

Die invloed van opberging en saadbehandelingsmiddels op
die kiemingsfisiologie en fynstruktuur van saad van
Brassica oleracea var. capitata.

deur

Suzanne E. Meyburgh

Voorgelê ter gedeeltelike vervulling van die vereistes vir
die graad

Magister Scientae

in die Fakulteit Wis- en Natuurkunde

(Departement Plantkunde)

Universiteit van Pretoria

Pretoria.

Leier: Prof. dr. H. A. Van de Venter.

Medeleier: Prof. dr. P. J. Robbertse.

Oktober, 1987.

MERENSKY-BIBLIOTEEK
UNIVERSITEIT VAN PRETORIA

Klasnommer 583.123

Registernommer 1433061

MEYBURGH

INHOUD

HOOFSTUK 1.	INLEIDING.	1
HOOFSTUK 2.	DIE INVLOED VAN WARMWATERBEHANDELING EN OPBERGINGSTOESTANDE OP DIE KIEMINGSPRESTASIE VAN KOOLSAAD.	4
HOOFSTUK 3.	CHEMIESE BEHANDELING.	
HOOFSTUK 4.	DIE INVLOED VAN SAADBEHANDELING EN SAADOPBERGING OP DIE FYNSTRUKTUUR VAN KOOLSAAD.	40
HOOFSTUK 5.	ANTIBIOTIKUMBEHANDELING - DIE INVLOED VAN STREPTOMISIEN OP DIE FYNSTRUKTUUR VAN DIE CHLOROPLASTE.	47
HOOFSTUK 6.	SAMEVATTING.	110
HOOFSTUK 7.	LITERATUURVERWYSINGS.	121

Hoofstuk 1. Inleiding.

Die teenwoordigheid van saadgedraagde patogene in die saad van Brassica oleracea var. capitata L., noodsaak die behandeling van die saad om epidemies te voorkom. Patogene wat bestry word, is veral Phoma lingam (Tode ex Fr.) Desm. (Leptosphaeria maculans (Desm.) Ces & de Not), 'n fungus wat swartbeen by kool veroorsaak; die bakterie Xanthomonas campestris (Pam.) Dows. wat swartvrot veroorsaak; asook Alternaria brassicicola (Sch.) Wiltsh. en Alternaria brassicae (Berk.) Sacc., fungi wat draadstam en blaarvleksiekte by koolgewasse veroorsaak (Allen & Smith 1961, Holtzhausen 1978, Holtzhausen & Knox-Davies 1974, Walker et al. 1958, Williams 1980).

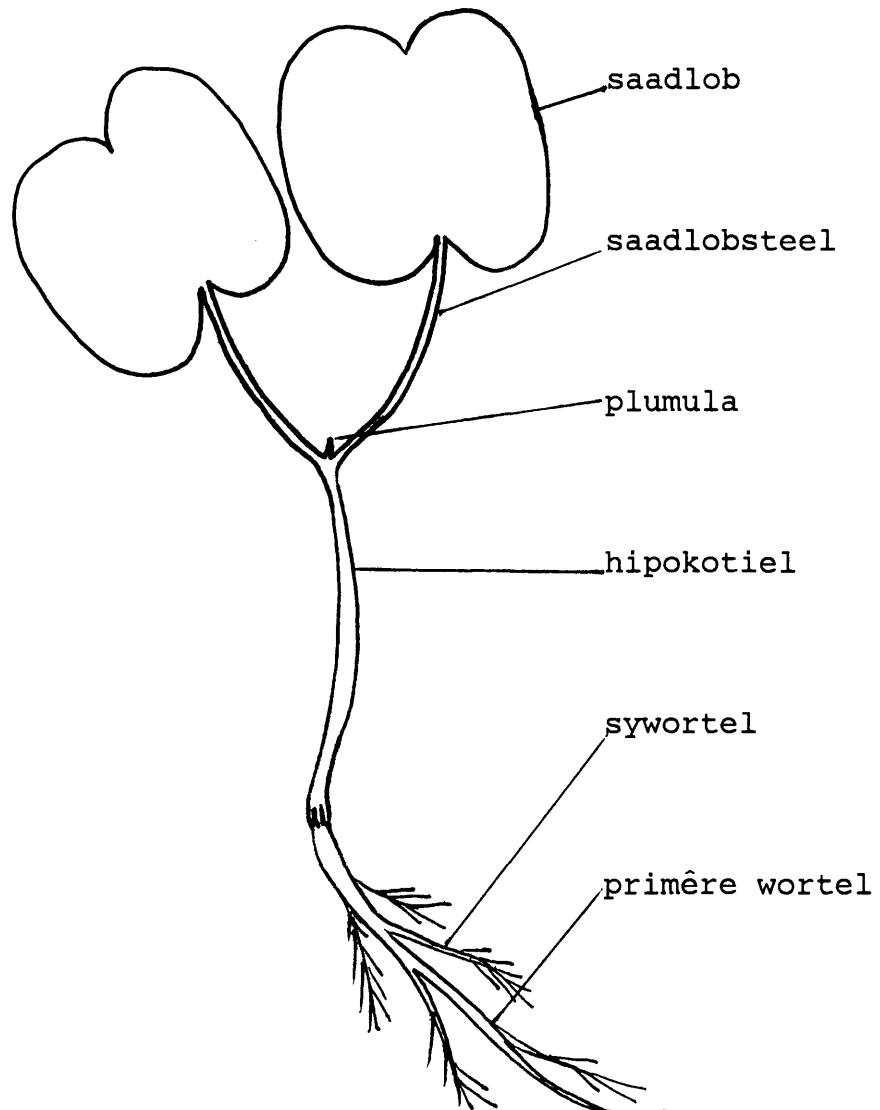
Daar is verskillende metodes om hierdie organismes te bestry. Alhoewel behandeling van koolsaad met chemiese middels, soos benomyl en tiram, wel in die literatuur aanbeveel word, blyk dit dat die doeltreffendste manier om al bogenoemde patogene te beheer, die behandeling van die saad met warm water is. Dit behels die week van koolsaad in water by 50 °C vir 30 minute. Hierdie warmwaterbehandeling beïnvloed egter skynbaar die groeikragtigheid van koolsaad nadelig. Die fisiologiese of sitologiese aard van die skade is nie bekend nie, ook nie die moontlike wisselwerkings wat tussen saadopberging en die warmwaterbehandeling bestaan nie.

Aangesien koolsaad deur verskillende persone of instansies (die saadprodusent, die saadhandelaar, die aankoper) vir onbepaalde tydperke en dikwels onder ongekontroleerde en ongunstige toestande opgeberg word, mag die swak opkoms van saailinge hieraan te wyte wees en nie noodwendig die gevolg wees van die warmwaterbehandeling waaraan die saad onderwerp is nie.

Die doel van hierdie studie was om die invloed van 'n warmwaterbehandeling, voor en na saadopberging, in wisselwerking met bepaalde opbergingstoestande (saadvogpersentasie, opbergingstemperatuur en tydperk van opberging), op die groeikragtigheid en fynstruktuur van koolsaad te bestudeer.

Die invloed van 'n flodderbehandeling met benomyl en tiram (ook in kombinasie met 'n kort warmwaterbehandeling) op die groeikragtigheid van koolsaad, is voor en na 'n tydperk van opberging by gunstige toestande, bestudeer.

Laastens is die invloed van streptomisien-behandeling van koolsaad op die fynstruktuur van die plastiede en die res van die sitoplasma bestudeer.



Figuur 1. Diagrammatiese voorstelling van 'n saailing wat die onderdele daarvan aandui.

Hoofstuk 2. Die invloed van die warmwaterbehandeling en opbergingsstoestande op die kiemingsprestasie van koolsaad.

2.1. Inleiding.

Die sogenaamde warmwaterbehandeling wat in 1923 deur J.C. Walker beskryf is, word vandag nog algemeen in die praktyk gebruik vir die beheer van saadgedraagde patogene op koolsaad (asook sekere ander groentesaad). Dit behels die onderdompeling van die saad vir ongeveer 25-30 minute in water by 50°C. Hierna word die saad in koue water afgespoel en oopgesprei om droog te word.

Walker et al. (1958) beveel hierdie behandeling aan om Phoma lingam en Alternaria spp. te bestry, maar veral ook die bakterie Xanthomonas campestris, aangesien laasgenoemde nie effektief bestry word deur die chemiese behandelings wat deur die outeurs getoets is nie.

Walker (1923) het egter aangedui dat die warmwaterbehandeling die kiemkragtigheid van die saad nadelig kan beïnvloed, veral in die geval van ouer saad.

Algehele fungusbeheer word ook nie noodwendig verkry nie. (Jacobsen & Williams 1971). Allen & Smith (1961) en Holtzhausen (1978) toon egter aan dat fungi genoegsaam beheer word om epidemies te voorkom, mits die saad nie

buitengewoon erg besmet is nie.

Alhoewel verskeie outeurs reeds aangetoon het dat die warmwaterbehandeling die kiemkrag van saad benadeel (Gabrielson et al. 1977, Jacobsen & Williams 1971, Walker 1923), blyk dit tog dat varsgeoeste, goedontwikkelde saad se groeikragtigheid glad nie benadeel word nie (Williams 1980). Sivaram (1982) het saad van Brassica chinensis en Brassica rapa met warm water behandel en gevind dat die behandeling geen nadelige invloed op die prestasie van hierdie saad gehad het nie, maar intendeel, 'n hoër kiemingspersentasie oor 'n langer periode tot gevolg gehad het. Swak saad, saad van bepaalde oeste en saad wat vir 'n aantal jare opgeberg was, kan volgens Williams (1980) egter deur die behandeling benadeel word.

Die warmwaterbehandeling blyk dus redelik effektief te wees wat die beheer van die saadgedraagde patogene betref, maar dit is duidelik dat die groeikrag van koolsaad onder sekere omstandighede nadelig beïnvloed word. Gevolglik is daar besluit om die toestande waaronder die warmwaterbehandeling 'n nadelige uitwerking op die groeikrag van die koolsaad het, tot 'n groter mate te probeer definieer.

Die invloed van die warmwaterbehandeling in wisselwerking met die belangrikste opbergingsfaktore (tydperk van opberging, saadvogpersentasie en opbergingstemperatuur) op die groeikragtigheid van koolsaad, is ondersoek, beide in

geval van saad wat voor opberging en daarna met warm water behandel is.

Die groeikragtigheid van die saad is bepaal aan die hand van die kiemingspersentasie, die kiemingstempo en die lengte van die hipokotiele van 10-dagoue saailinge.

2.2. Materiaal en Metode.

Saad van Brassica oleracea, kultivar "Drumhead" (Lot nr. GNS-1581) is vir die doel van hierdie studie deur die Mayford Saadmaatskappy geskenk. Die saad is uit die staat Washington, V.S.A. ingevoer. By ontvangs (Junie, 1984) was die saad reeds twee jaar oud en glad nie teen enige patogene behandel nie. Vorige opbergingstoestande was onbekend. Nadat die saad ontvang is, is kiemingstoetse volgens die internasionale reëls vir saadtoetsing (International Seed Testing Association 1985) op die saad uitgevoer. 'n kiemingspersentasie van 99% het daarop gedui dat die saad in 'n baie goeie toestand was. Die gemiddelde vogpersentasie van die saad was 5,4. Die gemiddelde hipokotiellengte (Figuur 1) van 200 saailinge na tien dae was 32,1mm.

'n Volledig ewekansige ontwerp is gebruik, met 'n faktoriale rangskikking van die volgende faktore:

a). Warmwaterbehandeling; 'n onbehandelde kontrole is met 'n

warmwaterbehandeling voor opberging sowel as 'n warmwaterbehandeling na opberging vergelyk.

b). Saadvogpersentasies; saad met 3 vogpersentasies is gebruik, naamlik 4,5 7,0 en 10,0% (op 'n varsmassabasis).

c). Opbergingstemperatuur; saadmonsters is by 4, 15 en 25°C opgeberg.

d). Opbergingstydperk; saad is vir 0, 6, 12 en 18 maande opgeberg. Die nul tydperk verteenwoordig die aanvang van die eksperiment, nadat die saadmonsters voggeëkwilibreer is.

Behandelings is elk deur agt herhalings verteenwoordig. Elke herhaling het uit 25 saadjies bestaan.

Die kiemingspersentasie (na 10 dae van inkubasie) en die kiemingstempo (Maguire 1962) van die saad, sowel as die gemiddelde hipokotiellengtes (Figuur 1) van 10-dagoue saailinge is telkens bereken.

Die kiemingstempo is soos volg bereken (Maguire 1962):

$$\frac{\text{aantal gekiem, dag 1}}{1} + \frac{\text{aantal nuut gekiem, dag 2}}{2} + \frac{\text{aantal nuut gekiem, dag 3}}{3} + \frac{\text{aantal nuut gekiem, dag 4}}{4}.$$

Om monsters met verskillende persentasies saadvog te verkry is saad by relatiewe humiditeite van 15%, 45% en 75% geëkwilibreer. Glasbakkies met spesifieke swaelsuuroplossings (Tabel 1) is in desikkators geplaas. Saad is in enkellae in plastiek petri-bakkies op roosters bokant die swaelsuur in elke desikkator gepak. Die desikkators is verseël en die saad is toegelaat om by 25 °C vir 2 weke te ekwilibreer.

Om saadvogkonsentrasies te bepaal, is 5g monsters van die saad na ekwilibrering vir ongeveer 18 uur by 100 °C gedroog, vir 2 uur in 'n desikkator oor silika-gel afgekoel en geweeg. Die vogpersentasie van die saad is bereken op 'n varsmassa basis. Saad met gemiddelde vogpersentasies van 4,5 7,0 en 10,0 is by die onderskeie humiditeitsbehandelings verkry.

Tabel 1. Vogekwilibrering van koolsaad.

g H ₂ SO ₄ / 100g oplossing	RH by 25°C (Solomon, 1951)	Vogpersentasie in die saad van <u>Brassica</u> <u>oleracea</u> na 2 weke ekwilibrasie.
--	-------------------------------	---

60,80	15 %	4,5
45,41	45 %	7,0
30,14	75 %	10,0

Die warmwaterbehandeling is voor of na opberging soos volg uitgevoer:

Gelyke volumes gedistilleerde water is in afsonderlike proefbuis in 'n waterbad tot 50°C verhit. Die saadmonsters is in hierdie proefbuis in die gedistilleerde water onderdompel en vir 30 minute konstant by 50 °C in die waterbad gehou. Hierna is die saad met gedistilleerde water afgespoel, op filtreerpapier oopgesprei en oornag gelaat om droog te word.

Die saadmonsters wat voor opberging met warm water behandel is, is na die warmwaterbehandeling by die onderskeie vogpersentasies geëkwilibreer.

Vir opbergingsdoeleindes is die saadmonsters met behulp van 'n verseëlaar lugdig in gelamineerde aluminium-polistireen sakkies verseël. Die sakkies is deur die Mayford-Saadmaatskappy voorsien.

Die saad is telkens gekubeer volgens die internasionale reëls (International Seed Testing Association, 1985) in kiemingskaste waar 'n ligperiode van 16 uur by 20 °C afgewissel is met 'n donkerperiode van 8 uur by 15 °C. Daar is gebruik gemaak van kiemingsbakke met digpassende deksels met splete in. Kiemingspapier is so gevou dat dit deur die splete in die water onder in die kiemingsbakke gehang het.

Filtreerpapier is bo-op die kiemingspapier (bo-op die deksels) geplaas en sodoende klam gehou. Saad is dan op hierdie klam filtreerpapier uitgeplaas (25 saadjies per filtreerpapier). Perspex-koepeltjies is bo-oor elke filtreerpapier geplaas.

2.3. Resultate.

Die data wat ingesamel is, is met behulp van die GLM-prosedure van die SAS-program deur die Buro vir Rekenaardienste, Universiteit van Pretoria, verwerk.

As gevolg van die massa data wat verwerk moes word, is 'n Bonferroni - aanpassing van die peil van betekenis telkens gedoen.

Aan die hand van 'n variansie-analise van die data, sal verskille ten opsigte van die hoofeffekte eers bespreek word, alvorens oorgegaan word na 'n bespreking van die tweede orde wisselwerkings tussen faktore. Die eerste orde wisselwerkings sal nie bespreek word nie, aangesien die tweede orde wisselwerkings alle inligting dek wat aan die lig kom in geval van die eerste orde wisselwerkings.

2.3.1. Hoofeffekte.

Die hoofeffekte in hierdie proef was die tydstep van die

warmwaterbehandeling, opbergings tydperk, die vogpersentasie van die saad tydens opberging en die opbergings temperatuur.

