Figure 4.10 en 4.11 kan gesien word dat die disakkaried sellobiose, 'n afbraakproduk van sellulose, bestaande uit twee β -glikosidiesgebonde glukosemolekule, swakker as glukose óf as die ander disakkaried bestaande uit twee glukosemolekule, maltose, benut is. Die groei op die sellobiosemedium kan egter moontlik ook gedeeltelik aan die teenwoordigheid van glukose in die medium toegeskryf word, aangesien 'n gedeelte van die sellobiose waarskynlik tydens outoklavering na glukose afgebreek kon gewees het.

Uit bogenoemde resultate blyk dit dus dat, onder die natuurlik voorkomende heksoses, net mannose en glukose werklik effektief deur C. fulvum benut word, en dat disakkariede soos maltose en sukrose beter koolstofbronne as ander redelik algemeen benutbare monosakkariede soos fruktose en galaktose is. 'n Voedingsmedium met fruktose en of moontlik galaktose as enigste koolstofbron mag dus moontlik teen C. fulvum selekteer.

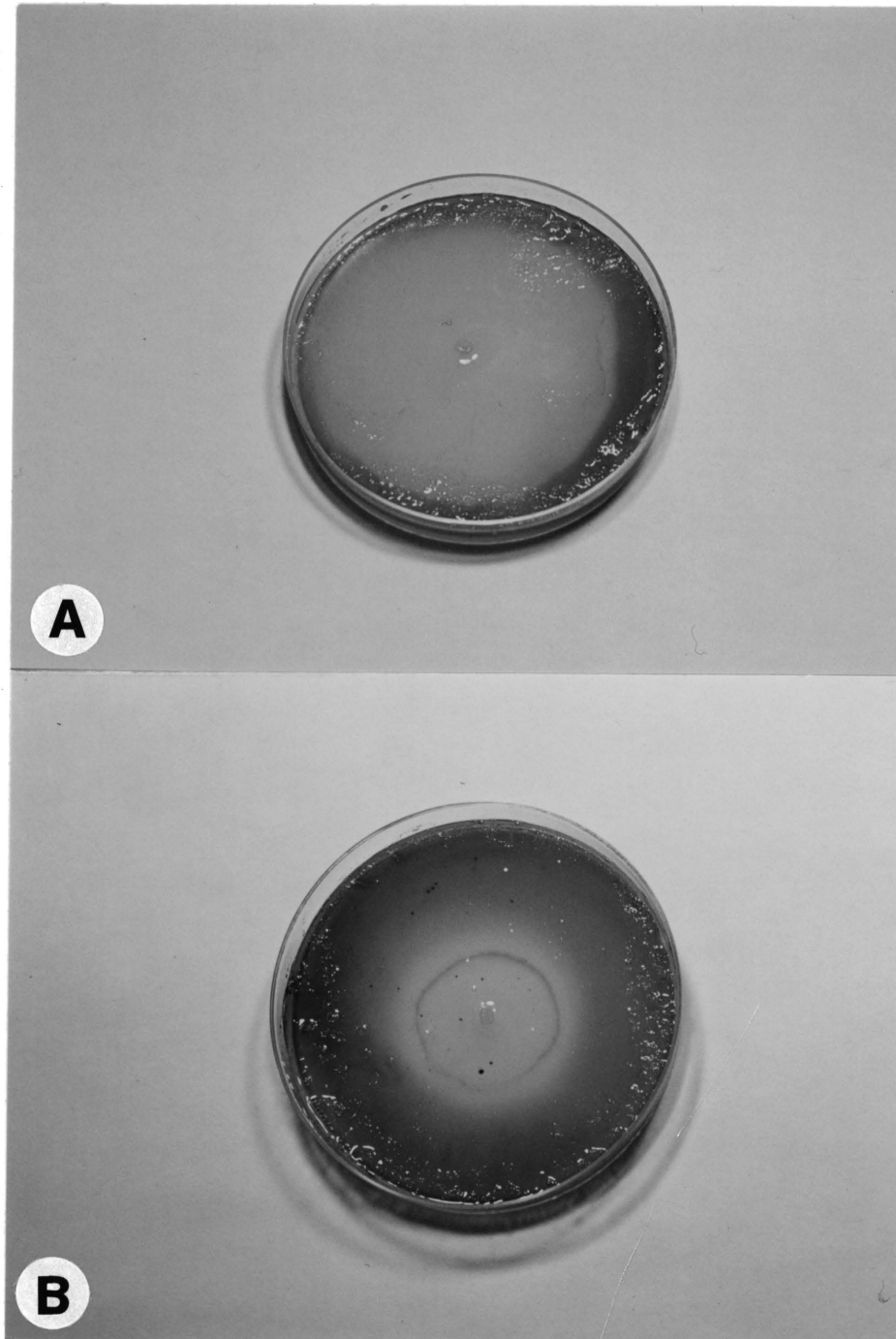
Benutting van sellulose: C. fulvum is in staat om op 'n medium met sellulose as enigste koolstofbron te groei (Figuur 4.12). Dit stem ooreen met die bevindinge van Trigiano en Fergus (1979) en Domsch *et al.* (1980). Alhoewel die liniêre groei van die kolonies vinnig was, was die groei swak en beperk tot 'n baie yl, kleurlose miselium van platliggende hifes. Geen lughifes het voorgekom nie en sporulering was swak en ylgesaai. Die koloniegroei tempo was hoër as die diffusietempo van die sellulase deur die agar en die ontkleurde sone (gebied van selluloseafbraak) was in der waarheid kleiner as die kolonie self; ongeveer 6-9 mm agter die punte van die voorste hifes. Hierdie bevindinge verskil op die oog af met Trigiano en Fergus (1979) wat sterk sellulolitiese aktiwiteit by C. fulvum gevind het.



FIGUUR 4.10 Grafiese voorstelling van die groei van *C. fulvum* op drie verskillende koolstofbronne op soliede mediums na ses dae by 22°C. Kyk Tabel B2.4 van Bylaag 2 vir volledige stel data.



FIGUUR 4.11 Grafiese voorstelling van die groei van *C. fulvum* op drie verskillende koolstofbronne op soliede mediums by 22°C. Kyk Tabel B2.4 van Bylaag 2 vir volledige stel data. Die koloniedeursneë op die verskillende mediums soos gemeet op dag ses verskil statisties betekenisvol ($P=0,02$).



as koolstofbron, na oorspoeling met 'n chloor-sink-jodiumoplossing.

A : C.fulvum na twee en 'n halwe dag.

B : V.fungicola.

Alhoewel sellulose dus wel vir groei benut is, blyk dit uit hierdie ondersoek 'n swak koolstofbron in vergelyking met van die ander koolstofbronne wat getoets is te wees. Volgens hierdie resultate behoort C.fulvum nie veel van 'n kompetisiegevaar vir A.bisporus ten opsigte van sellulose in te hou nie, maar so 'n afleiding moet versigtig hanteer word, en gedagtig veral aan Trigiano en Fergus (1979) se bevindings, mag kompetisie 'n variantafhanklike verskynsel wees. Die hidroliseprodukte van sellulose word egter benut en ten opsigte daarvan sal die swam met A.bisporus kompeteer.

4.3.1.2 Verticillium fungicola

Die vermoëns ten opsigte van die ondersteuning van swamgroei in die breë vir die suikers wat ook in die ondersoek met C.fulvum gebruik is, word nie weer bespreek nie en die leser word daarvoor na die betrokke gedeelte (4.3.1.1) terugverwys.

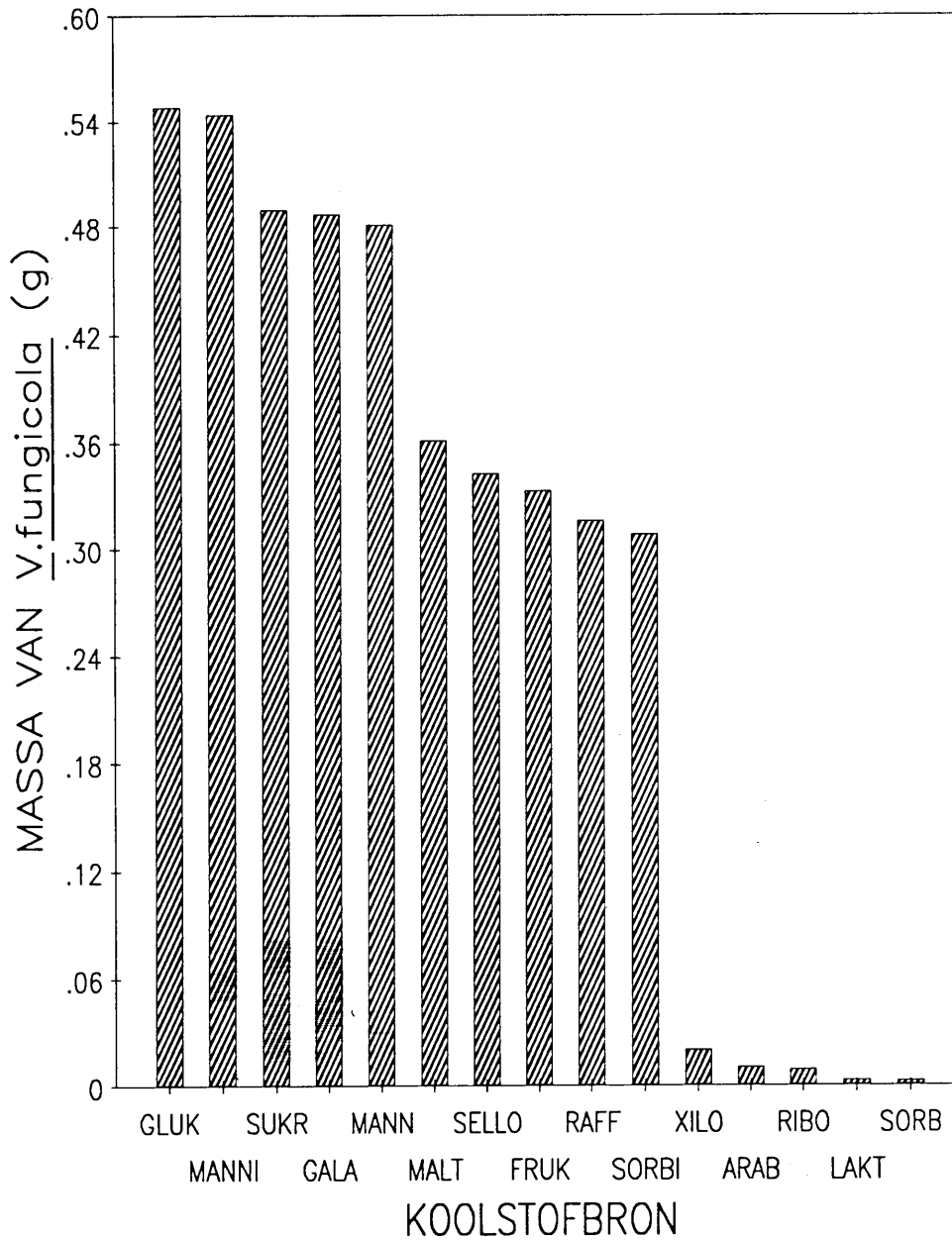
Van die natuurlik-voorkomende heksoses wat ondersoek is, was dit slegs sorbose wat nie as koolstofbron benut kon word nie (Tabel 4.3 en Figuur 4.13). Op die oog af (Tabel 4.3) blyk glukose die beste koolstofbron vir hierdie swam te gewees het, maar daar was egter geen betekenisvolle verskille tussen die benutting van glukose, D-galaktose en mannose nie (Tabel 4.4). Fruktose is ook goed, maar effens swakker as die ander heksoses benut (Tabel 4.3 en Figuur 4.13). Hierdie resultate stem ooreen met Azéma en Touzé-Soulet (1973) se bevinding dat glukose die beste groei uit twaalf koolstofbronne gelewer het. Dieselfde outeurs het egter variërende resultate met galaktose en fruktose behaal. Mannose is nie deur hulle ondersoek nie.

Soos uit Tabel 4.3 en Figuur 4.13 gesien kan word is die drie pentosesuikers, arabinose, ribose en xilose almal swak benut. Hierdie resultate is in ooreenstemming met Azéma en Touzé-Soulet (1973) se bevindings ten opsigte van arabinose en xilose. Uit die besprekings van Lilly en Barnett (1951) en Cochrane (1958) lyk dit of xilose oor die algemeen beter as arabinose (waarvan die L-isomeer op sy beurt weer beter as die D-vorm benut word)

TABEL 4.3 Gemiddelde droëmassa van V.fungicola-kulture* (en die verandering van die pH van die medium) na kweking in vloeibare mediums met verskillende koolstofbronne.

Koolstofbron	Massa van <u>V.fungicola</u> (g)	Verandering in pH
Glukose	0,5485	+3,3
Mannitol	0,5441	+3,15
Sukrose	0,4898	+3,33
Galaktose	0,4873	+2,95
Mannose	0,4811	+3,85
Maltose	0,3615	+2,95
Sellobiose	0,3430	+2,9
Fruktose	0,3333	+2,8
Raffinose	0,3164	+3,0
Sorbitol	0,3087	-
Xilose	0,0202	+1,2
Arabinose	0,0109	+0,2
Ribose	0,0093	-
Laktose	0,0033	+0,8
Sorbose	0,0030	-

(*) Volledige stel data is in Tabel B2.5 van Bylaag 2 saamgevat.



FIGUUR 4.13 Grafiese voorstelling van die gemiddelde droëmassa van V.fungicola na kweking in vloeibare mediums met verskillende koolstofbronne vir 16 dae by 25°C. Die afkortings vir die koolstofbronne op die X-as is as volg: gluk=glukose; manni=mannitol; sukr=sukrose; gala=galaktose; mann=mannose; malt=maltose; sello=sellobiose; fruk=fruktose; raff=raffinose; sorbi=sorbitol; xilo=xilose; arab=arabinose; ribo=ribose; lakt=laktose; sorb=sorbose.

TABEL 4.4 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry uit die koolstofbroneksperiment met *V.fungicola* (kyk ook Figuur 4.13 en Tabela 4.3 en B2.5). Krui-sies verteenwoordig betekenisvolle verskille tussen behandelings ($P=0,05$).

Glukose

Mannitol	0													Mannitol	
Sukrose	0	0												Sukrose	
Galaktose	0	0	0											Galaktose	
Mannose	0	0	0	0										Mannose	
Maltose	X	X	0	0	0									Maltose	
Sellobiose	X	X	X	X	X	0								Sellobiose	
Fruktose	X	X	X	0	X	0	0							Fruktose	
Raffinose	X	X	X	X	X	0	0	0						Raffinose	
Sorbitol	X	X	X	X	X	0	0	0	0					Sorbitol	
Xilose	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			Xilose	
Arabinose	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0		Arabinose	
Ribose	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0	0	Ribose	
Laktose	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0	0	0	Laktose
Sorbose	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0	0	0	0

as koolstofbron deur die Fungi benut word. Volgens Cochrane (1958) is daar egter min gegewens oor die benutting van ribose deur swamme beskikbaar. In hierdie studie egter, was daar geen betekenisvolle verskille in die benutting van die drie pentoses nie (Tabel 4.4). Xilose en arabinose is die boustene van die pentosane arabaan en xilaan, wat belangrike selwandbestanddele is. Veral xilaan, 'n hemisellulose, kom algemeen in strooi (en dus sampioenkompos) voor (Meyer et al., 1960). In enige ondersoek na die benutting van xilose moet daar egter in gedagte gehou word dat xilose bekend is om tydens outoklaving na furfural af te breek en enige bevinding wat daarop dui dat xilose nie 'n goeie koolstofbron is nie, behoort krities geëvalueer te word. 'n Finale gevolgtrekking kan nie gemaak word alvorens die benutting van filtergesteriliseerde xilose nie ook eers ondersoek is nie (Cochrane, 1958).

Onder die disakkariede is sukrose, maltose en sellobiose goed benut, met 'n betekenisvolle verskil slegs tussen sukrose en sellobiose waarneembaar. Dieselfde argumente wat reeds in 4.3.1.1 ten opsigte van sukrose en sellobiose geopper is, geld ook hier. Laktose was weer eens 'n uiters swak koolstofbron.

Die trisakkaried raffinose was net so 'n effektiewe koolstofbron as maltose en sellobiose, maar weer eens moet die redenasie soos in 4.3.1.1 uiteengesit is, in gedagte gehou word.

Die twee suikeralkohole wat ondersoek is, het beide goeie groei tot gevolg gehad. Mannitol, wat ontstaan uit 'n reduksie van óf fruktose óf mannose, het net sulke goeie groei as glukose gelewer (Tabelle 4.3 en 4.4, en Figuur 4.13), 'n resultaat wat ooreenstem met Cochrane (1958) wat beweer dat hierdie alkohol algemeen deur die Fungi benut word en as koolstofbron dikwels ekwivalent aan glukose is. Dit is dan ook interessant om daarop te let dat mannitol juis een van die hoofbestanddele van A.bisporus, die normale groeisubstraat van V.fungicola, verteenwoordig (Perry, 1987). Alhoewel sorbitol, die reduksieproduk

van glukose, gewoonlik nie deur die meerderheid van swamme benut word nie (Cochrane, 1958), was dit in hierdie geval ten minste net so 'n goeie koolstofbron as maltose (Tabel 4.4).

Soos uit Tabel 4.3 gesien kan word het V.fungicola-groei 'n besliste veralkalinisering van die groeimedium tot gevolg gehad.

Volgens Bohus (1959) is daar vasgestel dat A.bisporus onder kweektoestande eers die hemisellulose in die kompos benut alvoor dit van sellulose en lignien gebruik maak. Die hemisellulose xilaan en die hidroliseprodukt daarvan, xilose, is dan volgens Treschow (1944) en Bohus (1959) goeie koolstofbronne vir A.bisporus.

Benutting van sellulose: Die V.fungicola-isolaat wat in hierdie ondersoek gebruik is, was in staat om op 'n voedingsmedium met sellulose as die enigste koolstofbron te groei (Figuur 4.12). Groei was egter swak en die kolonies yl, met die miselium plat teen die agaroppervlak. Sporulering was swak. Hierdie resultate blyk in ooreenstemming met Trigiano en Fergus (1979) te wees, wat bevind het dat V.fungicola oor swak sellulolitiese aktiwiteit beskik. Die sellulase diffundeer voor die rand van die kolonie uit en die ontkleurde sone (gebied van sellulase-aktiwiteit) was groter as die kolonie self. V.fungicola behoort dus ten minste nie veel van 'n kompetisiegevaar vir A.bisporus ten opsigte van sellulosebenutting in te hou nie. Net soos in die geval van C.fulvum, is V.fungicola egter in staat om die afbraakprodukte van sellulose goed te benut en mag dit ten opsigte daarvan, ook met A.bisporus in kompetisie verkeer.

Uit die voorafgaande bespreking kan daar dus afgelei word dat 'n groeisubstraat met xilaan en/of xilose as koolstofbron moontlik tot voordeel van A.bisporus, en met min gevaar van kolonisering deur V.fungicola, aangewend sal kan word.

4.3.2 DIE INVLOED VAN DIE STIKSTOFBRON OP SWAMGROEI

4.3.2.1 Chromelosporium fulvum

Uit Tabel 4.5 en Figuur 4.14 is dit duidelik dat DL-asparagien die beste stikstofbron ten opsigte van C. fulvum-groei was. Alhoewel die benutting van die verskillende aminosure deur die Fungi baie varieer (Lilly en Barnett, 1951; Cochrane, 1958), stem meer as een outeur (en veral Cochrane, 1958 en Nicholas, 1965) tog saam dat asparagien oor die algemeen goeie groei van 'n verskeidenheid swamme tot gevolg sal hê. Die L-aminosure, wat meer algemeen as die D-isomere in die natuur voorkom, word ook oor die algemeen beter as die D-isomere benut (Lilly, 1965; Jones, 1963; Pateman en Kinghorn, 1976). Pateman en Kinghorn (1976) noem byvoorbeeld dat die L-vorme van glutamien, asparagien en arginien goeie stikstofbronne vir Aspergillus nidulans verteenwoordig, maar dat die D-isomere uiters swak benut word.

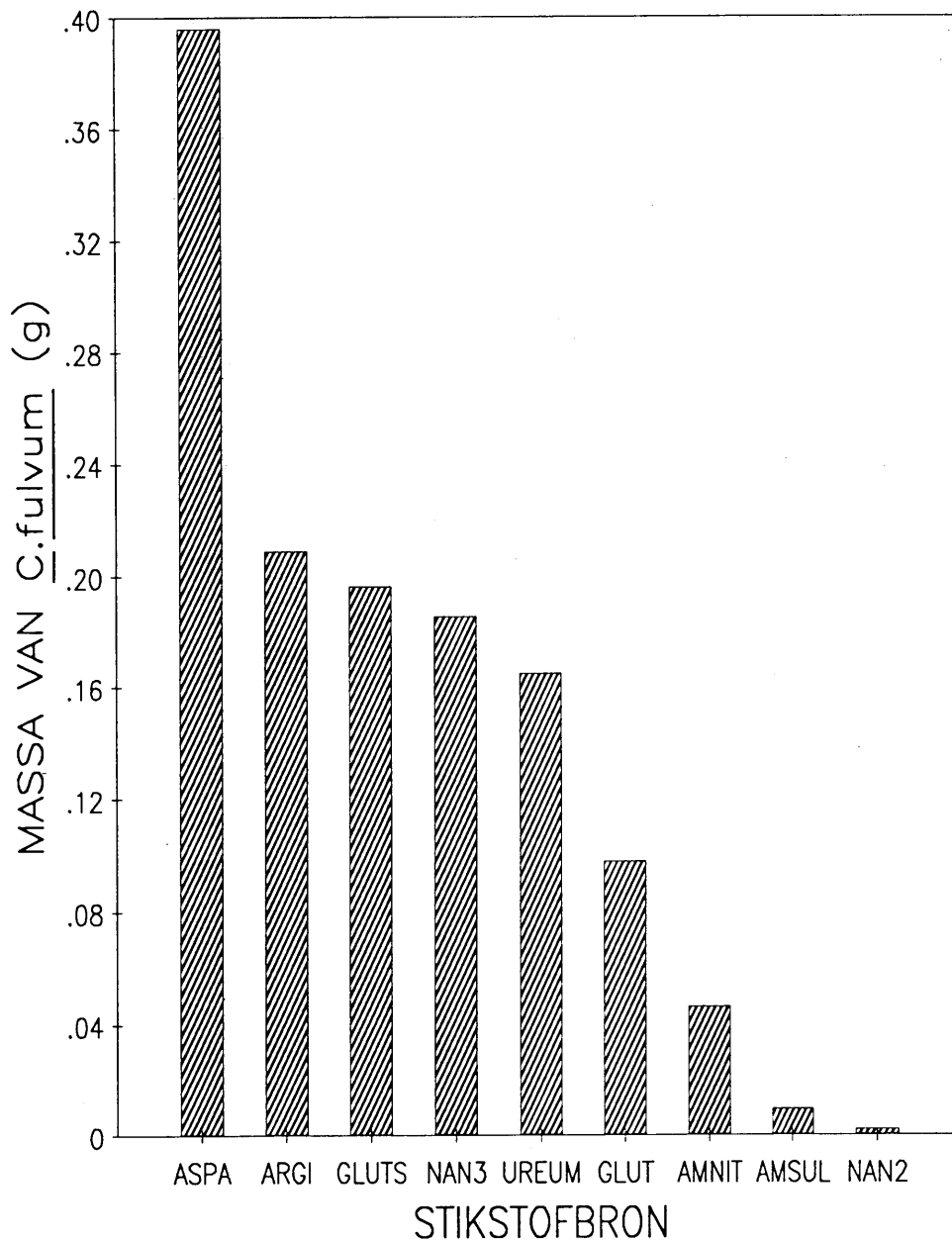
Na asparagien het nog twee aminosure, naamlik L-arginien en L-glutamiensuur die beste opbrengste tot gevolg gehad. Cochrane (1958), Nicholas (1965) en Garraway en Evans (1984) noem ook dat goeie swamgroei met glutamiensuur verwag kan word. Statisties was daar egter geen verskil tussen die benutting van laasgenoemde twee aminosure en ook natriumnitraat nie (Tabel 4.6). Volgens Cochrane (1958) is daar min oor die benutting van glutamien bekend, maar in hierdie ondersoek was die benutting daarvan heelwat swakker as in die geval van die ander aminosure. Daar moet egter in gedagte gehou word dat die koolstofbron, asook die konsentrasie van laasgenoemde, 'n bepalende faktor in die effektiewe benutting van aminosure kan wees (Garraway en Evans, 1984). Hieruit volg dit dus dat die resultate soos hierbo bespreek, anders daar mag uitsien indien die koolstofbron in die medium verander sou word.

Nitraat is deur die meeste swamme as stikstofbron benutbaar (Cochrane, 1958; Nicholas, 1965; Pateman en Kinghorn, 1976;

TABEL 4.5 Gemiddelde* droëmassa van C. fulvum- en V. fungicola-kulture na kweking in vloeibare mediums met verskillende stikstofbronne.

<u>C. fulvum</u>		<u>V. fungicola</u>	
Stikstofbron	Massa van miselium (g)	Stikstofbron	Massa van miselium (g)
DL-Asparagien	0,3963	L-Glutamiensuur	0,7117
L-Arginien	0,2092	L-Glutamien	0,6915
L-Glutamiensuur	0,1966	Natriumnitraat	0,6062
Natriumnitraat	0,1856	Ammoniumnitraat	0,6046
Ureum	0,1651	Ureum	0,5596
L-Glutamien	0,0982	L-Arginien	0,5523
Ammoniumnitraat	0,0465	DL-Leusien	0,4983
Ammoniumsulfaat	0,0099	DL-Asparagien	0,4946
Natriumnitriet	0,0024	Ammoniumsulfaat	0,4843
		Natriumnitriet	0,0044

(*) Volledige stel data is in Tabelle B2.6 en B2.7 van Bylaag 2 saamgevat.

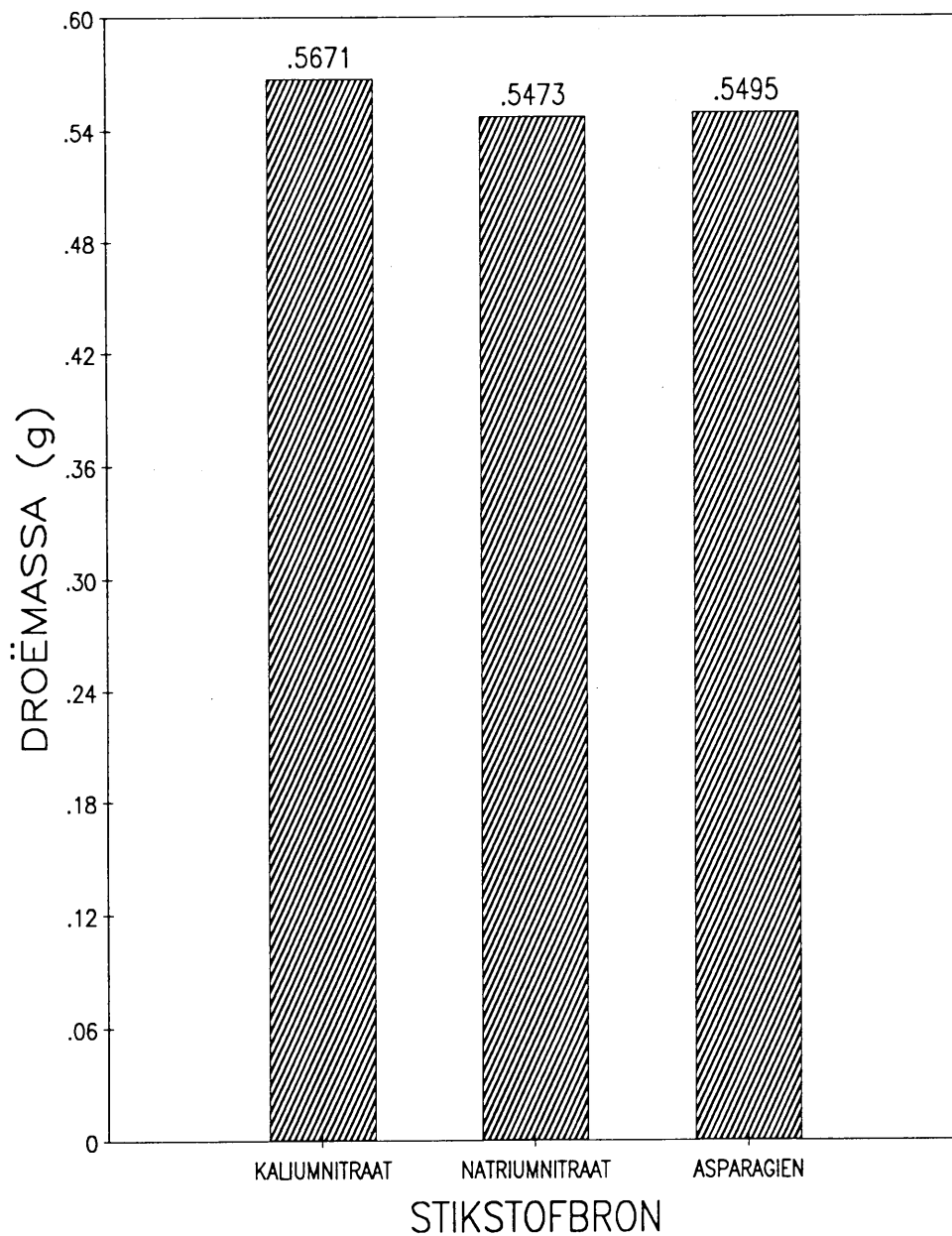


FIGUUR 4.14 Grafiese voorstelling van die gemiddelde droëmassa van *C.fulvum* na kweking in vloeibare mediums met verskillende stikstofbronne vir vyf dae by 26°C. Die afkortings vir die stikstofbronne op die X-as is as volg: aspa=asparagien; argi=arginien; glut=glutamiensuur; nan3=natriumnitraat; ureum=ureum; glut=glutamien; amnit=ammoniumnitraat; amsul=ammoniumsulfaat; nan2=natriumnitriet.

Griffin, 1981; Garraway en Evans, 1984) en volgens hierdie ondersoek is C.fulvum geen uitsondering nie. In 'n preliminêre ondersoek (Coetzee, 1977) is gevind dat kaliumnitraat net so effektief as natriumnitraat benut word. Dit was egter duidelik dat veral asparagien aanvanklik vinniger as die nitrate benut is. Dit is in ooreenstemming met Nicholas (1965) wat beweer dat daar 'n sloerfase in mediums met nitraat as die enigste stikstofbron ondervind mag word, as gevolg daarvan dat die produksie van die nodige nitraatreducerende ensieme, wat deur nitraataanwesigheid geïnduseer word, eers moet plaasvind. (Hierteenoor beweer Morton en Macmillan [1954] egter dat die nitraatreduksiesistiem ook in die afwesigheid van nitraat gevorm kan word.) Dit sou egter verkeerd wees om na aanleiding van hierdie aanvanklike beter benutting van asparagien te wou aflei dat dit 'n beter stikstofbron as die nitrate verteenwoordig, aangesien soos uit Figuur 4.15 gesien kan word daar na 'n langer groeiperiode geen verskil in die uiteindelijke opbrengs was nie. Hierdie resultate beklemtoon dus die feit dat die tydstip waarop waarnemings gemaak word die resultate grootliks sal beïnvloed.

Gesien in die lig van die goeie benutting van sowel kalium- en natriumnitraat is die swak prestasie van ammoniumnitraat dus interessant. Daar moet egter in gedagte gehou word dat sterk getuïenis bestaan (Pateman en Kinghorn, 1976) dat nitraatopname nou met nitraatreduktase, 'n ensiem wat deur ammoniak en die ammoniumioon onderdruk word (Nicholas, 1965; Pateman en Kinghorn, 1976; Griffin, 1981; Garraway en Evans, 1984), gekoppel is, en dat nitraatopname dus in die teenwoordigheid van ammonium geïnhibeer sal word. Dit verklaar dan die voorkeurbenutting van die ammoniumioon van ammoniumnitraat soos deur verskeie outeurs vermeld word (Morton en Macmillan, 1954; Cochrane, 1958; Nicholas, 1965; Griffin, 1981; Garraway en Evans, 1984).

Soos gesien kan word (Tabel 4.5 en Figuur 4.14) is beide die ammoniumbevattende stikstofbronne swak benut, met ammoniumnitraat effens beter as ammoniumsulfaat. Alhoewel daar



FIGUUR 4.15 Grafiese voorstelling van die gemiddelde droëmassa van *C. fulvum* na kweking in vloeibare mediums met verskillende stikstofbronne vir tien dae by kamer-temperatuur.

swamme is wat nitraatstikstof, maar nie ammoniumstikstof kan benut nie (Rich en Stern, 1958; Lilly, 1965), is Pateman en Kinghorn (1976), Griffin (1981) en Garraway en Evans (1984) van mening dat die oorgrote meerderheid van swamme ammonium wél as enigste stikstofbron kan benut. Alhoewel ammoniumbenutting volgens Cochrane (1958) verbeter met 'n toename in pH, is daar egter dikwels 'n afname in die pH van die groeimedium as gevolg van die benutting van die ammoniumioon (Hawker, 1950; Griffin, 1981; Garraway en Evans, 1984). Hierdie lae pH word met 'n minimale stikstofopname (Garraway en Evans, 1984) en 'n gevolglike inhibering van groei (Cochrane, 1958; Pateman en Kinghorn, 1976; Garraway en Evans, 1984) geassosieer. Die vorm waarin die ammonium aan die swam verskaf word, is dus van groot belang (Hawker, 1950; Pateman en Kinghorn, 1976). Volgens Pateman en Kinghorn (1976) groei sommige swamme swak of glad nie op soute soos ammoniumchloried, ammoniumnitraat en ammoniumsulfaat nie. Wanneer hierdie soute benut word is daar 'n vinnige en soms drastiese daling in die pH van die medium (Morton en Macmillan, 1954; Nicholas, 1965; Pateman en Kinghorn, 1976) as gevolg van die vorming van soutsuur, salpetersuur en swaelsuur onderskeidelik (Hawker, 1950), wat dan die groei inhibeer (Morton en Macmillan, 1954). Volgens Cochrane (1958) en Griffin (1981) wil dit voorkom asof vele berigte van 'n onvermoë om ammonium as stikstofbron te benut eerder aan hierdie pH-effek toegeskryf moet word. In 'n gebufferde medium sou benutting in die meeste gevalle plaasgevind het (Morton en Macmillan, 1954; Cochrane, 1958; Garraway en Evans, 1984). In die geval van hierdie ondersoek moet die resultate dan ook in die lig van die voorafgaande bespreking geïnterpreteer word.

Ureum, die organiese afbraakproduk van puriene, pirimidie en arginien (Pateman en Kinghorn, 1976; Garraway en Evans, 1984) word volgens Cochrane (1958) en Pateman en Kinghorn (1976) oor die algemeen as 'n goeie stikstofbron vir swamgroei beskou. In hierdie eksperiment is dit ook redelik goed benut, maar daar moet rekening gehou word met Cochrane (1958) wat aanvoer dat slegs eksperimente wat met koud-gesteriliseerde ureum uitgevoer

is, geldig is, aangesien ureum tydens outoklavering na ammoniak afgebreek word. Daar kan dus aanvaar word dat die stikstof in die ureummedium tot 'n groot mate in die vorm van ammoniak voorgekom het en dat groei ook grotendeels daaraan toegeskryf kon word. Hieruit wil dit dus voorkom asof ammoniak wel as 'n stikstofbron deur C.fulvum benutbaar is en moet die swak benutting van die ammoniumsoute soos reeds beskryf moontlik aan die pH-effek toegeskryf word.

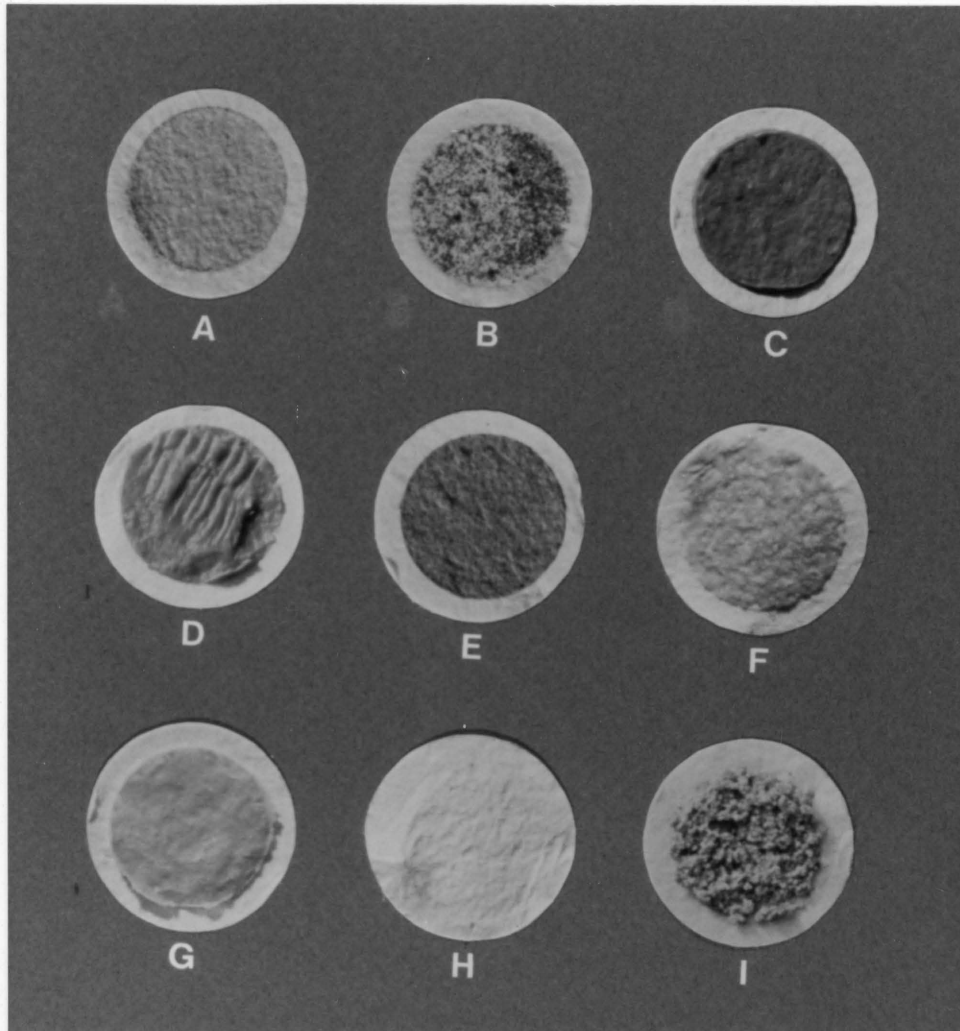
Alhoewel nitriet wel deur 'n aantal swamme as stikstofbron benut kan word (Cochrane, 1958; Nicholas, 1965; Pateman en Kinghorn, 1976; Garraway en Evans, 1984) is dit toksies vir baie (Pateman en Kinghorn, 1976; Garraway en Evans, 1984). Hierdie toksisiteit hou nou verband met die pH van die medium, met beter benutting onder alkaliese toestande (Lilly en Barnett, 1951; Cochrane, 1958; Nicholas, 1965; Pateman en Kinghorn, 1976; Garraway en Evans, 1984). C.fulvum was nie in staat om op natriumnitriet te groei nie, al was die pH van die medium aanvanklik op pH 6, wat volgens Pateman en Kinghorn (1976) en Garraway en Evans (1984) binne die perke van relatief laer toksisiteit val, ingestel.

