



UNIVERSITEIT VAN PRETORIA  
UNIVERSITY OF PRETORIA  
YUNIBESITHI YA PRETORIA

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

deur

**CASSANDRA MOSTERT**

**VOORGELê TER GEDEELTELIKE VERVULLING VAN DIE GRAAD**

**MAGISTER SCIENTIAE**

in die

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

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

**DESEMBER 2000**



UNIVERSITEIT VAN PRETORIA  
UNIVERSITY OF PRETORIA  
YUNIBESITHI YA PRETORIA

## INHOUD

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

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

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

## OPSOMMING

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

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

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

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

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

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

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

## SUMMARY

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

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

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

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

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

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

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

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

## **BEDANKINGS**

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