2.3.1.1. Tydstip van die warmwaterbehandeling:

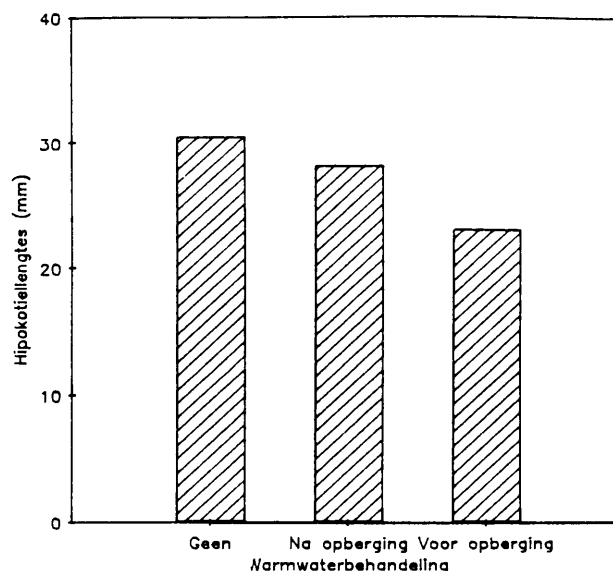
Die prestasie van die saad word wel deur die warmwaterbehandeling beïnvloed (Figure 2,3 en 4). Alhoewel die gemiddelde hipokotiel lengtes van 10-dagoue saailinge, die kiemingspersentasie en die kiemingstempo van saad wat na opberging behandel is, wel verlaag is, is dit nie betekenisvol in geval van kiemingspersentasie nie. Die verlaging van die gemiddelde hipokotiel lengtes van 10-dagoue saailinge, die kiemingspersentasie en die kiemingstempo in geval van saad wat voor opberging behandel is, is in alle gevalle meer betekenisvol as in geval van saad wat na opberging met warm water behandel is.

2.3.1.2. Opbergings tydperk:

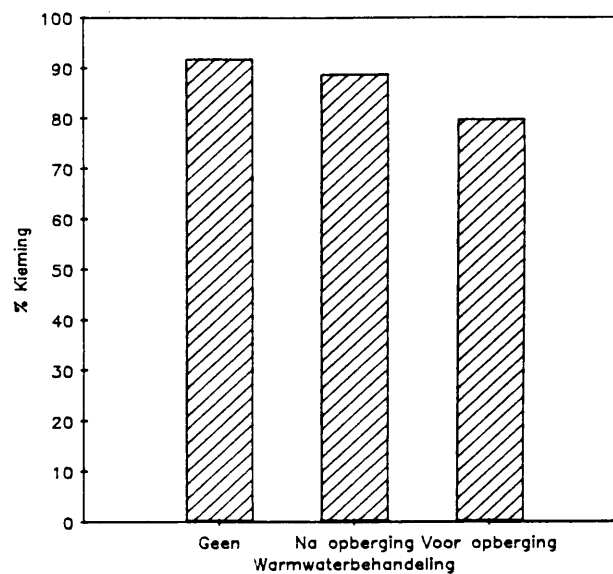
Dit moet beklemtoon word dat die saad by ontvangs reeds ongeveer 2 jaar oud was en dat die opbergings toestand tydens hierdie 2 jaar nie bekend is nie. By ontvangs was die saad egter in 'n goeie toestand en het dit goeie groeikragtigheid getoon, soos reeds bespreek is.

Die gemiddelde hipokotiel lengtes van 10-dagoue saailinge waarvan die saad 6 maande opgeberg is, het betekenisvol

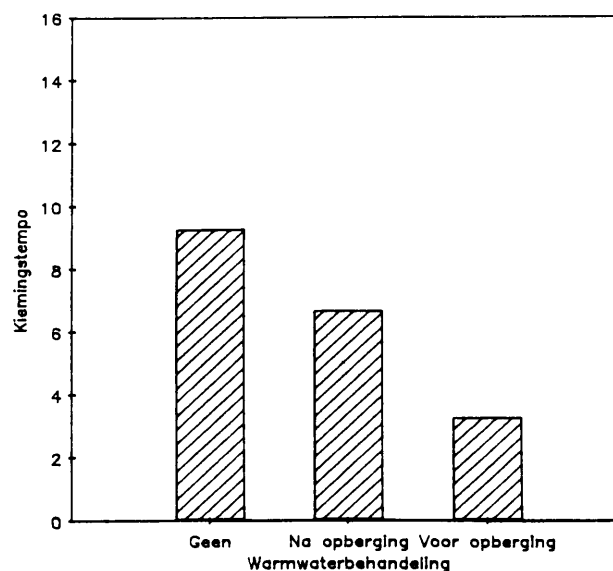
Figuur 2. Die invloed van die warmwaterbehandeling (50 °C vir 30 minute) as hoofeffek op die gemiddelde hipokotielengtes van 10-dagoue koolsaailinge.



Figuur 3. Die invloed van die warmwaterbehandeling (50 °C vir 30 minute) as hoofeffek op die kiemingspersentasie van koolsaad (dag 10).



Figuur 4. Die invloed van die warmwaterbehandeling (50 °C vir 30 minute) as hoofeffek op die kiemingstempo van koolsaad.



afgeneem (Figuur 5). Daarna was die afname van die gemiddelde hipokotiellengtes met verloop van die opbergings tydperk minder betekenisvol. Die kiemingspersentasie (Figuur 6) het feitlik liniêr afgeneem met verloop van tyd. Die lengte van die opbergings tydperk het ook die kiemingstempo (Figuur 7) toenemend negatief beïnvloed met verloop van tyd.

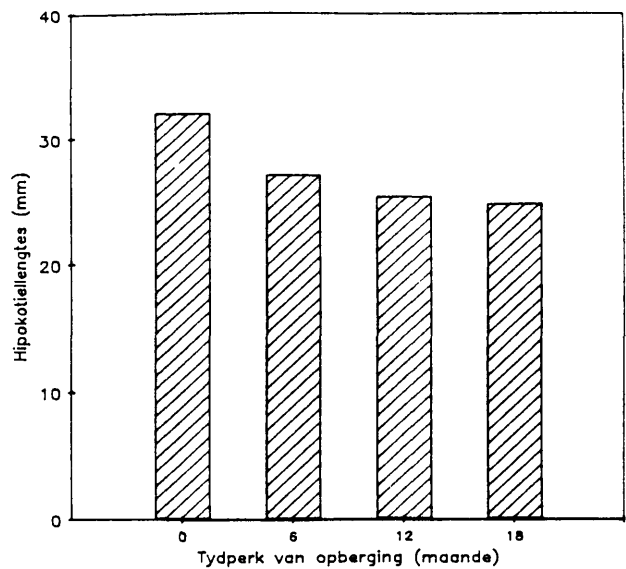
2.3.1.3. Saadvogpersentasie:

Die gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue saailinge, die kiemingspersentasie en die kiemingstempo van saad wat met 'n saadvogpersentasie van 10,0 opgeberg is (figure 8, 9 en 10), vertoon swakker as die van saad wat met 'n saadvogpersentasie van 4,5 en 7,0 opgeberg is. Die gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue saailinge, die kiemingspersentasie, maar veral die kiemingstempo van saad wat met 'n vogpersentasie van 4,5 opgeberg is, vertoon egter ook laer in vergelyking met die van saad wat met 'n vogpersentasie van 7,0 opgeberg is.

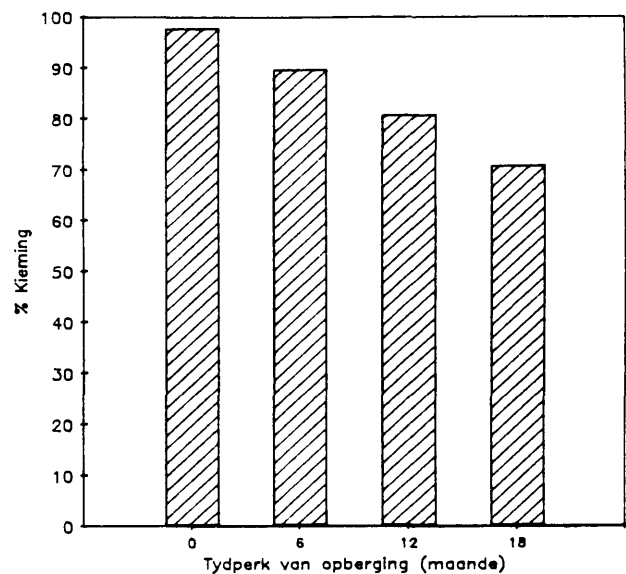
2.3.1.4. Opbergings temperatuur:

Die opbergings temperatuur van 4°C blyk gunstig te wees. Alhoewel die afname van die kiemingspersentasie van die saad wat by 15 °C opgeberg is (Figuur 12), nie statisties betekenisvol is nie, word die gemiddelde hipokotiellengtes

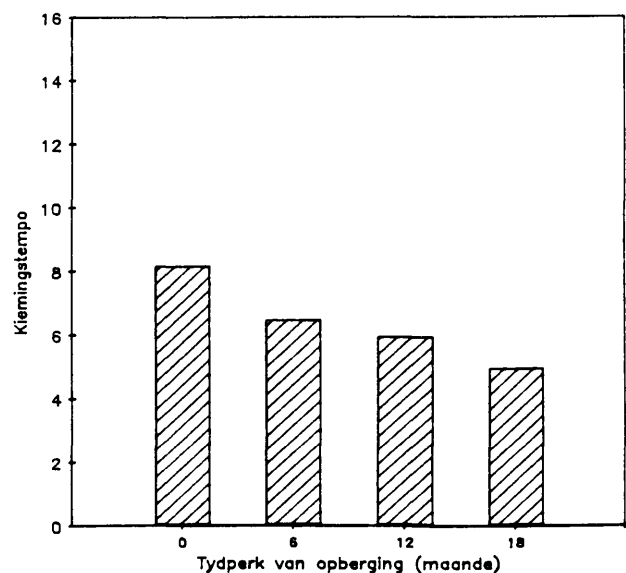
Figuur 5. Die invloed van tydsduur van opberging as 'n hoofeffek op die gemiddelde hipokotielengtes van 10-dagoue koolsaailinge.



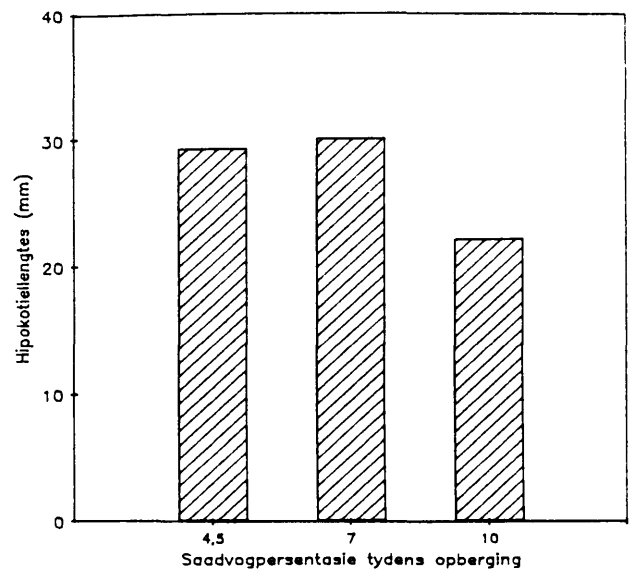
Figuur 6. Die invloed van tydsduur van opberging as hoofeffek op die kiemingspersentasie van koolsaad (dag 10).



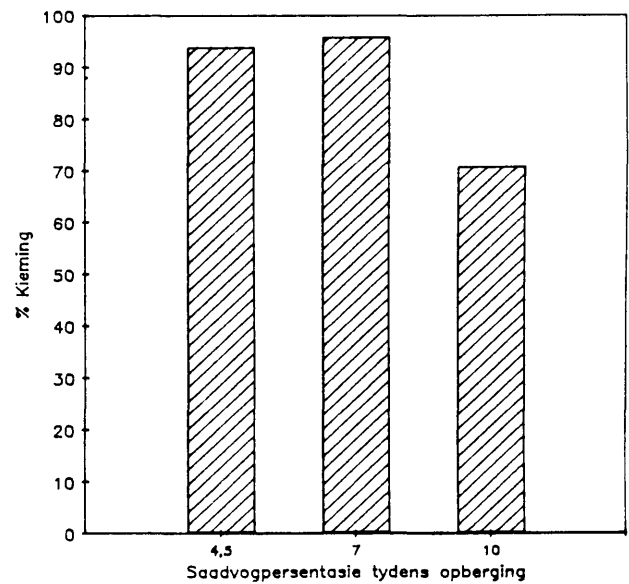
Figuur 7. Die invloed van tydsduur van opberging as hoofeffek op die kiemingstempo van koolsaad.



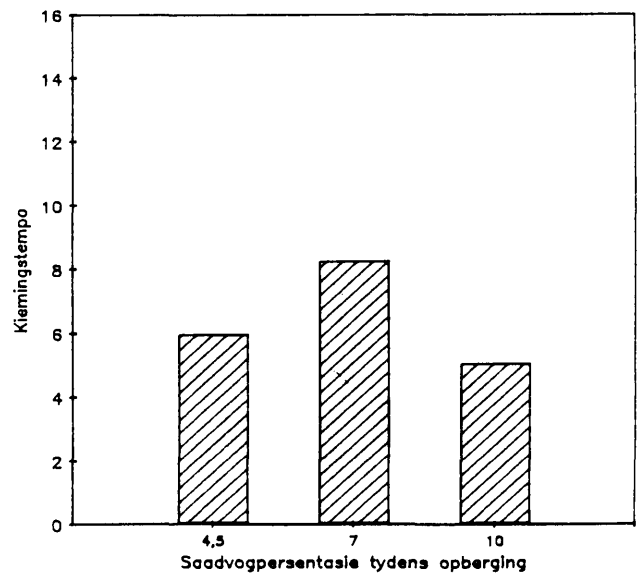
Figuur 8. Die invloed van die saadvogpersentasie tydens opberging as hoofeffek op die gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue koolsaailinge.



Figuur 9. Die invloed van die saadvogpersentasie tydens opberging as hoofeffek op die kiemingspersentasie van koolsaad (dag 10).



Figuur 10. Die invloed van die saadvogpersentasie tydens opberging as hoofeffek op die kiemingstempo van koolsaad.



van 10-dagoue saailinge en die kiemingstempo wel statisties betekenisvol beïnvloed (Figure 11 en 13). 'n Opbergings temperatuur van 25 °C het die gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue saailinge, die kiemingspersentasie en die kiemingstempo betekenisvol nadelig beïnvloed.

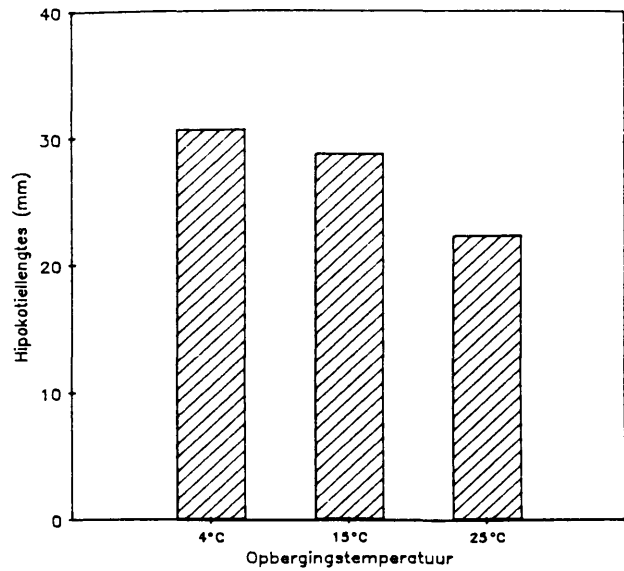
Alhoewel die invloed van bogenoemde faktore op die groeikragtigheid van koolsaad insiggewend is, is dit verder ook van belang om die wisselwerkings tussen hierdie faktore te bepaal.

Om betekenisvolle variasie in die wisselwerkings aan te dui, is gebruik gemaak van die meervoudige vergelykingstegniek van kleinste vierkante gemiddeldes.