Volgens die uitslag van hierdie ondersoek kan C.fulvum dus in groep twee van Robbins (1937) se klassifikasiesisteen ten opsigte van die stikstofbenutting van plante geklassifiseer word.

Die stikstofbron beïnvloed die miseliumkleur soos in Figuur 4.16 geïllustreer word.

4.3.2.2 Verticillium fungicola

Soos in die geval van die koolstofbronbesprekings sal die algemene eienskappe en vermoëns van die verskillende stikstofbronne ten opsigte van swamgroei nie herhaal word nie en word die leser daarvoor na die betrokke gedeelte (4.3.2.1) terugverwys.



FIGUUR 4.16 Die invloed van verskillende stikstofbronne op die miseliumkleur van *C. fulvum*.

A : Ammoniumnitraat; B:Ammoniumsulfaat; C:Arginien;
D : Asparagien; E:Glutamien; F:Glutamiensuur;
G : Natriumnitraat; H:Natriumnitriet; I:Ureum.

Die aminosure, L-glutamiensuur en L-glutamien, het die hoogste opbrengste tot gevolg gehad, met natriumnitraat net ietwat minder (Figuur 4.17). Daar was egter geen statisties betekenisvolle verskille tussen hierdie drie stikstofbronne nie (Tabel 4.6). Dit is in ooreenstemming met Azéma en Touzé-Soulet (1973) wat gevind het dat glutamiensuur (asook aspartiensuur en α -alanien) goeie groei van V.fungicola tot gevolg het, maar verskil van dieselfde outeurs wat beweer dat die nitrate (na aanleiding van hulle resultate met kaliumnitraat) swak stikstofbronne is. In verdere ooreenstemming met Azéma en Touzé-Soulet (1973) en in teenstelling met C.fulvum is ammoniumnitraat ook goed benut. Ureum is ook goed benut, maar weer eens moet die afbraak na ammoniak tydens outoklavering in gedagte gehou word. Volgens Azéma en Touzé-Soulet (1973) is ureum egter 'n heelwat swakker stikstofbron as die ander organiese stowwe wat deur hulle ondersoek is. Alhoewel DL-asparagien en L-arginien nie soos in die geval van C.fulvum die beste stikstofbronne was nie, het dit steeds goeie groei tot gevolg gehad, en leusien, wat volgens Nicholas (1965) gewoonlik nie 'n goeie stikstofbron vir swamgroei is nie, is net so goed benut.

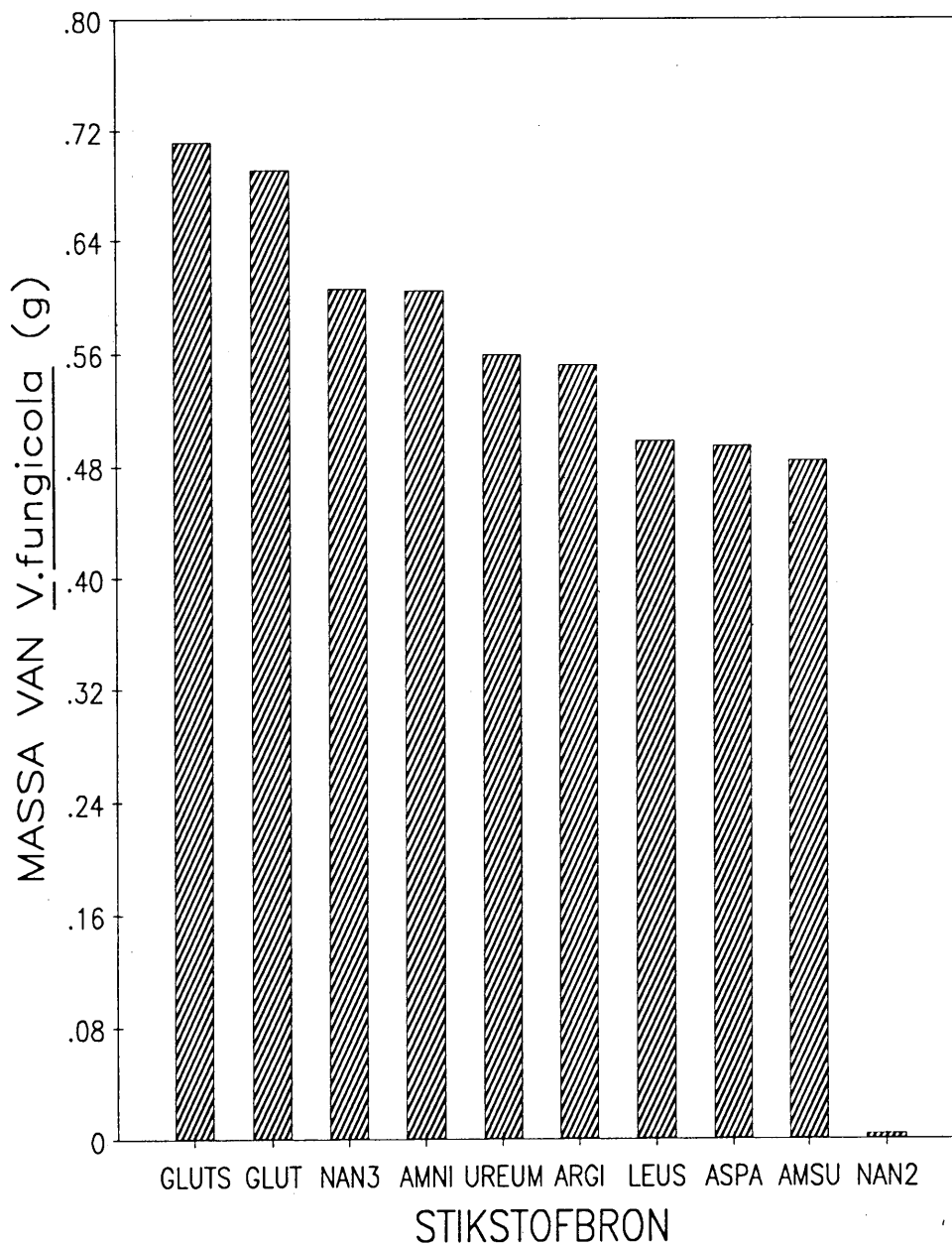
Al beklee ammoniumsulfaat die voorlaaste posisie op die benuttingsranglys (Figuur 4.17) is dit steeds 'n goeie stikstofbron en stem hierdie resultate met Azéma en Touzé-Soulet (1973), wat óók gevind het dat die ammoniumbevattende stikstofbronne goeie groei tot gevolg het, ooreen.

Uit die resultate van hierdie ondersoek blyk dit dus dat V.fungicola 'n wye reeks stikstofbronne goed kan benut en was dit slegs nitriet wat, soos in die geval van C.fulvum, nie benut is nie. V.fungicola kan dus ook in groep twee van Robbins (1937) se stikstofverbruiksklassifikasiesisteen geplaas word.

4.4 DIE INVLOED VAN OMGEWINGSTOESTANDE

4.4.1 DIE INVLOED VAN TEMPERATUUR OP GROEI EN SPORULERING

Temperatuur het 'n groot invloed op omtrent alle selaktiwiteite



FIGUUR 4.17 Grafiese voorstelling van die gemiddelde droëmassa van V.fungicola na kweking in vloeibare mediums met verskillende stikstofbronne vir vyf dae by 26°C. Die afkortings vir die stikstofbronne op die X-as is as volg: gluts= glutamiensuur; glut= glutamien; nan3=natriumnitraat; amni=ammoniumnitraat; ureum=ureum; argi=arginien; leus=leusien; aspa=asparagien; amsu=ammoniumsulfaat; nan2=natriumnitriet.

TABEL 4.6 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry uit stikstofbroneksperimente met C.fulvum en V.fungicola (kyk ook Figure 4.14 en 4.17, asook Tabela 4.5 en B2.6 en B2.7). Kruisies verteenwoordig betekenisvolle verskille tussen behandelings ($P=0,05$).
 A : C.fulvum
 B : V.fungicola

A.

Asparagien

Arginien	X	Arginien						
Glutamiensuur	X	0	Glutamiensuur					
Natriumnitraat	X	0	0	Natriumnitraat				
Ureum	X	X	0	0	Ureum			
Glutamien	X	X	X	X	X	Glutamien		
Ammoniumnitraat	X	X	X	X	X	X	Ammoniumnitraat	
Ammoniumsulfaat	X	X	X	X	X	X	X	Ammoniumsulfaat
Natriumnitriet	X	X	X	X	X	X	X	X

B.

Glutamiensuur

Glutamien	0	Glutamien						
Natriumnitraat	0	0	Natriumnitraat					
Ammoniumnitraat	X	X	0	Ammoniumnitraat				
Ureum	X	X	0	0	Ureum			
Arginien	X	X	0	0	0	Arginien		
Leusien	X	X	0	X	X	0	Leusien	
Asparagien	X	X	0	0	0	0	0	Asparagien
Ammoniumsulfaat	X	X	0	X	0	0	0	0
Natriumnitriet	X	X	X	X	X	X	X	X

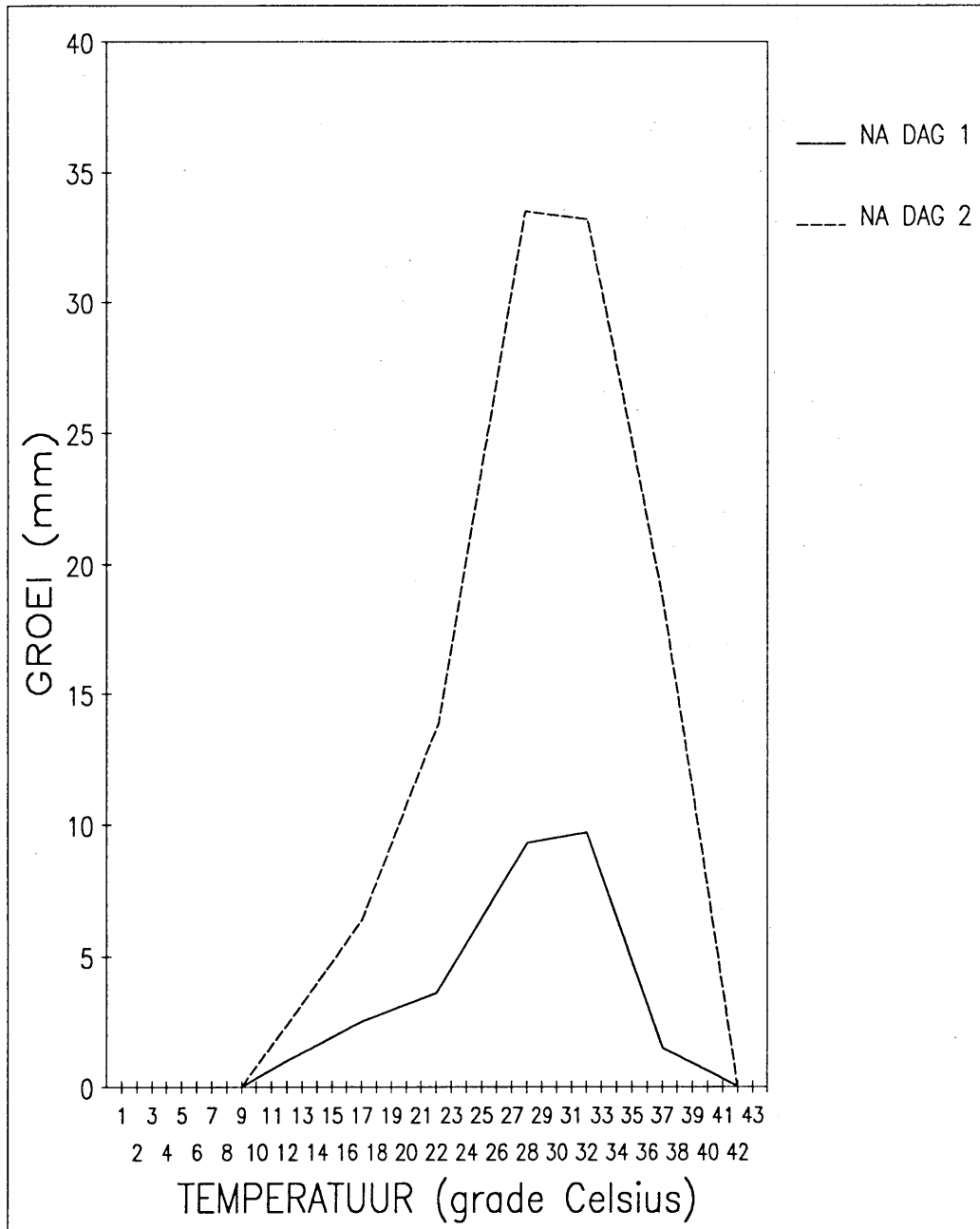
en gevolglik is dit een van die belangrikste omgewingsfaktore wat groei en ook sporulering aanbetref (Wolf en Wolf, 1947; Hawker, 1950; Lilly en Barnett, 1951; Deverall, 1965; Griffin, 1981). Dit is egter nie moontlik om temperatuur as omgewingsfaktor te isoleer nie, aangesien 'n swam se groeiedrag by 'n spesifieke temperatuur dikwels ook aan ander faktore soos humiditeit, groeistowwe, belugting, inkuberingstyd ensovoorts gekoppel is (Wolf en Wolf, 1947; Cochrane, 1958; Deverall, 1965). Enige temperatuurdata is dus net vir 'n spesifieke, gespesifiseerde stel toestande, veral wat die medium, tyd en meetmetode aanbetref, geldig (Cochrane, 1958; Anderson en Smith, 1976).

4.4.1.1 Chromelosporium fulvum

4.4.1.1.1 Vegetatiewe groei

Alhoewel die invloed van temperatuur op spoorkieming al ondersoek is (Schneider, 1954; Fergus, 1971) is daar, behalwe vir 'n paar gegewens deur Fergus (1978) nog nie data ten opsigte van die invloed van temperatuur op die vegetatiewe groei van C. fulvum gepubliseer nie.

Die temperatuur-groeikromme van C. fulvum (Figuur 4.18) volg die algemene patroon van skeefheid na regs, met 'n vinnige val van die grafiek na bereiking van die maksimumtemperatuur (Hawker, 1950; Cochrane, 1958; Griffin, 1981). Uit dieselfde grafiek kan afgelei word dat die drie kardinaalpunke (minimum, optimum en maksimum) vir C. fulvum-groei onder die gegewe omstandighede tussen 9°C en 12°C, 28°C en 32°C en 37°C en 42°C lê, en kan die swam dus volgens die beskouing van Cooney en Emerson (1964) as 'n mesofiel geklassifiseer word. Fergus (1978) vind dat groei tot by 41°C op 'n gisekstrak en styselmedium plaasvind. Dit lyk egter asof intraspesifieke variasie ten opsigte van groei by C. fulvum voorkom, en dat die kultuur wat in hierdie ondersoek gebruik is 'n sterker groeier as die isolate van Schneider (1954) en Fergus (1978) was. Schneider (1954)



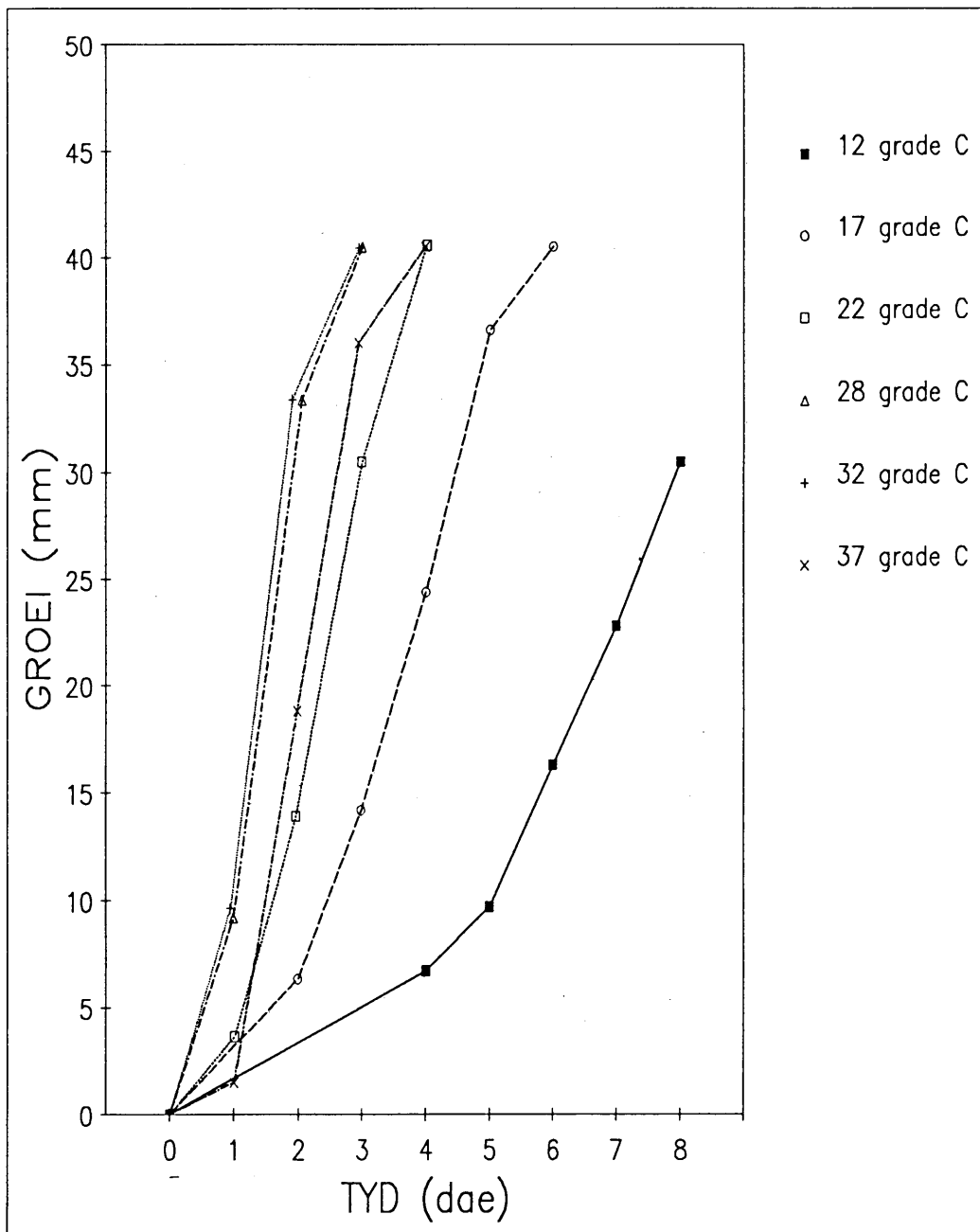
FIGUUR 4.18 Grafiese voorstelling van die invloed van temperatuur op die groei van C. fulvum [(koloniedeursnee-4mm) ÷2] na een en twee dae respektiewelik. Kyk Tabel B2.8 van Bylaag 2 vir volledige stel data.

berig 'n koloniedeursnee van 45 mm na vier dae by 19°C, terwyl die isolaat wat in hierdie ondersoek gebruik is na vier dae by 17°C reeds 'n koloniedeursnee van 52,8 mm gehad het. Fergus (1978) berig 'n koloniedeursnee van 85-86 mm na vier dae by 30°C tot 32°C, terwyl die 90 mm deursnee petribakkies in hierdie eksperiment by 'n soortgelyke temperatuur na drie dae reeds heeltemal oorgroei was.

Alhoewel die voorafgaande bespreking ten opsigte van die verbondenheid van temperatuur aan ander omgewingsfaktore nie geïgnoreer mag word nie, ontstaan die gedagte tog dat die temperature in sampioenweekkamers (25°C, en veral die kweektemperatuur van 17°C) heelwat benede die optimum vir C.fulvum-groei is. Die verskynsel dat C.fulvum, wat tydens die vroeë stadium van sampioengroei (25°C) op beddings voorkom, dikwels verdwyn namate die sampioen meer gevestig raak, moet dus dalk nie slegs aan kompetisie deur die sampioen nie, maar ook aan die laer temperatuur (17°C) op daardie tydstip in die kweekkamers, toegeskryf word.

Cochrane (1958), Deverall (1965) en Griffin (1981) lê klem op die gevaar daarin om kardinaaltemperatuur met metings wat op 'n enkele tydstip gemaak is, te probeer vasstel. Veral die optimumtemperatuur kan met tyd varieer. Uit Figure 4.18 en 4.19 is dit egter duidelik dat die tydstip van meting in hierdie ondersoek nie veel van 'n invloed op die resultate gehad het nie. Slegs in die geval van 37°C, wat na twee dae beter groei as 17°C en 22°C tot gevolg gehad het, sou 'n meting na die eerste dag 'n ander afleiding tot gevolg hê, deurdat die groei op daardie tydstip swakker as by 17°C en 22°C was. Die kardinaaltemperatuur is egter geensins beïnvloed nie.

By 12°C is hifelengte tot en met die derde dag as groeimaatstaf geneem en eers teen die vierde dag was daar sodanige ontwikkeling dat die koloniedeursnee gemeet kon word. Groei was egter daarna steeds uiters yl. Yl groei het ook by 17°C voorgekom, met die situasie by 22°C nie veel beter nie. By



FIGUUR 4.19 Grafiese voorstelling van die groei van *C. fulvum* by verskillende temperature [(koloniedeursnee-4mm) ÷ 2]. Kyk Tabel B2.8 van Bylaag 2 vir volledige stel data.

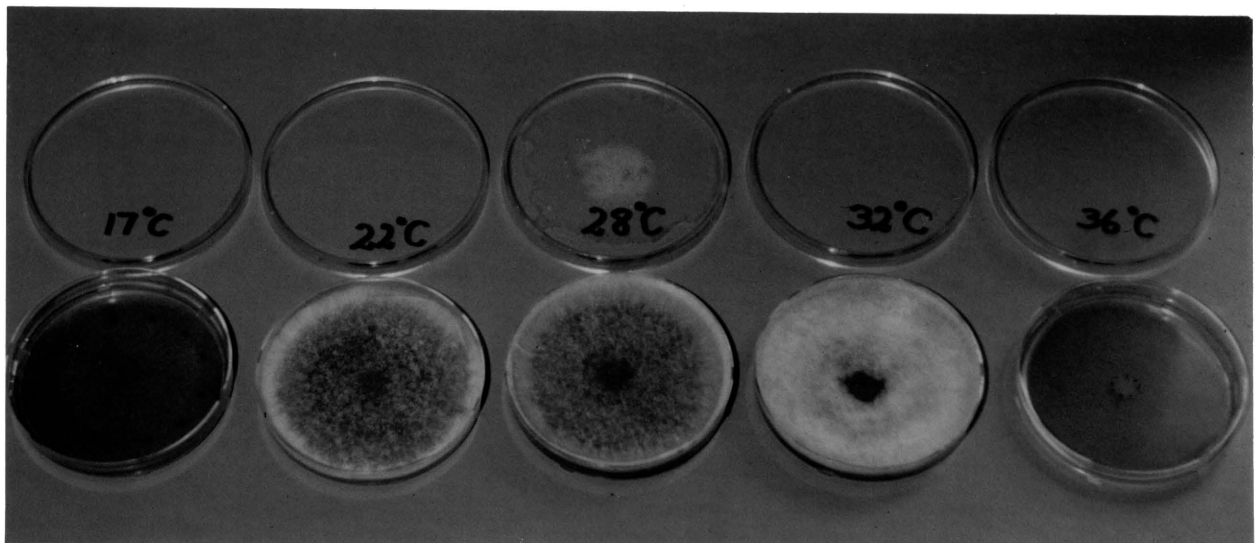
28°C en 32°C het goeie, digte groei plaasgevind, terwyl daar by 37°C weer 'n yler kolonie ontwikkel het. Die kultuurkenmerke van C.fulvum na vier dae by verskillende temperature is in Figuur 4.20 geïllustreer. Soos gesien kan word was daar, in teenstelling met die resultate so pas bespreek, geen groei by 36°C nie. Aangesien die kweektoestande van die kulture op die foto identies aan dié van die temperatuureksperimente was, moet 'n verklaring vir die verskil in groei by 36°C en 37°C by die enigste ander faktor, naamlik die inokulasiemethode, gesoek word. In die temperatuureksperiment is die bakkies met 'n aktiefgroeiende C.fulvum-kultuur geïnokuleer, en om tot 'n kolonie te ontwikkel, moes groei dus net voortgesit word. In die geval van die bakkies op die foto egter, is 'n spoorsuspensie as inokulum gebruik. Die spore moes dus eers kiem alvoor 'n kolonie sou ontwikkel. Dit is dus duidelik dat spookkieming nie by 36°C plaasvind nie (volgens Hawker [1950] is dit algemeen vir die Fungi Imperfecti) en gevolglik word die indruk geskep dat die swam nie by daardie temperatuur kan groei nie. Hierdie bevinding is ook in ooreenstemming met Schneider (1954) wat 35°C as die maksimumtemperatuur vir spookkieming op 'n soliede voedingsmedium noem. Hierteenoor berig Fergus in 1971 egter 'n maksimum van 38°C in 'n vloeibare glukosemedium. Hierdie bevindinge is weer eens 'n bewys dat die resultate van temperatuureksperimente nooit in isolasie van ander faktore beskou kan word nie.

4.1.1.2 Sporulering

Temperatuur speel 'n belangrike rol by die voortplanting van swamme en oor die algemeen strek die temperatuursone vir sporulering oor 'n kleiner gebied as dié waarin vegetatiewe groei moontlik is (Hawker, 1950; Lilly en Barnett, 1951; Cochrane, 1958; Hawker, 1966; Hawker, 1971; Griffin, 1981). Die temperatuuroptimum vir sporulering word deur die groeimedium beïnvloed (Hawker, 1947) en stem ook nie noodwendig met dié vir vegetatiewe groei ooreen nie (Lilly en Barnett, 1951; Cochrane 1958; Hawker, 1971). Volgens Hawker (1966) stem die vorm van

TABEL 4.7 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry na 'n twee dae groeiperiode van C. fulvum by verskillende temperature (kyk ook Figuur 4.18 en Tabel B2.8). Kruisies verteenwoordig betekenisvolle verskille tussen behandelings ($P=0,05$).

17°C				
22°C	X			22°C
28°C	X	X	28°C	
32°C	X	X	0	32°C
37°C	X	X	X	X



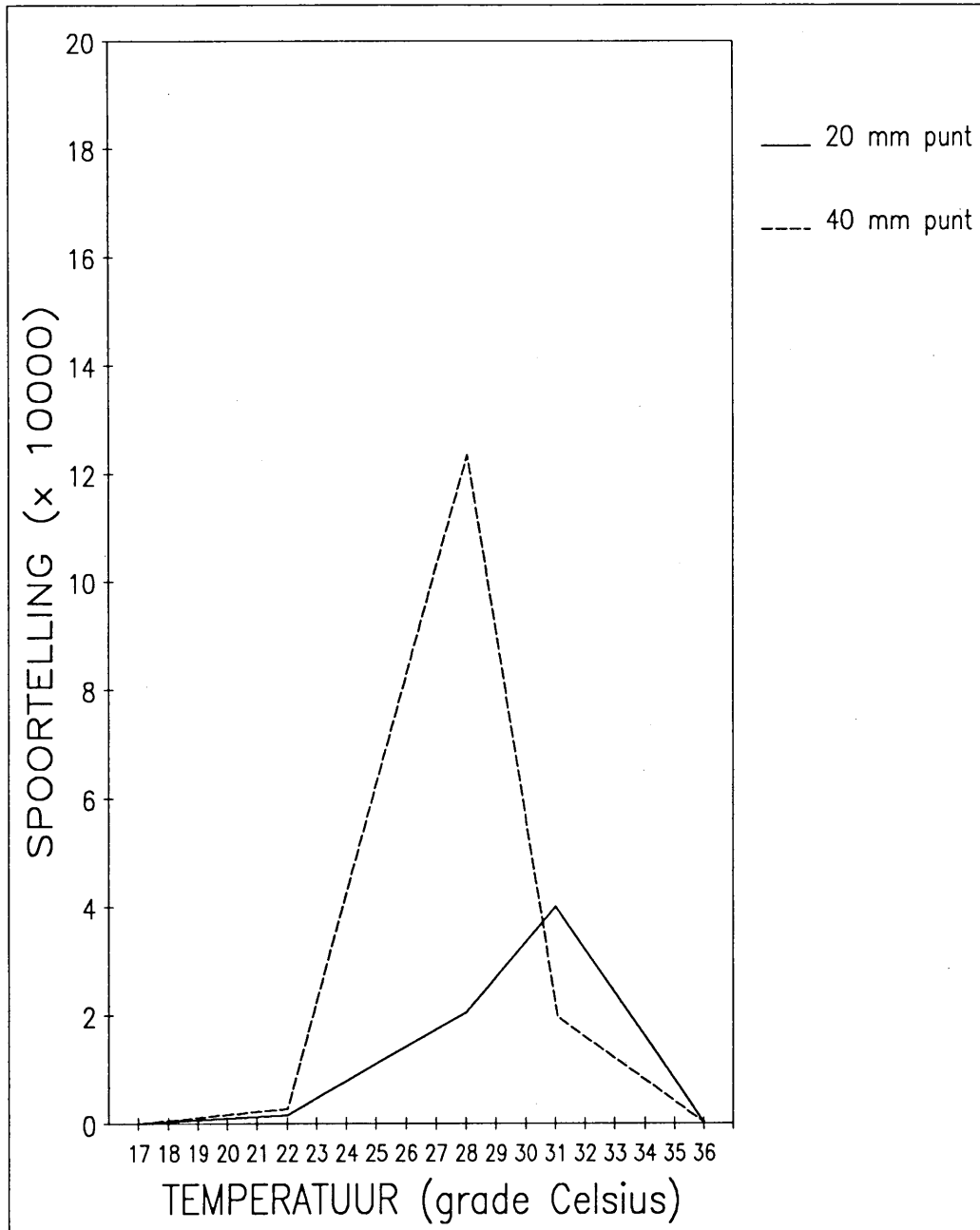
FIGUUR 4.20 Kultuurkenmerke van C. fulvum by verskillende temperature.

die sporuleringskromme met dié van die groeikromme ooreen in soverre dit ook dikwels 'n neiging tot skeefheid na regs het. Uit Figuur 4.21 kan gesien word dat die sporuleringsgebied vir C.fulvum tussen 17°C en 36°C lê, wat 'n nouer gebied as die 10°C tot 42°C vir vegetatiewe groei (Figuur 4.18) verteenwoordig. Dit blyk dat die temperaturoptimum vir sporulering in die omgewing van 28°C lê. Soos egter uit Figuur 4.21 afgelei kan word, is dit belangrik om te spesifiseer op welke deel van die kultuur die spoortelling uitgevoer is, aangesien dit met posisie kan varieer. Soos gesien kan word was sporulering op 'n afstand, 20 mm vanaf die inokulum heelwat swakker as op 'n afstand van 40 mm. 'n Telling by die 20 mm-punt sou ook op 'n temperaturoptimum van 31°C, teenoor die 28°C by die 40mm-punt, gedui het.

TABEL 4.8 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry met die meting van die sporulering van C.fulvum na vier dae by verskillende temperature (kyk ook Figuur 4.21 en Tabel B2.9). Kruisies verteenwoordig betekenisvolle verskille.
 A : 20 mm vanaf inokulum (P=0,01)
 B : 40 mm vanaf inokulum (P=0,05)

A.	B.												
22°C	22°C												
<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black; width: 25%;">28°C</td> <td style="width: 5%; text-align: center;">X</td> <td style="border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black; width: 25%;">28°C</td> </tr> <tr> <td style="border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black;">31°C</td> <td style="text-align: center;">X</td> <td style="border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black;">X</td> </tr> </table>	28°C	X	28°C	31°C	X	X	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black; width: 25%;">28°C</td> <td style="width: 5%; text-align: center;">X</td> <td style="border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black; width: 25%;">28°C</td> </tr> <tr> <td style="border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black;">31°C</td> <td style="text-align: center;">X</td> <td style="border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black;">X</td> </tr> </table>	28°C	X	28°C	31°C	X	X
28°C	X	28°C											
31°C	X	X											
28°C	X	28°C											
31°C	X	X											

Dit is betekenisvol om daarop te let dat, volgens hierdie resultate, sporulering in sampioenkweekkamers net tydens kompos-en deklaagkolonisering (25°C) en nie by 17°C, die temperatuur waarby A.bisporus-vrugliggaamvorming geskied, sal plaasvind nie. Dit is 'n verdere aanduiding dat die verdwyning van C.fulvum vanaf die beddings, namate A.bisporus meer gevestig raak, moontlik nie nét aan kompetisie toegeskryf moet word nie, maar ook aan algemeen ongunstige toestande by die betrokke heersende temperatuur. Hierteenoor moet daar egter gewaarsku word dat die groeimedium in die kweekkamers die temperatuursone vir sporulering sal beïnvloed en moontlik mag verskuif.



FIGUUR 4.21 Grafiese voorstelling van die gemiddelde sporule-ring van C. fulvum na vier dae by verskillende temperature in die donker (spore.cm⁻³ spoor-suspensie). Kyk Tabel 4.8 asook Tabel B2.9 van Bylaag 2 vir volledige stel data.

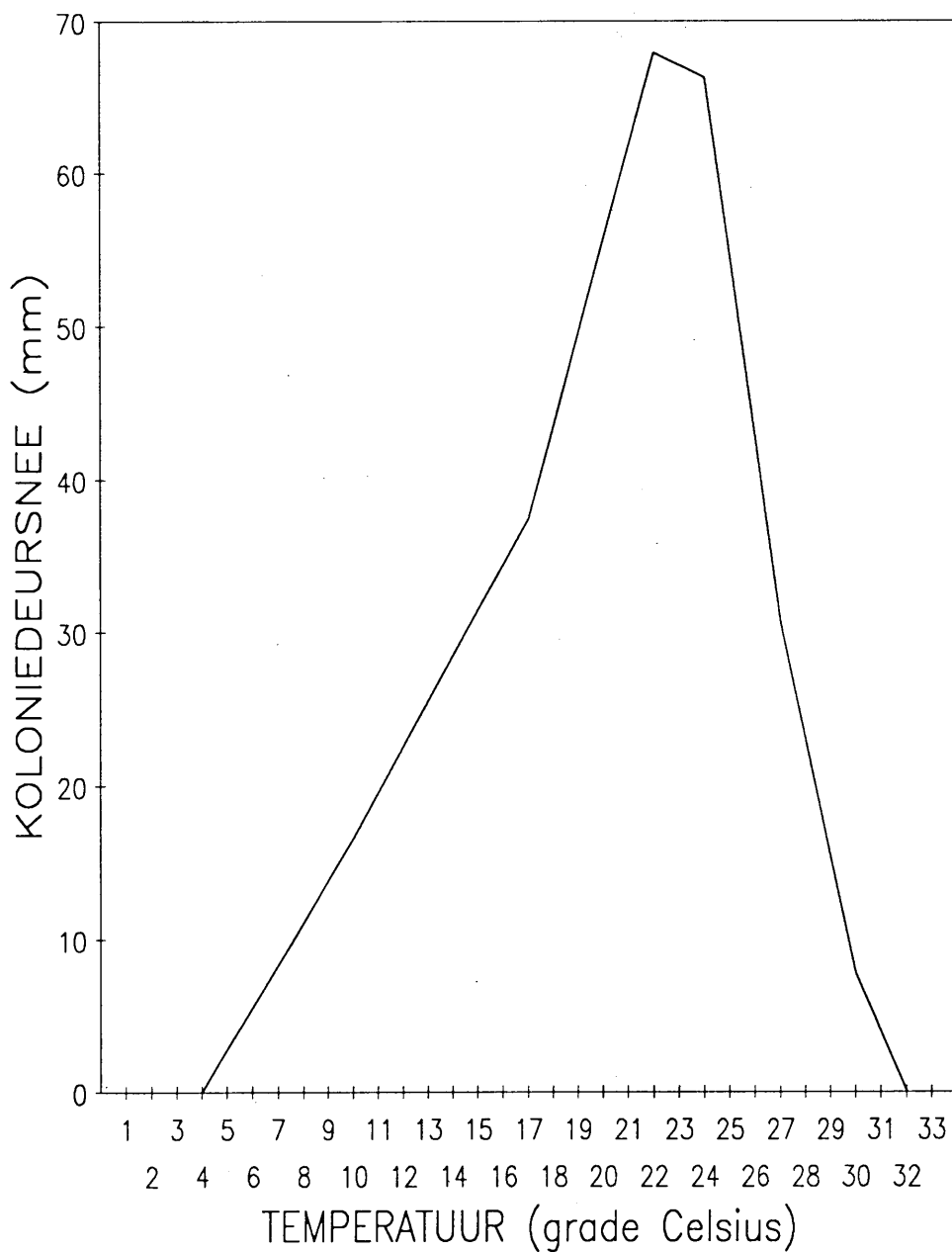
4.4.1.2 Verticillium fungicola

4.4.1.2.1 Vegetatiewe groei

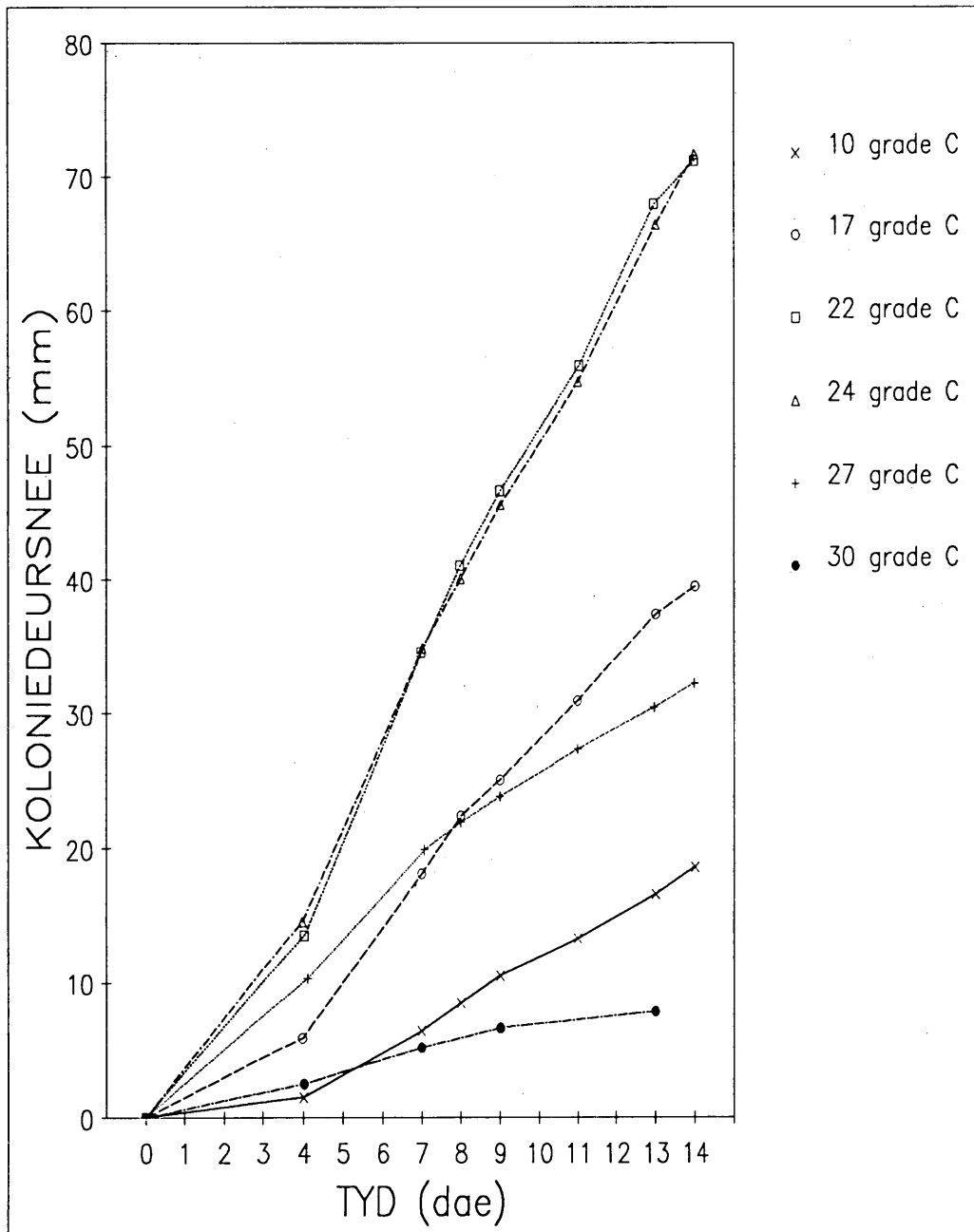
Weer eens vertoon die groeikromme (Figuur 4.22) 'n skeefheid na regs, met 'n geleidelike klimfase en 'n skielike afname ná die optimum. Vanuit die grafiek kan afgelei word dat die drie kardinaalpunte onder die eksperimentele toestande tussen 4°C en 10°C, 22°C en 24°C en in die omgewing van 32°C respektiewelik lê. By 32°C was daar in der waarheid na vier dae 'n kolonie van 1 mm in deursnee, maar na daardie aanvanklike groei het geen verdere groei plaasgevind nie (Tabel B2.10). Hierdie resultate is in goeie ooreenstemming met die bevindings van Treschow (1941), Fekete (1967) en Heuel en Weltzien (1982). Die optimum groeitemperatuur vir V.fungicola val dus binne die 20°C tot 30°C optimumgebied wat Cochrane (1958) as die norm vir plantpatogene beskou. Volgens hierdie resultate voldoen die V.fungicola-isolaat wat in hierdie ondersoek gebruik is dus nie heeltemal aan Cooney en Emerson (1964) se beskouing dat 'n tipiese mesofiliese swam oor 'n groeigebied van êrens tussen 10°C en 40°C, met 'n optimum tussen 25°C en 30°C, beskik nie. Dit voldoen egter steeds aan Griffin (1981) se breër beskouing van 'n 15°C tot 40°C optimum vir mesofiele, en omdat dit duidelik nie psigrofilies óf termofilies van aard is nie, kan dit slegs as 'n mesofiel geïnterpreteer word.

Uit die resultate van hierdie eksperiment (weer eens in ag genome die moontlike verskille onder ander omstandighede) wil dit dus voorkom dat die normale temperatuur in sampioenweekkamers tydens die periode wanneer vrugliggame vir parasitering beskikbaar is (17°C), ónder die optimumtemperatuur vir groei van hierdie isolaat lê.

Uit Figuur 4.23 kan gesien word dat daar geen verandering in die optimum groeitemperatuur met verloop van tyd voorgekom het nie. Na die vierde dag was daar egter 'n verandering in die vermoë om by 10°C en 30°C te groei, en na sewe dae 'n definitiewe



FIGUUR 4.22 Grafiese voorstelling van die invloed van temperatuur op die groei van *V.fungicola* na 13 dae. Volledige stel data is saamgevat in Tabel B2.10 van Bylaag 2.



FIGUUR 4.23 Grafiese voorstelling van die groei van V.fungicola by verskillende temperature. Kyk Tabel B2.10 van Bylaag 2 vir volledige stel data.

verskuiwing tussen 17°C en 27°C. Daar kan dus afgelei word dat groei aanvanklik stadiger by die laer as by die hoër temperature plaasvind, maar dat dit later toeneem, terwyl groei by die hoër temperature na 'n rukkie begin afneem. Dit is in ooreenstemming met Deverall (1965) wat noem dat daar met verloop van tyd interne veranderings by hoër temperature, soos ensiemenaturering (Griffin, 1981), intree, wat groei-inhibering tot gevolg het.

Figuur 4.24 illustreer die koloniemorfologie van die V.fungicola-isolaat by 17°C, 23°C en 27°C na twaalf dae.

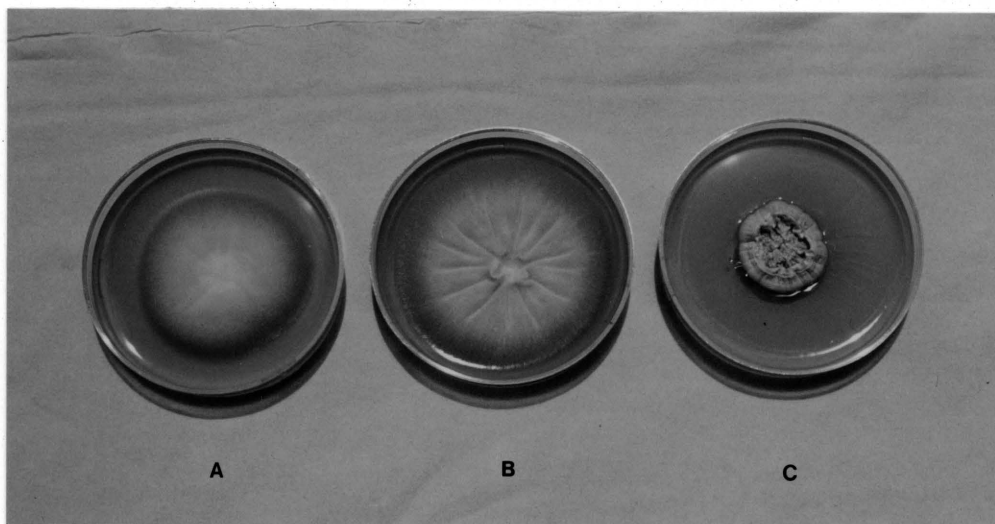
Volgens Gams en Van Zaayen (1982) is die maksimum groeitemperatuur die enigste konstante onderskeidende kenmerk tussen V.fungicola var. fungicola en V.fungicola var. aleophilum, naamlik 27°C vir die eersgenoemde en 33°C vir die ander. Volgens die huidige resultate wil dit dus voorkom asof die isolaat wat in hierdie ondersoek gebruik is as V.fungicola var. aleophilum geklassifiseer kan word, desondanks die feit dat die optimumtemperatuur meer met Gams en Van Zaayen (1982) se optimum vir V.fungicola var. fungicola ooreenstem. By die interpretering van hierdie resultate moet daar egter in gedagte gehou word dat die werk van Gams en Van Zaayen (1982) op MEA gebaseer is, terwyl ADA in hierdie ondersoek gebruik is. Dit kon 'n invloed op die kardinaalpunte gehad het. Die wenslikheid vir die erkenning van twee variëteite gebaseer op slegs 'n verskil in die maksimum groeitemperatuur word egter hier sterk betwyfel, en is 'n saak wat meningsverskil mag ontlok. Soos reeds herhaalde kere genoem, is so 'n kriterium nie 'n onveranderlike, inherente eienskap van die organisme nie, en is dit aan buite-invloede onderhewig.

4.4.1.2.2 Sporulering

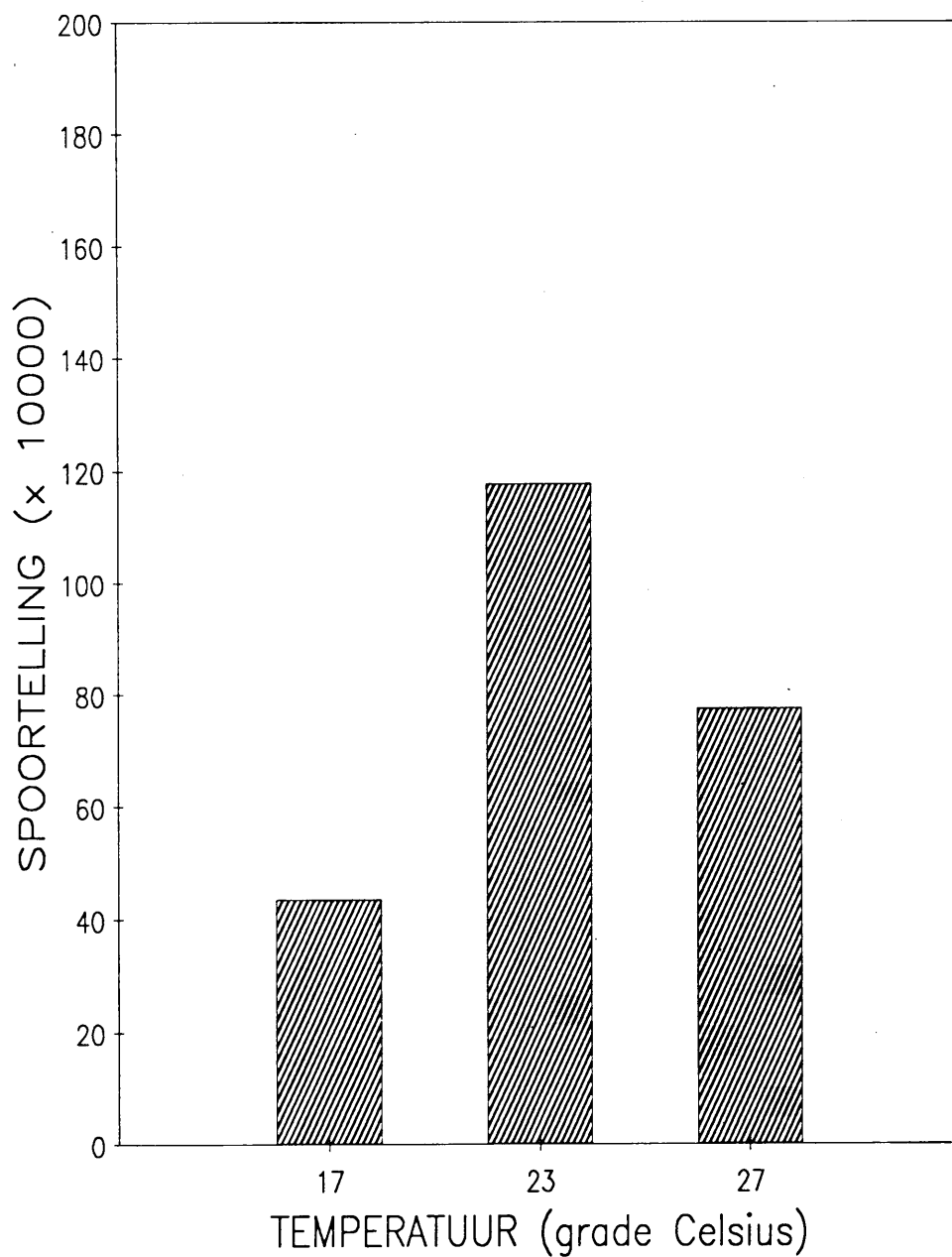
Sporulering van V.fungicola varieer grootliks van isolaat tot isolaat (Lambert en Wuest, 1979), terwyl die groeimedium dit ook effens mag beïnvloed (Fekete, 1967). Uit die huidige studie (Figuur 4.25) blyk dit dat die optimumtemperatuur vir sporulering (23°C) met dié vir vegetatiewe groei (22°C tot 24°C;

TABEL 4.9 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry na 'n 13 dae groeiperiode van V.fungicola by verskillende temperature (kyk ook Figuur 4.22 en Tabel B2.10). Kruisies verteenwoordig betekenisvolle verskille tussen behandelings ($P=0,001$).

10°C					
17°C	X	17°C			
22°C	X	X	22°C		
24°C	X	X	X	24°C	
27°C	X	X	X	X	27°C
30°C	X	X	X	X	X



FIGUUR 4.24 Groeivorm van V.fungicola na twaalf dae by verskillende temperature.
 A : 17°C; B : 23°C; C : 27°C.



FIGUUR 4.25 Grafiese voorstelling van die gemiddelde sporulering van V.fungicola na 12 dae by verskillende temperature (spore.cm⁻³ spoorsuspensie). Kyk Tabel B2.11 van Bylaag 2 vir volledige stel data.

Figuur 4.22) ooreenstem. By 17°C, die temperatuur waarby A.bisporus op die sampioenbeddings voorkom, is daar nog sterk sporulering waargeneem en aangesien goeie spoorkieming nog by temperature van so laag as 12°C plaasvind (Wuest en Forer, 1975) kan gesien word waarom, alhoewel suboptimaal vir vegetatiewe groei, die siekte steeds by hierdie temperatuur gedy.

TABEL 4.10 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry met die meting van die sporulering van V.fungicola na 12 dae by verskillende temperature (kyk ook Figuur 4.25 en Tabel B2.11). Kruisies verteenwoordig betekenisvolle verskille ($P=0,05$).

17°C		
23°C	X	23°C
27°C	X	X

4.4.2 DIE INVLOED VAN LIG OP GROEI EN SPORULERING

Die invloed van lig op swamgroei varieer soveel dat veralgemenings moeilik is (Hawker, 1950; Page, 1965; Leach, 1971). Dit mag stimulerend, inhiberend óf sonder effek wees (Garraway en Evans, 1984). Die effek van lig hang dikwels van die intensiteit, kwantiteit, kwaliteit (golflengte) en die duur van die ligbehandeling af (Wolf en Wolf, 1947; Hawker, 1950; Leach, 1971) en word dikwels ook deur die aard van die groeimedium bepaal (Lilly en Barnett, 1951; Carlile, 1965; Page, 1965; Leach, 1971; Griffin, 1981). Verskillende isolate van dieselfde spesie mag ook in hul reaksie varieer (Tan, 1978).

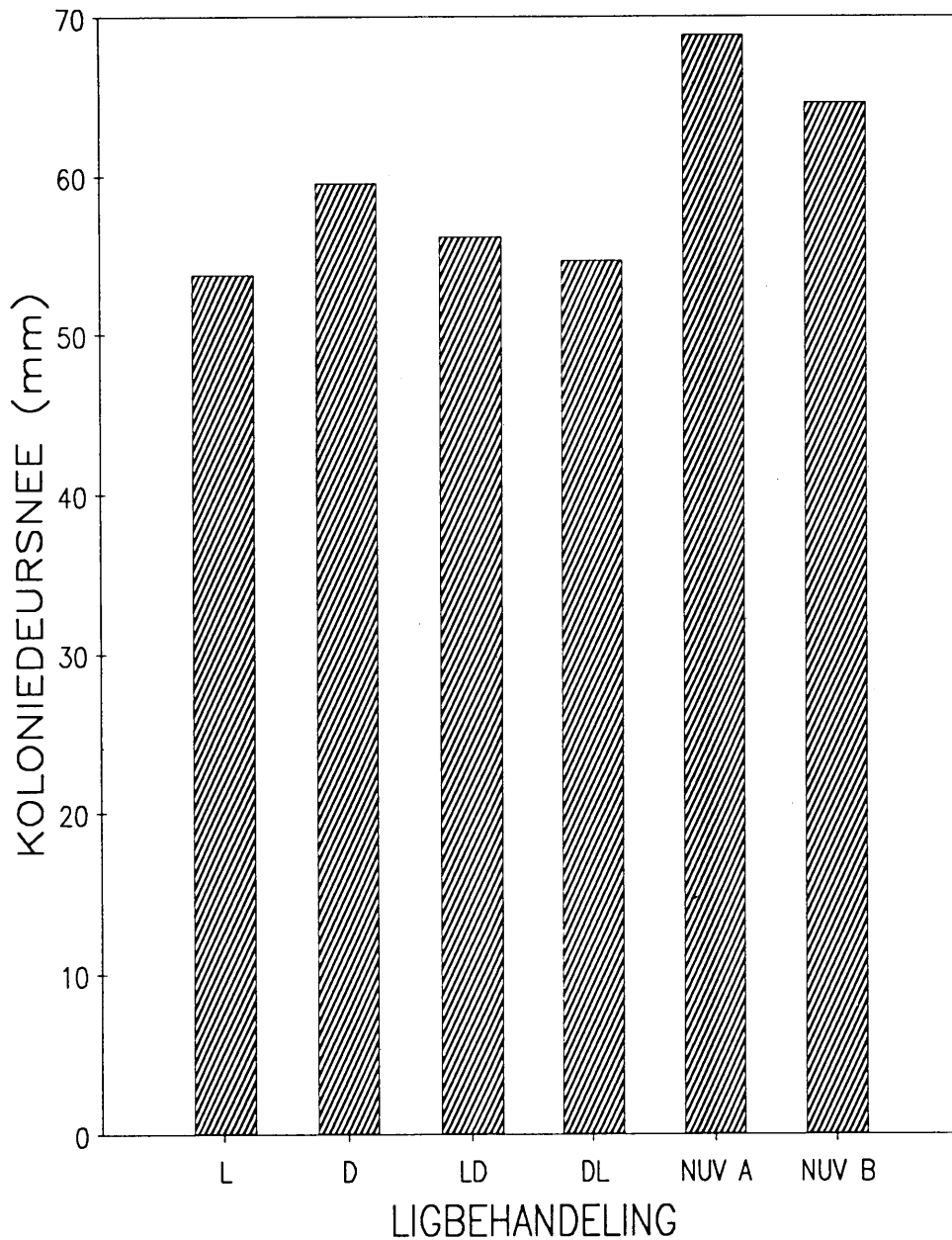
Oor die algemeen het lig 'n groter invloed op sporulering as op die vegetatiewe groei van swamme (Griffin, 1981). Die invloed van lig op sporulering is uiters kompleks en kan óók stimu-

lerend, inhiberend of neutraal wees (Wolf en Wolf, 1947; Hawker, 1950; Lilly en Barnett, 1951; Cochrane, 1958; Hawker, 1966; Hawker, 1971; Griffin, 1981). Net soos in die geval van vegetatiewe groei is die ligresponstiens opsigte van sporulering dikwels ook aan ander eksterne faktore soos byvoorbeeld die samestelling van die groeisubstraat, temperatuur, pH, belugting, die ouderdom van die swam en die ligsensitiewe eienskappe (intensiteit, golflengte, dosis) onderhewig (Hawker, 1950; Lilly en Barnett, 1951; Cochrane, 1958; Carlile, 1965; Hawker, 1966; Hawker, 1971; Leach, 1971). By sommige swamme waar sporulering deur lig gestimuleer word, mag 'n supra-optimale dosis egter inhiberend wees (Leach, 1971; Griffin, 1981).

4.4.2.1 Chromelosporium fulvum

4.4.2.1.1 Vegetatiewe groei

Volgens Cochrane (1958) lyk dit tóg asof lig meer dikwels inhiberend as stimulerend ten opsigte van swamgroei is, en die resultate met C.fulvum op 'n soliede groeimedium (MEA) dui dan ook op 'n klein, maar betekenisvolle, mate van groei-inhibering in die lig in vergelyking met groei in die donker (Figuur 4.26 en Tabel 4.11). Groei van kulture wat onder afwisselende lig en donker gehou is, het nie van die kulture wat in permanente lig gehou is, verskil nie (Tabel 4.11). Naby-ultraviolet lig (NUV), welbekend vir die stimulerende effek wat dit op sporulering kan hê, het oënskynlik 'n stimulerende uitwerking op groei gehad (Figuur 4.26). Die kulture onder NUV is egter by 30°C, teenoor die 28°C by die ander behandelings, geïnkubeer, en die moontlikheid dat die beter groei dalk 'n temperatuureffek kon wees, kan nie uitgeskakel word nie. Soos reeds gesien (Figuur 4.18), lê die optimum groeitemperatuur vir C.fulvum tussen 28°C en 32°C en kon daar gevolglik bereken word dat die maksimum verskil in groei by 30°C nie meer as ongeveer ses persent sal wees nie. Indien die resultate onder NUV dan met hierdie persentasie aangepas word, verteenwoordig dit steeds 'n betekenisvolle verbetering in groei bo die ander ligbehandelings (Tabel 4.11).



FIGUUR 4.26 Grafiese voorstelling van die gemiddelde koloniedeursnee van *C. fulvum* na drie dae onder verskillende ligtoestande. Kyk Tabel B2.12 van Bylaag 2 vir volledige stel data. Die afkortings vir die ligbehandelings op die X-as is as volg: L=permanente wit lig; D=permanente donker; LD=afwisselende lig en donker, beginnende met lig; DL=afwisselende lig en donker, beginnende met donker; NUV A=naby ultraviolet lig by 30°C; NUV B=naby ultraviolet lig soos gekorrigeer (-6%).

TABEL 4.11 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry met die groei van C.fulvum onder verskillende ligtoestande (kyk ook Figure 4.26 en 4.27 asook Tabelle B2.12 en B2.13). Kruisies verteenwoordig betekenisvolle verskille ($P=0,02$).

A : Koloniedeursnee

B : Droëmassa

A.

	L					
	D	X	D			
	LD	0	X	LD		
	DL	0	X	0	DL	
NUV A	X	X	X	X	X	NUV A
NUV B	X	X	X	X	X	

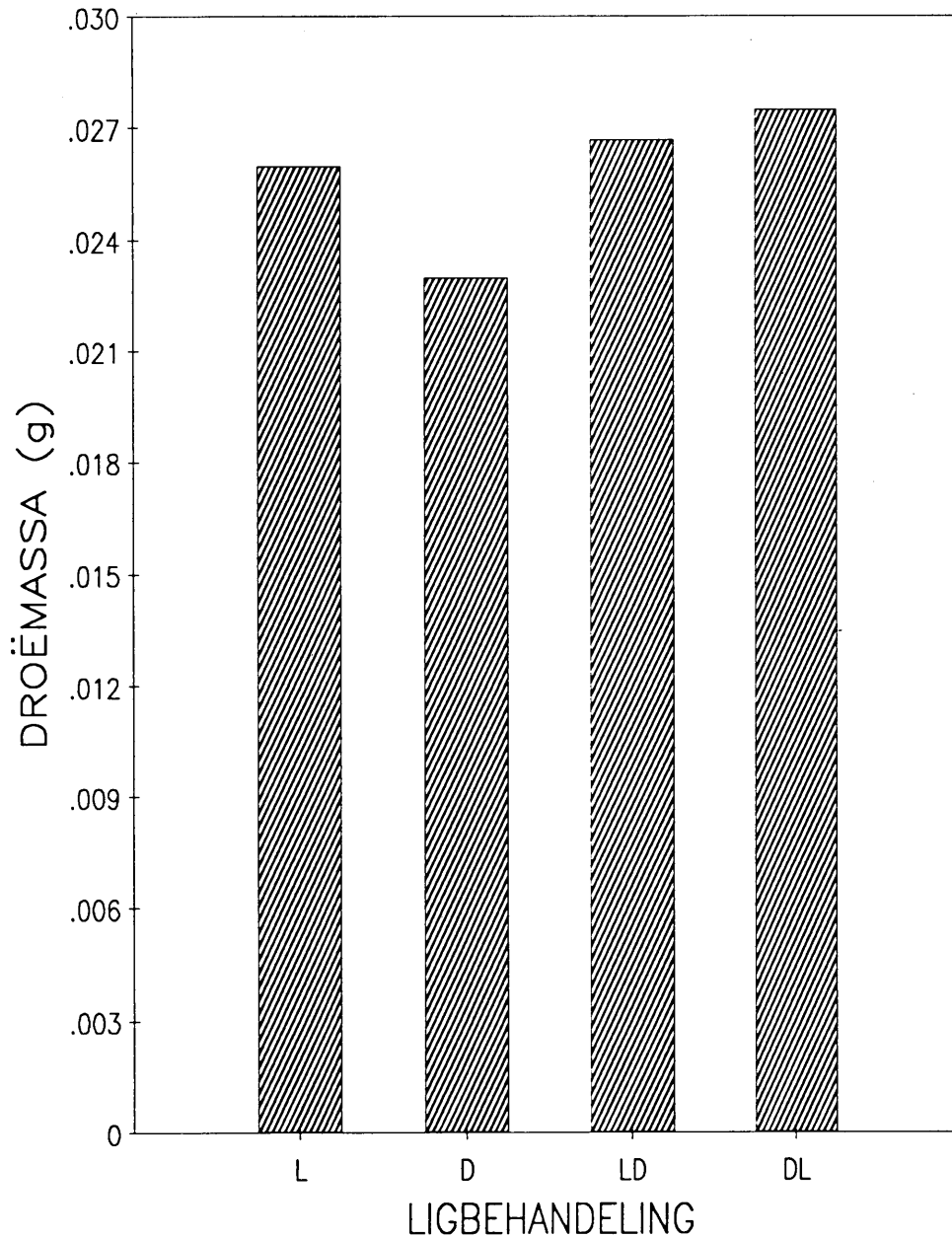
B.

	L			
	D	X	D	
	LD	0	X	LD
	DL	X	X	0

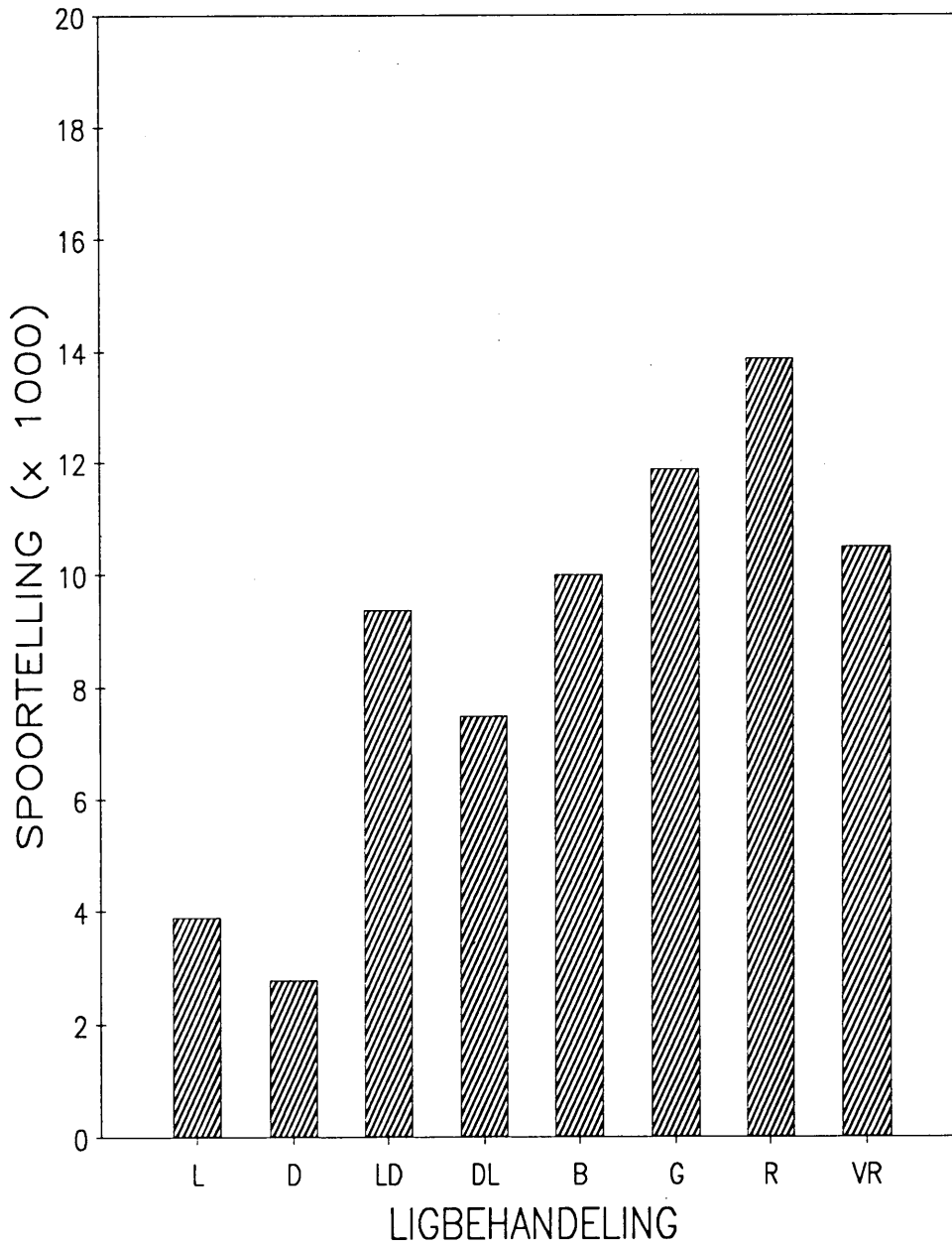
Waar die invloed van lig op die groei van C. fulvum egter in 'n vloeibare medium ondersoek is, het die situasie daar anders uitgesien. Dit is welbekend dat groeibepalings gebaseer op liniêre ekstensie en droëmassa dikwels nie korreleer nie (Cochrane, 1958), veral omdat 'n meting gebaseer op liniêre groei nie vir vertikale groei voorsiening maak nie (Garraway en Evans, 1984). In 'n vloeibare MEB-medium was groei in die donker betekenisvol swakker as in die lig óf onder afwisselende lig en donkertoestande (Figuur 4.27 en Tabel 4.11). Hierdie resultate vestig steeds die aandag daarop dat groei die gevolg van 'n interaksie van verskeie faktore is en dat eksperimentele resultate sal varieer en slegs van waarde kan wees indien al die betrokke faktore bekend is.

4.4.2.1.2 Sporulering

Wat eerste opval van die resultate van die huidige studie met C. fulvum is dat die posisie op die kolonie waar die spoortelling uitgevoer word die resultate ernstig beïnvloed. Op 'n afstand, 20 mm vanaf die middel van die inokulum, was daar min verskil in sporulering tussen die verskillende behandelings, terwyl groter verskille op 'n punt 40 mm vanaf die inokulasiepunt waargeneem is (Figure 4.28 en 4.29 asook Tabele 4.12 en 4.13 [A]). Op die 20 mm-punt was daar geen verskil in sporulering tussen die lig- en donkerbehandelings nie, maar op die 40 mm-punt was daar 'n betekenisvolle beter sporulering onder donkertoestande as in die lig. Op die 40 mm-punt was die sporulering egter betekenisvol hoër onder afwisselende lig en donkertoestande as onder permanente wit lig óf donker. Hierdie tendens het ook by die 20 mm-punt voorgekom (Figuur 4.28), maar hier was die verskille te klein om statisties betekenisvol te wees. Uit hierdie resultate kan daar dus gespekuleer word dat lig wél 'n stimulerende invloed op C. fulvum-sporulering het, maar dat 'n supra-optimale dosis soos deur Leach (1971) en Griffin (1981) genoem, inhiberend optree. Dit sou dan die swak sporulering onder permanente wit lig, waar die swam ononderbroke aan 'n hoë ligintensiteit blootgestel was, kon verklaar. Die kulture wat aan afwisselende lig en donker blootgestel is, het, soos algemeen by baie swamme (Cochrane, 1958; Hawker, 1971),



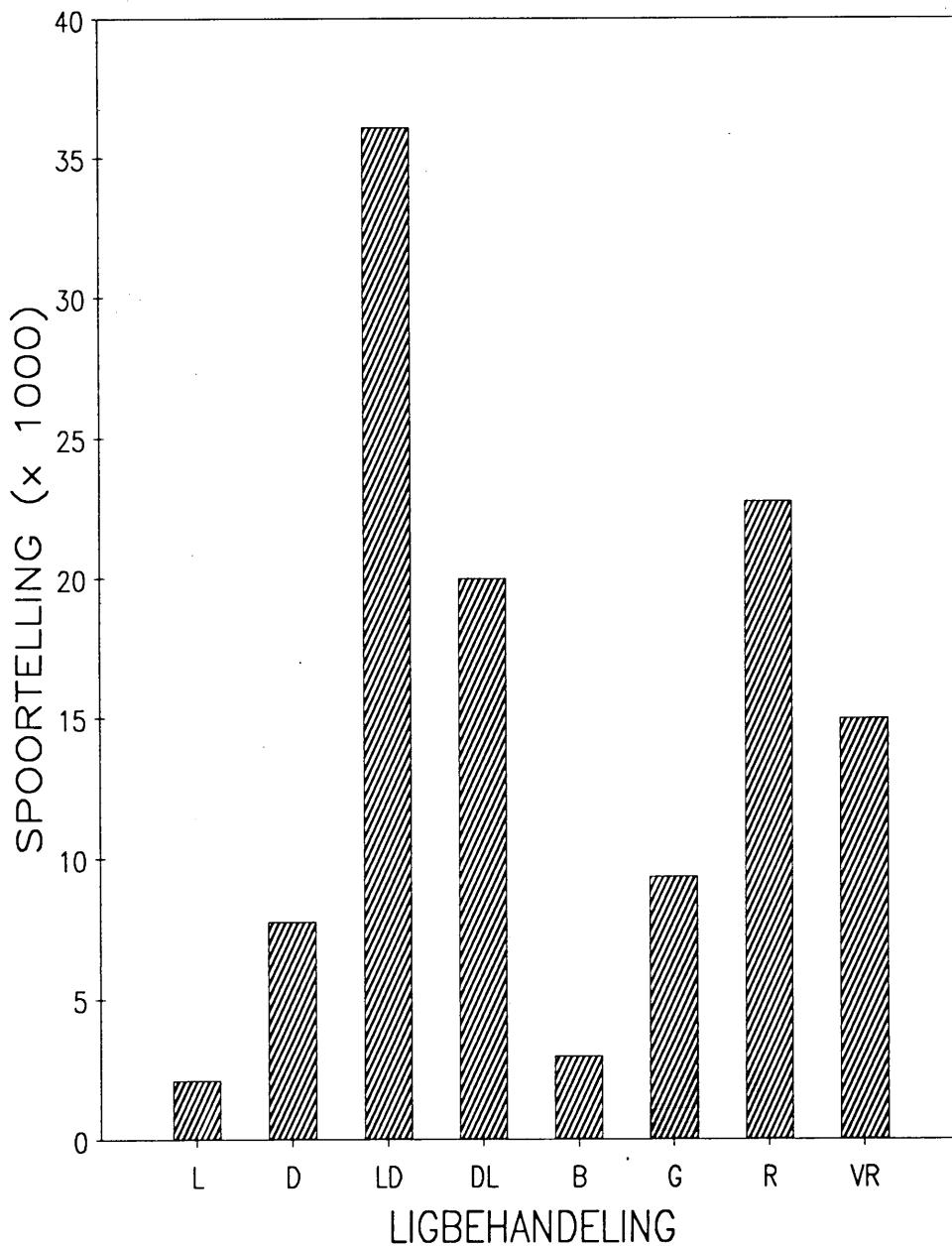
FIGUUR 4.27 Grafiese voorstelling van die gemiddelde droëmassa van *C. fulvum* na vyf dae onder verskillende ligtoestande. Kyk Tabel B2.13 van Bylaag 2 vir volledige stel data en Figuur 4.26 vir 'n verklaring van die afkortings gebruik.



FIGUUR 4.28 Grafiese voorstelling van die gemiddelde sporulering van *C. fulvum* na vyf dae onder verskillende ligbehandelings, 20 mm vanaf die inokulasiepunt (spore.cm^{-3} spoorsuspensie). Kyk Tabel B2.14 van Bylaag 2 vir volledige stel data. Die afkortings vir die ligbehandelings op die X-as is as volg: L,D,LD en DL : kyk Figuur 4.26; B=blou lig; G=groen lig; R=rooi lig; VR=verrooi lig.

TABEL 4.12 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry met die meting van die sporulering van C.fulvum onder verskillende ligtoestande (20 mm vanaf die inokulasiepunt). Kyk ook Figuur 4.28 en Tabel B2.14. Kruisies verteenwoordig betekenisvolle verskille ($P=0,05$).

L							
D	0	D					
LD	0	0	LD				
DL	0	0	0	DL			
B	0	0	0	0	B		
G	X	X	0	0	0	G	
R	X	X	0	0	0	0	R
VR	0	X	0	0	0	0	0



FIGUUR 4.29 Grafiese voorstelling van die gemiddelde sporulering van *C. fulvum* na vyf dae onder verskillende ligbehandelings, 40 mm vanaf die inokulasiepunt (spore.cm⁻³ spoorsuspensie). Kyk Tabel B2.14 van Bylaag 2 vir volledige stel data. Raadpleeg Figuur 4.26 en Figuur 4.28 ter verklaring van die afkortings op die X-as.

TABEL 4.13 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry met die meting van die sporulering van C.fulvum en V.fungicola (na vyf en elf dae onderskeidelik) onder verskillende ligbehandelings (kyk ook Figure 4.29 en 4.35 asook Tabelle B2.14 en B2.18). Kruisies verteenwoordig betekenisvolle verskille.
 A : C.fulvum (40 mm vanaf inokulasiepunt; P=0,05)
 B : V.fungicola (P=0,001; P=0,1 gee dieselfde resultate)

A.