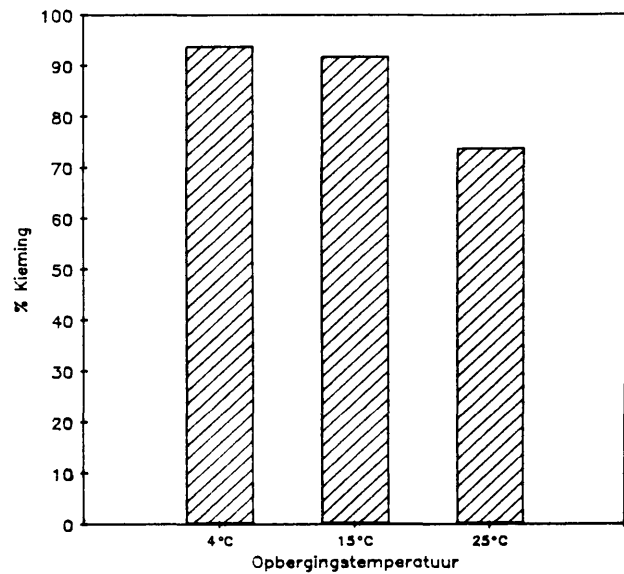
'n Aanvanlike analise van die saamgevoegde data van al die behandelings het 'n hoë positiewe korrelasie ($r = 0,9$) tussen die gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue saailinge en die kiemingspersentasie op dag 10 aangetoon. Die korrelasie tussen gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue saailinge en kiemingstempo asook tussen kiemingspersentasie en kiemingstempo was ook baie goed ($r = 0,7$ in beide gevalle).

Hierdie positiewe korrelasies dui daarop dat die eienskappe wat gebruik is om 'n aanduiding van saadgroeikragtigheid te

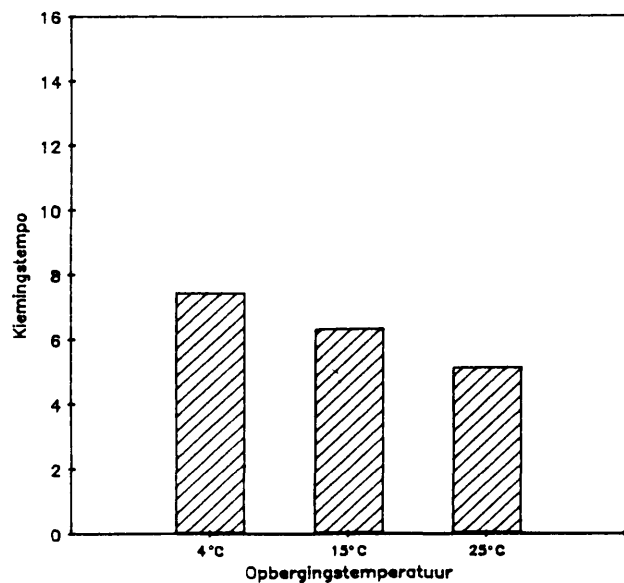
Figuur 11. Die invloed van die opbergings temperatuur as hoof effek op die gemiddelde hipokotiel lengtes van 10-dagoue koolsaailinge.



Figuur 12. Die invloed van die opbergings temperatuur as hoof effek op die kiemings persentasie van koolsaad (dag 10).



Figuur 13. Die invloed van die opbergings temperatuur as hoof effek op die kieming tempo van koolsaad.



verkry, tot 'n groot mate in responsie ooreengestem het. Die effens swakker korrelasie tussen hipokotiellengtes en kiemingspersentasie met die kiemingstempo, dui daarop dat kiemingstempo 'n afname in saadkwaliteit weerspieël, voordat die kiemingspersentasie of gemiddelde hipokotiellengtes beïnvloed word.

Vervolgens word die resultate van tweede orde wisselwerkings tussen die onderskeie veranderlikes bespreek.

2.3.2. Tweede orde wisselwerkings.

As gevolg van die hoër positiewe korrelasie wat tussen hipokotiellengtes en kiemingspersentasie bestaan, word slegs die resultate wat ten opsigte van eersgenoemde parameter verkry is, bespreek. Volledigheidshalwe word die histogramme wat die resultate ten opsigte van kiemingspersentasie verteenwoordig, ter insae ingesluit.

2.3.2.1. Die wisselwerking tussen die warmwaterbehandeling, opbergingstyd en saadvogpersentasie:

a). Gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue saailinge:

In die geval van onbehandelde saad en saad wat na opberging behandel is, is daar tot en met 18 maande, nie 'n statisties betekenisvolle afname in die gemiddelde hipokotiellengtes

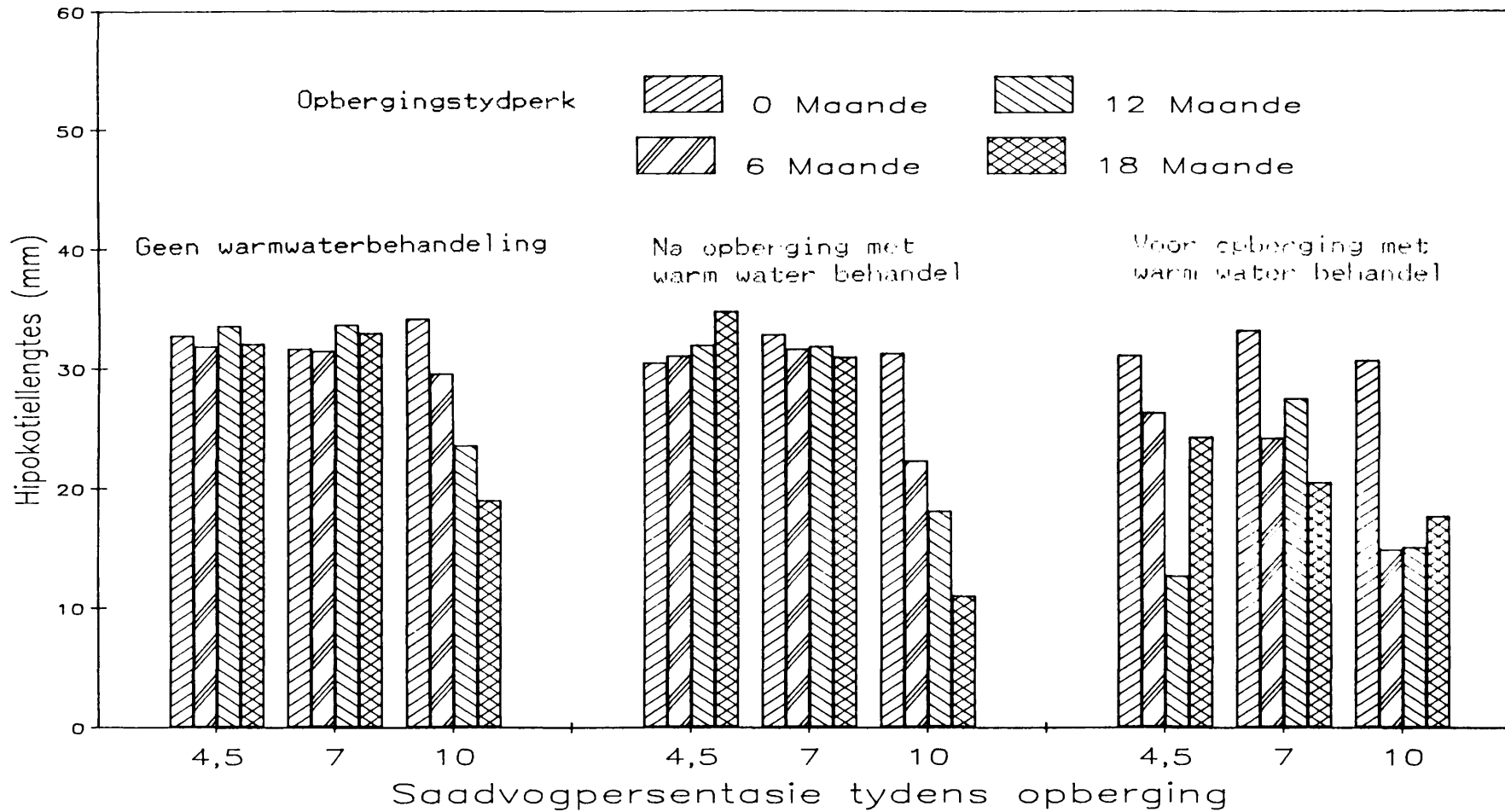
van 10-dagoue saailinge, waarvan die saad met vogpersentasies van 4,5 en 7,0 opgeberg is, gevind nie (Figuur 14).

Dergelyke saad wat egter met 'n vogpersentasie van 10,0 opgeberg is, toon wel 'n statisties betekenisvolle progressiewe afname in gemiddelde hipokotiellengtes oor 'n tydsverloop van 18 maande.

In teenstelling met onbehandelde saad en met saad wat na opberging met warm water behandel is, het die warmwaterbehandeling voor opberging, 'n statisties betekenisvolle nadelige invloed op die gemiddelde hipokotiellengtes na 6 maande by alle saadvogpersentasies. Hierdie nadelige invloed op die gemiddelde hipokotiellengtes is meer drasties na 12 maande van opberging in geval van saad wat met 'n vogpersentasie van 4,5 opgeberg is, waarna 'n betekenisvolle herstel na 18 maande van opberging plaasvind.

In die geval van saad wat met 'n vogpersentasie van 7,0 opgeberg is, vind daar 'n mate van herstel plaas na 12 maande, maar na 18 maande is die gemiddelde hipokotiellengtes weer statisties betekenisvol nadelig beïnvloed.

Die nadelige uitwerking van die warmwaterbehandeling voor opberging, op saad wat met 'n vogpersentasie van 10,0



Figuur 14. Die invloed van saadvogpersentasie, tydskuur van opberging en tydstop van warmwaterbehandeling, op die gemiddelde hipokotielengtes van 10-dagoue koolsaailinge.

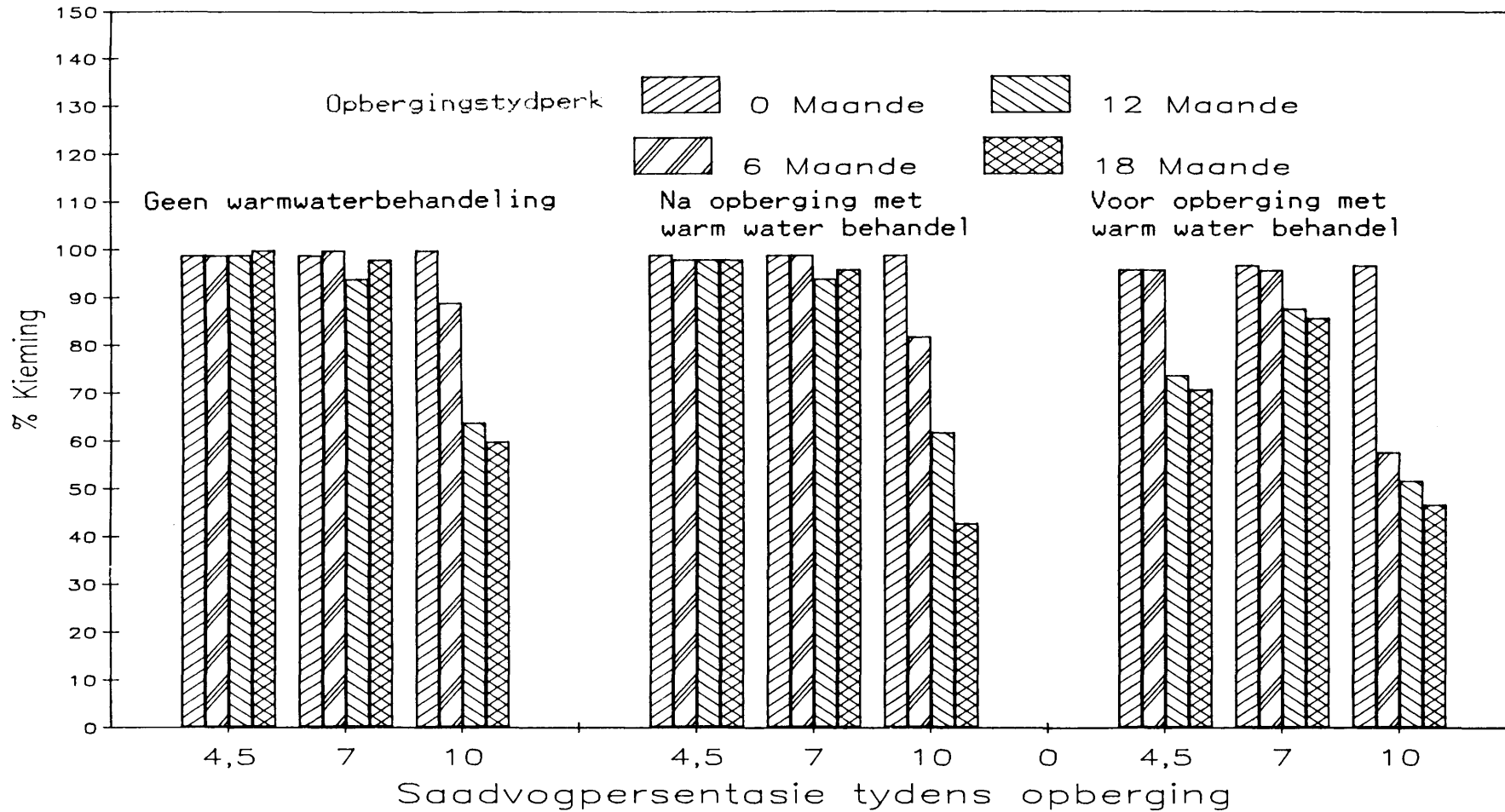
opgeberg is, is reeds na 6 maande ooglopend en vertoon nie statisties betekenisvolle herstel, soos in die geval van saad wat by 4,5% vog opgeberg is (na 18 maande) en saad wat by 7,0% vog opgeberg is (na 12 maande) nie.

b). Kiemingspersentasie - dag 10:

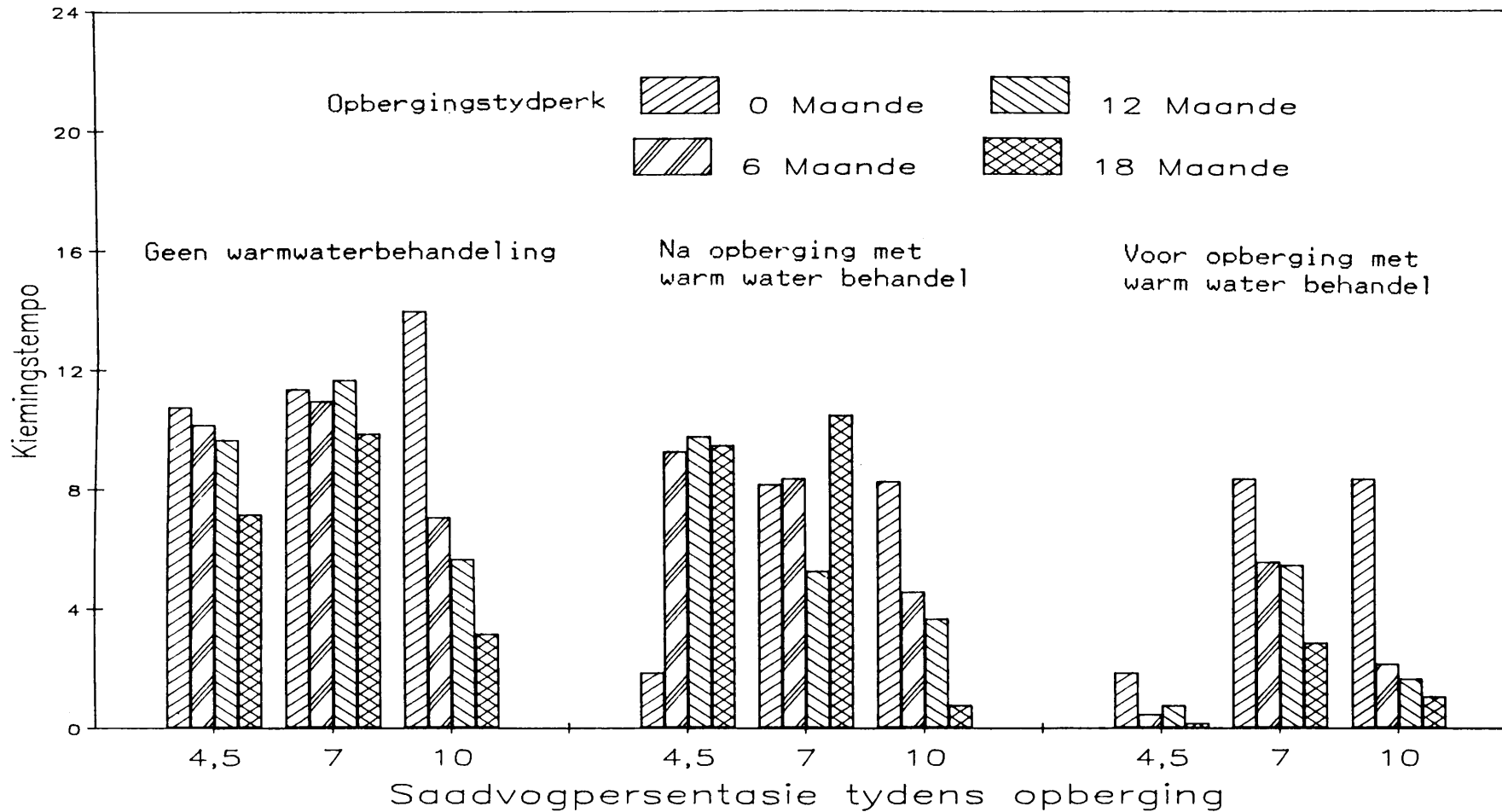
Soos reeds genoem, word dieselfde tendense by die kiemingspersentasies bespeur as by die gemiddelde hipokotiel lengtes en word hierdie resultate (Figuur 15) nie breedvoerig uiteengesit nie. Die verskynsel van herstel met verloop van tyd, wat in die geval van die hipokotiel groei in sekere behandelings (vogpersentasies tydens opberging 4,5 en 7,0; voor opberging met warm water behandel) waargeneem is, kom egter nie in die data vir kiemingspersentasies voor nie.

c). Kiemingstempo:

Die vogpersentasie van die saad was aanvanklik 5,4. Die saadvogpersentasie van 4,5 verteenwoordig dus 'n effense verdere dehidrasie van die saad. Wanneer hierdie saad ook direk na die dehidrasie aan 'n warmwaterbehandeling onderwerp word, (0 maande opbergingstyd), word die saad waarskynlik blootgestel aan imbibisieskok - gevolglik vertoon sulke saad dan 'n baie lae kiemingstempo (Figuur 16). Saad met 'n vogpersentasie van 4,5 wat egter na 6 - 18 maande na opberging met warm water behandel is, vertoon weer hoër



Figuur 15. Die invloed van saadvogpersentasie, tydsduur van opberging en tydstip van warmwaterbehandeling, op die kiemingspersentasie (dag10) van koolsaad.