L							
<hr/>							
D	X	D					
<hr/>							
LD	X	X	LD				
<hr/>							
DL	X	0	0	DL			
<hr/>							
B	0	0	X	X	B		
<hr/>							
G	0	0	X	0	0	G	
<hr/>							
R	X	X	0	0	X	0	R
<hr/>							
VR	X	X	X	0	X	0	0
<hr/>							

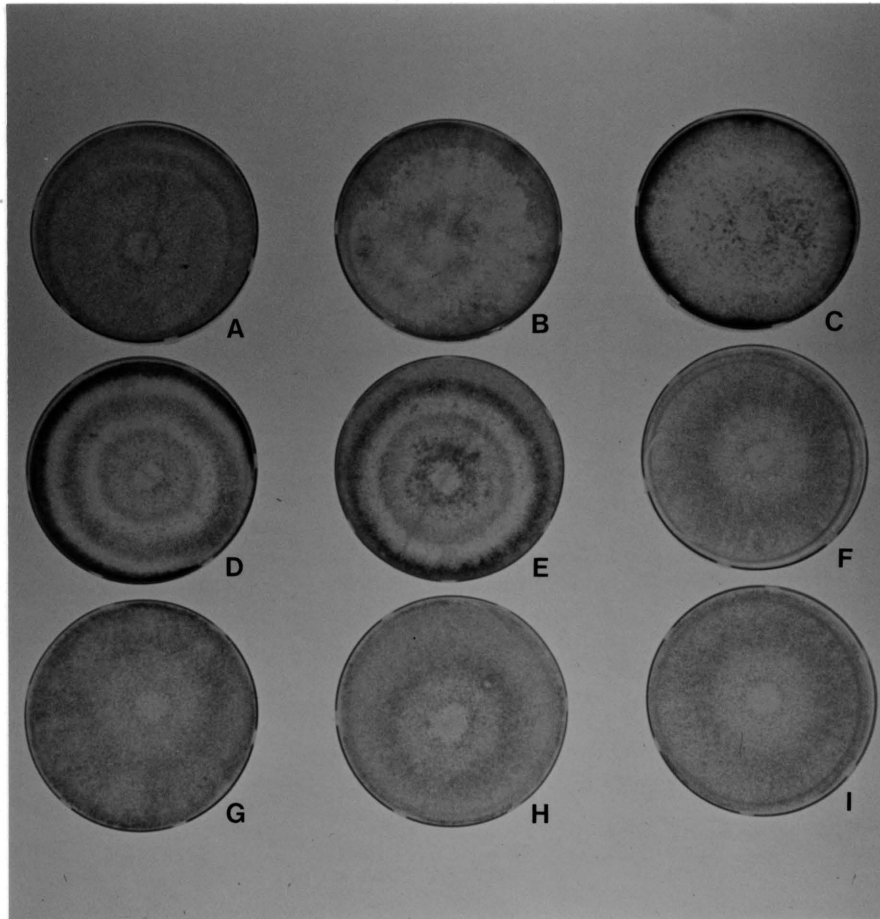
B.

L					
<hr/>					
D	X	D			
<hr/>					
B	0	X	B		
<hr/>					
G	0	X	0	G	
<hr/>					
R	0	X	0	0	R
<hr/>					
VR	0	X	0	0	0
<hr/>					

duidelike sonering ondergaan (Figuur 4.30), met die bande van hoë sporulering in ooreenstemming met die periodes van ligblootstelling. Geen sonasie het by die ander kulture voorgekom nie. Soos ook uit Figuur 4.30 gesien kan word, was die kringe op die bakkies wat eerste aan lig blootgestel is en dié wat eerste aan 'n donkerperiode onderwerp is, uit fase, wat dan ook die verskil in sporulering tussen die twee behandelings soos in Figuur 4.29 uitgebeeld word, verklaar. By dieselfde twee behandelings wil dit ook voorkom asof latere ligblootstelling 'n groter invloed op sporulering as die aanvanklike blootstellings van die jonger kolonies het (Figuur 4.30). Dit verklaar dan moontlik die kleiner verskille by die 20 mm-punt.

Volgens Cochrane (1958), Hawker (1966) en Leach (1971) wil dit voorkom dat lig, en veral die blou en ultraviolet gebiede van die spektrum, oor die algemeen oor die belangrikste golflengtes ten opsigte van liggeïnduseerde sporulering beskik. Carlile (1965) noem dat verskeie berigte van rooiliggevoeligheid by die swamme al verkeerd bewys is, maar volgens Leach (1971) het 'n aantal meer resente studies weer aan die lig gebring dat rooi lig óók sporogenese by 'n aantal swamme beïnvloed.

Uit hiérdie resultate blyk dit dan óók dat blou lig, teen die dikwels aanvaarde norm in, swakker sporulering as lig in die rooi en verrooi gebiede van die spektrum tot gevolg gehad het. Alhoewel dit uit Figuur 2.28 so mag lyk, was daar op die 20 mm-punt geen betekenisvolle verskil in sporulering onder blou-, groen-, rooi- óf verrooi lig nie. Op die 40 mm-punt egter was sporulering onder verrooi-, en veral onder rooi lig, betekenisvol hoër as onder blou-, maar nie groen lig nie. Alhoewel die gemiddelde sporulering onder groen lig ook heelwat meer as onder blou lig was (Figuur 4.29), was dit nie groot genoeg om betekenisvol te wees nie. Daar moet egter rekening gehou word met die feit dat die kwantumvloeddigheid, as gevolg van die filters wat gebruik is om die verskillende ligkwaliteite te skep, nie dieselfde op al die bakkies was nie. Die moontlikheid dat die verskille in sporulering nie net die gevolg



FIGUUR 4.30 C. fulvum-kulture na groei en sporulering onder verskillende ligtoestande.

- A : ononderbroke wit lig; B : ononderbroke donker;
C : aanvanklik donker, later ononderbroke lig;
D : afwisselende lig en donker, beginnende met lig;
E : afwisselende lig en donker, beginnende met donker;
F : ononderbroke rooi lig; G : ononderbroke groen lig;
H : ononderbroke blou lig; I : ononderbroke verrooi lig.

van die ligkwaliteit was nie, maar dat die intensiteit ook 'n rol kon gespeel het, kan dus nie geïgnoreer word nie. Hierdie moontlikheid word egter betwyfel, aangesien die ligdosis wat met verrooi- en rooi lig toegedien is onderskeidelik heelwat minder en heelwat meer as die dosis vir die blouligbehandeling was (kyk 3.4.2.1.1 en 3.4.2.1.2). Aangesien beide verrooi- én rooi lig, ongeag die hoeveelheid lig, beter sporulering as blou lig tot gevolg gehad het, wil dit dus voorkom dat die ligkwaliteit die bepalende faktor was.

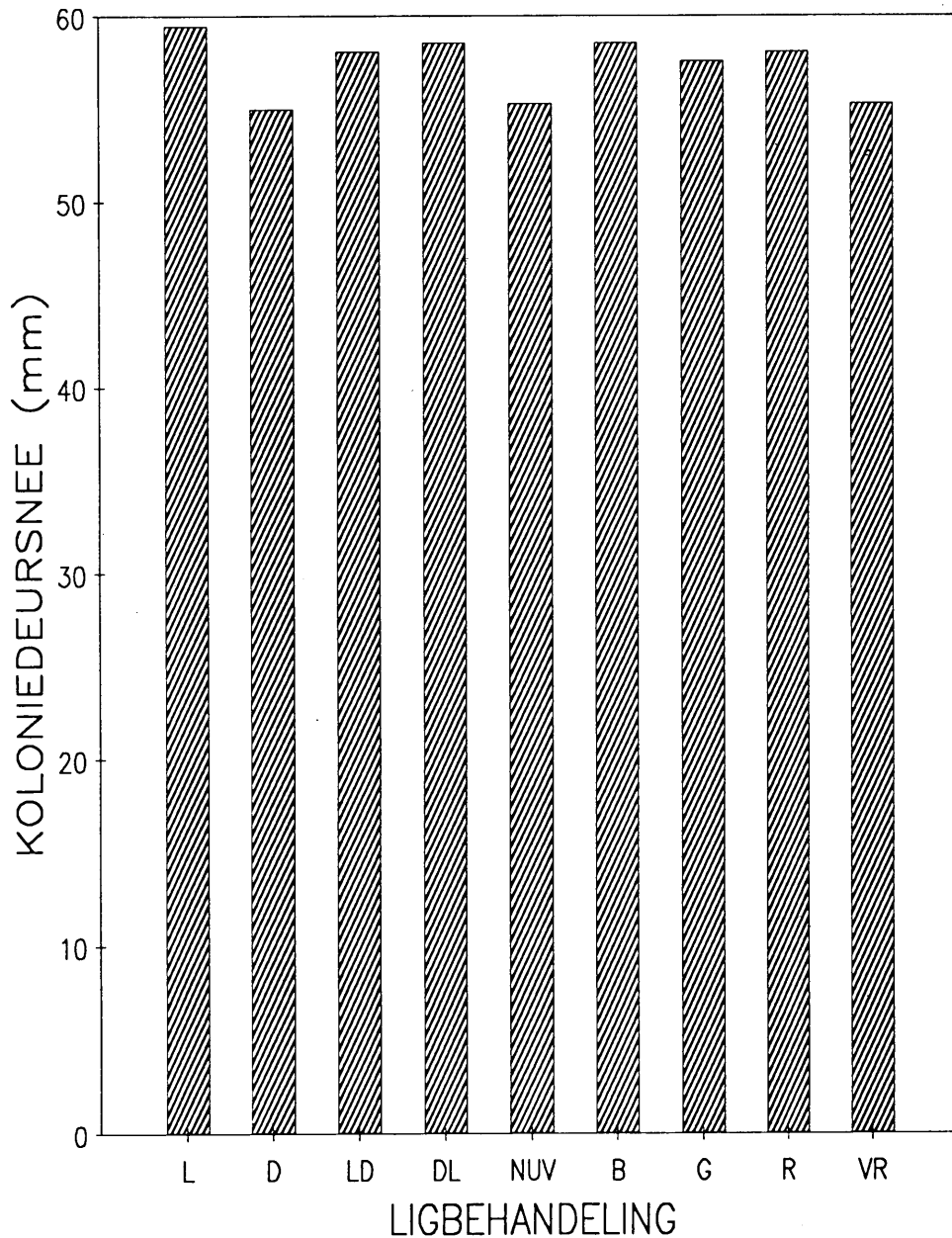
Daar was geen betekenisvolle verskil tussen sporulering onder rooi lig en die twee afwisselende lig/donkerbehandelings nie. Sporulering onder rooi lig was egter, net soos onder die twee afwisselende lig/donkerbehandelings, betekenisvol hoër as onder permanente wit lig óf donker. Aangesien blou lig oënskynlik nie 'n inhiberende invloed op sporulering het nie (dit verskil nie betekenisvol van die donkerbehandeling nie) is dit te betwyfel of die afwesigheid daarvan in rooi lig veel met die verskynsel dat beter sporulering onder rooi- as onder wit lig waargeneem is te make het, en moet die verskil tussen rooi- en wit lig moontlik slegs as 'n intensiteits- of dosisreaksie geïnterpreteer word.

Op die 40 mm-punt was verrooi- veel beter as wit lig óf donker, maar op die 20 mm-punt was daar nie 'n verskil tussen verrooi- en wit lig nie. Die effek van groen lig het ook gevarieer vanwaar dit op die 20 mm-punt (maar nie by die 40 mm-punt nie) betekenisvolle hoër sporulering as wit lig óf donker tot gevolg gehad het.

4.4.2.2 Verticillium fungicola

4.4.2.2.1 Vegetatiewe groei en sporkieming

Dit is welbekend dat lig 'n groot invloed op die biologiese prosesse van verskeie Verticillium-spesies uitoefen (Brandt, 1964). Alhoewel die verskille in die resultate van hierdie ondersoek dikwels wel statisties betekenisvol was (Tabel 4.14), kan daar uit Figuur 4.31 gesien word dat dit minimaal was, met

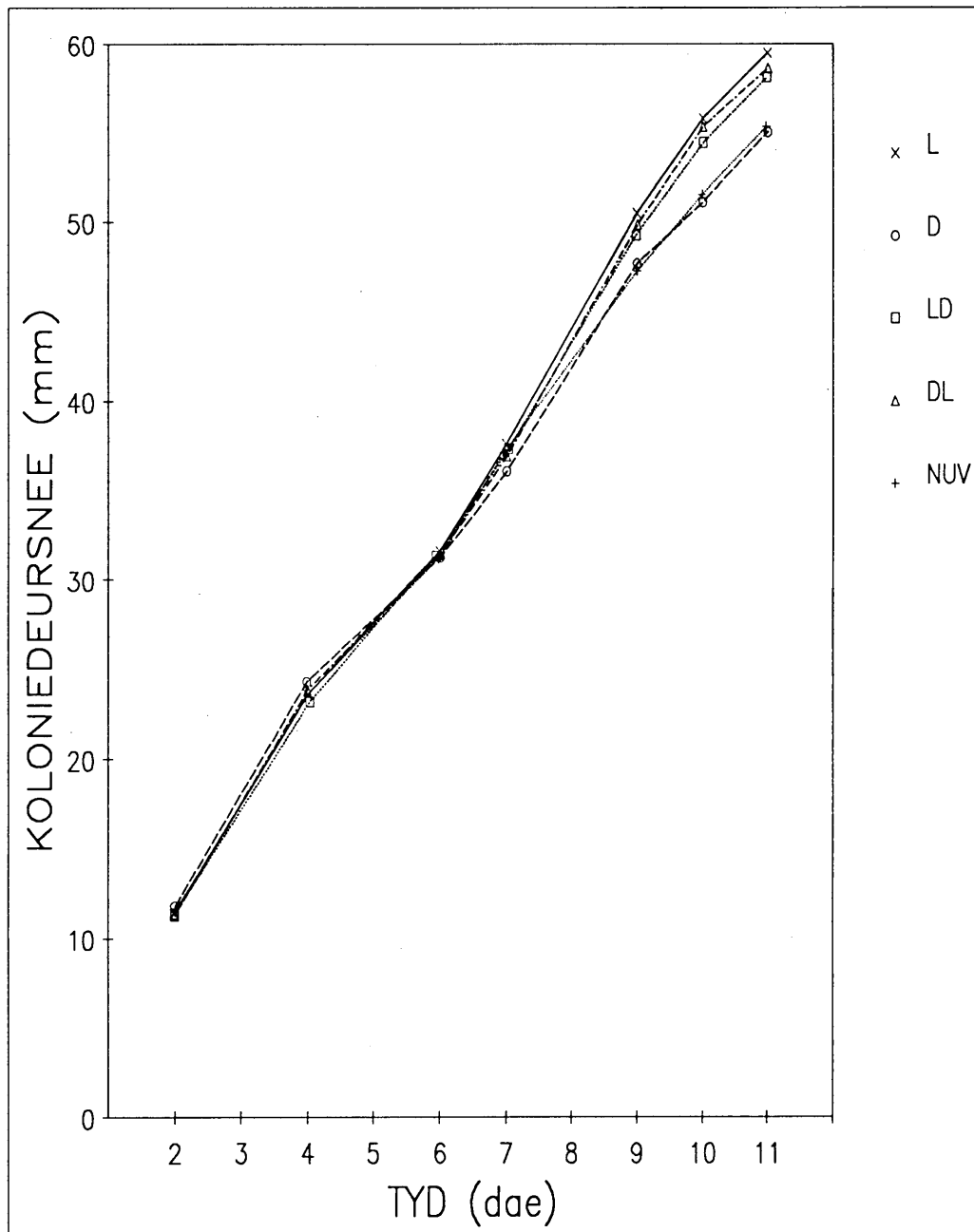


FIGUUR 4.31 Grafiese voorstelling van die gemiddelde koloniedeursnee van V.fungicola na elf dae onder verskillende ligtoestande. Kyk Tabel B2.15 van Bylaag 2 vir volledige stel data. Raadpleeg Figure 4.26 en 4.28 ter verklaring van die afkortings op die X-as.

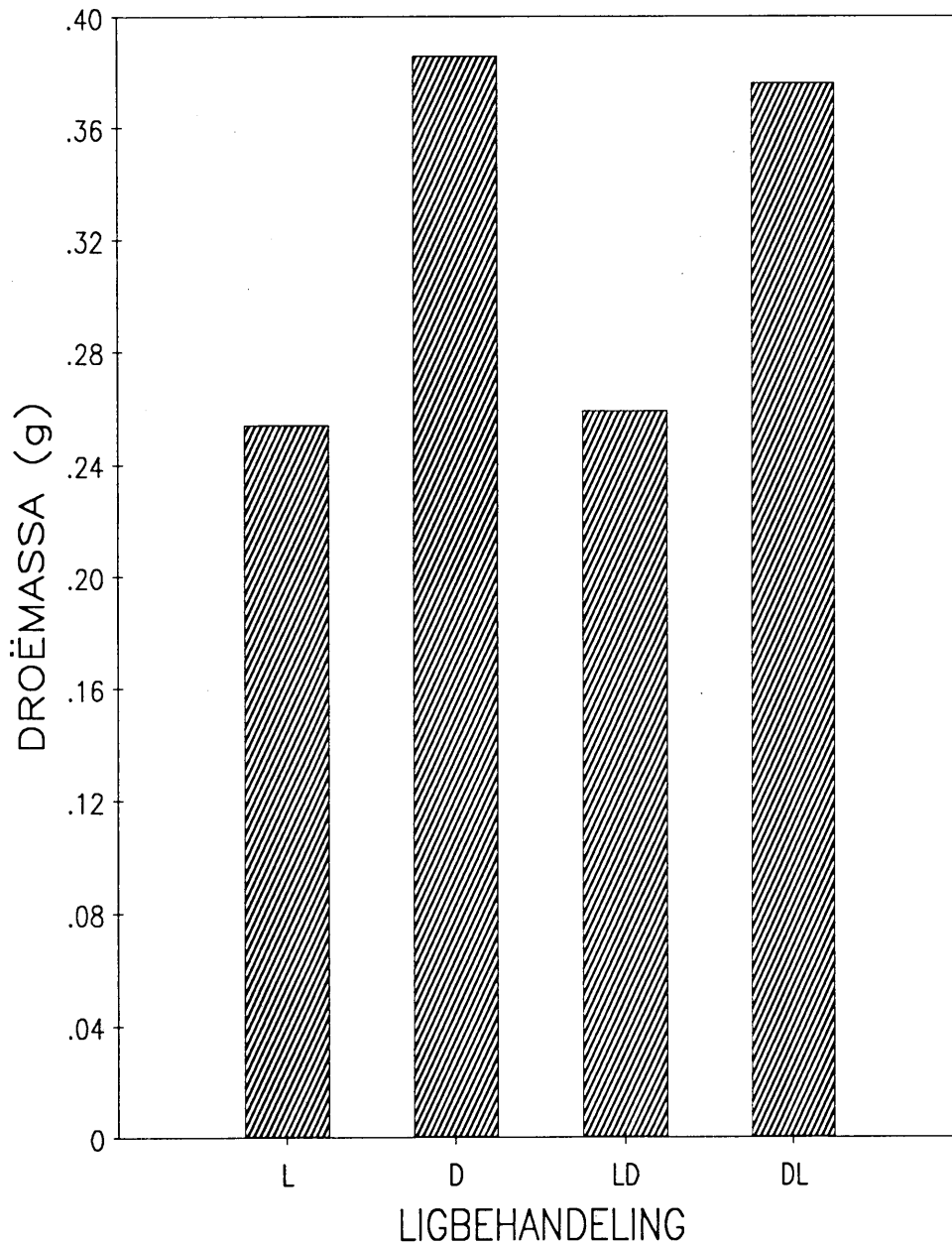
die grootste verskil, dié tussen die permanente wit lig en donkerbehandelings, maar 'n skamele 4,5 mm. Uit Figuur 4.32 kan duidelik gesien word dat daar tot en met dag ses bykans geen verskille in groei tussen die verskillende ligbehandelings was nie, en dat enige verskil eers daarna gemanifesteer het. Hierdie resultate is dus in ooreenstemming met Fekete (1967) wat óók geen noemenswaardige groeiverskille tussen V.fungicola-kulture wat onderskeidelik in die lig en donker gekweek is, kon waarneem nie.

Weer eens, net soos in die resultate met C.fulvum, was daar egter min korrelasie tussen die vegetatiewe groei op soliede ADA en in 'n vloeibare MEB-medium. Soos in die geval van Pellicularia filamentosa (Pat.) Rogers, wat óók nie op 'n agarmedium ligsensitiwiteit vertoon het nie (Durbin, 1959), het V.fungicola in die vloeibare medium óók heelwat swakker in die lig as in die donker gegroei (Figuur 4.33), 'n verskynsel wat volgens Cochrane (1958), algemeen is. Volgens Leach (1971) is daar heelwat omstandighedsgetuienis dat dit veral lig uit die blou en ultraviolet gedeeltes van die spektrum is wat hierdie groei-invloed tot gevolg het. Daar moet egter nie uit die oog verloor word dat groeireaksies op lig dikwels ook groeimedium-afhanklik is nie en dat die verskil in groeimedium dalk tot die verskil in groei kon bygedra het.

Wat verder interessant was, was dat die kulture wat aan afwisselende lig en donker, maar eerste aan lig, blootgestel is, dieselfde groei as die kulture in die lig opgelewer het, terwyl dit heelwat swakker as by die kulture wat óók aan afwisselende lig en donker, maar eerstens aan 'n donkerperiode, onderwerp is, was. Laasgenoemde kulture het op hulle beurt weer dieselfde mate van groei as die kulture in die donker opgelewer. Dit het die vraag laat ontstaan of die uiteindelijke verskil in koloniegrootte tussen die lig en donkerkulture nie moontlik aan 'n aanvanklike vertraging in spoorkieming, eerder as aan 'n groei-effek toegeskryf moes word nie. 'n Ondersoek in dié verband het kiemingspersentasies van 92,4 en 96,0 persent in die lig en donker onderskeidelik opgelewer (Tabel B2.17). Hierdie syfers verskil nie betekenisvol van mekaar op 'n 95 persent



FIGUUR 4.32 Grafiese voorstelling van die groei van *V. fungicola* onder verskillende ligtoestande. Kyk Tabel B2.15 van Bylaag 2 vir die volledige stel data en Figuur 4.26 vir 'n verklaring van die afkortings gebruik.



FIGUUR 4.33 Grafiese voorstelling van die gemiddelde droëmassa van V.fungicola na 12 dae onder verskillende ligtoestande. Kyk Tabel B2.16 van Bylaag 2 vir volledige stel data asook Figuur 4.26 ter verklarings van die afkortings op die X-as.

TABEL 4.14 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry met die groei van *V.fungicola* onder verskillende ligtoestande (kyk ook Figure 4.31 en 4.33 asook Tabelle B2.15 en B2.16). Kruisies verteenwoordig betekenisvolle verskille.

A : Koloniedeursnee na elf dae (P=0,05)

B : Droëmassa (P=0,02)

A.

L								
<hr/>								
D	X	D						
<hr/>								
LD	X	X	LD					
<hr/>								
DL	X	X	0	DL				
<hr/>								
NUV	X	0	X	X	NUV			
<hr/>								
B	X	X	X	0	X	B		
<hr/>								
G	X	X	X	X	X	X	G	
<hr/>								
R	X	X	0	0	X	X	X	R
<hr/>								
VR	X	0	X	X	0	X	X	X
<hr/>								

B.

L			
<hr/>			
D	X	D	
<hr/>			
LD	0	X	LD
<hr/>			
DL	X	0	X
<hr/>			

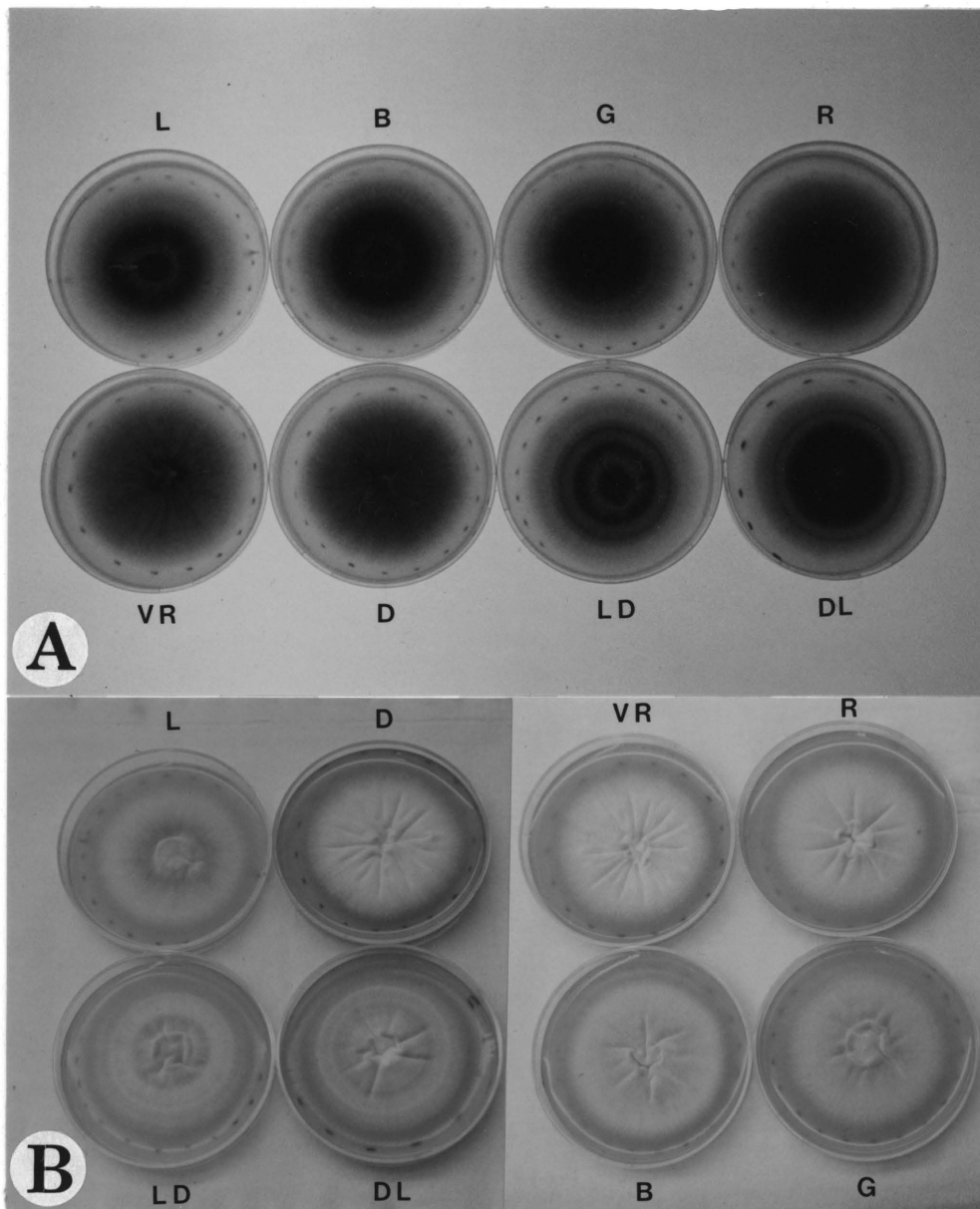
betroubaarheidsvlak nie (wel op 'n 90 persent betroubaarheidsvlak). Daar was ook nie 'n verskil in die mate van miseliumontwikkeling op die tyd van waarneming nie. Die verskil tussen kieming in die lig en donker was dus ignoreerbaar klein en kon geen invloed op die uiteindelijke koloniedeursnee hê nie. Die uiteindelijke verskil in die deursnee van die lig- en donkerkulture moet dus aan 'n groei-effek toegeskryf word.

Die verskillende ligbehandelings het 'n besliste variasie in koloniekleur tot gevolg gehad (Figuur 4.34). Wit lig, asook die korter golflengtes lig (blou en groen) het 'n verbruining veroorsaak wat baie minder duidelik by die langer golflengtes (rooi en veral verrooi) was. Onder donkertoestande is die miselium wit. Ligkwaliteit moet egter nie as die enigste moontlike verklaring vir hierdie kleurvariasie gesien word nie, aangesien dit moontlik ook 'n funksie van ligintensiteit en/of dosis kon wees. Die filters wat gebruik is om die verskillende ligkwaliteite daar te stel het ook 'n invloed op die hoeveelheid lig wat dit deurgelaat het gehad, met die gevolg dat die verskillende kulture nie almal dieselfde ligdosis ontvang het nie.

Die effek van lig op die miseliumkleur het 'n besliste soneringseffek tot gevolg gehad wat met behulp van deurstralende lig veral duidelik waargeneem kon word (Figuur 4.34 A). Volgens Hawker (1950), Cochrane (1958) en Carlile (1965) is kleurverskille, met 'n sterker pigmentasie onder ligtoestande, 'n algemene verskynsel by die swamme.

4.4.2.2.2 Sporulering

Die sporulering van V.fungicola onder verskillende ligtoestande is op 'n punt, 20 mm vanaf die inokulum, bepaal. Uit Figuur 4.35 kan gesien word dat sporulering in die donker heelwat swaker as onder enige van die ligbehandelings was. Die verskille tussen die ander ligbehandelings was nie statisties betekenisvol nie (Tabel 4.13). Alhoewel lig dus nie heeltemal noodsaaklik is nie, is sporulering tog beter in die teenwoordigheid daarvan.

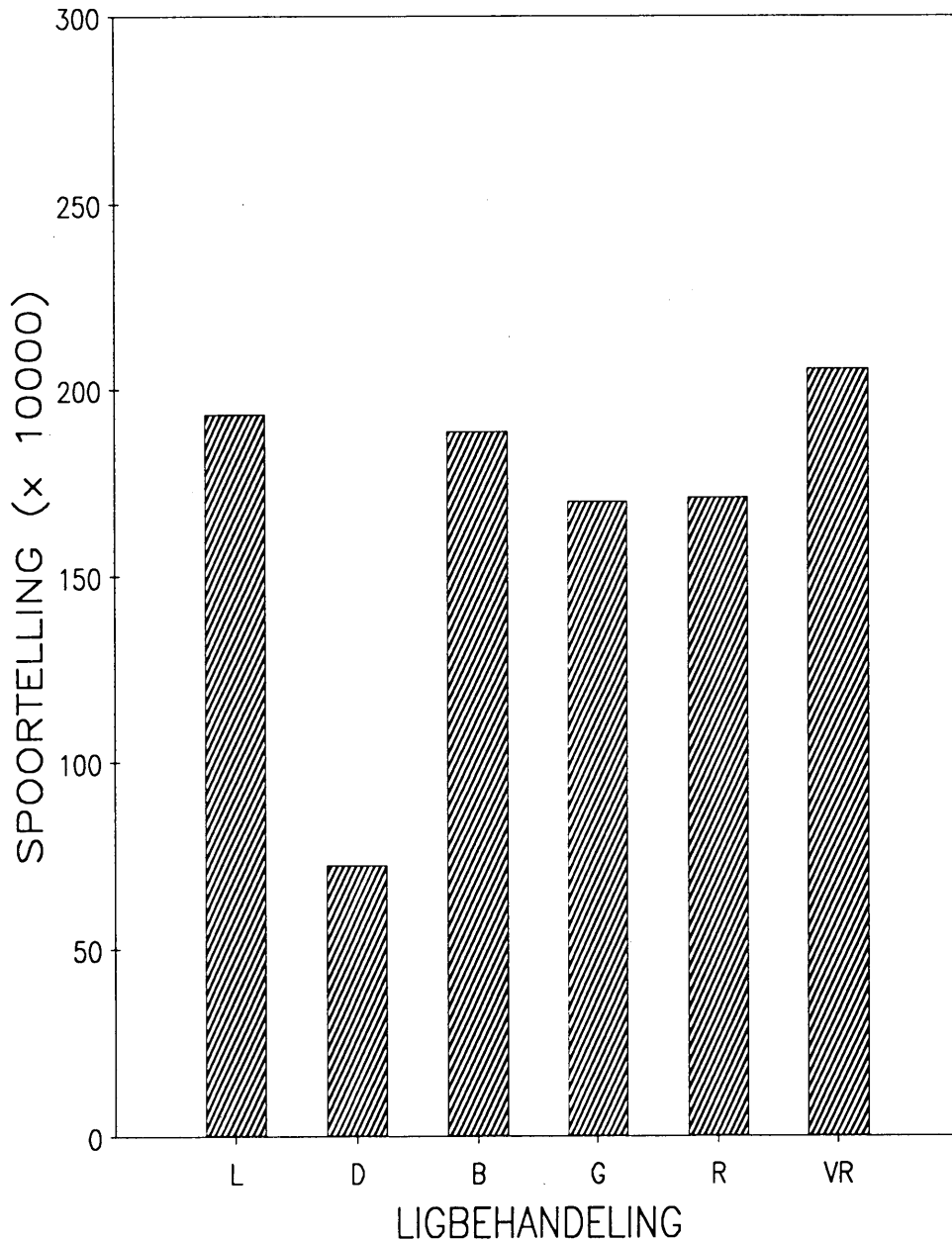


FIGUUR 4.34 *V. fungicola*-kulture na groei onder verskillende ligtoestande.

A : Beligting van onder. Stippellyn dui rand van kolonie aan.

B : Beligting van bo om kleurvariasie aan te toon.

Verwys na Figure 4.26 en 4.28 ter verklarung van die afkortings gebruik.



FIGUUR 4.35 Grafiese voorstelling van die gemiddelde sporulering van V.fungicola na elf dae onder verskillende ligbehandelings (spore.cm⁻³ spoorsuspensie). Kyk Tabel B2.18 van Bylaag 2 vir volledige stel data asook Figure 4.26 en 4.28 ter verduideliking van die afkortings op die X-as.

Hierdie is één van die sporuleringspatrone soos beskryf deur Hawker (1971) en is tipies van baie *Fungi Imperfecti* (Hawker, 1966). Die kweek van *A.bisporus* in die donker lewer dus 'n bydrae daartoe om spoorladings in sampioenkweekhuise laag te hou.

4.4.3 DIE INVLOED VAN DIE WATERSTOFIOONKONSENTRASIE OP GROEI

Die pH-kromme vir swamgroei is geneig om met verskille in omgewingstoestande, soos byvoorbeeld temperatuur, groeityd en veral die samestelling van die groeimedium te varieer (Wolf en Wolf, 1947; Lilly en Barnett, 1951; Cochrane, 1958; Lilly, 1965; Griffin, 1981; Garraway en Evans, 1984). Die wyse of fisiologiese meganisme waarop die waterstofioonkonsentrasie 'n invloed op swamgroei uitoefen mag van pH tot pH varieer (Cochrane, 1958; Bull en Bushell, 1976). Gevolglik gebeur dit dat sommige swamme oor meer as een pH-optimum vir groei beskik.

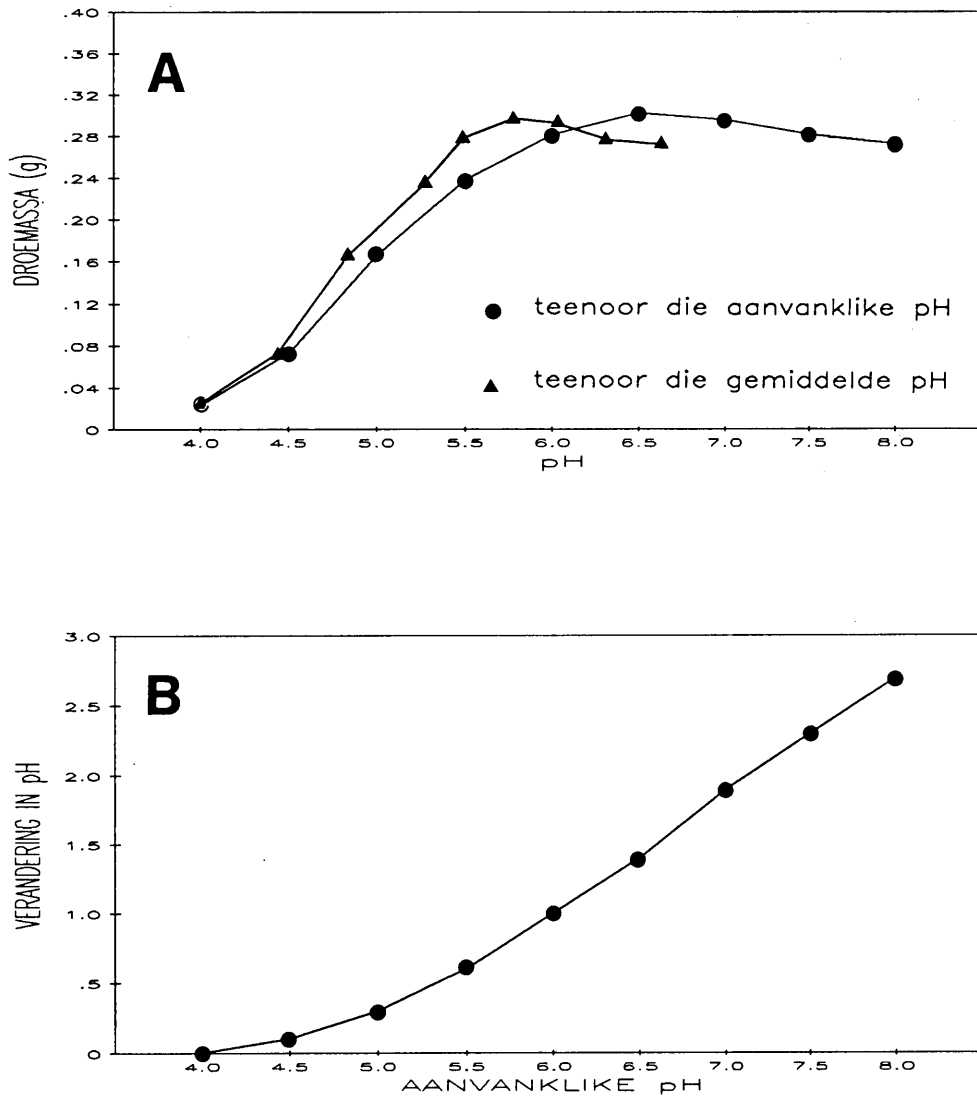
Alhoewel dit varieer, groei die meeste swamme tussen pH 4 en 8 (Lilly, 1965), met 'n totale inhibering aan die suur kant van pH 3 asook aan die alkaliese kant van pH 8 tot 9 (Hawker, 1950). Die grootste gedeelte van 'n tipiese pH-groeikromme lê gevolglik aan die suur kant van pH 7. Optimale groei vind gewoonlik by 'n neutrale pH, óf baie dikwels effens aan die suur kant van pH 7 plaas (Hawker, 1950; Lilly en Barnett, 1951). Terwyl die minimum en maksimum pH-waardes vir groei gewoonlik skerp gedefinieer is, is die optimum dikwels minder skerp. Gevolglik bestaan die tipiese pH-groeikromme gewoonlik uit skerp stygende en dalende bene met 'n relatief breë, afgeplatte gedeelte in die middel (Hawker, 1950).