Figuur 16. Die invloed van saadvogpersentasie, tydsduur van opberging en tydstip van warmwaterbehandeling, op die kiemingstempo van koolsaad.

kiemingstempo's. 'n Soortgelyke herstel vind egter nie plaas in geval van dergelyke saad wat voor opberging met warm water behandel is nie. Soortgelyke lae kiemingstempo's kom nie voor in die data van die saad wat met vogpersentasies van 7,0 en 10,0 opgeberg is nie.

Die hoë kiemingstempo (Figuur 16) van onbehandelde saad, wat by 'n saadvogpersentasie van 10,0 geëkwilibreer is, voordat enige opberging plaasgevind het (0 maande), kan moontlik verklaar word aan die hand van 'n hoër hidreringspeil van die saad, aangesien die saadvogpersentasie met die aanvang van imbibisie reeds relatief hoog was. Die kiemingstempo word met ander woorde deur die ekwilibrering versnel. Omdat geen opberging tot op hierdie stadium plaasgevind het nie, het hierdie hoë saadvogpersentasie dan ook nie die saad nadelig beïnvloed nie.

Die verlaging van die kiemingstempo van die onbehandelde saad met die verloop van opbergingstyd, is veral betekenisvol in geval van saad met 'n vogpersentasie van 10,0 tydens opberging (Figuur 16).

Die kiemingstempo van saad wat na opberging met warm water behandel is, vertoon oor die algemeen swakker in vergelyking met die van onbehandelde saad (Figuur 16). Dit is veral opvallend in geval van die saad wat met 'n saadvogpersentasie van 10,0 opgeberg is.

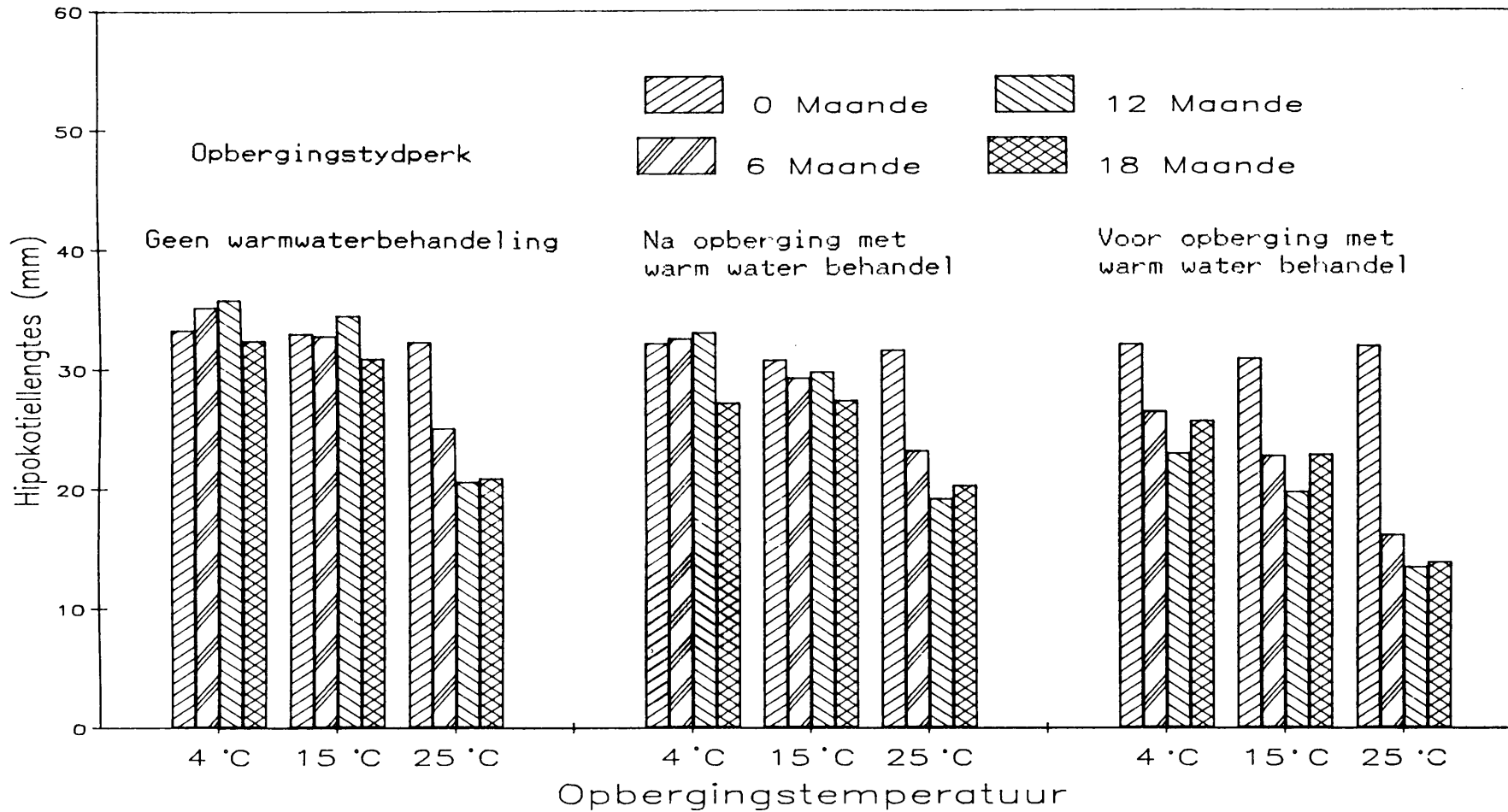
Die nadelige invloed van die warmwaterbehandeling voor saadopberging (Figuur 16), is groter as in die geval van saad wat na opberging behandel is, weereens met 'n drastiese afname met opbergingstyd in die geval van saad wat met 'n vogpersentasie van 10,0 opgeberg is.

2.3.2.2. Die wisselwerking tussen die warmwaterbehandeling, opbergingstydperk en opbergingstemperatuur:

a). Gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue saailinge:

Saailinge van onbehandelde saad toon 'n betekenisvolle afname in gemiddelde hipokotiellengtes na 6 maande saadopberging by 25 °C (Figuur 17), met 'n verdere afname tot 12 maande. Die waardes verkry na 12 maande verskil nie betekenisvol van die waardes verkry na 18 maande nie. Die geringe afname na 18 maande opberging by 4 °C en 15 °C is nie statisties betekenisvol nie.

In die geval van saad wat na opberging met warm water behandel is, het die hoër opbergingstemperatuur (25 °C) 'n soortgelyke invloed as op die onbehandelde saad (Figuur 17). Daar is ook 'n statisties betekenisvolle afname in die gemiddelde hipokotiellengtes van saailinge waar saad vir 18 maande by 4 °C opgeberg is. 'n Soortgelyke afname in die geval van saad wat vir 18 maande by 15 °C opgeberg is, is egter nie statisties betekenisvol nie.



Figuur 17. Die invloed van opbergingstemperatuur, tydsduur van opberging en tydstip van warmwaterbehandeling, op die gemiddelde hipokotiel lengtes van 10-dagoue koolsaailinge.

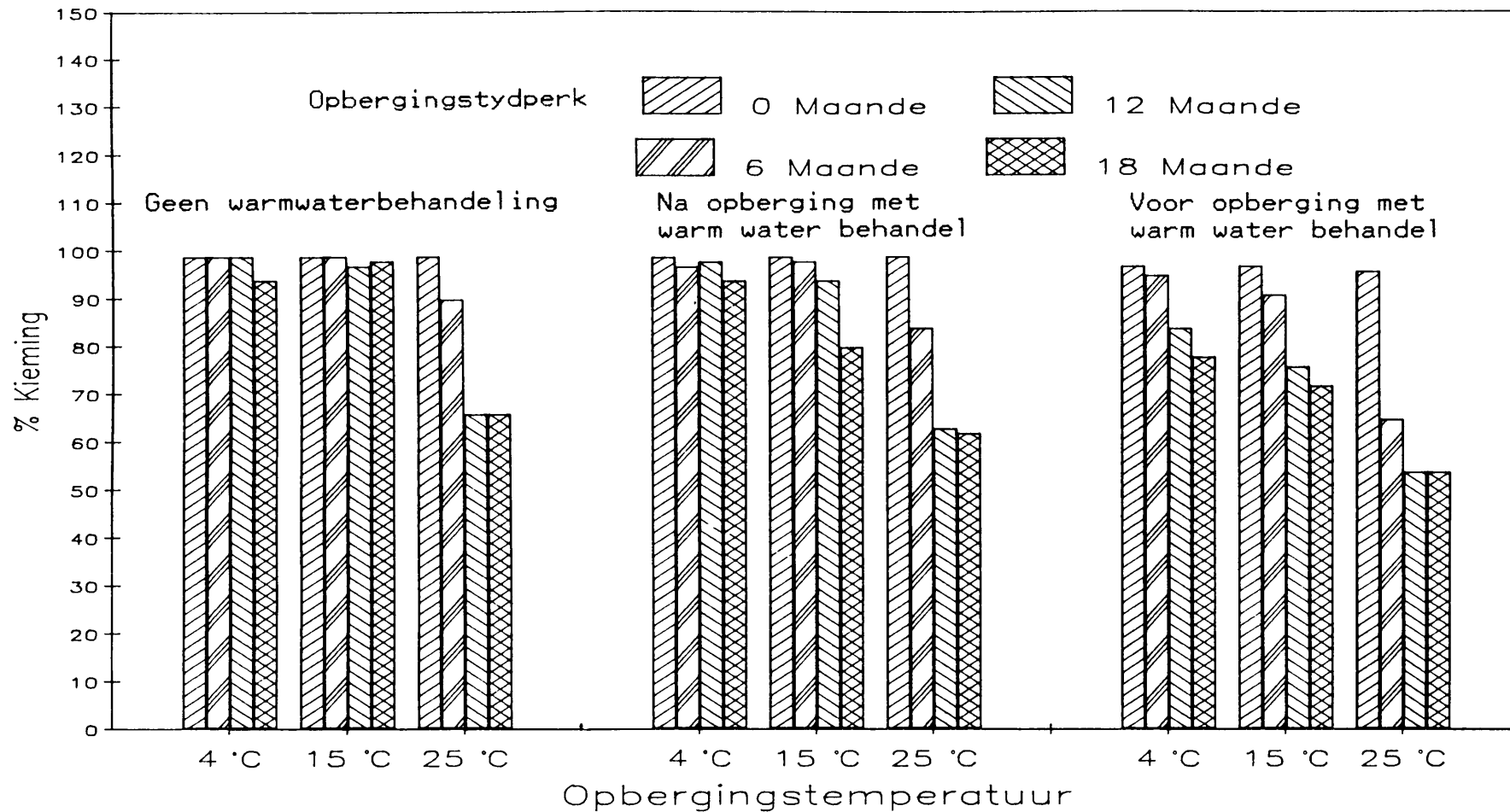
In die geval van saad wat voor opberging met warm water behandel is, is daar by al drie opbergingstemperature, reeds na 6 maande opberging 'n statisties betekenisvolle afname in die gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue saailinge (Figuur 17), met die grootste afname by die opbergingstemperatuur van 25 °C. Verskille tussen die opbergingstye van 6, 12 en 18 maande is nie statisties betekenisvol nie.

b). Kiemingspersentasie - dag 10:

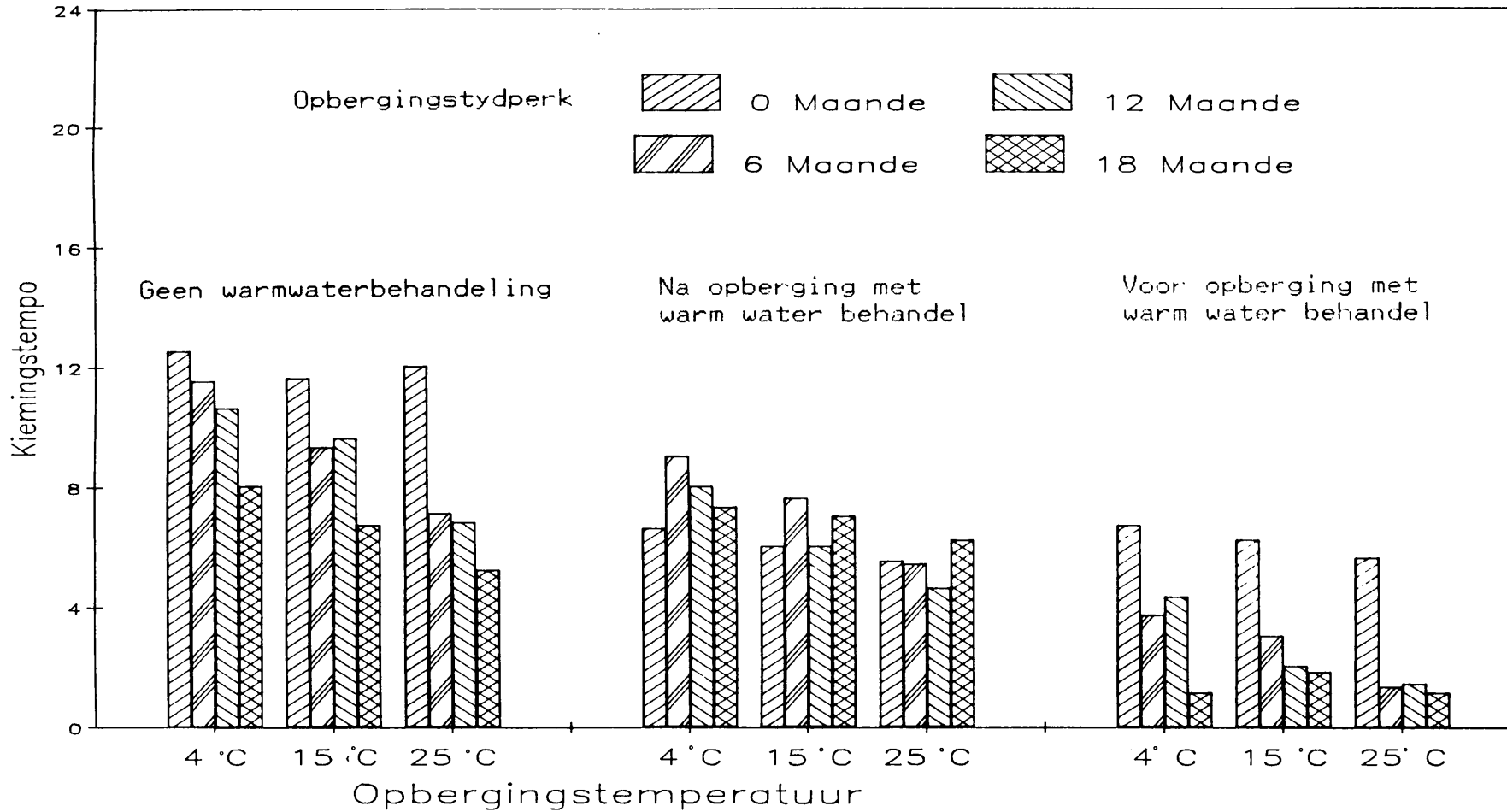
Die invloed van die opbergingstemperatuur op die kiemingspersentasie van koolsaad stem ooreen met die invloed op die gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue saailinge. Daar is egter eers na 12 maande opberging by 25 °C 'n statisties betekenisvolle afname in die kiemingspersentasies van onbehandelde saad en van saad wat na opberging met warm water behandel is (Figuur 18), terwyl die nadelige invloed van die hoër opbergingstemperatuur reeds na 6 maande waargeneem kan word in die geval van die gemiddelde hipokotiellengtes.

c). Kiemingstempo:

Die kiemingstempo van onbehandelde saad (Figuur 19) neem af met verloop van tyd, ongeag die opbergingstemperatuur,



Figuur 18. Die invloed van opbergingstemperatuur, tydskuur van opberging en tydstop van warmwaterbehandeling, op die kiemingspersentasie (dag 10) van koolsaad.