4.4.3.1 *Chromelosporium fulvum*

Volgens Schneider (1954) vind vegetatiewe groei van *C.fulvum* tussen pH 4 en 11,4, met 'n optimum tussen 6,6 en 7,4 plaas. Dit is in ooreenstemming met die resultate uit hierdie ondersoek, waar (gebaseer op die aanvanklike pH) slegs baie swak

groei by pH 4 plaasgevind het, en die klein mate van daling in die kromme by pH 8 (Figuur 4.36) verder op 'n hoë maksimum dui. Die optimum van pH 6,5 tot 7,5 in hierdie ondersoek stem byna volmaak met Schneider (1954) se resultate ooreen. Die maksimum pH soos deur Schneider (1954) gerapporteer, en waarmee hierdie resultate in redelike ooreenstemming is, is baie hoër as wat vir die meeste swamme verwag sou word. Daar moet egter in gedagte gehou word dat die pH waarna hierbo verwys word slegs op die aanvanklike pH van die ongebufferde medium dui. Volgens verskeie outeurs (Hawker, 1950; Lilly en Barnett, 1951; Cochrane, 1958; Lilly, 1965) verander swamme vanweë verskeie metaboliese aktiwiteite gewoonlik die pH van die medium waarin dit groei. Cochrane (1958) is gevolglik van mening dat die relatiewe goeie groei van sommige swamme oor breë pH-gebiede, moontlik dikwels eerder aan die swam se vermoë om die pH van 'n ongunstige medium sodanig te verander dat groei wel moontlik raak, as aan 'n vermoë om wel by die aanvanklike pH te groei, toegeskryf moet word. Dit is te betwyfel of Schneider (1954) se medium gebuffer was en gevolglik ontstaan die vraag of haar resultate asook dié van die huidige ondersoek, waarvolgens groei onder relatief sterk alkaliese toestande wel sal plaasvind, nie ook die gevolg van so 'n pH-verandering in die medium was nie. 'n Meting van die pH van die medium aan die einde van die eksperiment het aangetoon dat dit in hierdie ondersoek dan inderdaad wel die geval was. Met uitsondering van die kulture wat by pH 4 gekweek is, het daar 'n definitiewe versuring van al die mediums plaasgevind (Tabel 4.15). Dit wil ook voorkom asof suurproduksie 'n funksie van die aanvanklike pH verteenwoordig (Figuur 4.36), met 'n toename hoe hoër die aanvanklike pH.

Uit Tabel 4.15 kan gesien word dat daar aan die einde van die eksperiment slegs minimale verskille tussen die uiteindelijke pH's van die aanvanklike pH-reeks van 5,5 tot 7,0 voorgekom het. Daar kan dus moontlik geredeneer word dat die groeiverskille oor hierdie pH-reeks wel aan die aanvanklike pH-waardes toeskryfbaar is. Dit sou egter slegs 'n halwe waarheid wees, aangesien die pH's van die betrokke mediums



FIGUUR 4.36 Grafiese voorstelling van die gemiddelde droëmassa van *C. fulvum* (A), asook die verandering in pH (B), na kweking vir vier dae in vloeibare mediums met verskillende waterstofioonkonsentrasies. Kyk Tabel B2.19 van Bylaag 2 vir volledige stel data asook Tabel 4.17 vir statistiese analise.

TABEL 4.15 Die pH van die voedingsmedium voor en na groei van C. fulvum (vier dae).

Aanvanklike pH (a)	Gemiddelde pH na groei (b)	Gemiddeld van (a) en (b)
4,0	4,0	4,00
4,5	4,4	4,45
5,0	4,7	4,85
5,5	4,9	5,20
6,0	5,0	5,50
6,5	5,1	5,80
7,0	5,1	6,05
7,5	5,2	6,35
8,0	5,3	6,65

geleidelik verander het en die resultate in der waarheid die groei oor die hele veranderde pH-gebied weerspieël. Indien groei dan aan die gemiddelde pH van die medium voor en na groei gemeet word, kan gesien word (Figuur 4.36) dat die kromme effens na links verskuif, met 'n optimum wat tussen pH 5,8 en 6,4 lê. In hierdie geval bly die minimum pH onveranderd, en indien die kromme aan die algemene norm soos beskryf deur Hawker (1950) voldoen, sal die maksimum baie naby die "normale" maksimum van pH 8 tot 9 lê.

Alhoewel vele eksperimentele werk met slegs 'n aanvanklike pH-instelling en geen daaropvolgende pH-regulering nie, uitgevoer word (Griffin, 1981), behoort die probleme wat so 'n eksperimentele opset skep, baie duidelik uit die voorafgaande bespreking na vore te tree.

Geen groei het op 'n reeks ADA-voedingsbodems wat met behulp van McIlvaine se buffer (kyk Bylaag 1) 'n pH-reeks gevorm het, plaasgevind nie. Volgens Cochrane (1958), Lilly (1965) en Griffin (1981) word die nut van buffers soms gekortwiek deurdat die buffer self 'n inhiberende invloed op swamgroei mag hê.

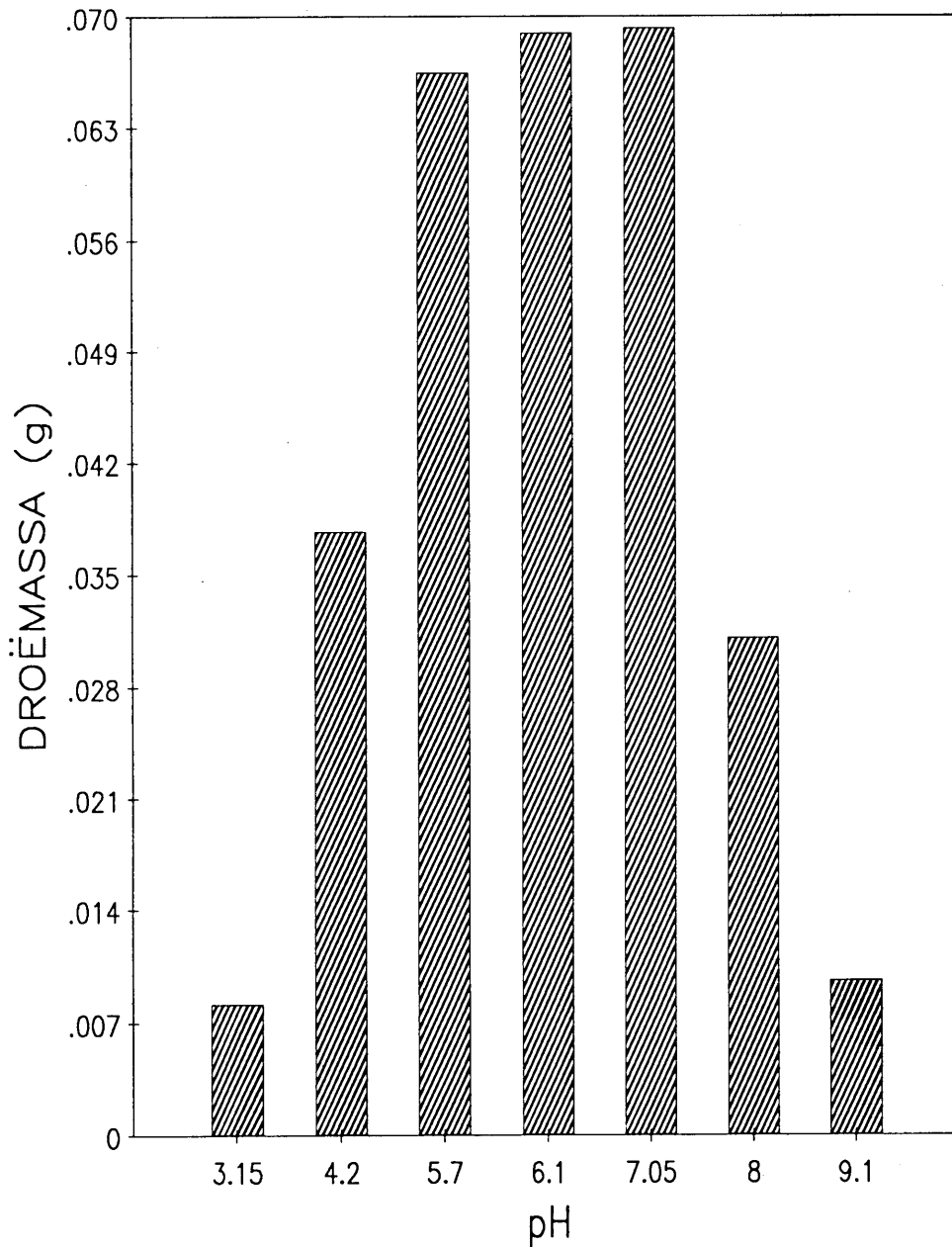
Die inhibering van C.fulvum deur die McIlvaine buffer het die vraag laat ontstaan of die inhibering nie dalk aan die sitroensuur in die buffer toegeskryf kon word nie, en het dit tot die ondersoek na die invloed van sitroensuur op die groei van C.fulvum, soos in 4.5.3 bespreek sal word, aanleiding gegee.

4.4.3.2 Verticillium fungicola

Die pH-groekromme vir die V.fungicola-isolaat wat in hierdie ondersoek gebruik is, voldoen aan Hawker (1950) se beskrywing van 'n tipiese pH-kromme met skerp stygende en dalende bene, en 'n afplating in die omgewing van die optimum effens aan die suur kant van neutraal (Figuur 4.37). Die minimum pH vir groei lê in die omgewing van drie en die maksimum net bokant pH 9. Die pH-optimum blyk in die omgewing van 5,7 tot 7,1 te wees. As gevolg van die gebufferde medium het die pH tydens groei grotendeels konstant gebly (Tabel 4.16). Soos daar reeds in 3.4.3.2 genoem is, moes van twee verskillende buffers gebruik gemaak word om die benodigde pH-reeks daar te stel. Dit is 'n nadeel, aangesien die buffer 'n uitwerking op swamgroei mag hê (Cochrane, 1958; Lilly, 1965; Griffin, 1981). Dit word egter betwyfel of die buffers in hierdie geval veel van 'n invloed op die vorm van die kromme sou hê, en dit het na alle waarskynlikheid weinig effek op die optimum pH gehad.

TABEL 4.16 Die pH van die medium voor en na V.fungicola-groei (agt dae).

Aanvanklike pH	Gemiddelde pH na groei
3,15	3,07
4,20	4,27
5,70	5,82
6,10	6,16
7,05	7,02
8,00	7,83
9,10	8,76



FIGUUR 4.37 Grafiese voorstelling van die gemiddelde droëmassa van V.fungicola na kweking vir agt dae in vloeibare mediums by verskillende waterstofioonkonsentrasies. Kyk Tabel B2.20 van Bylaag 2 vir volledige stel data asook Tabel 4.17 vir statistiese analise.

TABEL 4.17 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry met die kweek van C.fulvum en V.fungicola by verskillende waterstofioonkonsentrasies (kyk ook Figure 4.36 en 4.37 asook Tabelle B2.19 en B2.20). Kruisies verteenwoordig betekenisvolle verskille tussen behandelings.
 A : C.fulvum (P=0,05)
 B : V.fungicola (P=0,02)

A.

pH	4								
4,5	X								4,5
5	X	X							5
5,5	X	X	X						5,5
6	X	X	X	X					6
6,5	X	X	X	X	X				6,5
7	X	X	X	X	0	0			7
7,5	X	X	X	X	0	0	0		7,5
8	X	X	X	X	0	X	0	0	

B.

pH	3,15								
4,2	X								4,2
5,7	X	X							5,7
6,1	X	X	0						6,1
7,05	X	X	0	0					7,05
8,0	X	X	X	X	X				8,0
9,1	0	X	X	X	X	X			

In teenstelling met hierdie resultate vind Azéma en Touzé-Soulet (1973) 'n pH-optimum van tussen drie en vier, met in sommige gevalle 'n tweede optimum van om en by pH 6. Soos egter ook uit Azéma en Touzé-Soulet se resultate afgelei kan word en soos reeds in 4.4.3 genoem is, mag die pH-optimum deur die samestelling van die medium beïnvloed word. Die moontlikheid dat die verskille in die twee stelde waarnemings aan 'n mediumeffek toeskryfbaar is, kan dus nie sonder meer verwerp word nie. Azéma en Touzé-Soulet se optimum is egter baie laag en aangesien hulle klaarblyklik ook van ongebufferde mediums gebruik gemaak het, kan hulle resultate moontlik bevraagteken word.

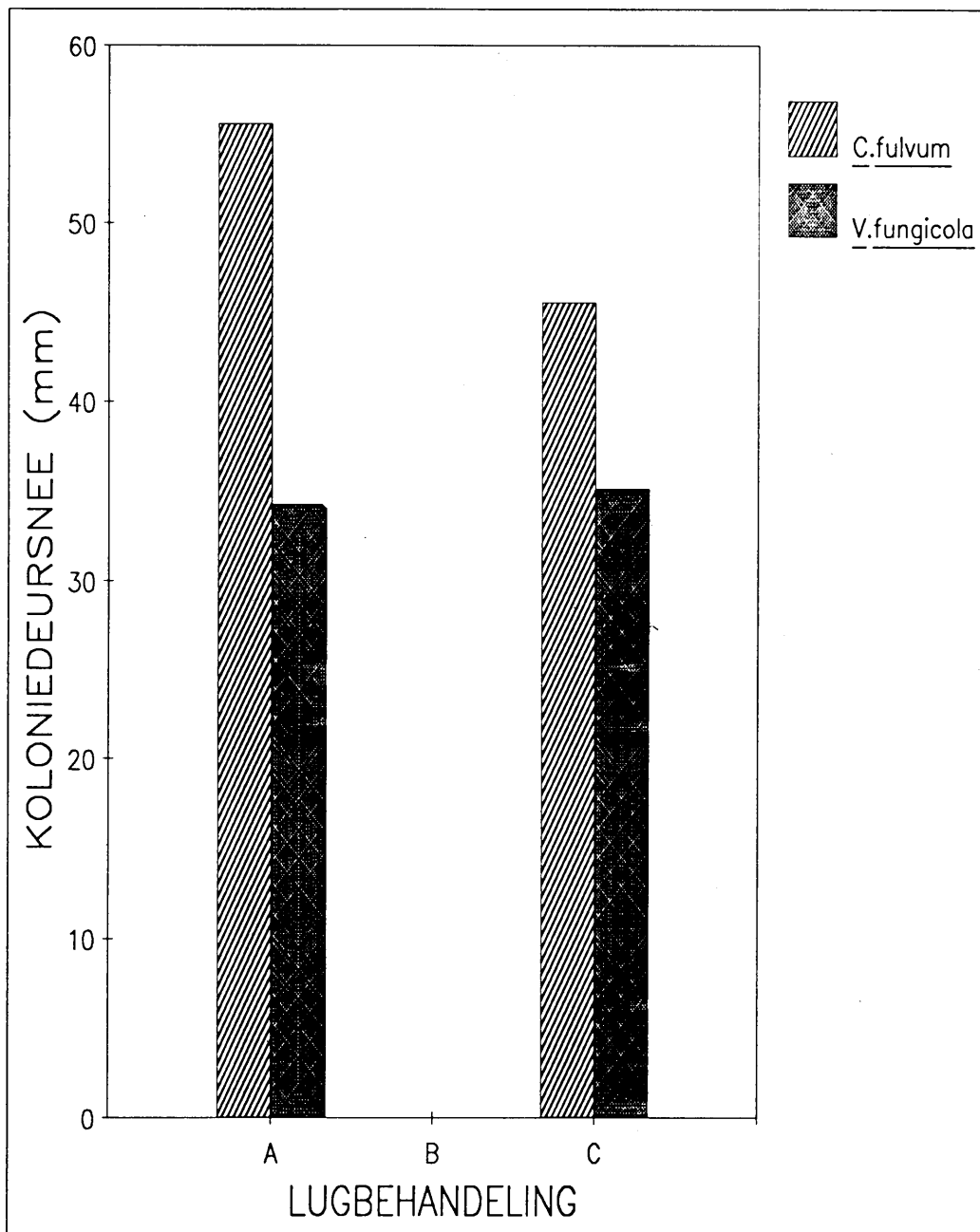
Die huidige resultate is in ooreenstemming met die vroeëre werk van Treschow (1941) wat 'n pH-optimum van 5,6 gevind het. Alhoewel Treschow (1941) se medium ('n vier persent moutekstrakoplossing) nie gebuffer was nie, het suurvorming deur V.fungicola nie voorgekom nie en was die verandering in pH aan die einde van die groeiperiode minimaal.

4.4.4 GROEI IN DIE AFWESIGHEID VAN SUURSTOF

In die vroeëre literatuur word die mikro-aerofiliese aard van sommige swamme wel erken, maar was die gedagte egter dat alle swamme slegs aerobies ten opsigte van groei is (Hawker, 1950; Cochrane, 1958). Latere outeurs (Bull en Bushell, 1976; Griffin, 1981) wys egter op die voorkoms van fakultatiewe anaerobiese en selfs obligaat anaerobiese swamme. Verreweg die meerderheid is egter obligaat aerobies ten opsigte van groei (Griffin, 1981).

4.4.4.1 Chromelosporium fulvum

C.fulvum was nie in staat om enigsins in die afwesigheid van suurstof te groei nie en moet dus as obligaat aerobies geklassifiseer word. Soos uit Figuur 4.38 gesien kan word, het groei na opheffing van die anaerobiese toestand normaal voortgegaan, alhoewel daar soos gesien kan word 'n effense (maar



FIGUUR 4.38 Grafiese voorstelling van die invloed van anoksie op die gemiddelde koloniedeursnee van *C. fulvum* (na twee dae) en *V. fungicola* (na sewe dae). Kyk Tabel B2.21 van Bylaag 2 vir volledige stel data. Verklaring van afkortings: A=groei onder aerobiese toestande; B=groei onder anaerobiese toestande; C=groei van kulture wat éérs onder anaerobiese toestande, en daarna onder aerobiese toestande geïnkubeer is.

betekenisvolle) vertraging was. Kulture wat aanvanklik onder aerobiese toestande gegroei het, het groei gestaak nadat dit aan anaerobiese toestande onderwerp is. Alhoewel hierdie kulture na twee dae onder anaerobiese toestande wel gemiddeld 2 mm in deursnee groter was as op die tydstip toe dit onder dié toestande geplaas is, kan die effense toename in koloniedeursnee aan groei tydens die periode voordat algehele anaerobiese toestande in die fles bereik is, asook aan moontlike opgeloste suurstof in die medium, toegeskryf word. Nadat dieselfde kulture weer onder aerobiese toestande geplaas is, het sporulering 'n aanvang geneem. Sporulering op daardie gedeeltes van die kulture, wat, toe dit onder anaerobiese toestande geplaas is, reeds bestaan het, was egter met die blote oog (asook onder die stereomikroskoop), duidelik swakker as op die gedeeltes wat daarna ontwikkel het (en dus nooit aan 'n anaerobiese omgewing onderworpe was nie). Die miselium wat aan anaerobiese toestande blootgestel is het platgeval, terwyl die nuwe groei wollerig vertoon het. Dit wil dus voorkom asof 'n periode van totale suurstofgebrek nie die latere groei van die swam in 'n aerobiese omgewing veel beïnvloed nie, maar dat dit wel 'n negatiewe effek op sporulering het op daardie gedeeltes van die kultuur wat op 'n stadium aan anoksie onderworpe was, en ook dat hierdie negatiewe effek nie heeltemal opgehef word wanneer die kultuur weer onder aerobiese toestande geplaas word nie.

4.4.4.2 Verticillium fungicola

Die V.fungicola-kulture wat met die puntmetode (dit wil sê hoofsaaklik konidiums) geïnkuleer is, het nie onder anaerobiese toestande gegroei nie. Hieruit kan egter slegs afgelei word dat konidiumkieming nie plaasgevind het nie en nie dat vegetatiewe groei geïnhibeer is nie. Na opheffing van die anaerobiese toestande het groei 'n aanvang geneem en was daar na sewe dae geen statisties betekenisvolle verskil in koloniedeursnee teenoor kulture wat nooit aan anaerobiese toestande onderworpe was nie (Figuur 4.38). Die kulture wat wel

aan anaerobiese toestande onderworpe was, was egter wolleriger as die ander kulture.

Die aktiefgroeiende V.fungicola-kulture het groei gestaak nadat dit, na 'n aanvanklike groeiperiode in 'n aerobiese omgewing, na 'n anaerobiese omgewing oorgeplaas is. Hieruit is dit dus duidelik dat ook vegetatiewe groei nie in die afwesigheid van suurstof plaasvind nie en moet V.fungicola ook as 'n obligate aeroob geklassifiseer word.

4.5 VOORTSPRUITENDE STUDIES

4.5.1 DIE VOORKOMS VAN DICHOBOTRYS ABUNDANS OP DIE SAMPIOENPLAAS

Soos reeds genoem (4.1.1) het Hennebert (persoonlike mededeling) die sampioenplaas as bron van die geïsoleerde D.abundans betwyfel, maar 'n aerospora-opname het die aanwesigheid van die organisme op die plaas bevestig. Tabel 4.18 lys die swamme wat tydens hierdie opname geïsoleer is. Soos gesien kan word is D.abundans net in die gange en werksareas tussen die sampioenkweekkamers gevind en nie in die kamers self nie. Hieruit kan egter nie afgelei word dat dit nie in die kamers ook voorgekom het nie, aangesien Trichoderma sp., wat altyd in sampioenkweekkamers voorkom, ook net buite die kamers geïsoleer is.

D.abundans is net by een uit vyf geleenthede geïsoleer, maar weer eens is Trichoderma sp., wat óók droë spore het en volop op sampioenplase is, óók net een keer (op dieselfde dag as D.abundans) geïsoleer. Die lae voorkoms van D.abundans op die blootgestelde bakkies moet dus heel waarskynlik aan inherente gebreke in die opnametegniek toegeskryf word. Wat egter belangrik is, is dat die swam, nieteenstaande die metode, wel geïsoleer is en dat D.abundans se assosiasie met die sampioenplaas bevestig kon word. Die moontlikheid dat die isolasie slegs 'n toevallige gebeurtenis was en dat die voorkoms

TABEL 4.18 Swamme geïsoleer tydens 'n aerospora-opname op die Waterford-sampioenplaas tussen 30/4/79 en 13/6/79.

Lokaliteit	Swam
In die kweekkamers	<u>Aspergillus</u> spp. (verskeie)
	<u>Cladosporium</u> spp. (verskeie)
	<u>Fusarium</u> sp.
	<u>Penicillium</u> spp. (verskeie)
	<u>Rhizopus</u> sp.
	Steriele kulture (verskeie)
In die gange tussen die kweekkamers	<u>Alternaria</u> sp.
	<u>Aspergillus</u> spp. (verskeie)
	<u>Cladosporium</u> sp.
	<u>Dichobotrys abundans</u>
	<u>Fusarium</u> sp.
	<u>Penicillium</u> spp. (verskeie)
	<u>Rhizopus</u> sp.
<u>Trichoderma</u> sp.	
	Steriele kulture (verskeie)

daarvan in die atmosfeer onafhanklik van die bestaan van die sampioenplaas gestaan het, word sterk betwyfel, veral gesien in die lig daarvan dat hierdie swam nog nooit voorheen uit Suid-Afrika aangeteken is nie en dus klaarblyklik nie algemeen voorkom nie. Hierdie oortuigings word verder versterk deur Fergus (1978) en Fagan en Fergus (1984) wie se werk ook op die voorkoms van D.abundans in sampioenkompos dui.

4.5.2 GROEI-INTERAKSIES TUSSEN C.FULVUM, A.BISPORUS EN D.ABUNDANS

4.5.2.1 Die invloed van C.fulvum en D.abundans op A.bisporus-groei

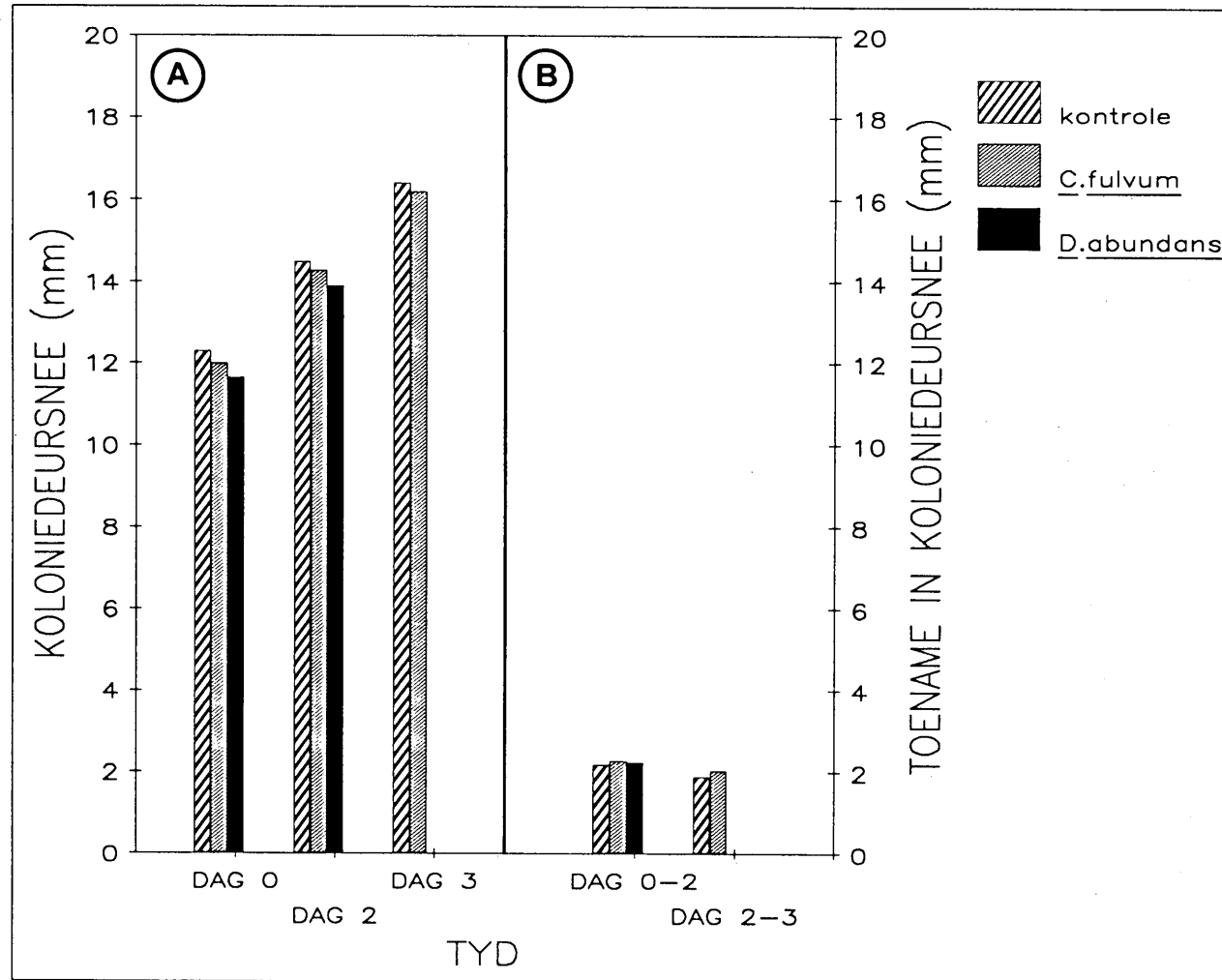
Met die tweekompartement-petribakkies is daar gepoog om te

voorkom dat die vinniggroeiende C.fulvum en D.abundans-kulture die veel stadiger A.bisporus-kulture te gou oorgroei. As gevolg van die perforasies in die tussenskotte (kyk 3.5.2.1) was die agar in die kompartemente aaneenlopend en enige wateroplosbare groei-inhibeerder wat moontlik deur C.fulvum of D.abundans geproduseer sou word, sou dan na die teenoorgestelde kompartement kon diffundeer. Die tussenskot was egter net gedeeltelik effektief en die bakkies was na drie en vier dae deur D.abundans en C.fulvum onderskeidelik oorgroei. Interessant is om daarop te let dat D.abundans eers weerskante van die A.bisporus-kultuur verbygroei voordat dit dit heeltemal oorgroei.

Soos uit Figuur 4.39 gesien kan word was die groeiverskille tussen die onderskeie behandelings baie klein en was daar dan inderdaad ook geen statisties betekenisvolle ($P=0,1$) verskille waarneembaar nie. Met hierdie betrokke eksperimentele opset kon daar dus geen invloed van C.fulvum óf D.abundans op A.bisporus-groei waargeneem word nie.

Dit het op 'n stadium gelyk asof A.bisporus 'n effek op D.abundans-groei gehad het, aangesien laasgenoemde baie weelderiger en wolleriger in die bakkie-helftes met die A.bisporus-kulture as in die helftes waarin dit oorspronklik geïnkuleer is, voorgekom het. Dit het later egter slegs 'n fisiese verskynsel blyk te gewees het, aangesien dieselfde groeipatroon ook op soortgelyke bakkies sonder A.bisporus voorgekom het.

'n Gevaar ten opsigte van die interpretering van resultate soos hierdie spruit uit die feit dat die A.bisporus-kulture op die kontrole- en die D.abundans-bakkies by die aanvang van die eksperiment, op 'n 90 persent betroubaarheidsvlak alreeds betekenisvol in koloniedeursnee verskil het. So 'n aanvanklike verskil sal die interpretering van latere verskille in koloniedeursnee beïnvloed en daarom sal resultate gebaseer op 'n tóename in koloniedeursnee (Figuur 4.39 B) 'n meer betroubare



FIGUUR 4.39 Grafiese voorstelling van die gemiddelde koloniedeursnee (A) en toename in koloniedeursnee (B) van *A. bisporus* op voedingsbodems wat ook met *C. fulvum* en *D. abundans* onderskeidelik gefnokuleer is. Kyk Tabelle B2.22 en B2.23 van Bylaag 2 vir volledige stel data.

weerspieëling van die situasie gee, aangesien dit minder deur die aanvanklike koloniedeursnee beïnvloed sal word.

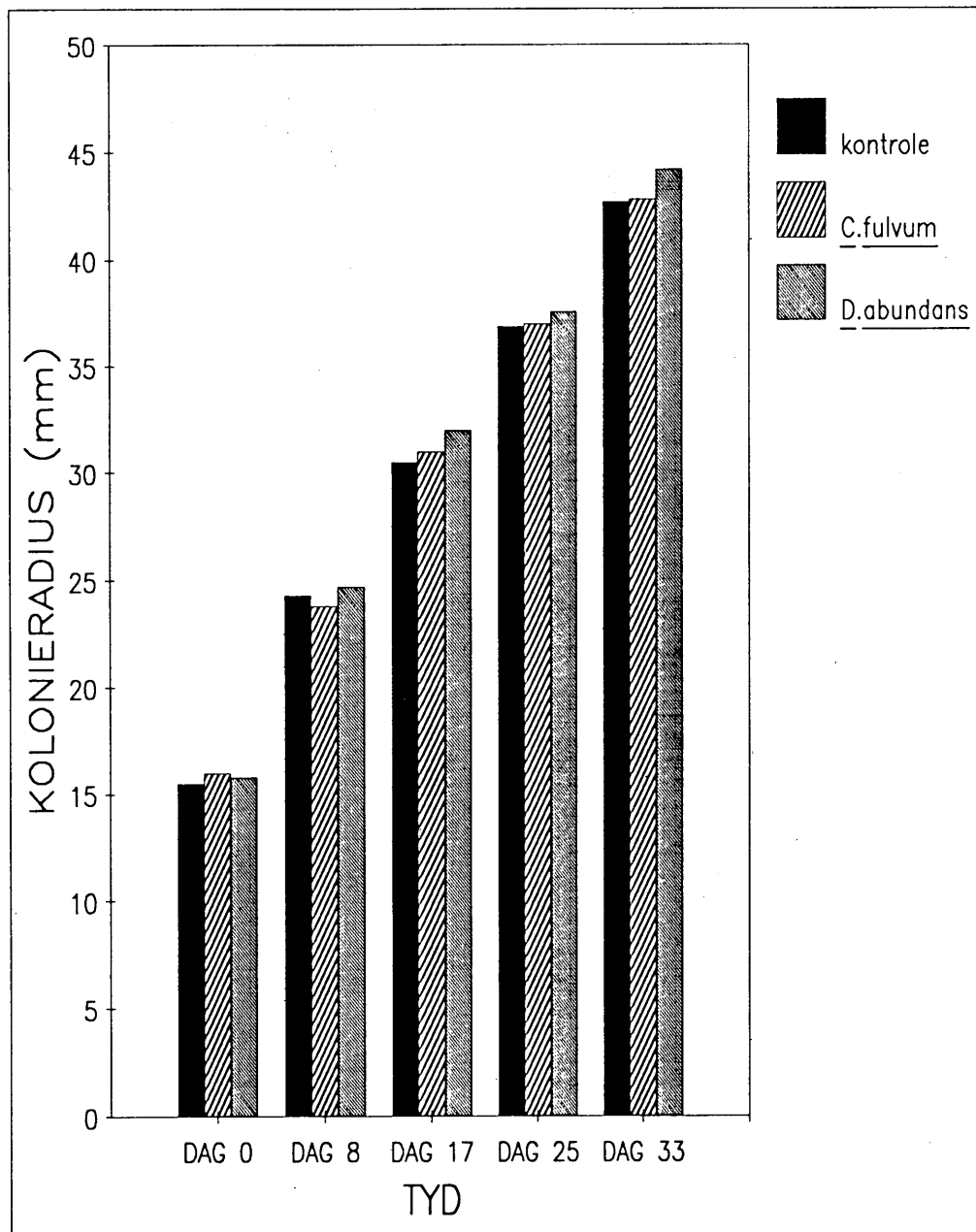
Soos uit Figuur 4.40 gesien kan word het groei-ekstrakte van C.fulvum en D.abundans in die medium bykans geen invloed op die groei van A.bisporus gehad nie. Statisties was daar dan ook geen betekenisvolle verskille tussen die verskillende behandelings op die onderskeie tye nie ($P=0,1$).

Volgens die getuienis wat met hierdie ondersoek verkry is, produseer dus nie C.fulvum óf D.abundans metaboliete wat inhiberend ten opsigte van A.bisporus-groei is nie. Die effense inhibisie deur C.fulvum soos deur Sinden (1971) berig en wat ook uit die verskynsel van vertraagde eerste breke (Van der Vliet, 1960; Stoller, 1968; Van de Geijn, 1976; Vedder, 1978; Harvey *et al.*, 1982) afgelei kan word, moet dus waarskynlik slegs aan 'n kompetering om die beskikbare voedingstowwe toegeskryf word.

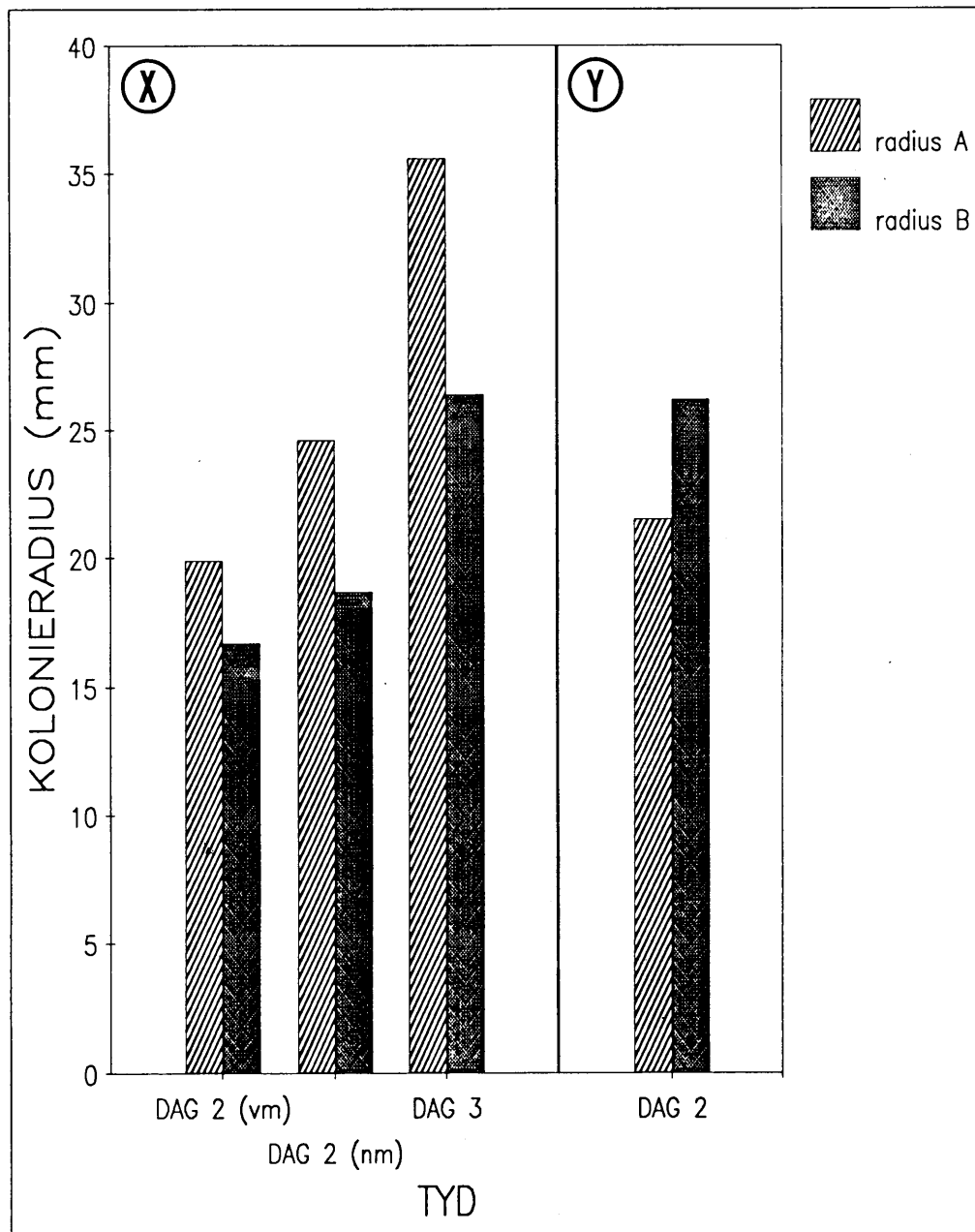
Dit lyk dus ook nie asof die meningsverskille ten opsigte van die invloed van C.fulvum op die groei en ontwikkeling van A.bisporus (kyk 2.1.3) aan 'n moontlike verwarring van D.abundans en C.fulvum, soos in 4.1.1 bespiegel is, toegeskryf kan word nie.

4.5.2.2 Die invloed van A.bisporus op die groei van C.fulvum en D.abundans

Soos uit Figuur 4.41 (X) gesien kan word, was die ontwikkeling van die C.fulvum-kolonies heelwat beter in 'n rigting wég van die A.bisporus-kulture op die petribakkies as in die teenoorgestelde rigting. Die verskille by al die waarnemingstye was statisties hoogs betekenisvol ($P=0,001$). Volgens hierdie resultate het A.bisporus dus 'n besliste inhiberende invloed op C.fulvum-groei en kan dit dan moontlik deels as verklaring dien vir die verskynsel dat C.fulvum dikwels tot 'n groot mate vanaf sampioenbeddings verdwyn namate A.bisporus meer gevestig raak.



FIGUUR 4.40 Grafiese voorstelling van die gemiddelde kolonieradius van *A.bisporus* in die teenwoordigheid van groei-ekstrakte van *C.fulvum* en *D.abundans*. Kyk Tabel B2.24 van Bylaag 2 vir volledige stel data.



FIGUUR 4.41 Grafiese voorstelling van die gemiddelde kolonieradiusse van *C.fulvum* (X) en *D.abundans* (Y) op voedingsbodems wat ook met *A.bisporus* geïnkuleer is. Kyk Tabel B2.25 van Bylaag 2 vir volledige stel data.

Radius A : radius in die rigting weg van die *A.bisporus*-kultuur.

Radius B : radius in die rigting naaste aan die *A.bisporus*-kultuur.

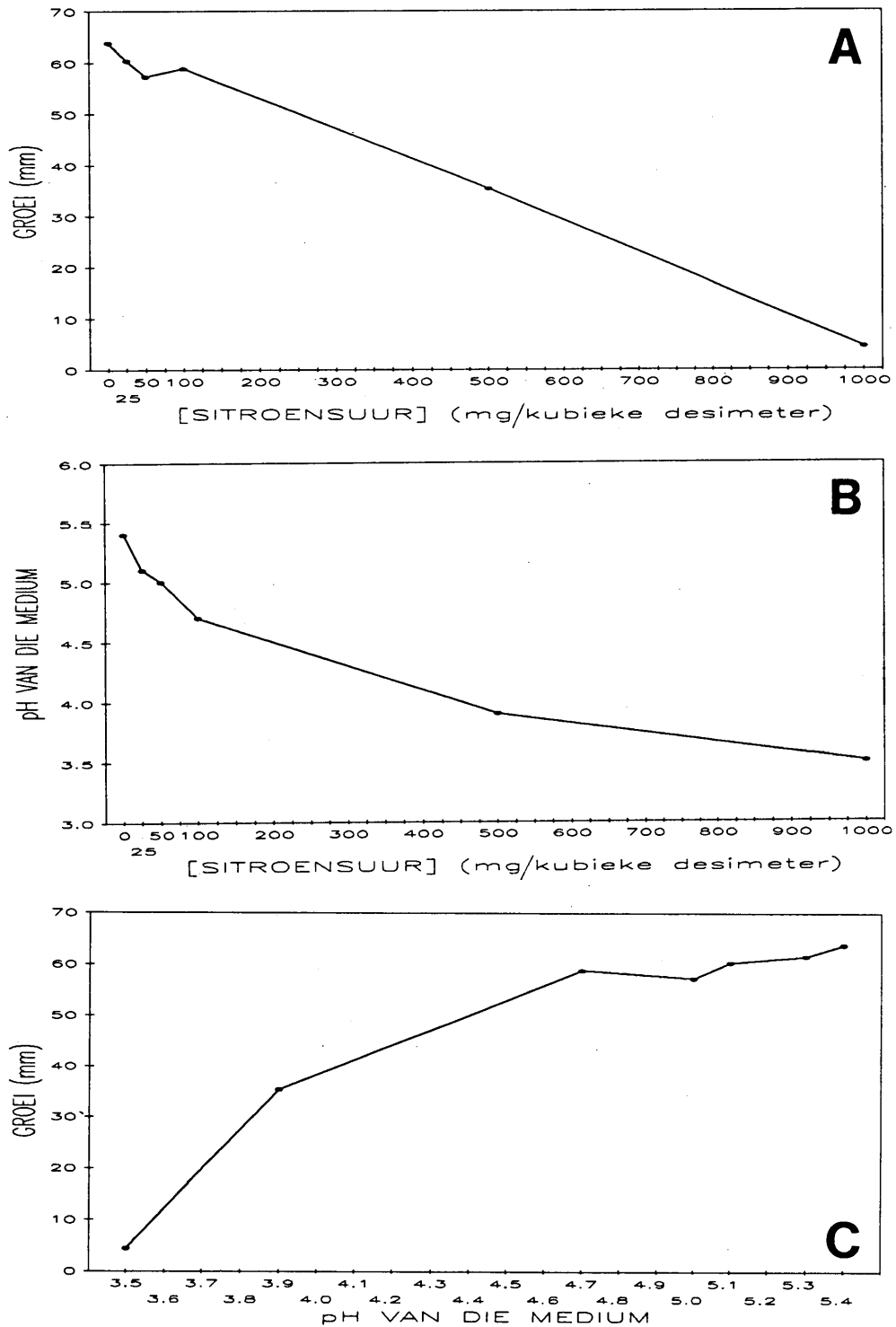
Alhoewel slegs een waarneming as gevolg van die vinnige groei daarvan moontlik was, was daar geen teken van inhibisie van D.abundans deur A.bisporus nie. Soos in Figuur 4.41(Y) gesien kan word, het dit inteendeel voorgekom asof D.abundans-groei deur A.bisporus gestimuleer is. Hierdie verskil was egter net statisties betekenisvol op die 90 persent betroubaarheidsvlak.

4.5.3 DIE INVLOED VAN SITROENSUUR OP DIE GROEI VAN C.FULVUM

Uit Figuur 4.42 kan gesien word dat C.fulvum-groei reglynig met 'n toename in die sitroensuurkonsentrasie in die medium afneem. Alhoewel die resultate tussen 0 en 100 mg.dm⁻³ effens van hierdie reglynige verwantskap afwyk, was daar statisties geen betekenisvolle verskil in groei by hierdie konsentrasies nie (Tabel 4.19) en kan die afwykings aan eksperimentele variasie toegeskryf word. Tot en met 'n konsentrasie van 100 mg.dm⁻³ was daar geen statisties betekenisvolle inhibering in groei waarneembaar nie (Tabel 4.19) en eers by 500 mg.dm⁻³ was die inhibering statisties betekenisvol.

Die sitroensuurkonsentrasies in die McIlvaine-buffer/ADA-medium, waarop geen C.fulvum-groei plaasgevind het nie (kyk 4.4.3.1), het vanaf 577,5 tot 14 626,5 mg.dm⁻³ gewissel. Volgens Figuur 4.42 sal 577,5 mg.dm⁻³ sitroensuur in die medium groei beslis nie heeltemal inhibeer soos wat met die McIlvaine-buffer die geval was nie en sou 'n kolonie van ongeveer 30 mm in deursnee nog verwag kon word.

Alhoewel daar in hierdie ondersoek 'n besliste afname in groei met toenemende sitroensuurkonsentrasie voorgekom het, sou dit egter uiters gevaarlik wees om hierdie waarneming aan 'n toksiese effek van sitroensuur as sulks toe te skryf. Soos óók duidelik uit Figuur 4.42 blyk was daar, soos verwag kon word, 'n definitiewe afname in die pH van die medium met toenemende sitroensuurkonsentrasie. Hieruit, en gedagtig aan die pH-resultate in 4.4.3.1, wil dit dus veel eerder voorkom dat die afname in groei eerder aan 'n pH-effek as aan enige iets anders



FIGUUR 4.42 Grafiese voorstelling van die gemiddelde groei (koloniedeursnee-5mm) van *C. fulvum* na drie dae by verskillende sitroensuurkonsentrasies (A), asook aan die hand van die pH van die medium (C) soos beïnvloed deur die sitroensuurkonsentrasie (B). Kyk Tabel B2.26 van Bylaag 2 vir volledige stel data.

toegeskryf kan word. Die pH-groekromme wat uit hierdie eksperiment verkry is, lê effens meer na links as die kromme in Figuur 4.36. Daar moet egter in gedagte gehou word dat die kromme in Figuur 4.42 op koloniedeursnee gebaseer is, terwyl die vorige op droëmassa berus. Ook het die samestellings van die groeimediums verskil en soos reeds bespreek (4.4.3) kon dit ook 'n invloed op die kromme gehad het.

Uit hierdie resultate blyk dit dus dat dit nie die sitroensuur in die McIlvaine-buffer as sulks was wat die totale inhibisie van *C. fulvum* tot gevolg kon gehad het nie, maar dat ander komplekse in die buffer daarvoor verantwoordelik mag gewees het. Spoorkieming vind wel in 'n kaliumsitraat/dikaliumwaterstoffosfaat-buffer plaas (Fergus, 1971). Die rede vir die groei-inhibering bly dus onbekend en die moontlikheid dat 'n faktor, anders as die buffer, daarvoor verantwoordelik kon gewees het, kan nie uitgesluit word nie.

TABEL 4.19 Uitslag van Student se t-toets op die data verkry uit die kweking van *C. fulvum* by verskillende sitroensuurkonsentrasies (kyk ook Figuur 4.42 en Tabel B2.26). Kruisies verteenwoordig betekenisvolle verskille tussen behandelings ($P=0,001$).

mg. dm^{-3}						
0						
5	0	5				
25	0	0	25			
50	0	0	0	50		
100	0	0	0	0	100	
500	X	X	X	X	X	500
1000	X	X	X	X	X	X

4.6 OPSOMMENDE GEVOLGTREKKING

Uit al die bogemelde eksperimentele data blyk dit dat nie C.fulvum óf V.fungicola veel van die normale, verwagte swamfisiologie-patroon afwyk nie en nie enige buitengewone fisiologiese vereistes het nie. Ten opsigte van V.fungicola is dit in ooreenstemming met die gevolgtrekking van Azéma en Touzé-Soulet (1973). Tensy dit moontlik sou word om die kweking van A.bisporus op algeheel definieerbare sintetiese mediums, waarin die voedingstowwe presies gereguleer kan word, te kon bedryf, wil dit volgens hierdie resultate voorkom asof die fisiologiese vereistes van C.fulvum en V.fungicola nie veel moontlikhede tot beheer deur omgewingsmanipulering of aanpassings in die huidige kweekmetodes bied nie.

OPSOMMING

DIE BIOLOGIE VAN ENKELE FUNGUSOORTE WAT BY DIE KOMMERSIËLE
VERBOUING VAN AGARICUS BISPORUS (LANGE) IMBACH IN
SUID-AFRIKA PROBLEME SKEP

deur

JOHANNES CORNELIUS COETZEE

LEIER: PROFESSOR A. EICKER
DEPARTEMENT: PLANTKUNDE
GRAAD: MAGISTER SCIENTAE

Dit is belangrik om die biologie van skadelike organismes te verstaan sodat enige moontlike swakplekke in die monderings daarvan met toepaslike bestrydingsmaatreëls uitgebuit kan word. Die feit dat daar so weinig omtrent die biologie van Chromelosporium fulvum en Verticillium fungicola, altwee probleemswamme in die sampioenbedryf, bekend is, het tot hierdie studie aanleiding gegee.

Beide swamme groei goed op 'n breë reeks koolstofbronne, maar is relatiewe swak benutters van sellulose. 'n Verskeidenheid van stikstofbronne word ook benut en veral sommige organiese stikstofbronne het goeie groei opgelewer. Beide swamme is mesofilies van aard met die optimum groeitemperatuur vir C.fulvum tussen 28 en 32°C en met 'n sporuleringsoptimum van 28°C. Die optimumtemperatuur vir groei en sporulering by V.fungicola lê tussen 22 en 24°C. Na aanleiding van hierdie ondersoek word die wenslikheid om twee V.fungicola-variëteite op grond van hulle temperatuurvereistes te onderskei, in twyfel

getrek. C.fulvum-groei was betekenisvol swakker in die donker as in die lig, terwyl die omgekeerde vir sporulering waar is. Afwisselende lig het egter beter sporulering as óf lig óf donker tot gevolg gehad. Téén die aanvaarde norm in het rooi lig oënskynlik beter sporulering as lig uit die blou gebied van die spektrum tot gevolg gehad. Lig het weinig effek op die vegetatiewe groei van V.fungicola, maar sporulering was heelwat swakker in die donker as onder enige van die ligbehandelings. Die optimum pH vir C.fulvum- sowel as V.fungicola-groei blyk effens aan die suur kant van neutraal te lê. C.fulvum het nie in 'n medium wat McIlvaine se buffer bevat het, gegroei nie, maar die totale inhibisie daarvan kan nie aan die sitroensuur in die buffer alleen toegeskryf word nie. Beide swamme is obligaat aerobies. Volgens hierdie studie is daar niks buitengewoon ten opsigte van die fisiologiese vereistes van enige van die twee swamme nie.

Dichobotrys abundans mag met C.fulvum op sampioenbeddings verwar word. In vitro het geeneen van die twee swamme egter 'n inhiberende invloed ten opsigte van vegetatiewe sampioengroei gehad nie. Dit lyk egter asof Agaricus bisporus 'n inhiberende invloed op C.fulvum uitoefen.

C.fulvum, sy teleomorf Peziza ostracoderma, asook D.abundans verteenwoordig nuwe swamrekords vir Suid-Afrika.

'n Omvattende literatuuroorsig, opsommend van die huidige kennis ten opsigte van C.fulvum en V.fungicola word verskaf en 'n nuttige nuwe modifikasie van Riddell se dekglasskultuurtegniek word ook beskryf.

SUMMARY

THE BIOLOGY OF CERTAIN PROBLEM-CAUSING FUNGI IN THE
COMMERCIAL CULTIVATION OF AGARICUS BISPORUS
(LANGE) IMBACH IN SOUTH AFRICA

by

JOHANNES CORNELIUS COETZEE

LEADER: PROFESSOR A. EICKER
DEPARTMENT: BOTANY
DEGREE: MAGISTER SCIENTAE

It is important to understand the biology of detrimental fungi in order to exploit possible weaknesses in their armour by means of suitable control measures. The fact that so little is known about the biology of the two mushroom antagonists, Chromelosporium fulvum and Verticillium fungicola, prompted this investigation.

Both fungi were able to utilize a broad range of carbon sources but exhibited relatively poor growth on cellulose. A variety of nitrogen sources were also utilized, and a number of organic nitrogen sources in particular, resulted in good growth. Both fungi are mesophiles. The optimum temperature for C.fulvum growth was between 28 and 32°C while sporulation was best at 28°C. For V.fungicola, growth and sporulation were both optimal between 22 and 24°C. As a result of this investigation doubt arose regarding the rationale of distinguishing two V.fungicola varieties on the basis of their temperature requirements only. C.fulvum growth was

significantly poorer in the dark than in the light, while for sporulation, the opposite held true. Alternating light and darkness resulted in better sporulation than either light or darkness. Contrary to the accepted norm, red light apparently had a more pronounced effect on sporulation than light from the blue part of the spectrum. Light had little effect on vegetative growth of V.fungicola, but under conditions of darkness, sporulation was much poorer than under any of the light treatments applied. The pH optimum for C.fulvum, as well as for V.fungicola growth, was situated slightly towards the acid side of neutral. C.fulvum did not grow in a medium containing McIlvaine's buffer, but this inhibition could not be ascribed solely to the presence of the citric acid in the buffer. Both fungi are obligate aerobes. From these results, there does not seem to be anything exceptional in the physiological requirements of any one of the two fungi.

Dichobotrys abundans can easily be mistaken for C.fulvum on mushroom beds. In vitro however, none of these two fungi had any inhibiting effect on mycelial mushroom growth. Agaricus bisporus on the other hand, seemed to inhibit C.fulvum.

C.fulvum, its teleomorph Peziza ostracoderma, as well as D.abundans represent new records of fungi for South Africa.

A comprehensive literature review, summarizing the existing knowledge on C.fulvum and V.fungicola is supplied, while a useful new modification of Riddell's slide culture technique is also described.

DANKBETUIGINGS

Sonder die energie en insette van persone en instansies te veel om op te noem, sou hierdie werkstuk nooit moontlik gewees het nie. Aan al diegene 'n opregte woord van dank. 'n Spesiale woord van dank egter aan die volgende:

Prof. A. Eicker, vir sy begeesting, hulp, leiding, befondsing, aanmoediging en oneindige geduld wat nodig was vir die voltooiing van hierdie werkstuk.

Professore N. Grobbelaar, J.H. Visser en Braam van Wyk; dr. Frikkie Botha en mnr. Fanie de Meillon, wie se kennis en raad onmisbaar was.

Mnr. Piet Venter vir al sy geduld met die rekenaar.

Al die personeellede van die Departement Plantkunde aan die Universiteit van Pretoria, en in besonder die mikoloë, vir al die raad, hulp, aansporing en vriendskap deur die jare.

Die Skiereilandse Technikon vir die studieverlof wat die afhandeling van hierdie werkstuk moontlik gemaak het, asook vir die waardevolle finansiële steun.

My ouers vir hulle volgehoue hulp en onderskraging tydens my studiejare.

My vrou Lettie vir haar daadwerklike aansporing. Sy moes vir vyf jaar met die "M" en alles wat daarmee gepaard gaan saamleef en het nooit gekla nie.

Laastens aan my Skepper vir die wonderlike gesondheid en krag wat nog altyd my voorreg was om te geniet, en waarsonder hierdie studie onmoontlik sou wees.

CURRICULUM VITAE

JOHANNES CORNELIUS COETZEE SCI.NAT. is op 17 Januarie 1954 te Pretoria gebore. Aan die einde van 1971 matriculeer hy met vier onderskeidings aan die Hoërskool Menlopark.

Na voltooiing van sy diensplig as instrukteur in die Suid-Afrikaanse Lugmag in 1972, ontvang hy in 1973 'n merietebeurs van die Universiteit van Pretoria waar hy vir die BVSc-graad inskryf. Desnieteenstaande keuring vir veeartsenykundige studie te Onderstepoort, besluit hy om sy studie aan die plantkunde te wy en verwerf hy aan die einde van 1976 die BSc-graad met plantkunde en dierkunde as hoofvakke. In 1977 sit hy sy studies met behulp van 'n WNNR-merietebeurs voort en aan die einde van 1977 verwerf hy die graad BSc (Hons.) aan dieselfde universiteit, met laer kriptogame plantkunde as hoofrigting en plantfisiologie as newerigting.

Hy is vanaf die begin van 1978 tot en met die einde van 1979 as tydelik-deeltydse junior lektor, en vanaf die begin tot en met die einde van 1980 as tydelik-voltydse lektor in die Departement Plantkunde, U.P. werksaam. Tydens hierdie tydperk skryf hy vir die MSc-graad in en ontvang vir twee jaar merietebeurse van die WNNR. Na sy verbintenis met die Universiteit van Pretoria sluit hy hom in 1981 by die Navorsingsinstituut vir Plantbeskerming van die destydse Departement van Landbou en Visserye aan, waar hy as landbounavorser in die Mikologiese seksie werksaam is. Met ingang van 1982 word hy as lektor in die Departement Biologiese Wetenskappe, Skiereilandse Technikon aangestel, waar hy ook in 1983 na sy huidige posisie van senior lektor bevorder word.

Hy het reeds verskeie wetenskaplike publikasies die lig laat sien en is lid van die Suid-Afrikaanse Genootskap van Plantkundiges; die Suid-Afrikaanse Vereniging vir Plantpatologie; die Suid-Afrikaanse Vereniging vir Voedselwetenskap en Tegnologie; asook 'n assessorlid van die Suid-Afrikaanse Akademie vir Wetenskap en Kuns.

BYLAE TOT DIE VERHANDELING

BYLAAG 1

SAMESTELLING VAN VOEDINGSMEDIUMS EN CHEMIKALIEË

B1.1 VOEDINGSMEDIUMS

Aartappel-dekstrose-agar:

Aartappels (gedehidreerde aftreksel van 200 g varsmassa)	4g
Dekstrose	20g
Agar	15g
Gedistilleerde water	1000cm ³

ASTM-soutoplossingagar:

Dikaliumwaterstoffosfaat (K ₂ HPO ₄)	0,7g
Kaliumdiwaterstofortofosfaat (KH ₂ PO ₄)	0,7g
Magnesiumsulfaat (MgSO ₄)	0,7g
Ammoniumnitraat (NH ₄ NO ₃)	1,0g
Natriumchloried (NaCl)	0,005g
Ystersulfaat (FeSO ₄)	0,002g
Sinksulfaat (ZnSO ₄)	0,002g
Mangaansulfaat (MnSO ₄)	0,001g
Agar	15g
Gedistilleerde water	1000cm ³

Czapek Dox-voedingsoplossing:

Sukrose	30g
Natriumnitraat (NaNO ₃)	3g
Dikaliumwaterstoffosfaat (K ₂ HPO ₄)	1g
Magnesiumsulfaat (MgSO ₄)	0,5g
Kaliumchloried (KCl)	0,5g
Ystersulfaat (FeSO ₄)	0,01g
Gedistilleerde water	1000cm ³

Moutekstrakagar:

Maltose (tegniese graad)	12,75g
Dekstrien (Difco)	2,75g
Gliserol	2,35g
Bacto-pepton	0,78g
Agar	15g
Gedistilleerde water	1000cm ³

Moutekstrakvoedingsoplossing:

Die samestelling verskyn nie op die etiket nie, maar volgens die Difco-handleiding (Anoniem, 1953) is dit volgens die metode van Thom en Church (1926) voorberei:

Los 100g Difco moutekstrak in 900 cm³ gedistilleerde water op. Voeg gedistilleerde water by (ongeveer 100 cm³), om 'n oplossing van agt grade Kaiser (sakkarometer) te lewer. Stel reaksie in op +1,5. Kook vir 15 minute in 'n outoklaaf onder 15 lb. druk. Filtreer deur filtreerpapier en steriliseer vir 10 minute by 15 lb. druk.

B1.2 FIKSEERMIDDELS EN KLEURSTOWWE

Chloor-sink-jodium (Stevens, 1974):

Sinkchloried (ZnCl ₂)	30g
Kaliumjodied (KI)	5g
Jodium (I ₂)	0,89g
Gedistilleerde water	14cm ³

Formalien-asynsuur-alkohol (FAA):

Formalien (37%)	5cm ³
Asynsuur	5cm ³
Etanol (50%)	90cm ³

Gram se jodiumoplossing (Eicker et al, 1978):

Jodium (I ₂)	1g
Kaliumjodied (KI)	2g
Gedistilleerde water	300cm ³

Jood-jood-kalium (I-KI; Stevens, 1974):

Jodium (I ₂)	1g
Kaliumjodied (KI)	1g
Gedistilleerde water	100cm ³

Laktofenol (Smith, 1960) met anilienblou:

Fenol (suiwer kristalle)	20g
Gliserol (suiwer)	40g
Melksuur (stroop, spesifieke digtheid 1,21)	20g
Gedistilleerde water	20g
Anilienblou	0,05g

B1.3 BUFFERS

Clark en Lubs se buffers:
TABEL B1.3.1 Samestelling van Clark en Lubs se buffers.

pH	0,2 M KH- ftalaat (cm ³)	0,2 M HCl (cm ³)	0,2 M NaOH (cm ³)	0,2 M H ₃ B ₃ O ₃ - KCl* (cm ³)	Verdun na (cm ³)
3	50	20,4	-	-	200
4	50	-	0,4	-	200
9	-	-	21,4	50	200

* Bevat 0,2 mol van elke verbinding per dm³ oplossing.

KH-ftalaat	= Kaliumwaterstofftalaat
HCl	= Soutsuur
NaOH	= Natriumhidroksied
H ₃ B ₃	= Boorsuur
KCl	= Kaliumchloried

McIlvaine se buffer:

Voorraadoplossing A : 0,1 M sitroensuur

Voorraadoplossing B : 0,2 M dinatriumwaterstoffosfaat (Na₂HPO₄)

Samestelling van die buffer : x cm³ A+(100-x) cm³ B.

TABEL B1.3.2 Die waarde van x vir die voorbereiding van 'n McIlvaine-bufferreeks van variërende pH.

pH	x (cm ³)
3,5	+69,65
4,0	61,45
5,0	48,50
5,5	+43,12
6,0	36,85
6,5	+29,00
7,0	18,15
7,5	+ 7,75
8,0	2,75

Sorensen se fosfaatbuffer:

Voorraadoplossing A : 1/15 M Kaliumdiwaterstoffosfaat
(9,08g KH₂PO₄.dm⁻³).

Voorraadoplossing B : 1/15 M Dinatriumwaterstoffosfaat
(11,88g Na₂HPO₄.2H₂O.dm⁻³).

TABEL B1.3.3 Samestelling van die fosfaatbuffer by verskillende pH-waardes.

pH	Oplossing A (cm ³)	Oplossing B (cm ³)
5	98,8	1,2
6	87,7	12,3
7	39,2	60,8
8	5,5	94,5

BYLAAG 2

DATATABELLE.

TABEL B2.1 Afmetings van apotekiumstrukture van Peziza ostracoderma.

Apotekiumstrukture							
Meting no.	Apotekium- deursnee (mm)	Askusse		Askospore		Parafise- deursnee (μ m)	
		Lengte(μ m)	Breedte(μ m)	Lengte(μ m)	Breedte(μ m)		
1	11,0	298 *	11,4 *	11,6 x	8,0 x	2,5	
2	5,0	250	12,4	13,4	8,5	3,6	
3	13,5	297	12,1	12,2	8,0	4,1	
4	10,0	275	10,5	13,2	8,0	3,4	
5	12,5	229	11,5	13,3	8,0	3,2	
6	6,0	284	10,4	15,3	8,1	3,5	
7	5,0	259	11,4	14,5	7,9	2,4	
8	11,0	270	12,9	13,7	8,2	3,4	
9	12,0	274	11,9	13,3	7,9	3,8	
10	7,0	309	10,9	13,9	8,3	3,6	
11	7,0	282	11,5	12,9	9,4	3,2	
12	10,0	239	11,3	13,4	7,7	2,6	
13	11,0	286	11,4	14,1	8,4	3,3	
14	4,0	283	11,6	13,4	7,9	3,0	
15	6,0	276	10,2	13,2	9,3	2,8	
16	5,0	269	11,8	13,7	9,4	3,2	
17	8,0	284	12,5	13,4	7,7	3,2	
18	10,0	260	11,1	13,0	8,0	2,4	
19	14,0	285	10,8	13,8	8,5	2,9	
20	12,0	263	10,0	13,0	8,9	2,5	
21	10,0	295	10,5	14,8	9,0	2,9	
22	5,0	286	11,5	13,0	8,0	3,9	
23	8,5	298	11,9	14,5	7,5	2,5	
24	9,5	261	13,0	14,3	7,6	3,1	
25	6,0	261	12,2	14,9	7,5	2,7	
26	2,0	-	-	-	-	-	
27	10,0	-	-	-	-	-	
28	9,0	-	-	-	-	-	
29	3,0	-	-	-	-	-	
30	5,0	-	-	-	-	-	

* en x : Waardes verteenwoordig nie noodwendig die lengte en deursnee van dieselfde askus of askospoor nie.

TABEL B2.2 Droëmassa van C.fulvum na kweking in vloeibare mediums met verskillende koolstofbronne. (eerste eksperiment)

Koolstofbron	Droëmassa in gram						
	Herhalings						
	1	2	3	4	5	\bar{x}	s
Fruktose	0,0188	0,0277	0,0189	0,0354	0,0261	0,0254	0,0069
Galaktose	0,0167	0,0188	0,0252	0,0242	0,0237	0,0217	0,0037
Glukose	0,1721	0,1618	0,1700	0,1685	0,1962	0,1737	0,0131
Inositol	0,0104	0,0456	0,0258	0,0201	0,0221	0,0248	0,0129
Laktose	0,0411	0,0246	0,0332	0,0373	0,0264	0,0325	0,0070
Maltose	0,1967	0,2029	0,1953	0,1850	0,1937	0,1947	0,0065
Mannose	0,2179	0,2472	0,2322	0,2427	0,2028	0,2286	0,0183
Raffinose	0,0572	0,0686	0,0800	0,0522	0,1140	0,0744	0,0246
Sorbose	0,0226	0,0176	0,0214	0,0189	0,0273	0,0216	0,0038
Sukrose	0,1678	0,1479	0,1549	0,1618	0,1488	0,1562	0,0085

**TABEL B2.3 Droëmassa van C. fulvum na kweking in vloeibare mediums met verskillende koolstofbronne.
(tweede eksperiment)**

Koolstofbron	Droëmassa in gram										\bar{x}	s
	Herhalings											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Fruktose	0,1045	0,0607	0,1013	0,0460	0,1157	-	-	-	-	-	0,0856	0,0304
Galaktose	0,0373	0,0498	0,0378	0,0320	0,0264	-	-	-	-	-	0,0367	0,0087
Glukose	0,3802	0,3756	0,2504	0,3119	0,3528	0,3672	0,3327	0,3911	-	-	0,3452	0,0464
Inositol	0,0863	0,0832	0,0396	0,0345	0,0337	-	-	-	-	-	0,0555	0,0269
Laktose	0,0719	0,1343	0,0678	0,0960	0,0318	-	-	-	-	-	0,0804	0,0379
Maltose	0,5190	0,4260	0,4258	0,5121	0,6437	0,4812	0,4425	0,4105	-	-	0,4826	0,0769
Mannose	0,4453	0,6317	0,4861	0,5388	0,6084	0,4138	0,6130	0,6293	0,7122	0,6282	0,5707	0,0956
Raffinose	0,1389	0,1766	0,3060	0,2013	0,1531	-	-	-	-	-	0,1952	0,0663
Sorbose	0,0024	0,0116	0,0190	0,0100	0,0152	-	-	-	-	-	0,0116	0,0062
Sukrose	0,3804	0,3088	0,3396	0,4389	0,3303	0,3951	0,3405	0,3589	-	, -	0,3616	0,0417

TABEL B2.4 Die groei van C. fulvum op drie verskillende koolstofbronne op 'n soliede medium by 22°C.

		Koloniedeursnee in mm							
Koolstofbron	Dag van meting	Herhalings						\bar{x}	s
		1	2	3	4	5	6		
Glukose	3	32,5	31,5	32,0	35,0	30,0	28,0	31,5	2,366
	5	58,5	58,0	59,0	61,0	55,5	47,0	56,5	4,980
	6	73,0	73,0	75,0	77,5	70,5	61,0	71,7	5,724
Maltose	3	31,5	35,0	32,5	37,5	30,5	37,0	34,0	2,933
	5	-	64,0	60,5	67,0	-	55,5	61,8	4,941
	6	-	80,0	78,0	81,5	-	-	79,8	1,756
Sellobiose	3	22,0	25,5	25,0	28,5	27,0	27,5	25,9	2,311
	5	37,5	39,5	43,0	40,5	38,5	39,0	39,7	1,915
	6	46,5	44,5	48,0	47,0	45,5	42,5	45,7	1,966

TABEL B2.5 Droëmassa van V.fungicola na kweking in vloeibare mediums met verskillende koolstofbronne.

Droëmassa in gram

Koolstofbron	Herhalings										\bar{x}	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Arabinose	0,0329	0,0022	0,0066	0,0135	0,0029	0,0009	0,0009	0,0357	0,0025	-	0,0109	0,0138
Fruktose	0,5101	0,1679	0,4923	0,3690	0,0836	0,3805	0,4318	0,0800	0,4845	-	0,3333	0,1755
Galaktose	0,1808	0,4868	0,6050	0,5759	0,5049	0,5089	0,5209	0,5152	-	-	0,4873	0,1300
Glukose	0,6240	0,4499	0,6413	0,5077	0,5482	0,5904	0,6516	0,4744	0,4490	-	0,5485	0,0818
Laktose	0,0033	0,0039	0,0025	0,0024	0,0022	0,0032	0,0026	0,0025	0,0027	0,0078	0,0033	0,0017
Maltose	0,5230	0,5916	0,0780	0,1373	0,1530	0,4526	0,3441	0,5618	0,4123	-	0,3615	0,1951
Mannitol	0,5028	0,6774	0,4079	0,5590	0,5724	0,5017	0,4185	0,5885	0,6685	-	0,5441	0,0962
Mannose	0,4024	0,6430	0,6080	0,4995	0,2505	0,5557	0,4692	0,4953	0,3923	0,4946	0,4811	0,1135
Raffinose	0,4130	0,1543	0,4359	0,2282	0,3773	0,1582	0,2956	0,4277	0,3571	-	0,3164	0,1123
Ribose	0,0164	0,0167	0,0015	0,0201	0,0074	0,0018	0,0009	-	-	-	0,0093	0,0083
Sellobiose	0,2547	0,3003	0,5136	0,1197	0,4797	0,3226	0,4349	0,3609	0,3008	-	0,3430	0,1216
Sorbitol	0,2447	0,2569	0,2025	0,3758	0,2301	0,3225	0,4130	0,3559	0,3772	-	0,3087	0,0764
Sorbose	0,0009	0,0017	0,0033	0,0015	0,0013	0,0022	0,0019	0,0003	0,0138	-	0,0030	0,0041
Sukrose	0,4028	0,4538	0,5239	0,5970	0,5480	0,4658	0,4966	0,4386	0,4882	0,4828	0,4898	0,0560
Xilose	0,0092	0,0420	0,0698	0,0072	0,0047	0,0078	0,0005	-	-	-	0,0202	0,0258

TABEL B2.6 Droëmassa van C. fulvum na kweking in vloeibare mediums met verskillende stikstofbronne.

Stikstofbron	Droëmassa in gram										
	Herhalings									\bar{x}	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
Ammoniumnitraat	0,0496	0,0454	0,0432	0,0453	0,0502	0,0441	0,0432	0,0470	0,0502	0,0465	0,0029
Ammoniumsulfaat	0,0099	0,0083	0,0089	0,0098	0,0089	0,0078	0,0126	0,0133	0,0093	0,0099	0,0019
Arginien	0,1929	0,1679	0,2379	0,1819	0,1843	0,2302	0,2060	0,2378	0,2437	0,2092	0,0288
Asparagien	0,3739	0,4600	0,3583	0,4325	0,3335	0,3250	0,3449	0,4669	0,4713	0,3963	0,0608
Glutamien	0,0943	0,0881	0,0959	0,1071	0,1118	0,1023	0,0922	0,1091	0,0834	0,0982	0,0099
Glutamiensuur	0,2278	0,2156	0,1902	0,1853	0,1619	0,1568	-	0,2589	0,1766	0,1966	0,0350
Natriumnitraat	0,0927	0,1736	0,1996	0,1400	0,2396	0,1573	0,1946	0,2151	0,2581	0,1856	0,0512
Natriumnitriet	0,0019	0,0027	0,0014	0,0021	0,0038	0,0025	0,0019	0,0028	0,0021	0,0024	0,0007
Ureum	0,1460	0,1135	0,1770	0,2239	0,2025	0,1285	0,1529	0,1663	0,1749	0,1651	0,0347

TABEL B2.7 Droëmassa van V.fungicola na kweking in vloeibare mediums met verskillende stikstofbronne.

Stikstofbron	Droëmassa in gram										
	Herhalings									\bar{x}	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
Ammoniumnitraat	0,5563	0,6448	0,6238	0,6403	0,6703	0,6463	0,4160	0,6389	-	0,6046	0,0831
Ammoniumsulfaat	0,5200	0,4025	0,6149	0,4828	0,6500	0,2830	0,5163	0,3192	0,5701	0,4843	0,1268
Arginien	0,6730	0,3036	0,5329	0,5821	0,6702	0,6623	0,5329	0,4613	-	0,5523	0,1267
Asparagien	0,6731	0,5891	0,3990	0,2702	0,3690	0,3567	0,5886	0,7109	-	0,4946	0,1651
Glutamien	0,7287	0,6205	0,7470	0,5967	0,7356	0,7495	0,7163	0,6342	0,6951	0,6915	0,0589
Glutamiensuur	0,6833	0,7703	0,7114	0,8128	0,6139	0,6590	0,7312	-	-	0,7117	0,0673
Leusien	0,5082	0,4744	0,5168	0,5346	0,4967	0,4593	-	-	-	0,4983	0,0278
Natriumnitraat	0,7083	0,4028	0,7098	0,6459	0,3343	0,7000	0,6798	0,6686	-	0,6062	0,1494
Natriumnitriet	0,0050	0,0055	0,0045	0,0041	0,0048	0,0044	0,0044	0,0037	0,0030	0,0044	0,0007
Ureum	0,4887	0,4484	0,5518	0,5919	0,5862	0,5719	0,6257	0,6120	-	0,5596	0,0615

TABEL B2.8 Groei van *C. fulvum* by verskillende temperature.

		Groei [(koloniedeursnee-4mm) ÷ 2] in mm													
Tempe- ratuur	Dag	Herhalings									\bar{x}	s	Opmerkings		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9					
4°C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Geen waarneembare groei
9°C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Geen waarneembare groei
12°C	1	Hier en daar hifes van + 1 mm lank									-	-	Nog nie as kolonie meetbaar nie		
	2	Enkele hifes van 3-5 mm lank									-	-	"		
	3	Hifes 5-8 mm lank									-	-	"		
	4	5,75	6,50	6,25	6,50	7,25	7,00	6,00	8,25	-	6,7	0,799	Yl hifes rondom inokulum begin lyk na kolonie		
	5	10,00	9,50	11,00	9,75	8,75	9,50	9,00	9,75	-	9,7	0,681	Baie yl groei. Geen sporulering		
	6	16,25	16,00	16,50	17,00	15,25	17,50	16,25	15,50	-	16,3	0,737	" "		
	7	22,50	22,75	23,00	23,50	23,75	-	21,75	22,50	-	22,8	0,673	" "		
	8	28,00	31,00	27,75	30,00	29,00	33,00	32,50	33,00	-	30,5	2,173	" "		
17°C	1	Yl hifes (ylter as by 22°C en 37°C) van + 2,5 mm lank									-	-	Nog nie as kolonie meetbaar nie		
	2	8,00	9,75	6,75	7,50	4,00	5,75	5,50	4,75	5,50	6,4	1,790	Baie yl groei. Geen sporulering		
	3	14,75	15,50	14,00	14,25	13,25	11,50	14,00	13,00	17,25	14,2	1,620	" "		
	4	30,00	23,25	21,75	23,75	24,25	19,25	25,25	23,00	29,50	24,4	3,452	Yl groei.		
	5	40,5+	35,25	33,00	37,00	40,00	30,50	38,50	34,50	40,5+	36,6	3,573	" Sporulering begin net.		
	6	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	0	Yl groei. Redelike sporulering by sommige		
22°C	1	3,00	2,00	2,50	3,25	5,50	5,00	3,75	4,00	3,50	3,6	1,119	Ylerige groei		
	2	15,00	13,50	14,25	14,75	12,75	13,25	12,50	14,50	-	13,8	0,943	Yler as by 37°C		
	3	30,50	31,00	33,25	32,25	25,00	30,75	29,00	31,00	28,75	30,2	2,391	Sporulering net op een bakkie		
	4	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	0	Sporulering goed, maar veel swakker as by 28°C en 32°C		
28°C	1	10,00	8,25	9,00	9,50	8,50	10,00	9,00	10,00	9,50	9,3	0,659	Digte groei		
	2	35,50	34,50	26,00	29,00	37,50	37,50	30,50	39,00	31,25	33,4	4,441	Groei baie soos by 32°C. Sporulering begin		
	3	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	0	Sterk sporulering		
32°C	1	8,25	10,25	9,00	11,25	11,25	10,50	9,00	10,25	7,75	9,7	1,271	Digte groei		
	2	31,50	33,50	-	34,50	33,00	-	32,75	33,75	33,50	33,2	0,940	Sporulering begin goed		
	3	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	0	Sterk sporulering		
37°C	1	1,50	3,00	1,50	1,00	1,00	1,00	-	-	-	1,5	0,775	Ylerige groei		
	2	18,25	20,50	20,50	19,00	18,25	15,50	-	-	-	18,7	1,855	Groei digter as by 22°C. Geen spore		
	3	34,50	38,00	35,50	36,50	35,50	35,50	-	-	-	35,9	1,201	Geen sporulering		
	4	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	40,5+	-	-	-	40,5+	0	Enkele bakkies begin sporuleer. Konidiofore swak ontwikkel met min spore		
42°C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Geen groei	

**TABEL B2.9 Sporulering van C. fulvum by verskillende temperature
(spore.cm⁻³ spoorsuspensie).**

		Spoortelling (x10 ⁴) na 4 dae											
Tempe- ratuur	Afstand vanaf inokulasiepunt	Herhalings										\bar{x}	s
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
17°C		Geen sporulering											
22°C	20 mm	0	0	0	0	0	1,0	0	0,5	0	0	0,15	0,337
	40 mm	0	0	0	0	1	1,5	0	0,0	0	0	0,25	0,540
28°C	20 mm	2,5	2,5	2	0,5	3	4,5	0	1	2	2,5	2,05	1,301
	40 mm	11,0	12,0	14	16,0	9	16,0	14	10	13	8,0	12,30	2,791
31°C	20 mm	2,5	6	2,5	1	6	1	4,5	6,5	9	1	4	2,809
	40 mm	4,5	6	0,5	2	1	0	1,5	2	2,5	0	2	1,944
36°C		Geen sporulering											

TABEL B2.10 Groei van *V.fungicola* by verskillende temperature.