Figuur 19. Die invloed van opbergingstemperatuur, tydsduur van opberging en tydstip van warmwaterbehandeling, op die kiemingstempo van koolsaad.

hoewel hierdie afname in omvang toeneem soos die opbergingstemperatuur styg.

Direk na die warmwaterbehandeling (0 maande) is die kiemingstempo heelwat laer in vergelyking met onbehandelde saad (figuur 19). Die warmwaterbehandeling (hetsy voor of na opberging) lei dus tot 'n verlaging in die kiemingstempo. Die kiemingstempo van saad wat voor opberging met warm water behandel is, neem met verloop van tyd meer drasties af as in die geval van die saad wat na opberging met warm water behandel is.

Die warmwaterbehandeling het dus 'n sterk nadelige invloed op die kiemingstempo van koolsaad, veral waar die behandeling voor opberging geskied.

2.3.2.3. Die wisselwerking tussen die warmwaterbehandeling, saadvogpersentasie en opbergingstemperatuur:

a). Gemiddelde hipokotiellengtes:

Die mees ooglopende effek van hierdie wisselwerking op die hipokotiellengtes van 10-dagoue koolsaailinge, was die nadelige invloed van die relatief hoë saadvogpersentasie (10,0) in kombinasie met die relatief hoë opbergingstemperatuur (25°C), ongeag of die saad met warm water behandel is of nie en of die saad voor of na opberging

behandel is (Figuur 20).

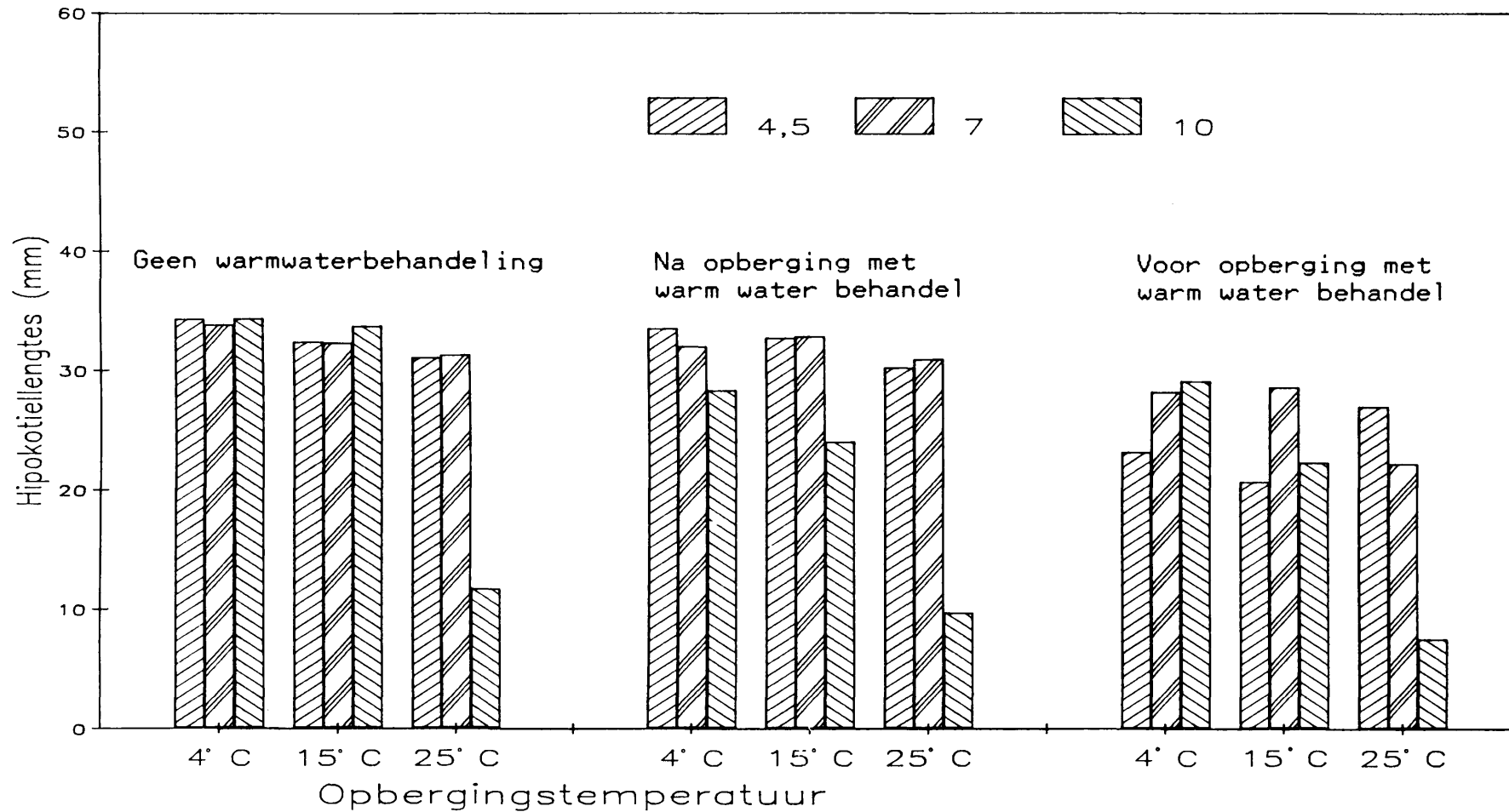
'n Relatief hoë opbergings temperatuur (25°C) het slegs 'n statisties betekenisvolle nadelige invloed op die gemiddelde hipokotiel lengtes van onbehandelde saad, wanneer die saad met 'n relatief hoë persentasie saadvog (10,0) opgeberg word (Figuur 20).

In die geval van saad wat na opberging met warm water behandel is, het die gemiddelde hipokotiel lengtes van saailinge waarvan die saad met 'n saadvog persentasie van 10,0 opgeberg is, nie net statisties betekenisvol afgeneem waar die saad by 25°C opgeberg is nie, maar ook waar die saad by 15°C opgeberg is.

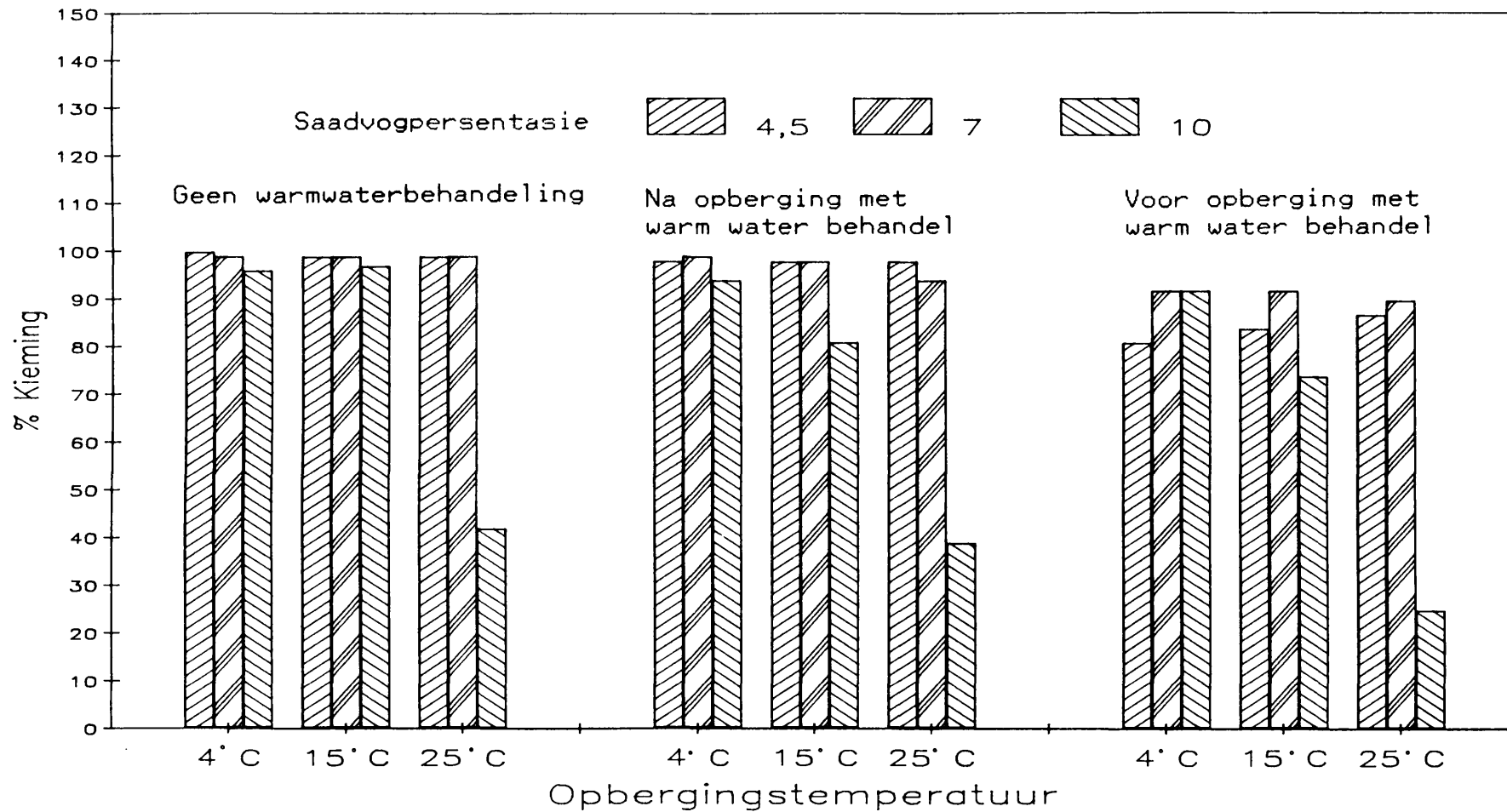
Dieselfde neiging kom voor in die geval van koolsaad wat voor opberging met warm water behandel is (Figuur 20). Hierdie saad presteer egter oor die algemeen effens swakker as die saad wat na opberging met warm water behandel is. Die gemiddelde hipokotiel lengtes van die saailinge waarvan die saad met 'n voginhoud van 7,0% opgeberg is, toon in hierdie geval ook 'n statisties betekenisvolle afname.

b). Kiemingspersentasie - dag 10:

Die resultate van die kiemingspersentasies het dieselfde tendense getoon as die van die gemiddelde hipokotiel lengtes van 10-dagoue saailinge, soos hierbo bespreek is (Figuur 21).



Figuur 20. Die invloed van saadvogersentasie, opbergingstemperatuur en tydstop van warmwaterbehandeling, op die gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue koolsaailinge.



Figuur 21. Die invloed van saadvogpersentasie, opbergingstemperatuur en tydstop van warmwaterbehandeling, op die kiemingspersentasie (dag 10) van koolsaad.

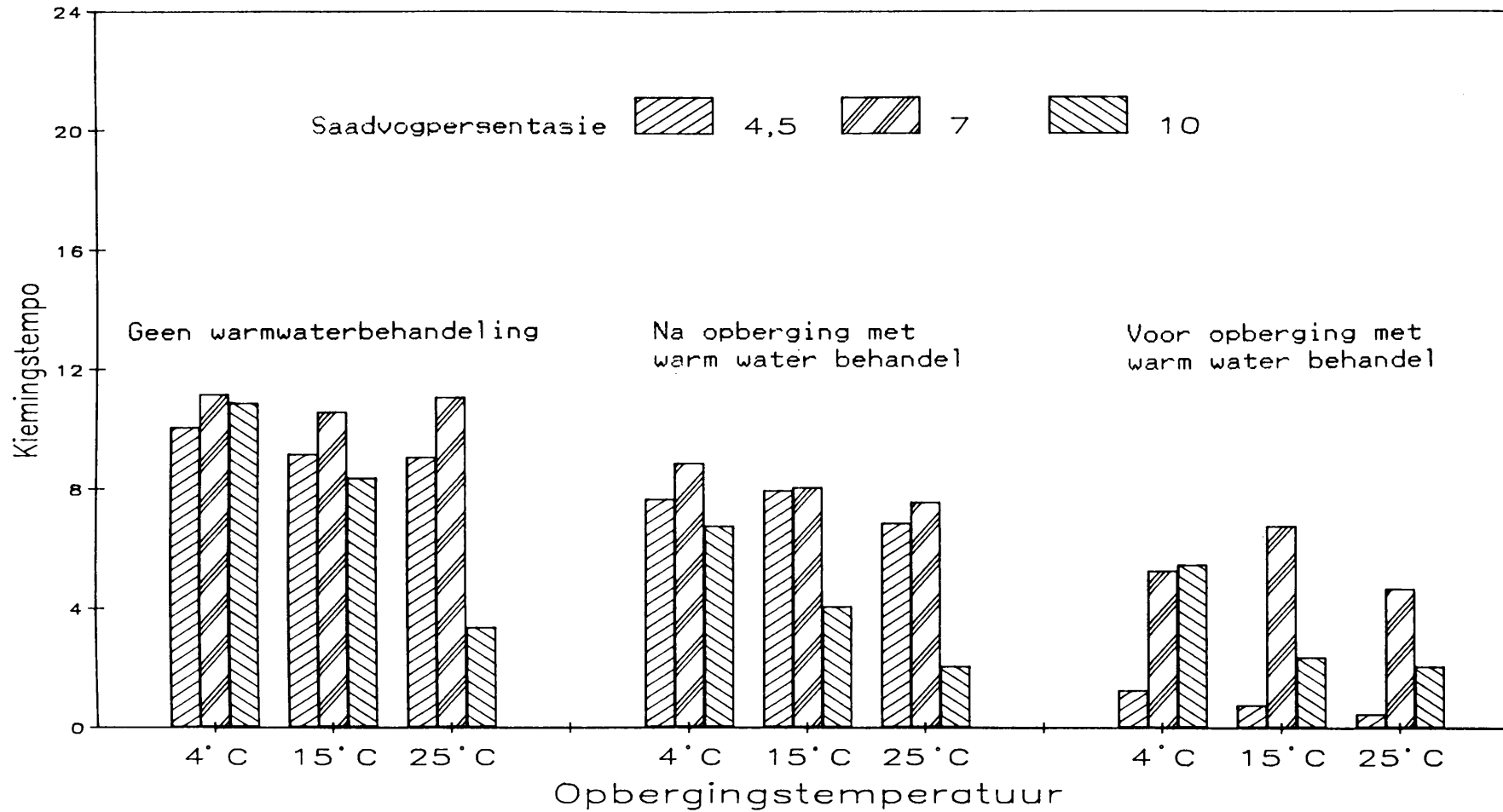
c). Kiemingstempo:

Die kiemingstempo van koolsaad (met warm water behandel of nie), wat met 'n saadvog van 10,0 % opgeberg is, neem af soos die temperatuur waarby die saad opgeberg is, toeneem (Figuur 22).

Die warmwaterbehandeling verlaag die kiemingstempo van koolsaad wat na opberging behandel is oor die algemeen, maar veral in geval van saad met 'n vogpersentasie van 10,0.

Hierdie neiging kom ook voor in die geval van die koolsaad wat voor opberging met warm water behandel is (Figuur 22), maar die heelwat laer kiemingstempo van die saad wat met 'n vogpersentasie van 4,5 opgeberg is, by 4°C, 15°C en 25°C, is ooglopend en statisties betekenisvol.

Die nadelige invloed van hierdie wisselwerking op die kiemingstempo van koolsaad, kan vergelyk word met die invloed van die warmwaterbehandeling voor saadopberging op koolsaad met 'n vogpersentasie van 4,5 (Figuur 16), waar dieselfde imbibisieskok nie met die verloop van tyd herstel nie. Hierdie nadelige invloed van die warmwaterbehandeling voor saadopberging, op saad met 'n relatief lae vogpersentasie (4,5), word nie statisties betekenisvol vererger deur hoër opbergingstemperature nie (Figuur 22).



Figuur 22. Die invloed van saadvogpersentasie, opbergingstemperatuur en tydstop van warmwaterbehandeling, op die kiemingstempo van koolsaad.

2.4. Bespreking.

Soos reeds bespreek, word die warmwaterbehandeling vandag nog beskou as 'n effektiewe, praktiese en relatief ekonomiese manier om saadgedraagde patogene op koolsaad te beheer. Die argument wat egter deur kwekers teen die warmwaterbehandeling geopper word, is die nadelige invloed wat dit op die saad mag hê, wat dan ook groot finansiële verliese tot gevolg het.

Alhoewel sommige outeurs van mening is dat die warmwaterbehandeling saad nie beskadig nie (Sivaram 1982), is daar ander outeurs wat die teenstrydigheid verklaar met die stelling dat varsgeoeste saad nie deur hierdie behandeling benadeel word nie, maar wel saad wat vir 'n tydperk opgeberg is (Williams, 1980).

Die rol wat opbergingsstoestande en die tydstip van die warmwaterbehandeling (voor of na opberging) speel om die invloed van die warmwaterbehandeling te wysig, is nie voorheen bestudeer nie.

Hierdie studie het aan die lig gebring dat ongunstige opbergingsstoestande, veral wanneer die warmwaterbehandeling voor opberging toegedien word, die nadelige invloed van die warmwaterbehandeling betekenisvol vererger. Terselfdertyd,

kan gunstige opbergingstoestande die nadelige invloed van die warmwaterbehandeling tot 'n groot mate verhoed, veral wanneer die saad dan eerder na opberging behandel word.

Van die drie opbergingstemperature wat ondersoek is, naamlik 4°C, 15°C en 25°C, het die saad wat by 4°C opgeberg was, by alle saadvogpersentasies en opbergingstye, in die geval van onbehandelde saad, saad wat na opberging behandel is, sowel as saad wat voor opberging behandel is, die beste resultate gelewer.

Alhoewel die relatief hoë saadvogpersentasie van 10,0 duidelik die kwaliteit van die saad tydens opberging (veral by opbergingstemperature van 15°C en 25°C en veral waar die saad voor opberging behandel is) verlaag, kan dehidrering van die saad tot 'n te lae vogpersentasie, veral die kiemingstempo van koolsaad benadeel.

By ontvangs was die vogpersentasie van die koolsaad wat vir hierdie studie gebruik is, 5,4. Die ekwilibrasie van die saad tot 'n vogpersentasie van 4,5 het dus 'n verdere dehidrasie van die saad behels. Hierdie saad wat met warm water behandel is, veral voor opberging, het 'n lae kiemingstempo getoon (Figure 16 en 22). Alhoewel hierdie verdere dehidrasie nie die gemiddelde hipokotiellengtes of die uiteindelijke kiemingspersentasie op sigself betekenisvol benadeel nie (Figure 14, 15, 20 en 21), sou die laer

kiemingstempo van die saad in die grond, die saad en saailinge langer blootstel aan skadelike grondorganismes en die uiteindelijke opkoms sou swakker wees.

Justice en Bass (1979) voer aan dat die afname in saadgroei-kragtigheid van saad wat gedroog word tot 'n vogpersentasie van 5 of minder (RH van 40 % of minder), eerder as gevolg van die vinnige wateropname tydens vroeë imbibisie is as 'n direkte gevolg van die dehidrasie. Tilden en West (1985) het gevind dat 'n vertraagde imbibisietempo hierdie effek in die geval van sojabone ophef.

Hierdie imbibisieskok by koolsaad met 'n lae vogpersentasie, kan moontlik uitgeskakel word deur die saad toe te laat om by atmosferiese humiditeit te ekwilibreer, voordat dit geplant word.

Die aanbeveling van Justice en Bass (1979) dat die saadvog van die meeste saad nie laer as 3 - 4 % verminder moet word nie, moet in die geval van koolsaad verhoog word, aangesien 'n vogpersentasie van 4,5 die kiemingstempo nadelig beïnvloed (veral waar die saad voor opberging met warm water behandel is).

In die lig van bogenoemde, is dit duidelik dat in die geval van die drie saadvogpersentasies wat ondersoek is, naamlik 4,5 7,0 en 10,0, die saadvogpersentasie van 7,0 tydens saadopberging, oor die algemeen die prestasie van die saad

die minste benadeel.

Die tydstip waarop die warmwaterbehandeling toegedien word (voor of na saadopberging), wysig die invloed daarvan op die saad aansienlik.

Alhoewel saad wat na opberging by gunstige toestande met warm water behandel is, effens swakker presteer as onbehandelde saad, is hierdie afname nie betekenisvol nie, behalwe in die geval van kiemingstempo. Ongunstige opbergingstoestande veroorsaak egter 'n betekenisvolle verskil.

Die prestasie van saad wat voor opberging met warm water behandel is, is in alle gevalle betekenisvol swakker as saad wat na opberging behandel is. Tydsverloop en ongunstige opbergingstoestande vererger die nadelige invloed van die warmwaterbehandeling voor saadopberging.

Koolsaad wat na opberging by gunstige toestande (tot en met 18 maande) met warm water behandel word, word dus nie betekenisvol nadelig beïnvloed nie, behalwe wat kiemingstempo betref. In die geval van koolsaad wat voor opberging behandel word, is gunstige opberging van die grootste belang, om die nadelige invloed van die warmwaterbehandeling te minimiseer.

Hoofstuk 3. Chemiese behandeling.

3.1. Inleiding.

Dit was nie die doel van hierdie studie om 'n effektiewe bestrydingsmiddel teen patogene van koolsaad te identifiseer nie, maar wel om moontlike fitotoksiese effekte van middels wat algemeen gebruik word, na te gaan. Chemiese middels is duurder as die warmwaterbehandeling, maar word tog in die praktyk gebruik, omdat sommige kwekers glo dat die warmwaterbehandeling die groeikragtigheid van koolsaad nadelig beïnvloed. 'n Spesifieke middel is ook nie noodwendig teen alle patogene effektief nie. Die vermoë van lewende organismes om mutasies te ondergaan kan ook tot gevolg hê dat rasse van die patogene ontstaan wat weerstandbiedend is teen die chemiese behandeling.

Verskeie saadbehandelingsmiddels benadeel die groeikragtigheid van koolsaad in so 'n mate dat dit nie prakties is om hulle te gebruik nie. Voorbeelde hiervan is thiabendazool en NaOCl (Jacobsen & Williams 1971); poeiers wat koper bevat (Walker et al. 1985); kaptan en ETMT (terrazool) (Harman & Nash 1978).

Die gebruik van benomyl om Phoma lingam te bestry, word dikwels aanbeveel (Jacobsen & Williams 1971, Gabrielson et al. 1977). Jacobsen & Williams (1971) het gevind dat die poeiervorm van benomyl 'n nadelige effek op die

groeikragtigheid van die saad het en ook nie die fungus doeltreffend bestry nie. Volgens hierdie outeurs verseker die week van saad in 'n 0,2 % benomyl-oplossing by 30 C vir 24 uur nie net Phoma-vrye saad nie, maar word die groeikragtigheid van die saad ook glad nie nadelig beïnvloed nie. Gabrielson et al. (1977) wys egter daarop dat hierdie metode die verspreiding van Xanthomonas campestris bevorder. 'n Verdere nadeel van die gebruik van benomyl-behandelings is die feit dat saad wat met benomyl behandel word, meer kwesbaar is vir aanval deur nie-teiken organismes in die grond. Volgens hierdie outeurs moet saad wat met benomyl behandel word, dus in elk geval ook met warm water behandel word om Xanthomonas campestris te bestry, asook met 'n middel soos tiram-poeier bestuif word om te vergoed vir die groter kwesbaarheid teen nie-teiken organismes in die grond.

Harman & Nash (1978) het die behandeling van koolsaad met benomyl, opgelos in 'n organiese oplosmiddel (asetoon), ondersoek. Alhoewel die voorkoms van Phoma lingam feitlik totaal uitgeskakel is, is die Alternaria-infeksie nie voldoende gereduseer nie. Die groeikragtigheid van die saad is nie betekenisvol nadelig beïnvloed nie, behalwe waar die testas van die saad beskadig is. Die outeurs wys ook daarop dat baie fungi in staat is om baie vinnig weerstand op te bou teen benomyl.

Die behandeling van koolsaad met tiram is gewoonlik slegs om die saad en saailinge teen skadelike organismes in die grond

te beskerm, aangesien baie outeurs al aangetoon het dat tiram nie baie effektief is teen Phoma lingam, Alternaria spp. of Xanthomonas campestris nie (Harman & Nash 1978, Jacobsen & Williams 1971).

Vir die doel van hierdie studie, is die invloed van twee behandelings op die groeikragtigheid van koolsaad ondersoek.

Eerstens is 'n flodderbehandeling van benomyl (vir die bestryding van Phoma lingam) en tiram (om te vergoed vir die groter kwesbaarheid teen skadelike grondorganismes as gevolg van die benomylbehandeling) ondersoek.

Tweedens is 'n kort warmwaterbehandeling (vir die bestryding van Xanthomonas campestris en Alternaria spp.) in kombinasie van bogenoemde flodderbehandeling, ondersoek.

Die invloed van hierdie behandelings op die groeikragtigheid van koolsaad, is voor en na 12 maande opberging by 'n opbergingstemperatuur van 4 C en by 'n saadvogpersentasie van 4,5 ondersoek.

3.2. Materiaal en metode.

Die koolsaad wat vir hierdie deel van die ondersoek gebruik is, is van dieselfde saad as wat vir die vorige deel van die ondersoek (hoofstuk 2) gebruik is, naamlik saad van die

kultivar "Drumhead" (Lot nr. GNS-1581), afkomstig van die staat Washington, V.S.A., soos reeds in hoofstuk 2 bespreek is.

Twee behandelings is uitgevoer:

a). Koolsaad is behandel met 'n flodderbehandeling van 0,05g benomyl en 0,06g tiram per 20g saad (aanbevole dosisse), in genoeg water om 'n flodder te maak.

b). 'n Kort warmwaterbehandeling is toegedien (15 minute in water van 50°C), gevolg deur bogenoemde flodderbehandeling.

Die kiemingsgedrag van saad wat aan bogenoemde behandelings blootgestel is, is beide voor en na opberging met die van onbehandelde saad vergelyk.

Vir opberging is saad geëkwilibreer om 'n saadvogpersentasie van 4,5 te verkry (Tabel 1). Hierdie saad is vir 12 maande by 4°C opgeberg.

Die saad is volgens die internasionale reëls geïnkubeer (International Seed Testing Association 1985), soos reeds in die vorige hoofstuk beskryf is. Die gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue saailinge, die kiemingspersentasie (dag 10) en die kiemingstempo (Maquire 1962) van die saad is vervolgens bepaal.

3.3. Resultate.

In geval van die onopgebergde saad (Tabel 2), was daar nie 'n statisties betekenisvolle verskil tussen die gemiddelde hipokotiellengtes en die kiemingspersentasies van die onbehandelde saad, die flodderbehandelde saad en die saad wat aan beide die flodderbehandeling en 'n kort warmwaterbehandeling onderwerp is nie. Die kiemingstempo van die flodderbehandelde saad, sowel as die saad wat met die flodderbehandeling en warm water behandel is, het egter effens afgeneem.

Tabel 2. Die invloed van 'n benomyl-tiram-flodderbehandeling, afsonderlik en in kombinasie met 'n kort warmwaterbehandeling, op die groeikragtigheid van koolsaad.

	Onbehandelde kontrole	Flodder- behandeling	Flodderbehandeling + warmwater- behandeling
Hipokotiellengte (mm)	33,4	34,1	32,7
% Kieming	99,5	99	99,5
Kiemingstempo	11,3	8,7	9,8

In die geval van die saad met 'n saadvogpersentasie van 4,5, wat vir 12 maande opgeberg is by 4°C, blyk dit weer eens dat die gemiddelde hipokotiellengtes en die kiemingspersentasies in die geval van albei behandelings, nie betekenisvol verskil ten opsigte van die onbehandelde saad nie (Tabel 3).

Die gemiddelde hipokotiellengtes en kiemingspersentasies van die onbehandelde en behandelde saad vergelyk ook goed met die van die onopgebergde saad.

Daar is egter 'n afname in die kiemingstempo waargeneem in die geval van onbehandelde saad, sowel as die behandelde saad, in vergelyking met die kiemingstempo van die onopgebergde saad. Die afname in kiemingstempo was groter in geval van die behandelde saad (dit is die saad wat met benomyl en tiram behandel is, sowel as die saad wat met benomyl, tiram en warm water behandel is), as in die geval van die onbehandelde saad.

Tabel 3. Die invloed van 'n benomyl-tiram-flodderbehandeling, ook in kombinasie met 'n kort warmwaterbehandeling, op die groeikragtigheid van koolsaad wat na hierdie behandelings, vir 12 maande by 4°C, met 'n saadvogpersentasie van 4,5 opgeberg is.

	Onbehandelde kontrole	Flodder- behandeling	Flodderbehandeling + warmwater- behandeling
Hipokotiellengte (mm)	35,5	37,5	36,9
% Kieming	99,5	99	98,5
Kiemingstempo	7,9	3,7	4,1

3.4. Bespreking.

Die benomyl-tiram-behandeling, afsonderlik of in kombinasie met 'n kort warmwaterbehandeling, het nie 'n invloed op die hipokotiellengtes of kiemingspersentasie gehad nie. Die kiemingstempo toon wel na 12 maande van opberging 'n afname.

Aangesien die kontrole ook na 12 maande 'n afname in kiemingstempo getoon het, is dit hoogs waarskynlik as gevolg van die relatief lae saadvogpersentasie (4,5) waarby die saad voor opberging en na behandeling geëkwilibreer is. Soos reeds in hoofstuk 2 bespreek is, het die bykomende dehidrasie wanneer die saad geëkwilibreer is tot 'n vogpersentasie van 4,5, 'n nadelige invloed op die kiemingstempo van die saad.

Die kleiner afname van die kiemingstempo in die geval van die onbehandelde saad dui egter daarop dat beide die chemiese behandeling asook die chemiese behandeling in kombinasie met 'n kort warmwaterbehandeling, die kiemingstempo van koolsaad verder benadeel, wanneer die saad by hierdie lae vogpersentasie opgeberg word.

Hoofstuk 4. Die invloed van die warmwaterbehandeling en saadopberging op die fynstruktuur van koolsaad.

4.1. Inleiding.

Die doel van hierdie fynstruktuurondersoek was om die invloed van die warmwaterbehandeling (asook die tydstip van toediening van die warmwaterbehandeling) in wisselwerking met opbergingstoestande (tyd van opberging, opbergingstemperatuur en saadvogpersentasie tydens opberging), op die fynstruktuur van koolsaad te bepaal.

Die warmwaterbehandeling het wel 'n invloed op veral die kiemingstempo van koolsaad (hoofstuk 2) en daarom kan daar ook 'n effek op die fynstruktuur verwag word. Swak opbergingstoestande beïnvloed die groeikragtigheid van koolsaad nadelig en het dus waarskynlik ook 'n invloed op die fynstruktuur van die saad.

Die behandelings met chemiese middels wat in geval van hierdie studie bestudeer is (benomyl en tiram, ook in kombinasie met die warmwaterbehandeling), het nie 'n noemenswaardige effek op die groeikragtigheid gehad nie en alhoewel die fynstruktuur van hierdie saad ook ondersoek is, sal dit nie verder bespreek word nie, aangesien dit nie noemenswaardig verskil het van die van

die onbehandelde saad nie. Die verlies van kiemingstempo na 12 maande het egter wel 'n vertraging in die fynstruktuurveranderinge tydens imbibisie teweeg gebring, maar hierdie aspek word eerder beskou as 'n simptome van die relatief lae saadvogpersentasie (4,5) tydens opberging en word as sodanig bespreek.