		Koloniedeursnee (mm)														
Tempe- ratuur	Dag	Herhalings										\bar{x}	s	Opmerkings		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10					
4°C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Geen waarneembare groei.
	4	1,75	1,00	2,00	2,25	1,00	1,75	2,00	1,00	1,50	1,00	1,5	0,492			
	7	5,50	6,25	7,00	8,50	6,00	6,50	7,00	5,50	7,00	5,00	6,4	1,014			
	8	8,00	8,00	9,00	10,75	8,00	8,75	9,25	7,25	9,00	7,25	8,5	1,057	Kolonierende donsig.		
10°C	9	9,25	10,25	11,25	12,75	10,00	10,25	10,75	9,00	11,75	9,25	10,5	1,201			
	11	12,50	13,00	14,00	15,00	12,50	12,75	14,00	12,25	15,00	12,00	13,3	1,117			
	13	16,50	16,00	17,25	18,00	16,00	16,50	16,75	15,75	18,00	15,50	16,6	0,884			
	14	18,00	18,25	19,00	19,75	18,00	18,25	19,00	18,00	20,00	17,50	18,6	0,825			
	4	7,25	6,25	6,00	6,00	5,75	6,00	5,25	5,25	5,50	5,75	5,9	0,580			
	7	19,50	18,50	18,00	18,00	18,50	17,50	17,00	18,00	17,00	18,50	18,1	0,762	Kolonierende yl en donsig,		
	8	24,00	22,25	23,00	22,50	22,50	22,50	21,00	22,00	22,25	21,75	22,4	0,784	maar minder so as by 10°C.		
17°C	9	26,75	25,25	25,25	25,00	25,00	25,25	24,25	24,75	25,25	24,50	25,1	0,669			
	11	32,00	31,00	30,75	30,75	31,00	31,50	29,75	31,00	31,00	30,00	30,9	0,648			
	13	39,00	37,75	37,00	37,50	37,75	37,75	36,50	37,00	37,00	36,50	37,4	0,748			
	14	40,50	40,00	39,50	39,75	39,50	39,75	39,00	39,00	39,50	38,75	39,5	0,520			
	4	13,00	15,00	13,00	-	12,75	14,75	14,25	13,50	14,25	14,00	13,8	0,810			
	7	34,00	36,00	35,50	-	34,00	36,00	35,50	35,25	35,00	35,00	35,1	0,741			
	8	40,00	42,00	40,75	-	40,00	41,75	41,75	41,25	41,25	41,50	41,1	0,741			
22°C	9	46,25	46,50	46,00	-	45,75	47,00	47,00	46,50	46,75	46,50	46,5	0,423			
	11	55,50	56,00	56,00	-	55,50	57,25	56,50	56,00	56,25	56,25	56,1	0,532			
	13	67,25	68,25	67,75	-	67,50	68,75	68,25	68,00	67,50	67,75	67,9	0,470			
	14	70,00	71,75	71,50	-	70,00	71,75	71,75	71,25	71,00	71,50	71,2	0,707			

TABEL B2.10 (Vervolg)

		Koloniedeursnee (mm)												
Tempe- ratuur	Dag	Herhalings										\bar{x}	s	Opmerkings
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
24°C	4	13,75	15,25	14,00	14,00	14,00	14,00	15,00	14,75	15,00	15,25	14,5	0,601	
	7	34,00	35,25	34,50	34,75	35,00	34,25	36,00	34,25	35,00	35,50	34,9	0,626	
	8	39,50	40,50	39,75	39,50	39,75	39,00	41,50	39,75	40,50	41,00	40,1	0,773	
	9	45,25	45,75	45,00	44,50	45,75	44,75	47,50	45,00	46,00	46,25	45,6	0,882	
	11	54,50	55,25	55,00	54,00	55,00	53,00	56,00	54,50	55,50	55,50	54,8	0,866	
	13	65,50	66,50	66,00	64,50	67,00	65,00	67,75	66,50	67,00	67,25	66,3	1,039	
	14	71,50	72,25	71,50	70,00	71,50	71,00	73,00	72,00	71,75	72,75	71,7	0,862	
27°C	4	9,00	10,25	10,00	11,50	10,50	8,50	10,25	11,50	11,25	9,50	10,2	1,024	
	7	17,75	20,75	20,00	-	20,00	18,00	20,50	19,50	21,00	19,50	19,7	1,139	
	8	20,00	23,00	22,50	-	22,75	19,75	21,50	22,50	23,25	21,75	21,9	1,269	
	9	22,00	25,00	24,00	-	24,50	21,50	-	24,25	25,25	24,25	23,8	1,362	
	11	25,50	28,75	27,50	-	27,50	25,50	-	28,00	28,00	26,75	27,2	1,186	
	13	29,00	32,50	30,50	-	31,25	-	-	-	-	29,75	30,6	1,353	
	14	31,25	34,00	32,25	-	33,00	-	-	-	-	30,50	32,2	1,385	
30°C	4	2,00	2,50	3,00	2,50	2,25	2,50	3,00	3,75	1,50	2,00	2,5	0,635	
	7	4,25	5,00	6,00	5,00	4,00	4,25	6,50	7,50	4,50	3,50	5,1	1,252	Kolonies nie mooi rond nie.
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	9	5,00	6,75	9,00	6,75	4,75	5,50	7,50	10,00	6,50	4,25	6,6	1,853	
	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	13	6,00	9,25	10,50	8,75	6,00	7,75	8,00	9,75	6,50	5,50	7,8	1,751	
	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
32°C	4	1,50	0,50	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,236	Slegs 'n witterigheid rondom inokulasiepunt.
Geen verdere groei waarneembaar														
35°C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Geen groei.
37°C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Geen groei.
40°C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Geen groei.

TABEL B2.11 Sporulering van V.fungicola by verskillende temperature (spore.cm⁻³ spoorsuspensie).

Spoortelling (x 10 ⁴) na 12 dae											
Temperatuur	Herhalings									\bar{x}	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
17°C	55,0	30,0	20,0	47,5	70,0	25,0	60,0	40,0	45,0	43,61	16,635
23°C	162,5	102,5	120,0	92,5	87,5	195,0	97,5	85,0	-	117,81	40,077
27°C	72,5	57,5	100,0	60,0	92,5	82,5	115,0	40,0	-	77,50	24,785

TABEL B2.12 Groei van C.fulvum onder verskillende ligbehandelings (koloniedeursnee).

Ligbehandeling	Koloniedeursnee in mm												Sporulering
	Herhalings										\bar{x}	s	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Permanente wit lig	52,0	51,0	52,5	55,0	53,5	60,0	55,5	57,0	50,0	51,0	53,8	3,129	Begin net
Donker	60,0	56,0	57,5	65,0	61,0	58,0	62,5	59,0	57,5	59,5	59,6	2,675	Geen
LD	59,0	56,0	59,0	55,0	59,0	53,5	56,5	56,0	57,5	50,0	56,2	2,839	Begin goed
DL	58,0	50,0	56,5	56,5	59,0	53,0	50,0	53,0	53,5	57,0	54,7	3,206	Begin net
NUV-A	68,0	71,5	71,0	69,5	71,0	73,5	65,0	66,0	64,5	-	68,9	3,180	Begin
NUV-B	63,9	67,2	66,7	65,3	66,7	69,1	61,1	62,0	60,6	-	64,7	2,993	

- LD : Afwisselende lig en donker, beginnende met lig.
 DL : Afwisselende lig en donker, beginnende met donker.
 NUV-A : Naby-ultraviolet lig soos gemeet by 30°C.
 NUV-B : Naby-ultraviolet lig minus 6%.

TABEL B2.13 Droëmassa van C.fulvum na kweking in 'n vloeibare medium onder verskillende ligtoestande.

Ligbehandeling	Droëmassa in gram											
	Herhalings										\bar{x}	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Permanente wit lig	0,0280	0,0265	0,0245	0,0248	0,0252	0,0262	0,0264	0,0263	0,0258	-	0,0260	0,0011
Donker	0,0197	0,0236	0,0277	0,0208	0,0266	0,0197	0,0210	0,0233	0,0232	0,0242	0,0230	0,0027
LD	0,0243	0,0268	0,0285	0,0277	0,0283	0,0254	0,0253	0,0264	0,0276	-	0,0267	0,0015
DL	0,0264	0,0296	0,0260	0,0265	0,0270	0,0287	0,0269	0,0275	0,0284	0,0280	0,0275	0,0012

LD : Afwisselende lig en donker, beginnende met lig.

DL : Afwisselende lig en donker, beginnende met donker.

TABEL B2.14 Sporulering van C. fulvum onder verskillende ligbehandelings (spore.cm⁻³ spoorsuspensie).

		Spoortelling (x10 ³) na 5 dae											
Ligbehan- deling	Afstand vanaf inokulasiepunt	Herhalings										\bar{x}	s
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Wit lig	20 mm	0	5	10	0	0	10	0	0	10	-	3,89	4,859
	40 mm	0	-	0	-	0	0	10	0	5	-	2,14	3,934
Donker	20 mm	0	0	5	10	0	0	0	10	0	-	2,78	4,410
	40 mm	5	5	5	15	10	0	5	5	20	-	7,78	6,180
LD	20 mm	10	5	10	5	-	25	15	5	0	-	9,38	7,763
	40 mm	30	0	55	40	20	-	30	55	50	45	36,11	18,162
DL	20 mm	20	5	0	-	10	5	0	10	10	-	7,50	6,547
	40 mm	10	15	-	-	35	35	-	-	5	-	20,00	14,142

TABEL B2.14 (Vervolg)

		Spoortelling ($\times 10^3$) na 5 dae												
Ligbehan- deling	Afstand vanaf inokulasiepunt	Herhalings										\bar{x}	s	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Blou	20 mm	5	30	10	0	10	5	0	5	25	-	10,00	10,607	
	40 mm	0	5	0	10	0	10	5	0	0	0	3,00	4,216	
Groen	20 mm	10	15	0	15	10	5	15	25	-	-	11,88	7,530	
	40 mm	0	5	10	10	30	0	0	20	-	-	9,38	10,836	
Rooi	20 mm	15	15	0	20	15	30	15	15	0	-	13,89	9,280	
	40 mm	10	25	5	40	45	15	5	25	35	-	22,78	15,023	
Verrooi	20 mm	5	35	15	15	15	5	5	0	5	5	10,50	10,124	
	40 mm	15	15	15	30	15	10	15	20	5	10	15,00	6,667	

LD : Afwisselende lig en donker, beginnende met lig.

DL : Afwisselende lig en donker, beginnende met donker.

TABEL B2.15 Groei van V.fungicola onder verskillende ligbehandelings (koloniedeursnee).

		Koloniedeursnee in mm											
Ligbehandeling	Dag	Herhalings									\bar{x}	s	Opmerkings
		1	2	3	4	5	6	7	8	9			
Lig	2	10,75	10,50	12,00	12,00	12,00	12,00	11,50	10,50	12,00	11,5	0,690	
	4	23,50	22,50	24,00	23,00	24,00	22,00	24,50	24,00	24,50	23,6	0,882	
	6	31,00	31,50	32,00	30,50	32,50	30,00	32,00	32,50	32,50	31,6	0,928	
	7	37,00	37,50	37,50	37,00	38,00	36,25	38,50	38,25	38,00	37,6	0,716	
	9	50,00	50,75	50,50	50,00	51,00	48,50	51,00	51,25	51,50	50,5	0,910	
	10	55,75	55,75	55,25	55,50	56,50	55,00	56,50	55,50	56,00	55,8	0,515	
	11	59,75	58,75	60,00	59,00	60,00	58,25	59,00	60,50	60,50	59,5	0,805	Koloniekleur: Soos onder blou, maar donkerder
Donker	2	11,50	12,50	11,00	11,00	11,00	13,00	10,50	12,50	13,00	11,8	0,972	
	4	23,75	25,00	23,25	24,00	23,50	25,50	22,75	24,25	25,50	24,2	0,984	
	6	29,50	31,75	31,50	32,50	31,50	31,00	31,25	31,25	31,75	31,3	0,810	
	7	35,00	35,50	36,50	36,75	35,50	36,50	36,00	37,00	36,25	36,1	0,663	
	9	47,50	48,25	47,00	47,00	47,50	49,00	47,00	48,50	47,25	47,7	0,740	
	10	51,50	51,00	49,75	50,00	53,00	53,00	49,50	52,00	50,50	51,1	1,329	
	11	56,00	55,00	54,00	55,00	54,75	57,50	53,50	55,25	54,00	55,0	1,205	Koloniekleur: Geen verbruining

TABEL B2.15 (Vervolg)

Koloniedeursnee in mm

Digitised by the Department of Library Services in support of open access to information, University of Pretoria, 2021

Ligbehan- deling	Dag	Herhalings										\bar{x}	s	Opmerkings
		1	2	3	4	5	6	7	8	9				
LD	2	11,00	11,50	12,00	12,00	11,00	12,00	11,00	11,50	11,00	11,4	0,464		
	4	22,00	23,00	24,00	23,50	24,00	24,00	22,00	23,50	24,00	23,3	0,829	Plaas in donker	
	6	30,00	30,50	32,00	32,50	32,00	32,25	29,50	32,25	32,00	31,4	1,123		
	7	35,50	37,00	37,50	38,25	38,50	38,50	35,25	37,50	38,50	37,4	1,263		
	9	49,00	49,00	49,50	50,25	50,25	50,25	47,00	50,00	50,00	49,5	1,057		
	10	55,00	54,50	53,00	55,00	55,25	55,00	52,00	55,00	55,00	54,4	1,132	Plaas in donker	
	11	58,00	58,00	-	58,00	58,50	59,00	57,50	58,00	58,00	58,1	0,443	Koloniekleur: Verbruin vanaf middel	
DL	2	10,50	10,50	11,50	11,00	12,50	12,50	11,00	11,50	11,00	11,3	0,750		
	4	22,75	23,00	24,00	24,00	24,50	25,00	23,25	23,25	23,50	23,7	0,737	Plaas in lig	
	6	30,50	30,50	32,00	32,00	32,00	33,00	31,00	30,50	31,00	31,4	0,894		
	7	36,50	36,50	37,00	37,00	37,50	38,25	36,50	36,00	37,00	36,9	0,661		
	9	49,00	49,00	49,75	49,75	50,00	51,00	50,00	-	50,00	49,8	0,637		
	10	54,75	54,75	55,50	55,00	55,75	57,25	54,50	-	55,00	55,3	0,884	Plaas in lig	
	11	58,00	58,00	59,50	58,00	59,00	59,00	58,50	-	59,00	58,6	0,582	Koloniekleur: Verbruin vanaf middel	

TABEL B2.15 (Vervolg)

Koloniedeursnee in mm

Digitised by the Department of Library Services in support of open access to information, University of Pretoria, 2021

Ligbehan- deling	Dag	Herhalings											Opmerkings
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	\bar{x}	s	
NUV	2	12,00	12,00	11,00	11,25	11,50	11,50	11,00	12,00	11,50	11,5	0,404	
	4	24,00	22,50	22,50	22,50	23,50	24,00	23,50	23,25	25,00	23,4	0,848	
	6	32,00	30,50	30,00	31,00	31,50	31,50	31,50	30,50	32,25	31,2	0,748	
	7	38,25	36,75	35,50	36,25	37,50	36,75	37,00	36,50	38,75	37,0	1,003	
	9	47,75	46,00	46,00	46,25	48,00	48,00	46,00	46,50	49,00	47,1	1,137	
	10	52,00	50,00	51,50	50,00	51,50	52,00	-	51,50	53,50	51,5	1,134	
	11	57,00	54,00	-	55,25	54,00	56,00	-	55,00	55,75	55,3	1,084	Koloniekleur: Verbruin vanaf middel
Blou	11	58,25	59,00	58,00	58,50	59,00	58,50	58,50	58,50	59,50	58,6	0,453	Koloniekleur: Effens geler as onder groen lig. Gryserige middel
Groen	11	58,00	57,50	57,00	57,25	57,00	58,00	57,50	58,50	58,00	57,6	0,517	Koloniekleur: Lig-ligbruin
Rooi	11	58,50	57,50	58,00	58,50	58,50	58,00	57,50	58,50	58,00	58,1	0,417	Koloniekleur: Valerige skynsel
Verrooi	11	56,00	54,75	55,00	55,50	55,00	55,50	55,50	55,00	55,00	55,3	0,395	Koloniekleur: Geen verbruining

TABEL B2.16 Droëmassa van V.fungicola na kweking in vloeibare mediums onder verskillende ligtoestande.

Ligbehandeling	Droëmassa in gram											\bar{x}	s
	Herhalings												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Permanente wit lig	0,2292	0,2502	0,4360	0,1970	0,3133	0,4201	0,1876	0,1683	0,1596	0,1801	0,2541	0,1023	
Donker	0,3611	0,4474	0,4845	0,4042	0,4392	0,2432	0,4455	0,3660	0,4268	0,2427	0,3861	0,0842	
LD	0,2664	0,1560	0,2578	0,3408	0,2600	0,3127	0,3122	0,2012	0,2059	0,2778	0,2591	0,0573	
DL	0,3981	0,4804	0,3756	0,3867	0,2055	0,2421	0,4876	0,4954	0,3840	0,3077	0,3763	0,1000	

LD : Afwisselende lig en donker, beginnende met lig.

DL : Afwisselende lig en donker, beginnende met donker.

TABEL B2.17 Spoorkieming van V.fungicola onder lig- en donker-
toestande na 22 uur by kamertemperatuur.

Mikroskoopvelde (Tellings)	Persentasie spoorkieming		
	Lig	Donker	
	1	80,6	93,8
	2	85,7	89,5
	3	76,9	90,0
	4	100,0	100,0
Bakkie 1	5	90,0	100,0
	6	100,0	100,0
	7	100,0	100,0
	8	100,0	92,3
	9	100,0	92,3
	10	88,9	85,7
	1	80,0	100,0
	2	100,0	100,0
	3	100,0	100,0
	4	81,8	94,4
	5	95,8	92,9
Bakkie 2	6	100,0	100,0
	7	93,1	100,0
	8	89,5	100,0
	9	96,0	89,7
	10	89,5	100,0
Gemiddeld		92,4	96,0
Standaardafwyking		7,988	4,836

TABEL B2.18 Sporulering van V.fungicola onder verskillende ligbehandelings (spore.cm⁻³ spoorsuspensie).

Ligbehandeling	Spoortelling (x10 ⁴) na 11 dae										
	Herhalings									\bar{x}	s
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
Wit lig	115,0	185,0	347,5	125,0	120,0	197,5	207,5	252,5	190,0	193,333	73,9510
Donker	47,5	17,5	107,5	32,5	62,5	137,5	102,5	47,5	95,0	72,222	40,0477
Blou	142,5	305,0	187,5	207,5	202,5	157,5	117,5	-	-	188,571	60,8936
Groen	130,0	195,0	287,5	175,0	105,0	197,5	170,0	175,0	95,0	170,000	57,7576
Rooi	130,0	112,5	215,0	232,5	175,0	200,0	207,5	95,0	-	170,938	51,8056
Verrooi	272,5	222,5	202,5	152,5	142,5	295,0	135,0	222,5	-	205,625	59,5631

TABEL B2.19 Droëmassa van C.fulvum na kweking in vloeibare mediums by verskillende pH's.

pH	Droëmassa in gram							pH na groei
	Herhalings					\bar{x}	s	
	1	2	3	4	5			
4,0	0,0267	0,0186	0,0242	0,0225	0,0213	0,0227	0,00304	4,02
4,5	0,0704	0,0714	0,0763	0,0737	0,0733	0,0730	0,00228	4,41
5,0	0,1657	0,1756	0,1665	0,1626	0,1599	0,1661	0,00594	4,71
5,5	0,2200	0,2516	0,2461	0,2431	0,2303	0,2382	0,01284	4,85
6,0	0,2674	0,2687	0,2921	0,2845	0,2949	0,2815	0,01288	4,99
6,5	0,3068	0,3078	0,2939	0,3081	0,2949	0,3023	0,00724	5,09
7,0	0,3167	0,3059	0,2995	0,2991	0,2567	0,2956	0,02287	5,14
7,5	0,3004	0,2931	0,3038	0,2514	0,2583	0,2814	0,02466	5,20
8,0	0,2668	0,2625	0,3011	0,2957	0,2358	0,2724	0,02662	5,31

TABEL B2.20 Droëmassa van V.fungicola na kweking in vloeibare mediums by verskillende pH's.

pH	Droëmassa in gram												pH na groei
	Herhalings										\bar{x}	s	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
3,15	0,0072	0,0092	0,0086	0,0102	0,0060	0,0089	0,0092	0,0114	0,0061	0,0051	0,0082	0,00202	3,07
4,20	0,0359	0,0343	0,0425	0,0342	0,0391	0,0394	0,0365	0,0366	0,0406	-	0,0377	0,00287	4,27
5,70	0,0875	0,0761	0,0534	0,0530	0,0676	0,0713	0,0657	0,0719	0,0645	0,0537	0,0665	0,01110	5,82
6,10	0,0788	0,0768	0,0598	0,0612	0,0569	0,0853	0,0515	0,0869	0,0650	0,0674	0,0690	0,01229	6,16
7,05	0,1031	0,0593	0,0858	0,0758	0,0674	0,0539	0,0772	0,0548	0,0441	0,0711	0,0693	0,01735	7,02
8,00	0,0267	0,0253	0,0262	0,0376	0,0277	0,0403	0,0410	0,0269	0,0362	0,0235	0,0311	0,00679	7,83
9,10	0,0064	0,0069	0,0081	0,0096	0,0075	0,0199	0,0155	0,0082	0,0088	0,0054	0,0096	0,00454	8,76

TABEL B2.21 Die invloed van anoksie op die groei van C.fulvum en V.fungicola.

		Koloniedeursnee in mm												
Swam	Lugbehandeling	Herhalings										\bar{x}	s	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
<u>C.fulvum</u>	A	52,5	55,5	53,5	58,0	53,0	54,5	61,0	54,0	57,0	57,5	55,65	2,6879	
	B	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0000	
	C	47,5	50,5	47,0	48,0	45,0	44,5	42,0	45,5	40,0	46,0	45,60	3,0074	
<u>V.fungicola</u>	A	35,0	33,0	33,0	33,5	35,0	34,5	35,0	35,0	34,5	34,5	34,30	0,8233	
	B	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0000	
	C	36,0	37,0	34,0	35,0	34,0	35,0	-	-	-	-	35,17	1,1690	

- A: Bakkies wat direk na inokulering onder aerobiese toestande geïnkubeer is.
 B: Bakkies wat direk na inokulering onder anaerobiese toestande geïnkubeer is.
 C: Bakkies wat na inokulering eers onder anaerobiese toestande en later onder aerobiese toestande geïnkubeer is.

TABEL B2.22 Die invloed van C.fulvum en D.abundans op die groei van A.bisporus (koloniedeursnee).

		Koloniedeursnee van <u>A.bisporus</u> (mm)							
Tyd van meting(Dag)	Behandeling	Herhalings						\bar{x}	s
		1	2	3	4	5	6		
0	K	12,50	12,00	13,00	12,00	12,00	-	12,30	0,447
	C.f.	11,00	12,00	13,00	12,00	12,00	12,00	12,00	0,632
	D.a.	12,00	12,00	12,50	11,50	11,00	11,00	11,67	0,606
2	K	14,50	14,50	16,00	13,50	14,00	-	14,50	0,935
	C.f.	13,00	14,50	15,25	14,00	14,00	15,00	14,29	0,813
	D.a.	13,00	14,25	16,00	14,25	13,00	13,00	13,92	1,190
3	K	16,50	16,50	18,00	15,75	15,25	-	16,40	1,040
	C.f.	15,00	16,00	18,00	16,50	15,50	-	16,20	1,151
	D.a.	-	-	-	-	-	-	-	-

K = Kontrole

C.f. = Chromelosporium fulvum

D.a. = Dichobotrys abundans

TABEL B2.23 Die invloed van C.fulvum en D.abundans op die groei van A.bisporus (toename in koloniedeursnee).

		Toename in <u>A.bisporus</u> -koloniedeursnee (mm)							
		Herhalings						\bar{x}	s
Groeiperiode	Behandeling	1	2	3	4	5	6		
Dag 0 tot 2	K	2,00	2,50	3,00	1,50	2,00	-	2,20	0,570
	C.f.	2,00	2,50	2,25	2,00	2,00	3,00	2,29	0,401
	D.a.	1,00	2,25	3,50	2,75	2,00	2,00	2,25	0,837
Dag 2 tot 3	K	2,00	2,00	2,00	2,25	1,25	-	1,90	0,379
	C.f.	2,00	1,50	2,75	2,50	1,50	-	2,05	0,570

K = Kontrole

C.f. = Chromelosporium fulvum

D.a. = Dichobotrys abundans

TABEL B2.24 Die invloed van groeiekstrakte van C.fulvum en D.abundans op die groei van A.bisporus.

		Kolonieradius van <u>A.bisporus</u> (mm)							
Tyd van meting (Dag)	Behandeling	Herhalings						\bar{x}	s
		1	2	3	4	5	6		
0	K	16,0	16,0	14,0	15,0	16,5	-	15,5	1,000
	C.f.	16,5	16,0	16,5	15,0	16,0	16,0	16,0	0,548
	D.a.	16,0	18,0	16,5	16,0	15,0	13,5	15,8	1,506
8	K	25,0	24,0	21,5	23,0	28,0	-	24,3	2,439
	C.f.	24,5	23,5	24,0	26,0	23,0	22,0	23,8	1,366
	D.a.	24,0	30,5	24,0	25,0	21,5	23,0	24,7	3,093
17	K	31,0	31,0	29,0	31,0	-	-	30,5	1,000
	C.f.	30,0	30,5	30,5	35,0	30,0	30,0	31,0	1,975
	D.a.	29,0	37,0	31,0	34,0	27,0	34,0	32,0	3,688
25	K	37,0	36,0	35,5	39,0	-	-	36,9	1,548
	C.f.	35,0	34,5	34,0	40,5	37,0	41,0	37,0	3,082
	D.a.	33,0	45,0	37,0	-	32,0	41,0	37,6	5,459
33	K	42,0	43,0	43,0	-	-	-	42,7	0,577
	C.f.	43,0	40,0	39,0	45,0	43,0	47,0	42,8	2,994
	D.a.	37,0	52,0	42,0	-	41,0	49,0	44,2	6,140

* K = Kontrole

C.f. = Chromelosporium fulvum

D.a. = Dichobotrys abundans

TABEL B2.25 Die invloed van A.bisporus op die groei van C.fulvum en D.abundans.

Swam	Tyd van meting (Dag)	Radius	Kolonieradius (mm)						
			Herhalings					\bar{x}	s
			1	2	3	4	5		
<u>C.fulvum</u>	2(vm)*	A	20,5	19,5	19,5	21,0	19,0	19,9	0,822
		B	16,0	17,5	16,5	17,0	16,5	16,7	0,570
	2(nm)*	A	26,0	24,0	24,0	25,5	23,5	24,6	1,084
		B	19,5	17,0	17,0	19,5	20,5	18,7	1,605
	3(vm)	A	-	35,0	35,0	37,5	35,0	35,6	1,250
		B	-	24,0	24,5	28,0	29,0	26,4	2,496
<u>D.abundans</u>	2(vm)	A	20,0	21,5	27,0	19,0	20,0	21,5	3,202
		B	22,5	22,5	27,0	30,0	29,0	26,2	3,546

*

vm = voormiddag

nm = namiddag

TABEL B2.26 Die invloed van sitroensuur op die groei van C.fulvum.

		Groei (koloniedeursnee - 5 mm)								
Sitraensuur- konsentrasie (mg.dm ⁻³)	pH van die medium	Herhalings							\bar{x}	s
		1	2	3	4	5	6	7		
0	5,4	49,5	61,5	67,5	74,0	62,5	70,0	61,5	63,79	7,884
5	5,3	62,0	54,5	58,0	58,0	69,5	67,0	62,0	61,57	5,295
25	5,1	64,0	64,0	55,0	56,5	61,0	61,5	-	60,33	3,790
50	5,0	60,0	49,0	56,5	58,0	58,5	71,0	48,0	57,29	7,670
100	4,7	57,0	61,5	57,0	58,5	58,0	61,5	58,0	58,79	1,933
500	3,9	35,0	27,5	43,0	41,5	34,5	37,0	29,0	35,36	5,800
1000	3,5	2,0	2,0	2,0	2,0	14,0	7,0	2,0	4,43	4,614

LITERATUURVERWYSINGS

- AKIYAMA, H., R. AKIYAMA, I. AKIYAMA, A. KATO & K. NAKAZAWA.
1974. The new cultivation of Shii-ta-ke in a short period.
Mushroom Sci. 9(1):423-433
- ANDERSON, J.G. & J.E. SMITH. 1976. Effects of temperature on
filamentous fungi. In: SKINNER, F.A. & W.B. HUGO, red.,
Inhibition and inactivation of vegetative microbes
pp 191-218. Londen : Academic Press.
- ANONIEM. 1953. Difco manual, (9de uitgawe). Detroit : Difco
Laboratories.
- ANONIEM. 1954. Diseases of the cultivated mushroom. The
Agricultural Gazette 65(8):426-429.
- ANONIEM. 1978. Mushroom production guide. Victoria : British
Columbia Ministry of Agriculture.
- ANONIEM. 1981. Abschliessende Untersuchungen über die
Bekämpfung der Trockenfäule (Verticillium malthousei) durch
Behandlung mit Orbivet. Mitteilungen der Versuchsanstalt für
Pilzanbau der Landwirtschaftskammer Rheinland
Krefeld-Grosshüttenhof 5:13.
- ANONIEM. 1983. Prochloraz. FBC Technical Bulletin. Cambridge:
FBC Limited.
- ANONIEM. 1985. Verticillium and its control. The Spawn Run
3(1):4-8.
- ARROLD, N.P. 1981. Pathogenic diseases of the cultivated
mushroom. Mushroom Sci. 11(1):571-579.
- ATKINS, F.C. 1947. A Verticillium disease of cultivated
mushrooms new to Great Britain. Trans. Br. mycol. Soc.
31:126-127.

- ATKINS, F.C. 1948. Two *Verticilliums* parasitic on mushrooms. Gdnrs.'Chron. 124(3215):60.
- ATKINS, F.C. 1966. Mushroom growing to-day. Londen : Faber and Faber.
- ATKINS, F.C. 1975. You can control *Verticillium*. Mushroom J. 25:3.
- ATKINS, F.C. 1976a. Fred. C. Atkins writes about: Zineb comeback - World statistics - Paternal and filial guidance! Mushroom J. 37:20.
- ATKINS, F.C. 1976b. Fred. C. Atkins writes about: Bubble troubles - Taiwan - Truffles - Timber. Mushroom J. 43:232.
- ATKINS, F.C. 1977. Fred. C. Atkins writes about: New study of pests and diseases - Papers on composts - Pest control measures. Mushroom J. 54:196-198.
- ATKINS, P. & F.C. ATKINS. 1971(a). Major diseases of the cultivated white mushroom *Agaricus bisporus* var. *albidus*. Londen : Mushroom Growers Association.
- ATKINS, P. & F.C. ATKINS. 1971(b). Major diseases of the cultivated white mushroom, *Agaricus bisporus* var. *albidus*. M.G.A. Bull. 260:361-368.
- AYERS, T.T. & E.B. LAMBERT. 1955. Controlling mushroom diseases with chlorinated water. Plant Dis. Rep. 39(11):829-836.
- AZÉMA, M.-M. & J.-M. TOUZÉ-SOULET. 1973. Données physiologiques sur le *Verticillium malthousei* Ware, parasite du champignon de couche. C.r. hebd. séances Acad. Sci. Ser. D Sci. Nat. 276(5):721-724.

- BARRON, G.L. 1968. The genera of hyphomycetes from soil.
Baltimore : The Williams and Wilkens Company.
- BARRON, G.L. 1972. The genera of hyphomycetes from soil.
Huntington : Robert E. Krieger Publishing Company.
- BEACH, W.S. 1937. Control of mushroom diseases and weed fungi.
Pa. Agric. Exp. Stn. Bull. 351.
- BECH, K., B.D. JACOBSEN & G. KOVACS. 1982. Undersogelser over smitteveje for Mycogone perniciososa og Verticillium fungicola, to patogene svampe pa den dyrkede champignon. (Investigations on the spread of inoculum of Mycogone perniciososa and Verticillium fungicola, two pathogenic fungi of the cultivated mushroom.) Tidsskr. Planteavl. 86:141-150.
- BECH, K. & G. KOVACS. 1981. Differences in germination ability and reaction to external conditions in Mycogone perniciososa and Verticillium fungicola. Mushroom Sci. 11(2):381-392.
- BETTERLEY, D.A. 1983. Indicator and weed molds. Mushr. News. 31(3):9-12.
- BLANK, L.M. & P.J. TALLEY. 1941. The carbon utilization and carbohydrase activity of Phymatotrichum omnivorum. Am. J. Bot. 28:564-569.
- BOHUS, G. 1959. Investigations concerning the life processes of the cultivated mushroom. Mushroom Sci. 4:86-131.
- BOLLEN, G.J. & A. FUCHS. 1970. On the specificity of the in vitro and in vivo antifungal activity of benomyl. Neth.J. Plant Pathol. 76:299-312.
- BOLLEN, G.J. & A. VAN ZAAYEN. 1975. Resistance to benzimidazole fungicides in pathogenic strains of Verticillium fungicola. Neth. J. Plant Pathol. 81:157-167.

- BOTHA, F. C. 1982. Saadkiemingsfisiologie van sommige Suider-Afrikaanse Cucurbitaceae met besondere verwysing na *Citrullus lanatus*. Ongepubliseerde DSc. tesis, Fakulteit Wis & Natuurkunde, Universiteit van Pretoria.
- BOTTOMLEY, A.M. 1939. Intensiewe kweek van sampioene vir die amateur. Pamf. Dep. Landb. Un. S.-Afr. 210.
- BOTTOMLEY, A.M. 1949-50. Die kweek van sampioene. Pamf. Dep. Landb. Un. S.-Afr. 210 (2de en hersiene uitgawe).
- BOTTOMLEY, A.M. 1955-56. Mushroom growing. Bull. Dep. Agric. Un. S. Afr. 210.
- BRADY, B.L.K. & I.A.S. GIBSON. 1976. *Verticillium fungicola*. CMI Descr. Pathog. Fungi Bact. 498.
- BRANDT, W.H. 1964. Morphogenesis in *Verticillium*: Effects of light and ultraviolet radiation on microsclerotia and melanin. Can. J. Bot. 42:1017-1023.
- BULL, A.T. & M.E. BUSHELL. 1976. Environmental control of fungal growth. In: SMITH, J.E. & D.R. BERRY, red., The filamentous fungi, Volume 2: Biosynthesis and Metabolism pp 1-31. Londen : Edward Arnold.
- CARLILE, M.J. 1965. The photobiology of fungi. Annu. Rev. Plant Physiol. 16:175-202.
- CHALLEN, M.P. & T.J. ELLIOTT. 1985. The in vitro responses to a range of fungicides of two strains of the mushroom *Agaricus bisporus* and the pathogen *Verticillium fungicola*. Mycopathologia 90(3):161-164.
- CHALLEN, M.P. & T.J. ELLIOTT. 1987. Production and evaluation of fungicide resistant mutants in the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. Trans. Br. mycol. Soc. 88(4):433-439.

- CHANDRA, A. & R.P. PURKAYASTHA. 1977. Physiological studies on Indian edible mushrooms. Trans. Br. mycol. Soc. 69(1):63-70.
- CHANG, S.T. & W.A. HAYES. 1978. The biology and cultivation of edible mushrooms. New York : Academic Press.
- CHEN, C.H. 1981. Recent investigation of mushroom diseases in Beijing. Mushroom Sci. 11(2):369-379.
- CLARKE, G.M. 1969. Statistics and experimental design. Londen: Edward Arnold.
- COCHRANE, V.W. 1958. Physiology of Fungi. New York : John Wiley and Sons.
- COETZEE, J.C. 1977. Die invloed van sekere omgewings- en voedingsfaktore op die groei van Chromelosporium ollare (Pers) Hennebert. Ongepubliseerde Honneurs taak, Departement Plantkunde, Universiteit van Pretoria.
- COETZEE, J.C. & A. EICKER. 1983. Chromelosporium ollare reported in South Africa. Phytophylactica 15(1):11-12.
- COETZEE, J.C. & A. EICKER. 1985. Chromelosporium fulvum, the correct name for the anamorph of the peat mould. Phytophylactica 17:173.
- CONTE, G. 1984. Le malattie della fungaia : Come nascono. Mushroom Information. 1(3):28-35.
- COONEY, D.G. & R. EMERSON. 1964. Thermophilic Fungi. San Francisco : W.H. Freeman.
- CROSS, M.J. & L. JACOBS. 1967. Verticillium and Mycogone diseases of the mushroom. Ongepubliseerde pamflet uitgegee ter geleentheid van die "Mushroom Industry Conference, Torquay 1967".