In hierdie ondersoek is in ag geneem dat die fynstruktuur van koolsaad deur enige van die volgende faktore beïnvloed kan word:

a). In die eerste plek vind daar veranderinge in fynstruktuur met veroudering van die saad plaas, wat beïnvloed word deur enige saadbehandeling, opbergingsfaktore en die teenwoordigheid van fungi in die saad (Anderson & Baker 1983, Cherry 1983, Deacon & Mitchell 1984, Osborne 1980, Roberts 1973).

b). Daar is al deur verskeie outeurs (Anderson et al. 1970, Cherry 1983, Dini et al. 1984, Russell et al. 1982) sekere afwykings in die fynstruktuur van saad wat besmet is met fungi, waargeneem. Die simptome wat deur bogenoemde outeurs beskryf is, moet in gedagte gehou word, sodat dergelyke fynstruktuurafwykings in geval van die koolsaad wat ondersoek is, nie aan ander faktore toegeskryf word nie.

c). As gevolg van die vogverlies tydens die dehidrasie van

saad, vind daar 'n herorganisasie van die selstruktuur plaas. Die metaboliese prosesse in hierdie "droë" saad word gestaak. Wanneer die saad water opneem tydens vroeë imbibisie, moet die selstruktuur eers weer herorganiseer om die sel in staat te stel om met die normale selprosesse voort te gaan.

Om hierdie veranderinge wat tydens imbibisie in koolsaad plaasvind, te kan onderskei van veranderinge wat aan ander faktore toegeskryf kan word, is die fynstruktuur van ongeïmbibeerde, sowel as geïmbibeerde saad (tot 24 uur) telkens ondersoek. Die vertraging van die simptome van vroeë kieming word egter as 'n aanduiding van swakker saad beskou.

d). Laastens moet daar in gedagte gehou word dat sekere fynstrukturele veranderinge wat in die saad plaasvind, te doen het met die proses van seldeling. In geval van hierdie studie is die eerste tekens van prosesse wat moontlik kariokinese voorafgaan, na 24 uur van imbibisie in die prokambiumselle waargeneem. Om hierdie rede is daar besluit om nie saad wat langer as 24 uur geïmbibeer is, vir die doeleindes van hierdie studie in te sluit nie. Sodoende kon die fynstruktuurveranderinge in die saad as gevolg van mitose, buite rekening gehou word.

4.2. Materiaal.

In die eerste gedeelte van die ondersoek (hoofstuk 2) is die invloed van verskillende faktore op die groeikrag van koolsaad ondersoek. Monsters van die saad waarvan die groeikrag getoets is, is ook telkens elektronmikroskopies ondersoek.

Die ondersoek is beperk tot die radikula, aangesien inisiële fynstruktuurveranderinge met wateropname, volgens verwagting, in hierdie deel van die embrio sou plaasvind. In die literatuur word fynstruktuurstudies van "droë" saad ook dikwels tot die radikula beperk en dus sou resultate wat in hierdie ondersoek verkry word, meer betekenisvol met gegewens in die literatuur vergelyk kon word deur die radikula te bestudeer.

In hierdie studie is daar om die volgende redes besluit om die grondmeristee- en prokambiumselle vir waarnemings te gebruik:

- a). Alhoewel baie outeurs kaliptraweefsel ondersoek, is dit nie as geskik beskou vir die doel van hierdie studie nie. Die kaliptra het 'n funksioneel vasgelegde degenerasiepatroon, van die jonger selle in die rigting van die meer volwasse selle en kan dus nie met die res van die embrioweefsel vergelyk word nie.
- b). Daar is tydens die studie opgemerk dat die fynstruk-

tuurveranderinge wat in die protodermis plaasvind, in 'n mate verskil van dié wat in die onderliggende weefsels plaasvind en daarom is die protodermis ook nie met die onderliggende weefsels vergelyk nie.

c). Die heeltemal ongedifferensieerde promeristeemselle (histogeeninisiale) is ook vermy, aangesien relatief min organelle in hierdie selle voorgekom het.

Die waarnemings is dus hoofsaaklik gegrond op die grondmeristeemselle en die prokambiumselle (Figuur 23 en 24) in die onmiddellike omgewing van die promeristeem (Cutter 1975, Esau 1977).

4.3. Metode.

Telkens wanneer saad geïnkubeer is ten einde groeikragtigheidstoetse uit te voer (hoofstukke 2 en 3), is monsters van die saad ook voorberei vir elektronmikroskopiese ondersoek. Hierdie saad is ongeïmbibeerd sowel as geïmbibeerd (na 6, 12 en 24 ure van imbibisie) ondersoek.

Vir die aanvanklike fiksering is 2,5 % glutaaraldehyd (Coetzee & Van der Merwe 1984) in 0,1 mol.dm⁻³ Na-Na-fosfaatbuffer (Na HPO₂ + NaH₂PO₄) by 'n pH van 7,2 gebruik (Coetzee & Van der Merwe 1985). Die apikale 1 mm van

die radikulas is in die glutaaraldehyd afgesny. Die tydperk wat nodig was vir voldoende indringing van die fikseermiddel was 8 uur.

Na bogenoemde fiksering is die materiaal drie maal vir 5-10 minute gewas in 'n 50% verdunning van die Na-Na-fosfaatbuffer, voor postfiksering in OsO₄. 'n Minimum tydperk van vier ure in 1 % OsO₄ by kamertemperatuur was nodig vir genoegsame indringing. Nadat die materiaal weer eens drie maal soos hierbo gewas is, is dit gedehidreer in 'n reeks gegradeerde asetoon. Die materiaal is oornag gelaat in 100 % asetoon (Coetzee & Van der Merwe 1986).

Die harse wat gebruik is vir die inbedding van die materiaal, was volgens Spurr se metode voorberei (Spurr 1969), of Epon (Glauert 1981). Die hars is gepolimeriseer by ongeveer 60°C vir 14 ure.

Dun lengtesneë van die radikulas is met behulp van glasmesse op 'n Reichert-Jung Ultracut-mikrotoom gemaak. Nadat die sneë met roostertjies opgetel is, is dit met behulp van 'n 1% waterige uranielasetaat- (15 minute) en 'n waterige loodsitraatoplossing gekontrasteer (1 minuut) (Reynolds 1963). Die sneë is met 'n Philips 301 elektronmikroskoop bestudeer en gefotografeer.

4.4. Resultate.

4.4.1. Die fynstruktuur van die radikula van ongeïmbibeerde, hidries-gefikseerde, onbehandelde en onopgebergde saad.

As 'n vertrekpunt vir hierdie ondersoek is die fynstruktuur van onbehandelde en onopgebergde koolsaad bestudeer. Die invloed van die warmwaterbehandeling en opbergingsstoestande kon dus in hierdie geval eers buite rekening gelaat word. Die groeikragtigheid van hierdie saad was goed. Soos reeds in hoofstuk 2 uiteengesit, was die gemiddelde hipokotiellenlengtes van 10-dagoue saailinge 32,1 mm en die gemiddelde kieming na 10 dae 99%. Die saad is nie voor fiksering geïmbibeer nie. Sodoende kon die invloed van vroeë wateropname op die fynstruktuur van die radikula, tot 'n groot mate buite rekening gelaat word.

Alhoewel daar geen weefseldifferensiasie in die ongeïmbibeerde radikula plaasgevind het nie, kon die sitohistologiese sones tog onderskei word op grond van die oriëntasie, grootte en vorm van die selle, asook die grootte en die aantal van die proteïenliggame (Figure 23 & 24).

Die effense weggetrekte plasmalemma van die grondmeristee- en prokambiumselle wat bestudeer is, kan toegeskryf word aan die gedehidreerde toestand van die embryo. Soos reeds in hoofstuk 2 bespreek is, was die

vogpersentasie van die saad by ontvangs ongeveer 5,4.

Lipiedvesikels het volop en verspreid in die sitoplasma voorgekom, maar veral in noue assosiasie met die plasmalemma en die proteïenliggame. Hierdie noue assosiasie het dit moeilik gemaak om die fynstruktuur van die plasmalemma en proteïenliggaammebrane te bestudeer (Figuur 25).

Die proteïenliggame in die verlengde prokambiumselle was relatief kleiner en minder as dié in die radiaal georiënteerde grondmeristeemselle (Figuur 24).

Die inhoud van die proteïenliggame het hoofsaaklik uit 'n proteïenagtige matriks bestaan. Onder die elektronmikroskoop het die elektrondigtheid van hierdie matriks by verskillende proteïenliggame gevarieer. Die proteïenmatriks was nie homogeen nie. Lipieddruppels, mikrotubuli en fyn fibrille kon onderskei word. Geen proteïenkristalle, soortgelyk aan dié wat byvoorbeeld deur Spitzer en Lott (1980) in die proteïenliggame van tamatiesaad waargeneem is, is gesien nie. In alle sitohistologiese sones van die radikula is elektrondeurlatende globofede in die proteïenliggame waargeneem (Figuur 25).

Die herkoms van die proteïenliggame word volledig in die bespreking van hierdie hoofstuk beskryf. Tydens

saadvorming word proteïene naamlik in die vakuole van die embrioselle neergelê (Rost 1972), maar behalwe vir hierdie gespesialiseerde vakuole, is geen vakuole in die ongeïmbibeerde radikula waargeneem nie.

Die nukleusse van die ongeïmbibeerde radikula het in beide die grondmeristeem- en prokambiumselle 'n kenmerkende onreëlmatige vorm gehad (Figuur 26). 'n Dubbele nukleusmembraan was duidelik, maar membraanporieë is nie waargeneem nie. Een duidelike, sferiese nukleolus kon per nukleus waargeneem word. Een of twee ligte areas was dikwels in die nukleolus waargeneem. Die nukleoplasma was vlekkerig in voorkoms, 'n normale verskynsel in droë saad (Hallam et al. 1973).

Die buitenste dubbelle membrane en kristas van die mitochondrions kon duidelik waargeneem word (Figuur 27). Hierdie membrane was effens gegolf in voorkoms. Die matriks van die mitochondrions was relatief dig. Mitochondriale ribosome kon in die matriks waargeneem word. In sekere mitochondrions is kristas nie waargeneem nie, maar wel sentrale membraansirkels (Figuur 28).

Die dubbelle membrane om die proplastiede kon duidelik onderskei word (Figuur 29). Een of meer membraanstrukture, soortgelyk aan tilakofede, kon in die stroma waargeneem word. Plastoglobuli het in groepe in die stroma voorgekom. Een of meer gevakuoleerde areas is in die vlekkerige

stroma onderskei. Geen styselkorrels was in die ongeïmbibeerde radikula waargeneem nie. In die stroma van baie proplastiede is 'n insluiting, omsluit deur 'n dubbelle membraan, waargeneem.

Geen diktiosome of endoplasmiese retikulum is in die ongeïmbibeerde radikula waargeneem nie. Mikrotubule is slegs by wyse van uitsondering in assosiasie met die lipiedvesikels waargeneem. Die afwesigheid van mikrotubule kan waarskynlik toegeskryf word aan die fikseringstegniek (Öpik 1985).

Ribosome was volop in die sitoplasma, maar geen ribosoomaggregaate is waargeneem nie. Klein dubbelmembraanvesikels is soms in die sitoplasma tussen die ribosome gesien.

Lipiedversmelting het tot 'n mindere mate tog wel voorgekom (Figuur 30), maar lipiedvesikels, in noue assosiasie met die plasmalemma en die proteïenliggame (Figuur 25), was tipies.

4.4.2. Die invloed van imbibisie op die fynstruktuur van die radikulas van onbehandelde, onopgebergde koolsaad.

Om te verhoed dat fynstruktuurveranderinge wat in die radikulas plaasvind as gevolg van vroeë wateropname, verwar word met die invloed van die warmwaterbehandeling

of opbergingsstoestande op die fynstruktuur van koolsaad, is die fynstruktuur van onbehandelde, onopgebergde saad na 6, 12 en 24 ure van imbibisie ondersoek.

Alhoewel die plasmalemma in hierdie geval meer teen die selwand vasgedruk voorgekom het as in die ongeimbibieerde radikula, was daar nog plekke waar dit geskei van die selwand vertoon. In Figuur 31 lyk dit byvoorbeeld asof die plasmalemma juis geskei van die selwand vertoon in die gedeeltes waar elektrondigte vlekke op die selwand voorkom. Russel et al. (1982) verwys na sulke elektrondigte vlekke op die selwand as 'n simptoom van fungusbesmetting in saad. Anderson et al. (1970) en Pelissier et al. (1986) meen dat fitotoksiene wat deur fungi in plantweefsel geproduseer word, verantwoordelik is vir die beskadiging van die fynstruktuur van die plasmalemma.

Met verloop van imbibisie het die proteïenliggame in die grondmeristeemselle, sowel as in die prokambiumselle, meer elektrondeurlatend vertoon, waarskynlik as gevolg van die toenemende afbraak van die inhoud.

In die grondmeristeemselle het die proteïenliggame, waarvan die inhoud geleidelik verbruik is, vakuole gevorm, wat weer versmelt het om groter vakuole te vorm (Figuur 31). Daar het egter nie tot en met 24 uur na imbibisie 'n sentrale vakuool ontstaan nie, aangesien die nukleus 'n

sentrale posisie in die sel behou het met sitoplasmastringe wat die nukleus verbind met die perifere sitoplasma. Die assosiasie van die lipiedvesikels met die proteïenliggaammembrane is op hierdie stadium verbreek, aangesien die lipiedvesikels in geïsoleerde groepe in die sitoplasma geaggregeer het, wat geleidelik na die periferie van die sel uitbeweeg het, waar hulle 'n laag teen die plasmalemma gevorm het (Figuur 31).

In die prokambiumselle is endoplasmiese retikulum in assosiasie met die proteïenliggame na 6 ure van imbibisie waargeneem. 'n Groter konsentrasie mitochondrions is in die omgewing van die proteïenliggame gesien. Die sentrale deel van die proteïenmatriks is geleidelik afgebreek totdat dit elektondeurlatend vertoon het, terwyl daar nog 'n elektrondigte laag proteïene periferaal gesien kon word. Daar is vesikelagtige strukture in hierdie proteïenliggame waargeneem (Figuur 32).

Die meer gelobde nukleus wat in die ongeïmbibeerde toestand waargeneem is (Figuur 26), het na 6 ure van imbibisie 'n sferiese vorm aangeneem (Figuur 31). Die nukleoplasma vertoon minder vlekkerig en meer homogeen. Die dubbele geaardheid van die nukleusmembraan kon duidelik onderskei word, maar die fynstruktuur van die membraanporieë kon nie waargeneem word nie. Na 24 ure van

imbibisie is twee nukleolusse per nukleus in die promeristeemselle waargeneem.

Ribosome was volop, maar duidelike polisoomvorming is nie waargeneem nie.

Arbitrêr het 'n groter aantal mitochondrions na 'n tydperk van tot 24 uur van imbibisie voorgekom (Figuur 32). Die aantal kristas per mitochondrion het nie sigbaar toegeneem nie, maar die mitochondrions was meer sferies en die matriks was minder elektrondig en meer homogeen.

Merkbare veranderinge het na imbibisie in die proplastiede voorgekom. Een of meer styselkorrels het na tydperke van ongeveer 24 uur van imbibisie in die plastiede verskyn. Die plastoglobuli het kleiner en meer verspreid in die stroma voorgekom (Figuur 33).

Diktiosome is waargeneem na 6 ure van imbibisie. Daar is 4-5 sisternas per diktiosoom per snit waargeneem. Saamgestelde vesikels is in die sitoplasma naby die diktiosome opgemerk (Figuur 34).

Die fynstruktuurveranderinge wat in voorafgaande gedeelte beskryf is, word as imbibisieverskynsels beskou en het niks met veroudering of agteruitgang van die saad te doen nie. Hierdie veranderinge wat verband hou met die verloop van imbibisie kan soos volg saamgevat word:

- a). Die voorkoms van die plasmalemma teenaan die selwand.
- b). Afbreek van die proteïenliggame.
- c). Verskyning van endoplasmiese retikulum.
- d). Lipiedmobilisasie.
- e). Herstel van die nukleusvorm en 'n meer homogene nukleoplasma.
- f). Verskyning van diktiesome.