- CROSS, M.J. & L. JACOBS. 1969a. Some observations on the biology of spores of Verticillium malthousei. Mushroom Sci. 7:239-244.
- CROSS, M.J. & L. JACOBS. 1969b. Verticillium and Mycogone diseases of the mushroom. M.G.A. Bull. 238:440-442,447.
- DABROWSKI, J. & W. CZARNIK. 1976. Untersuchungen über die Rückstände von Benomyl in Champignons. Nachrichten für den Pflanzenschutz in der DDR 30(12)254-256.
- DAVLETSHINA, M.N., I. TEMIRBAEV & D.A.SHTOK. 1983. A new fungus disease of Kochia prostrata. Abstracts of Mycology 17(8):63.
- DENNIS, R.W.G. 1957. New British fungi. Kew Bull. 1957(3):399-404.
- DENNIS, R.W.G. 1968. British Ascomycetes. Lehre : J. Cramer.
- DE TROGOFF, H. & J.L. RICARD. 1976. Biological control of Verticillium malthousei by Trichoderma viride spray on casing soil in commercial mushroom production. Plant Dis. Rep. 60(8):677-680.
- DEVERALL, B.J. 1965. The physical environment for fungal growth. 1. Temperature. In: AINSWORTH, G.C. & A.S. SUSSMAN, red., The Fungi. An advanced treatise, Volume 1: The fungal cell pp 543-550. Londen : Academic Press.
- DIELEMAN-VAN ZAAZEN, A. 1967. Virus-like particles in a weed mould growing on mushroom trays. Nature (Lond.) 216:595-596.
- DIELEMAN-VAN ZAAZEN, A. 1976. Ziekten en plagen van champignons. III. Schimmelziekten. 1. Literatuur en onderzoek. Bedrijfsontwikkeling 7:933-938.

- DIEM, K. (Red). 1962. Documenta Geigy : Scientific tables, (6de uitgawe). Basel : J.R. Geigy S.A.
- DISSING, H & R.P. KORF. 1978. Peziza umbilicata Karsten, an older but unavailable name for Peziza ostracoderma, apothecial peat mould. Mycotaxon 7(1):58-60.
- DOMSCH, K.H., W. GAMS & T.-H. ANDERSON. 1980. Compendium of soil fungi, Volume 1. Londen : Academic Press.
- DUMBRECK, R.D. 1972. An experience with benomyl. M.G.A. Bull. 272:352.
- DURBIN, R.D. 1959. Some effects of light on the growth and morphology of Rhizoctonia solani. Phytopathology 49:59-60.
- EDGINGTON, L.V., K.L. KHEW & G.L. BARRON. 1971. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. Phytopathology 61:42-44.
- EGGINS, H.O.W. & G.J.F. PUGH. 1962. Isolation of cellulose-decomposing fungi from the soil. Nature (Lond.) 193:94-95.
- EICKER, A. 1984. A report on the use of thiabendazole for the control of fungal pathogens of cultivated mushrooms. S.-Afr. Tydskr. Plantk. 3(3):179-183.
- EICKER, A. 1987. A report on the use of prochloraz-manganese complex for controlling of major fungal pathogens of the cultivated mushroom (Agaricus bisporus) in South Africa. S.-Afr. Tydskr. Plantk. 53(5):345-348.
- EICKER, A., M.I. CLAASSEN, W.F. REYNEKE & N. GROBBELAAR. 1978. Praktiese plantsistematiek Deel I : Kriptogame. Durban : Butterworth.

- EL-ABYAT, M.S.H. & J. WEBSTER. 1968. Studies on pyrophilous Discomycetes I. Comparative physiological studies. Trans. Br. mycol. Soc. 51(3&4):353-367.
- ELLIOTT, T.J. & M.P. CHALLEN. 1982. Mushroom genetics. Glasshouse Crops Res. Inst. Annu. Rep. 1981:137-138.
- ELLIOTT, T. & M. CHALLEN. 1985(a). The shape of spawns to come. Mushroom J. 150:185-197.
- ELLIOTT, T.J. & M.P. CHALLEN. 1985(b). Mushroom genetics and breeding. Glasshouse Crops Res. Inst. Annu. Rep. 1984:106-108.
- FAGAN, S.M. & C.L. FERGUS. 1984. Extracellular enzymes of some additional fungi associated with mushroom culture. Mycopathologia 87:67-70.
- FASSATIOVA, O. 1965. Über die Auffassung der Art Verticillium malthousei Ware. Preslia 37:363-368.
- FEKETE, K. 1967. Über Morphologie, Biologie und Bekämpfung von Verticillium malthousei, einem Parasiten des Kulturchampignons. Phytopathol.Z. 59(1):1-32.
- FEKETE, K. & J. KUHN. 1965. Bekämpfung von Verticillium und Mycogone (Vorläufige Mitteilung). Mushroom Sci. 6:495-506.
- FERGUS, C.L. 1960. A note on the occurrence of Peziza ostracoderma. Mycologia 52:959-961.
- FERGUS, C.L. 1971. Germination of the conidia of Peziza ostracoderma. Mycopathol. Mycol. Appl. 45:211-216.
- FERGUS, C.L. 1978. The fungus flora of compost during mycelium colonization by the cultivated mushroom, Agaricus brunnescens. Mycologia 70(3):636-644.

- FERGUS, C.L. 1981. The heat resistance of some mesophilic fungi isolated from mushroom compost. Mycologia 74(1):149-152.
- FLETCHER, J.T. 1981. The control of bubble diseases of Agaricus bisporus (Lange) Imbach. Mushroom Sci. 11(1):597-604.
- FLETCHER, J.T. 1983. A new fungicide for mushrooms. Mushroom J. 129:336-337.
- FLETCHER, J.T. 1984. Mushroom disease control : New strategies for old. Mushroom J. 144:401-406.
- FLETCHER, J.T., G. CONNOLLY, E.I. MOUNTFIELD & L. JACOBS. 1980. The disappearance of benomyl from mushroom casing. Ann. appl. Biol. 95:73-82.
- FLETCHER, J.T. & M.J. HIMS. 1981. Dry bubble disease control. Mushroom J. 100:138.
- FLETCHER, J.T., M.J. HIMS & R.J. HALL. 1983. The control of bubble diseases and cobweb disease of mushrooms with prochloraz. Plant Pathol. (Lond.) 32:123-131.
- FLETCHER, J.T., E.I. MOUNTFIELD & D. BUTLER. 1976. Benomyl degradation in mushroom casing. Mushroom J. 39:72-73.
- FLETCHER, J.T., P.F. WHITE & R.H. GAZE. 1986. Mushrooms - Pest and disease control. Newcastle upon Tyne : Intercept.
- FLETCHER, J.T. & D.J. YARHAM. 1976. The incidence of benomyl tolerance in Verticillium fungicola, Mycogone perniciosa and Hypomyces rosellus in mushroom crops. Ann. appl. Biol. 84:343-353.
- FORDYCE, C. 1968. Microorganisms associated with market deterioration of the cultivated mushroom, Agaricus bisporus. Plant Dis. Rep. 52(9):712-714.

- FORER, L.B., P.J. WUEST & V.R. WAGNER. 1974. Occurrence and economic impact of fungal diseases of mushrooms in Pennsylvania. Plant Dis. Rep. 58(11):987-991.
- FUKUI, R., T. OGAWA, I. KATAYAMA, M. OGASAWARA, K. MATSUMOTO, T. WATANABE & Y. SEKIZAWA. 1974. Protection of edible mushrooms from the invading fungi by the fungicidal agents. I. Action of several organic fungicides on edible mushrooms and the invading fungi. Trans. mycol. Soc. Jpn. 15:147-154.
- GAMS, W. 1971. Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes). Stuttgart : Gustav Fischer Verlag.
- GAMS, W. & A. VAN ZAAYEN. 1982. Contribution to the taxonomy and pathogenicity of fungicolous Verticillium species. I. Taxonomy. Neth.J. Plant Pathol. 88:57-78.
- GANDY, D.G. 1971. Experiments on the use of benomyl ('Benlate') against Verticillium. M.G.A. Bull. 257:184-187.
- GANDY, D.G. 1972. Observations on the development of Verticillium malthousei in mushroom crops and the role of cultural practices in its control. Mushroom Sci. 8:171-181.
- GANDY, D.G. 1974. Weed moulds. Mushroom J. 23:428-429.
- GANDY, D.G. 1975. Verticillium, mushrooms and chlorothalonil. Mushroom J. 31:248.
- GANDY, D.G. 1976. Methyl bromide on the mushroom farm. Mushroom J. 46:322,324-327.
- GANDY, D.G. 1978. A refresher course on Verticillium. Mushroom J. 61:8,10-12,14,16.
- GANDY, D.G. 1979. Inhibition of Mycogone perniciosa growth by Acremonium strictum. Trans. Br. mycol. Soc. 72(1):151-154.

- GANDY, D.G. 1981. Profit and loss in disease control measures. Mushroom Sci. 11(1):581-590.
- GANDY, D.G. 1982. Spread of V.fungicola. Glasshouse Crops Res. Inst. Annu. Rep. 1981:134-135.
- GANDY, D.G. & D.M. SPENCER. 1976. The use of chlorothalonil for the control of benzimidazole tolerant strains of Verticillium fungicola (Preuss) Hassebr. on the cultivated mushroom. Sci. Hortic. (Amst.) 5:13-21.
- GANDY, D.G. & D.M. SPENCER. 1978. The interaction between mushroom strains and fungicides in the control of dry bubble disease caused by Verticillium fungicola. Ann. appl. Biol. 90:355-360.
- GANDY, D.G. & D.M. SPENCER. 1981(a). Fungicide evaluation for control of dry bubble, caused by Verticillium fungicola on commercial mushroom strains. Sci. Hortic.(Amst.) 14:107-115.
- GANDY, D.G. & D.M. SPENCER. 1981(b). Control of dry bubble Verticillium fungicola. Glasshouse Crops Res. Inst. Annu. Rep. 1980:137-138.
- GANDY, D.G. & D.M. SPENCER. 1982. Fungicides for control of Verticillium fungicola. Glasshouse Crops Res. Inst. Annu. Rep. 1981:134.
- GANNEY, G.W. & P. ATKINS. 1972. The use of benomyl (Benlate) in commercial mushroom production. M.G.A. Bull. 272:348,350-352.
- GARRAWAY, M.O. & R.C. EVANS. 1984. Fungal nutrition and physiology. New York : John Wiley and Sons.
- GAZE, R.H. & J.T. FLETCHER. 1975. ADAS survey of mushroom diseases and fungicide usage 1974/5. Mushroom J. 35:370-376.

- GOODING, J.A. 1981. Time gentlemen please. Mushroom Sci. 11(1):453-462.
- GORTER, G.J.M.A. 1977. Index of plant pathogens and the diseases they cause in cultivated plants in South Africa. Sci. Bull. Dep. agric. tech. Serv. Repub. S. Afr. 392:1-177.
- GRAY, D.J. & G. MORGAN-JONES. 1980. Notes on hyphomycetes XXXIV. Some mycoparasitic species. Mycotaxon 10(2):375-404.
- GRAY, D.J. & G. MORGAN-JONES. 1981. Host-parasite relationships of Agaricus brunnescens and a number of mycoparasitic hyphomycetes. Mycopathologia 75:55-59.
- GRIFFIN, D.H. 1981. Fungal physiology. New York : John Wiley and Sons.
- HAPP, A.C. & P.J. WUEST. 1974. Germination and germ tube growth of Verticillium malthousei phialospores as influenced by substrate and duration of aerated steam treatment. Phytopathology 64(5):581,
- HAPP, A.C. & P.J. WUEST. 1979. Mushroom yield and incidence of Verticillium disease as influenced by the choice of casing and its treatment with steam. Mushroom Sci. 10(2):303-310.
- HARVEY, C.L. 1981. How to manage the spawning operation and spawn run. Mushr. News 29(4):18-25.
- HARVEY, C.L. 1982. Some biological indicators of compost quality. In: WUEST, P.J. & G.D. BENGTON, red., Penn. State Handbook for commercial mushroom growers pp 11-18. University Park : Pennsylvania State University.
- HARVEY SORENSEN, C. 1982. Methods for control of Verticillium and Mycogone. Mushr. News 30(11):29-31.

- HARVEY, C.L. P.J. WUEST & L.C. SCHISLER. 1982. Diseases, weed molds, indicator molds and abnormalities of the commercial mushroom. In: WUEST, P.J. & G.D. BENGTON, red., Penn. State Handbook for commercial mushroom growers pp 19-33. University Park : Pennsylvania State University.
- HASSEBRAUK, K. 1936. Pilzliche Parasiten der Getreideroste. Phytopathol.Z. 9:513-516.
- HASSEBRAUK, K. & G. ROEBBELEN. 1975. (The yellow rust, Puccinia striiformis West.: IV Epidemiology and control measures). Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtschaft. Berl.-Dahlem 164:1-183. Gesiteer in Abstracts of Mycology 10(5):20 (1976).
- HAWKER, L.E. 1947. Further experiments on growing and fruiting of Melanospora destruens Shear. in the presence of various carbohydrates, with special reference to the effects of glucose and of sucrose. Ann. Bot.(Lond.) 11(42):245-260.
- HAWKER, L.E. 1950. Physiology of fungi. Londen : University of London Press.
- HAWKER, L.E. 1966. Environmental influences on reproduction. In: AINSWORTH, G.C. & A.S. SUSSMAN, red., The fungi. An advanced treatise, Volume II: The fungal organism pp 435-469. Londen : Academic Press.
- HAWKER, L.E. 1971. The physiology of reproduction in fungi. New York : Hafner Publishing Co.
- HAWKSWORTH, D.L. 1981. A survey of the fungicolous conidial fungi. In : COLE, G.T. & B. KENDRICK, red., Biology of conidial fungi, Volume I pp 171-244. New York: Academic Press.
- HELLMERS, E. 1969. Ostracoderma epigaeum (Link) Hennebert (Peat mould) and its perfect stage Peziza atrovinosa Cooke et Gerard. Friesia 9:46-51.

- HENNEBERT, G.L. 1973. Botrytis and Botrytis-like genera. Persoonia 7(2):183-204.
- HENNEBERT, G.L. & R.P. KORF. 1975. The peat mould, Chromelosporium ollare, conidial state of Peziza ostracoderma, and its misapplied names, Botrytis crystallina, Botrytis spectabilis, Ostracoderma epigaeum and Peziza atrovinosa. Mycologia 67:214-240.
- HEUEL, B. 1980. Untersuchungen zur bedeutung der Deckerde und des Champignonfruchtkörpers (Agaricus bisporus) für die Keimung der Konidien von Verticillium malthousei Ware. Mitteilungen der Versuchsanstalt für Pilzanbau der Landwirtschaftskammer Rheinland Krefeld-Grosshüttenhof 4:51-60.
- HEUEL, B & H.C. WELTZIEN. 1982. Untersuchungen an stammen von Verticillium fungicola (Preuss) Hasebr. mit unterschiedlicher Pathogenität und Fungizidtoleranz aus dem Rheinischen Champignonanbau. Med. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent 47:801-809.
- HEY, G.L. 1951. The effect of new insecticides & fungicides on mushroom pests & diseases. Mushroom Sci. 1:87-88.
- HINDORF, H. & N. KETTERER. 1984. Einfluss von Stoffwechselprodukten pilzlicher Antagonisten auf Sclerotium rolfsii und Verticillium fungicola. Mitt. Biol. Bundesanst. Land. - Forstwirtsch. Berl. - Dahlem 223:258.
- HOLMES, J. 1971(a). Effect of time of inoculation on incidence and control of Verticillium disease of the commercial mushroom. Plant Dis. Rep. 55(7):643-645.
- HOLMES, J. 1971(b). Variability in commercial samples of zineb as indicated by their effect on spore germination of Verticillium malthousei. M.G.A. Bull. 261:423-431.

- HOLMES, J., H. COLE, JR., & P.J. WUEST. 1971. Control of the Verticillium disease of the cultivated mushroom, Agaricus bisporus, with benomyl spray applications to cased trays. Plant Dis. Rep. 55(8):684-687.
- HUGHES, G.C. & A.-A. BISALPUTRA. 1970. Ultrastructure of hyphomycetes. Conidium ontogeny in Peziza ostracoderma. Can. J. Bot. 48:361-366.
- ILAG, L. & R.W. CURTIS. 1968. Production of ethylene by fungi. Science 159:1357-1358.
- ISAAC, I. 1967. Speciation in Verticillium. Annu. Rev. Phytopathol. 5:201-222.
- JACOBS, L. 1965. Preliminary studies of bubble disease of mushrooms. M.G.A. Bull. 185:203-204.
- JALALI, I. & J.P.E. ANDERSON. 1976. Uptake of benomyl by the cultivated mushroom, Agaricus bisporus. J. Agric. Food Chem. 24(2):431-432.
- JONES, O.T.G. 1963. The accumulation of amino-acids by fungi, with particular reference to the plant parasitic fungus Botrytis fabae. J. Exp. Bot. 14(42):399-411.
- KALBERER, P.P. 1984. Some properties of an extracellular proteolytic enzyme of Verticillium fungicola, a pathogen of the cultivated mushroom, Agaricus bisporus. Phytopathol. Z. 110:213-220.
- KENDRICK, B. 1971. Conclusions and recommendations. In: KENDRICK, B., red., Taxonomy of Fungi Imperfecti pp 253-262. Toronto : University of Toronto Press.
- KENDRICK, B. 1980. The generic concept in hyphomycetes - a reappraisal. Mycotaxon 11(1):339-364.

- KILPATRICK, R.A. 1977. Symptoms and control of the peat mold, Chromelosporium fulvum, on Crambe abyssinica. Plant Dis. Rep. 61(2):93-95.
- KIM, G.P. 1975. Fungitoxicity of benomyl and BCM to some edible fungi and pathogenic organisms causing major diseases of Agaricus bisporus (Lange) Sing. Res. Rep. Off. Rural Dev. (Soil Sci.-Fert.- Plant Prot.-Microl.)(Suwon) 17:137-147.
- KNEEBONE, L.R. & E.L. MEREK. 1961. Brief outline of and controls for mushroom pathogens, indicator molds, and weed molds or competitors (Third revision). Ongepubliseerde pamflet, oorspronklik uitgegee by die 1ste "Mushroom Industry Short Course", 9-12 Julie 1956.
- KORF, R.P. 1961. Nomenclatural notes. IV. The generic name Plicaria. Mycologia 52:648-651 ("1960").
- KORF, R.P. 1972. Synoptic key to the genera of the Pezizales. Mycologia 64:937-994.
- KORF, R.P. 1973. Discomycetes and Tuberales. In: AINSWORTH, G.C., F.K. SPARROW & A.S. SUSSMAN, red., The Fungi. An advanced treatise, Volume 4A: Ascomycetes and Fungi Imperfecti pp 249-319. New York : Academic Press.
- KORF, R.P. 1982(a). Citation of authors names and the typification of names of fungal taxa published between 1753 and 1832 under the changes in the code of nomenclature enacted in 1981. Mycologia 74(2):250-255.
- KORF, R.P. 1982(b). Mycological and lichenological implications of changes in the code of nomenclature enacted in 1981. Mycotaxon 14(2):476-490.
- KORF, R.P. 1983. Sanctioned epithets, sanctioned names, and cardinal principles in ":Pers." and ":Fr." citations. Mycotaxon 16(2):341-352.

- KOVACS, G., K. BECH, P.E. HANSEN & B.D. JACOBSEN. 1983. On development of fungicide tolerance in vitro in Mycogone perniciosa (Magn.) Delacr. and Verticillium fungicola (Preuss) Hassebr. Acta Agric. Scand. 33:9-15.
- LAMBERT, D.H. & P.J. WUEST. 1973. Tolerance of Verticillium malthousei isolates to benomyl in relation to linear growth, geographical origin, spore volume or zineb tolerance. Phytopathology 63(2):203.
- LAMBERT, D.H. & P.J. WUEST. 1974. A possible basis for benomyl tolerance in Verticillium malthousei. Proc. Am. Phytopathol. Soc. 1:138.
- LAMBERT, D.H. & P. J. WUEST. 1975. Increased sensitivity to zineb for Verticillium malthousei strains tolerant to benomyl. Phytopathology 65:637-638.
- LAMBERT, D.H. & P.J. WUEST. 1976. Acid production, a possible basis for benomyl tolerance in Verticillium malthousei. Phytopathology 66:1144-1147.
- LAMBERT, D.H. & P.J. WUEST. 1979. Characteristics of the mushroom pathogen Verticillium isolated from four continents and its tolerance to benomyl. Mushroom Sci. 10(1):747-757.
- LAMBERT, E.B. & T.T. AYERS. 1957. Thermal death times for some pests of cultivated mushroom (Agaricus campestris L.). Plant Dis. Rep. 41(4):348-353.
- LA TOUCHE, C.J. 1947. Passive movements of newly formed acrogenous spores in Verticillium and some other genera of the hyphomycete fungi. Nature (Lond.) 160:679.
- LEACH, C.M. 1971. A practical guide to the effects of visible and ultraviolet light on fungi. In : BOOTH, C., red., Methods in microbiology, Volume 4 pp 609-664. Londen : Academic Press.

- LELLEY, J. 1984. Untersuchungen von Desinfektionsmitteln im Champignonanbau - Wirkungsspektrum, minimale Einwirkzeit und Wirksamkeit bei Schmutz-belastung. Mitt. Biol. Bundesanst. Land - Forstwirtsch. Berl. - Dahlem 223:185.
- LEMKE, G. 1977. Champignonenerträge nach Benlatebehandlung bei verwendung von Deckerden mit unterschiedlichem Torfgehalt. Mushroom Sci. 9(2):145-156.
- LILLY, V.G. 1965. The chemical environment for fungal growth. 1. Media, macro- and micronutrients. In : AINSWORTH, G.C. & A.S. SUSSMAN, red., The Fungi. An advanced treatise, Volume I: The fungal cell pp 465-478. Londen : Academic Press.
- LILLY, V.G. & H.L. BARNETT. 1951. Physiology of the Fungi. New York : McGraw-Hill.
- LITTRELL, R.H. 1976. Techniques of monitoring for resistance in plant pathogens. Proc. Am. Phytopathol. Soc. 3:90-96.
- LOOMIS, W.E. & C.A. SHULL. 1937. Methods in plant physiology. New York : McGraw-Hill.
- MALLOCH, D. 1976. Agaricus brunnescens : The cultivated mushroom. Mycologia 68:910-919.
- MALTHOUSE, G.T. 1901. A mushroom disease. Trans. Edinb. Fld. Nat.microsc. Soc. 4(3):182-189.
- MARLOWE, A. & C.P. ROMAINE. 1982. Dry bubble of oyster mushroom caused by Verticillium fungicola. Plant Dis. 66:859-860.
- MATTHEWS, C.T. & D.G. GANDY. 1982. The pathology and ecology of Verticillium fungicola. Glasshouse Crops Res. Inst. Annu. Rep. 1981:135.
- McMILLEN, S. 1961. Another source of Mycotypha dichotoma. Mycologia 52:652.

- MEYER, B.S., D.B. ANDERSON & R.H. BÖHNING. 1960. Introduction to plant physiology. Princeton : D. van Nostrand Co.
- MOORE, R.K. & P.J. WUEST. 1973. Occurrence and severity of Verticillium disease of mushrooms produced on casing (soil) treated with aerated steam. Phytopathology 63:1368-1374.
- MOORE-LANDECKER, E. 1972. Fundamentals of the Fungi. Englewood Cliffs : Prentice Hall.
- MORTON, A.G. & A. MACMILLAN. 1954. The assimilation of nitrogen from ammonium salts and nitrate by fungi. J. Exp. Bot. 5(14):232-252.
- MUNNS, P. 1975. The pot technique for the control of Verticillium and Mycogone. Mushroom J. 29:154-156.
- MYBURGH, F.S. 1981. 'n Morfologies-taksonomiese studie van die Suid-Afrikaanse verteenwoordigers van die genusse Cerebella Cesati en Epicoccum Link ex Schlecht. Ongepubliseerde MSc verhandeling, Fakulteit Wis en Natuurkunde, Universiteit van Pretoria.
- NAIR, N.G. 1979. Mushroom diseases in Australia. Agric. Gaz. N.S.W. 90(2):14-17.
- NAIR, N.G. & H.J. BAKER. 1978. Studies on the control of wet bubble disease of mushrooms with benzimidazoles. Aust. J. Agric. Res. 29:545-553.
- NATHANIELS, N.Q.R., K. WILSON & J.T. FLETCHER. 1985. Negative cross-resistance between benomyl and MDPC in British isolates of Botrytis cinerea, Pseudocercospora herpotrichoides and Verticillium fungicola var. fungicola. Ann. appl. Biol. 107(1):151-154.

- NICHOLAS, D.J.D. 1965. Utilization of inorganic nitrogen compounds and amino acids by fungi. In : AINSWORTH, G.C. & A.S. SUSSMAN, red., The Fungi. An advanced treatise, Volume I: The fungal cell pp 349-376. Londen : Academic Press.
- NOBLE, M. 1976. The peat mold. Bull. Br. mycol. Soc. 10(2):89.
- OLIVIER, J.M. 1987. Evolution of the phytopathological situation in the French caves. In : WUEST, P.J., D.J. ROYSE & R.B. BEELMAN, red., Cultivating edible fungi pp 351-360. Amsterdam : Elsevier.
- OLIVIER, J.M., J. GUILLAUMES & E. CHIRON. 1979. Biologie de quelque ennemis du champignon de couche. Mushroom Sci. 10(1):723-740.
- OLUTIOLA, P.O. 1976. Some environmental and nutritional factors affecting growth and sporulation of Aspergillus flavus. Trans. Br. mycol. Soc. 66(1):131-136.
- PAGE, R.M. 1965. The physical environment for fungal growth. 3. Light. In : AINSWORTH, G.C. & A.S. SUSSMAN, red., The Fungi. An advanced treatise, Volume I : The fungal cell pp 559-574. Londen : Academic Press.
- PATEMAN, J.A. & J.R. KINGHORN. 1976. Nitrogen metabolism. In : SMITH, J.E. & D.R. BERRY, red., The filamentous fungi, Volume 2: Biosynthesis and metabolism pp 159-237. Londen : Edward Arnold.
- PATTON, T.G., P.J. WUEST & J.E. WHEELER. 1975. The effect of chlorothalonil on mushroom production and evidence for limited systemic activity on a mushroom pathogen Verticillium malthousei. Proc. Am. Phytopathol. Soc. 2:103.
- PEACOCK, H.A. 1966. Elementary microtechnique, (3de uitgawe). Londen : Edward Arnold.

- PERRY, F.G. 1987. The influence of supplementation on yield and composition of the mushroom. Mushroom J. 171:97-103.
- POPPE, J. 1967. Infectieproeven met Verticillium sp. op Psalliota bispora Lange. Meded. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent 32(3/4):783-792.
- POPPE, J. 1968. De tolerantie van champignonmycelium tegenover enige fungiciden. Meded. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent 33(3):945-953.
- POPPE, J.A. 1972. Un excellent Agaricus tetra-sporique cultivable commercialement avec succès. Mushroom Sci. 8:517-525.
- POPPE, J., W. WELVAERT & G. DE BOTH. 1985. Diseases and their control-possibilities after ten years Pleurotus culture in Belgium. Meded. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent 50(3b):1097-1108.
- PREECE, T. 1984. Towards understanding Verticillium. Mushroom J. 137:175-177.
- RICH, M.A. & A.M. STERN. 1958. Studies on Cryptococcus nigricans, II. The effects of physical, chemical and nutritional factors. Mycopathol. Mycol. Appl. 10(2):83-90.
- RIDDELL, R.W. 1950. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. Mycologia 42:265-270.
- RIETH, A. 1957. Vorkommen von Plicaria fulva Schneider. Kulturpflanze 5:186-189.
- ROBBINS, W.J. 1937. The assimilation by plants of various forms of nitrogen. Am. J. Bot. 24(5):243-250.
- ROBINOW, C.F. 1981. Nuclear behaviour in conidial fungi. In : COLE, G.T. & B. KENDRICK, red., Biology of conidial fungi, Volume 2 pp 357-393. New York : Academic Press.

- ROLL-HANSEN, J. 1961. Some striking observations on the occurrence of fungi in steamed glasshouse soil. Plant Soil 14(3):197-198.
- ROTHWELL, A. 1983. A revised list of plant diseases occurring in Zimbabwe. Kirkia 12(2):233-351.
- RUCKLIDGE, R.A. 1978. Verticillium. Mushroom J. 64:106-114.
- RUDAKOV, O.L. 1978. Physiological groups in mycophilic fungi. Mycologia 70(1):150-159.
- RUDAKOV, O.L., ZH.G. KARASEVICH & G.A. PENZIKOVA. 1978. Acylase activity of mycophilic fungi. Mikrobiologiya 47(3):485-488.
- RUSSELL, P. 1984. Sporgon on mushrooms. Mushroom J. 141:299-300.
- SALLBACH, M.E. 1979. Untersuchungen über die Mykoflora der aeroben Zone einer Müllklärschlammkompost-Miete. Mitteilungen der Versuchsanstalt für Pilzanbau der Landwirtschaftskammer Rheinland Krefeld - Grosshüttenhof 3:25-30.
- SAMUELS, G.J. & P.R. JOHNSTON. 1980. Benomyl and the Verticillium diseases of cultivated mushrooms. N.Z. J. Agric. Res. 23:155-157.
- SAN ANTONIO, J.P. & C.FORDYCE JR. 1972. Cultivation of the paddy straw mushroom, Volvariella volvacea (Bull. ex Fr.) Sing. Hortscience 7(5):461-464.
- SCHNEIDER, R. 1954. Plicaria fulva n. sp., ein bisher nicht bekannter Gewächshausbewohner. Zentbl. Bakt. ParasitKde. Abt. II 108:147-153.
- SINDEN, J.W. 1971. Ecological control of pathogens and weed-molds in mushroom culture. Annu. Rev. Phytopathol. 9:411-432.

- SINDEN, J.W. 1972. Disease problems in technologically advanced mushroom nurseries. Mushroom Sci. 8:125-130.
- SINDEN, J.W. & J.B. YODER. 1949. Effect of copper and certain dithiocarbamate fungicides on the control of Verticillium spot and bubble of mushrooms. Phytopathology 39:22.
- SINGER, R. 1961. Mushrooms and truffles : Botany, cultivation and utilization. Londen : Leonard Hill.
- SMITH, F.E.V. 1924. Three diseases of cultivated mushrooms. Trans. Br. mycol. Soc. 10:81-97.
- SMITH, G. 1960. An introduction to industrial mycology, (5de uitgawe). Londen : Edward Arnold.
- SMITH, H. 1975. Phytochrome and photomorphogenesis. Londen : McGraw-Hill.
- SMITH, R.C. 1970. Some experiences with Verticillium. M.G.A. Bull. 250:445-449.
- SNEL, M. & J.T. FLETCHER. 1971. Benomyl and thiabendazole for the control of mushroom diseases. Plant Dis. Rep. 55(2):120-121.
- SOKOLSKI, S. 1981. Pest control. Mushr. News 29(3):8-13.
- STAFLEU, F.A. (Red). 1978. International code of botanical nomenclature. Utrecht : Bohn, Scheltema & Holkema.
- STANEK, M. 1978. Irradiation of fresh mushroom fruit-bodies. Karstenia 18(suppl.):85-86.
- STEVENS, R.B. 1974. Mycology guidebook. Seattle : University of Washington Press.
- STOLLER, B.B. 1954. Principles and practice of mushroom culture. Econ. Bot. 8:48-95.

- STOLLER, B.B. 1968. The brown mould, Plicaria fulva, growing in mushroom beds. M.G.A. Bull. 227:553-561.
- STOLLER, B.B. 1981. An odourless, non-volatile formaldehyde compound to control Verticillium and Mycogone in mushroom beds. Mushroom J. 107:387-391.
- TAN, K.K. 1978. Light-induced fungal development. In : SMITH, J.E. & D.R. BERRY, red., The filamentous fungi, Volume 3: Developmental mycology pp 334-357. London : Edward Arnold.
- TAUTORUS, T.E. & P.M. TOWNSLEY. 1983. Biological control of olive green mold in Agaricus bisporus cultivation. Appl. Environ. Microbiol. 45(2):511-515.
- THAPA, C.D. & C. JANDAİK. 1987(a). Spore germination behaviour of Verticillium fungicola (Preuss) Hassebr. under different environmental conditions. In : WUEST, P.J., D.J. ROYSE & R.B. BEELMAN, red., Cultivating edible fungi pp 405-410. Amsterdam : Elsevier.
- THAPA, C.D. & C.L. JANDAİK. 1987(b). Physiochemical changes in Agaricus bisporus (Lange) Singer due to infection of Verticillium fungicola (Preuss) Hassebr. In : WUEST, P.J., D.J. ROYSE & R.B. BEELMAN, red., Cultivating edible fungi pp 411-417. Amsterdam : Elsevier.
- THOM, C. & M.B. CHURCH. 1926. The Aspergilli. Baltimore : The Williams and Wilkens Company.
- TRESCHOW, C. 1941. The Verticillium diseases of cultivated mushrooms. Dan. Bot. Ark. 11(1):1-31.
- TRIGIANO, R.N. & C.L. FERGUS. 1979. Extracellular enzymes of some fungi associated with mushroom culture. Mycologia 71:908-917.
- TSCHIERPE, H.J. 1983. Environmental factors and mushroom strains. Mushroom J. 132:417-429.

- UPSTONE, M.E. & M.A. CARTER. 1979. The occurrence of Verticillium psalliotae on Agaricus bitorquis in Surrey. Mushroom J. 73:38-40.
- VAN DE GEIJN, J. 1976. Ziekten en plagen van champignons. III. Schimmelziekten, 2: Schimmelziekten in de praktijk. Bedrijfsontwikkeling 7:939-943.
- VAN DER VLIET, M. 1960. Some observations about diseases on mushroom farms in Holland. Mushroom Sci. 4:484-487.
- VAN ZAAYEN, A. 1978(a). New possibilities for control of dry bubble caused by Verticillium fungicola. Mushroom J. 67:210-211.
- VAN ZAAYEN, A. 1978(b). A correction. Mushroom J. 69:289.
- VAN ZAAYEN, A. 1981. Verticillium sp., a pathogen of Agaricus bitorquis. Mushroom Sci. 11(1):591-595.
- VAN ZAAYEN, A. & W. GAMS. 1982. Contribution to the taxonomy and pathogenicity of fungicolous Verticillium species. II. Pathogenicity. Neth. J. Plant Pathol. 88:143-154.
- VAN ZAAYEN, A. & A.J. RUTJENS. 1978. De toepassing van Daconil ter bestrijding van mollen. Champignoncultuur 22(4): 121-123.
- VAN ZAAYEN, A. & A.J. RUTJENS. 1980. Droge mollen : Orbivet is niet beter dan formaline. Champignoncultuur 24:361-363. Gesiteer in Rev. Plant Pathol. 61(2):79(1982).
- VAN ZAAYEN, A. & A.J. RUTJENS. 1981. Thermal death points for two Agaricus species and for the spores of some major pathogens. Mushroom Sci. 11(2):393-402.
- VAN ZAAYEN, A. & J.C.J. VAN ADRICHEM. 1982. Prochloraz for control of fungal pathogens of cultivated mushrooms. Neth. J. Plant Pathol. 88:203-213.

- VEDDER, P.J.C. 1978. Modern mushroom growing. Culemborg : Educaboek B.V.
- WARCUP, J.H. 1950. The soil-plate method for isolation of fungi from soil. Nature (Lond.) 166:117.
- WARE, W.M. 1933. A disease of cultivated mushrooms caused by Verticillium malthousei sp. nov. Ann. Bot.(Lond.) 47:763-785.
- WHITE, P.F. 1981. Spread of the mushroom disease Verticillium fungicola by Megaselia halterata (Diptera:Phoridae). Prot. Ecol. 3:17-24.
- WOLF, F.A. 1955. Another Mycotypha. J. Elisha Mitchell Sci. Soc. 71:213-217.
- WOLF, F.A. 1957. Is Mycotypha a Phycomycete? Mycologia 49:280-282.
- WOLF, F.A. & F.T. WOLF. 1947. The Fungi, Volume II. New York : John Wiley and Sons.
- WUEST, P.J. 1965. Diseases and their control. Ongepubliseerde notas uitgegee by geleentheid van die "8th Mushroom Industry Short Course, The Pennsylvania State University, 28-30 June 1965."
- WUEST, P.J. 1983. Resources needed to farm the "Champignon". Mycologia 75(2):341-350.
- WUEST, P.J., K.F. BAKER & W.S. CONWAY. 1970. Sensitivity of selected mushroom pathogens to aerated steam. Phytopathology 60:1274-1275.
- WUEST, P.J. & H. COLE JR. 1970. Effect of three fungicides on vegetative growth of Verticillium malthousei and Agaricus bisporus isolates. Phytopathology 60:1320.

- WUEST, P.J. & H. COLE JR. 1973. Development and pathogenesis of Verticillium malthousei as influenced by benomyl. Phytopathology 63(2):209-210.
- WUEST, P.J., H. COLE JR. & T.G. PATTON. 1972. Influence of benomyl on mushroom production. Can. J. Plant Sci. 52:811-815.
- WUEST, P.J., H. COLE JR. & P.L. SANDERS. 1974. Tolerance of Verticillium malthousei to benomyl. Phytopathology 64:331-334.
- WUEST, P.J. & L.B. FORER. 1971. Germination of Verticillium malthousei conidia as influenced by rhizomorph exudates and volatiles of Agaricus bisporus. Phytopathology 61:133.
- WUEST, P.J. & L.B. FORER. 1975. Temperature, time, and the influence of volatiles on phialospore germination in Verticillium malthousei Ware. Mycopathologia 55(1):9-12.
- WUEST, P.J. & C.L. HARVEY. 1979. The nature of disease resistance in strains of the cultivated mushroom, Agaricus brunnescens Peck. Mushroom Sci. 10(1):741-745.
- WUEST, P.J. & R.K. MOORE. 1972. Additional data on the thermal sensitivity of selected fungi associated with Agaricus bisporus. Phytopathology 62:1470-1472.
- WUEST, P.J., T.G. PATTON & P.R. FORTUNATO. 1975. Efficacy of chlorothalonil in controlling Verticillium disease of mushrooms as influenced by disease severity. Proc. Am. Phytopathol. Soc. 2:109-110.
- YEE, N.T. & Y. CHANG-HO. 1980. Interaction between Volvariella volvacea and some weed fungi. Trans. Br. mycol. Soc. 75(3):498-501.

YODER, J.B., J.W. SINDEN & E. HAUSER. 1951. Experience with zinc ethylene bis-dithiocarbamate as a fungicide in mushroom cultivation. Mushroom Sci. 1:100-108.

ZADRAZIL, F. 1974. The ecology and industrial production of Pleurotus ostreatus, Pleurotus florida, Pleurotus cornucopiae and Pleurotus eryngii. Mushroom Sci. 9(1):621-652.

ZANZINGER, K. 1985. Zineb's future in question. Mushr. News 33(1):13.