4.4.3. Die fynstruktuur van ongeïmbibeerde koolsaad wat die vermoë om te kiem verloor het.

Ongunstige opbergingstoestande, in geval van hierdie studie 'n relatief hoë opbergingstemperatuur (25°C) en 'n saadvogpersentasie van 10,0 (Tabel 1), kan koolsaad tot so 'n mate nadelig beïnvloed dat dit die vermoë om te kiem verloor, beide in die geval van onbehandelde saad en saad wat met warm water behandel is (hoofstuk 2). Soos in hoofstuk 2 beskryf is, word die nadelige invloed van ongunstige opbergingstoestande vererger deur die warmwaterbehandeling, veral wanneer die saad vóór opberging behandel word. Die verlies aan groeikragtigheid word egter eerder as 'n gevolg van opberging by ongunstige toestande gesien, as 'n direkte gevolg van die warmwaterbehandeling as sodanig.

Vervolgens word die fynstruktuur van die radikulas van

ongefimbibeerde saad, verteenwoordigend van saadmonsters wat die vermoë om te kiem verloor het, beskryf.

Die plasmalemma is merkbaar weggetrek van die selwand in geval van die nie-kiemkragtige saad (Figuur 35). Wanneer die saad vir 'n verdere 6 maande opgeberg word by ongunstige toestande, nadat dit die vermoë om te kiem verloor het, is alle selmembrane uiteindelik heeltemal gedisintegreerd en nie meer onderskeibaar nie (Figuur 36).

Alhoewel lipiedversmelting tot verskillende mates wel plaasgevind het, was die lipiede in baie van die radikulas wat ondersoek is, tog in dieselfde toestand as in die geval van die kiemkragtige saad (Figure 35 en 36).

In vergelyking met die nukleusse van die radikulaselle van kiemkragtige saad is die nukleusse van die saad wat kiemkragtigheid verloor het, meer gelob (Figuur 37). Daar kan ook in baie gevalle 'n afwyking in die fynstruktuur van die nukleusmembraan waargeneem word. Waar die afstand tussen die twee membraaneenhede van die dubbelle nukleusmembraan in geval van die kiemkragtige saad 'n eweredige perinukluêre afstand handhaaf, is dieselfde afstand in geval van die nie-kiemkragtige saad nie tot dieselfde mate eweredig nie (Figuur 37). Die nukleusmembraan kom sodoende gevesikuleerd voor.

Daar is deurgaans 'n elektrondigte vlek sentraal in die

proplastiedstroma waargeneem (Figuur 38). Die plastoglobuli kom ook meesal minder gegroepeer voor.

Afgesien van die feit dat die mitochondrions in die drasties gedegenerende saad, soos die ander selorganelle, nie meer herkenbaar was nie (Figuur 36), was daar nie simptome vir die geleidelike verval van hierdie organelle waargeneem nie.

4.4.4. Die fynstruktuur van geïmbibeerde koolsaad wat die vermoë om te kiem verloor het.

Namate die groeikragtigheid van die saad, hoofsaaklik as gevolg van swak opberging, afgeneem het, is die fynstruktuurveranderinge wat tydens vroeë imbibisie beskryf is, progressief vertraag, totdat hierdie "herstel" van die selorganisasie, waarskynlik as gevolg van onomkeerbare beskadiging van die fynstruktuur van veral die selmembrane, nie kon plaasvind nie. Sulke saad het, met ander woorde, die vermoë om te kiem verloor. Die fynstruktuursimptome van nie-kiemkragtige saad was na 'n tydperk van imbibisie meer opvallend as in die geval van ongeïmbibeerde saad.

Daar is reeds in die ongeïmbibeerde saad opgemerk dat die plasmalemma merkbaar van die selwand weggetrek is; die mate waarin die plasmalemma beskadig is, word egter eers

duidelik na 'n tydperk van imbibisie, wanneer uitgeloogde sitoplasmiese materiaal in die spasie wat tussen die selwand en die plasmalemma ontstaan het, waargeneem kan word (Figuur 39).

Die lipiedvesikels kom ongeorganiseerd in die sitoplasma voor en merkbare versmelting van lipiede kom nie noodwendig voor nie (Figuur 39).

Die nukleusse van die saad wat die vermoë om te kiem verloor het, vertoon nie 'n sferiese vorm na 'n tydperk van imbibisie soos in geval van lewenskragtige saad (Figuur 31) nie, maar behou 'n gelobde voorkoms (Figuur 40), soortgelyk aan die van ongeïmbibeerde saad (Figuur 26). Verder kan daar in sommige gevalle 'n area om die nukleus waargeneem word wat minder elektrondig as die res van die sitoplasma vertoon en waarin selorganelle nie voorkom nie (Figuur 40). Hierdie area kan moontlik geïnterpreteer word as uitgeloogde nukleoplasma deur die beskadigde nukleusmembraan.

Soos in die geval van die ongeïmbibeerde saad is elektrondigte vlekke weer eens deurgaans in die stromas van die proplastiede waargeneem (Figuur 41).

Die mitochondrions toon nie sigbare beskadiging nie (Figuur 40), behalwe in die gevalle waar die algemene selstruktuur vernietig is, waar selorganelle in elk geval

nie meer onderskei kan word nie.

4.4.5. Die invloed van die warmwaterbehandeling op die fynstruktuur van koolsaad.

Afgesien van die feit dat die fynstruktuurregenerasie wat plaasvind in koolsaad tydens vroeë imbibisie, vertraag word in saad wat met warm water behandel is, veral in geval waar die saad voor opberging behandel is, kom daar ook 'n spesifieke afwyking voor in geïsoleerde proteïenliggame, in die sin dat hulle gedeeltelik gedisintegreerd voorkom, met beskadigde membrane (Figure 42, 43 en 44).

Tydens imbibisie is die sitoplasma dan ook blootgestel aan die hidrolitiese aktiwiteit van die ensieme (Berjak & Villiers 1972d), wat andersins beperk sou bly tot die proteïenliggame. Algemene lise van die sitoplasma volg (Figuur 45). Alhoewel hierdie verskynsel slegs in geïsoleerde proteïenliggame waargeneem is, kom dit glad nie in onbehandelde saad voor nie.

4.4.6. Die invloed van 'n lae saadvogpersentasie (4,5) tydens opberging, op die fynstruktuur van koolsaad.

Dit is bekend dat die vogpersentasies in die saad van die meeste ortodokse plantspesies, relatief laag (3-4%) gehou

kan word tydens opberging (Justice & Bass, 1979). Soos in hoofstuk 2 beskryf (Tabel 1), is die vogpersentasies van die koolsaad wat bestudeer is, onder andere verlaag van 5,4 (by ontvangs) tot 4,5. Saad wat voor en na opberging met warm water behandel is, sowel as saad wat nie met warm water behandel is nie, is so geëkwilibreer. Hierdie lae saadvogpersentasie het in alle gevalle 'n laer kiemingstempo tot gevolg gehad as in die geval van die ander saadvogpersentasies (7,0 en 10,0) wat bestudeer is (Figure 10, 16 en 22). 'n Drastiese daling in die kiemingstempo het egter voorgekom waar die saad met warm water behandel is. In die geval van die saad wat telkens na opberging met warm water behandel is, het die kiemingstempo 'n verbetering getoon (Figuur 16), waarskynlik omdat die ekwilibrasie tot die relatief lae vogpersentasie (4,5) en die warmwaterbehandeling nie feitlik gelyktydig toegedien is nie. In die geval van die saad wat voor opberging met warm water behandel is en direk daarna tot die vogpersentasie van 4,5 geëkwilibreer is, het die kiemingstempo met verloop van opbergingstyd, nog verder afgeneem.

Die fynstruktuurondersoek van die saad wat as gevolg van 'n relatief lae saadvogpersentasie tydens opberging hierdie drastiese daling in kiemingstempo getoon het, het geen afwykings aangetoon nie, behalwe dat die opeenvolgende subsellulêre verskynsels tydens imbibisie stadiger plaasgevind het. Die saad wat as gevolg van

hierdie relatief lae saadvogpersentasie tydens opberging 'n lae kiemingstempo vertoon het, het uiteindelik ook nie betekenisvolle afnames getoon in die kiemingspersentasies of in die gemiddelde hipokotiellengtes van die saailinge nie.

Die lae kiemingstempo in hierdie geval is dus nie te wyte aan fynstruktuurbeskadiging van die saad as sodanig nie, maar waarskynlik eerder as gevolg van 'n langer tydperk van imbibisie.

4.4.7. Moontlike simptome van die teenwoordigheid van fungi in die saad.

Daar is al deur ander outeurs sekere fynstruktuurafwykings beskryf wat skynbaar direk verwant is aan die teenwoordigheid van fungi in die saad (Anderson et al. 1970, Cherry 1983 & Russell et al. 1982).

Dergelyke fynstruktuurafwykings is tydens hierdie studie waargeneem. Sogenaamde elektrondigte vlekke op die selwand (Figuur 31), plasmalemma-invaginasies (Figuur 46), modifikasies van die inhoud van die proteïenliggame (Figuur 47) en lipiedversmelting (Figuur 47) is soms waargeneem, veral in geval van swakker en nie-kiemkragtige saad.

4.5. Bespreking.

4.5.1. Voorbereiding van materiaal vir elektronmikroskopiese ondersoek.

Die fiksering en inbed van olieryke sade in hars lewer dikwels probleme op (Paulson & Srivastava 1968a, Van der Merwe & Coetzee 1984). Baie outeurs imbibeer eers die saad vir 'n tydperk om die fiksering daarvan te vergemaklik. Alhoewel outeurs soos Paulson en Srivastava (1968a) die effek van aanvanklike imbibisie op die fynstruktuur van die saad as onbenullig beskou, het Buttrose (1973) daarop gewys dat daar fynstruktuurveranderinge in 'n saad kan plaasvind na die eerste 10 sekondes van imbibisie.

Die fiksering van sogenaamde "droë" of dan ongeïmbibeerde saad was in die verlede nog altyd of onsuksesvol of onprakties en tydrowend (Perner 1965). Öpik (1985) het egter goeie resultate gekry deur gebruik te maak van osmium- en akroleïen-dampe. Deur die vergelyking van die fynstruktuur van hidries gefikseerde en anhidries gefikseerde saad het 'n hele aantal verskille aan die lig gekom. Die belangrikste is seker die netwerk van fyn tubule wat die lipiedvesikels en die proteïenliggame van die anhidries gefikseerde sade omring. Hierdie tubule word nie in die hidries gefikseerde saad opgemerk nie.

Öpik (1985) meen dat die afwesigheid van mikrotubule en

endoplasmiese retikulum in die meeste studies wat op ongefimbibeerde saad gedoen is, toe te skryf is aan die feit dat die standaard fikseermiddels wat gebruik word, nie die genoemde strukture genoegsaam preserveer nie. Fiksering met akroleëndampe is egter nog steeds tydrowend (2 maande).

Afgesien van die aanvanklike imbibering van die saad tydens hidriese fiksering, moet die moontlike invloed van die fikseermiddel op die weefsel wat bestudeer word, ook in ag geneem word. Die fikseermiddel wat gekies is vir die doel van hierdie studie, was glutaaraldehyd. Daar is gevoel dat hierdie fikseermiddel die beste fiksering van meeste selstrukture sou verseker. Daar moet egter in ag geneem word dat veral die mikrotubule in die selle nie deur dergelyke fiksering voldoende gepreserveer word nie (Öpik 1985) en dat die afwesigheid daarvan in die weefsel wat bestudeer is in die lig hiervan gesien moet word.

Die keuse van die persentasie glutaaraldehyd, die buffer wat gebruik word en die tydperk van fiksering, beïnvloed ook die fynstruktuur van die weefsel wat bestudeer word (Coetzee & Van der Merwe 1984). Vir die doel van hierdie studie is moeite gedoen om so ver moontlik die weefsel onveranderd, dit wil sê met die minimum artefakte as gevolg van die fiksering en inbedding daarvan, te bestudeer.

4.5.2. Die plasmalemma.

Om die meganisme van saadveroudering te begryp, is dit nodig om te kyk na die gevolg van die proses van dehidrasie tydens saadvorming, op die struktuur van die selmembrane (Crowe & Crowe 1986, Villiers 1980, Wolfe et al. 1986).

Die tipiese bilaminêre struktuur van die eenheidsmembraan verander wanneer die saad water verloor tydens dehidrasie. In plaas daarvan dat die "koolwaterstofsterte" van die fosfolipiede na mekaar toe gerangskik is in die bilaminêre laag, rangskik die fosfolipiede radiaal sodat die "koolwaterstofsterte" weg wys van mekaar. Hierdie proses word tydens die vroeë imbibisie van water omgekeer, sodat die selmembrane weer hulle osmotiese en differensieeldeurlaatbare funksies kan hervat.

Die aanvanklike uitloog van opgeloste stowwe uit saad word toegeskryf aan hierdie tydperk van strukturele herorganisasie van die selmembrane (Berjak & Villiers 1972a,c, Harman & Granett 1972, Nautiyal & Purohit 1985, Villiers 1980). Voordat die strukturele herorganisasie van die membrane plaasgevind het, beweeg opgeloste stowwe onselektief in en uit die selle. Buttrose (1973) het strukturele veranderinge in die selstruktuur waargeneem na slegs 10 sekondes van imbibisie.

Gedurende die onaktiewe bergingsperiode van "droë" saad, vind daar feitlik geen metaboliese prosesse in die saad plaas nie. Daar kan dus ook geen herstelmechanismes funksioneer nie.

Die outo-oksidasie van lipiede, wat 'n normale proses in die saad is (Harrington 1973a,b, Senaratna & McKersie 1986) lei tot die ontstaan van sogenaamde vry radikale in die selle. Dit is molekule met hoogs reaktiewe, ongepaarde elektrone in 'n energievlak. Die vry radikale reageer met die onversadigde vetsure van die membraanlipiede, en dit lei tot beskadiging van die membraanstrukture.

'n Langer tydperk vir die herstel van die selmembrane tydens vroeë imbibisie, lei tot 'n groter verlies van opgeloste stowwe en 'n vertraging in die fynstruktuur herorganisasie wat plaasvind voordat die saad kiem. Wanneer die membraankomponente egter tot so 'n mate beskadig is dat die herstel daarvan nie meer moontlik is nie, is die saad glad nie in staat om te kiem nie en moet dus as dood of nie-kiemkragtig beskou word (Villiers, 1980).

Die plasmalemma van ongeïmbibeerde saad is dus nie in staat om effektief osmoties te funksioneer nie. Die plasmalemma van kiemkragtige, ongeïmbibeerde koolsaad is

nie heeltemal teen die selwand vasgedruk nie (Figuur 25), waarskynlik as gevolg van die gedehidreerde toestand van die saad. Na imbibisie wanneer die membraanstruktuur van die plasmalemma herstel het en die sitoplasma in die sel in volume toegeneem het, kom die plasmalemma teenaan die selwand voor (Figuur 31).

Die verlaging van die kiemingstempo van saad waarvan die saadvogpersentasie kunsmatig verlaag is, veral direk na 'n warmwaterbehandeling (Figure 16 en 22), kan ook verduidelik word aan die hand van 'n langer tydperk van imbibisie wat benodig word. Die bykomende watermolekules wat tydens die verlaging van die saadvogpersentasie (in die geval van hierdie studie 5,4 tot 4,5) ontrek is, sou waarskynlik weer opgeneem moes word, voordat watermolekules beskikbaar sou wees vir die herstel van die membraanstrukture.

Soos reeds in hoofstuk 2 bespreek is, sou 'n verlaging van die kiemingstempo, maar nie die uiteindelijke gemiddelde hipokotiellengtes of kiemingspersentasie nie, moontlik 'n swakker opkoms tot gevolg hê, aangesien die laer kiemingstempo sou beteken dat die saad en saailing langer in die grond blootgestel sou wees aan skadelike grondorganismes.

Tydens die opberging van saad, vind veroudering van die saad plaas, wat versnel word deur ongunstige

opbergingsstoestande (relatief hoër saadvogpersentasies en opbergings-temperatuur), asook die warmwaterbehandeling (veral voor opberging). Volgens Villiers (1980) behels hierdie veroudering van saad hoofsaaklik die outo-oksidasie van die lipiedkomponente van die selmembrane, wat die herstel van die membraanstruktuur tydens imbibisie vertraag.

Die duidelikste teken van dooie of nie-kiemkragtige saad (Berjak & Villiers 1972a,b,c) is die terugtrek van die plasmalemma van die selwand sodat daar 'n relatief groot spasie tussen die plasmalemma-oorblyfsels en die selwand voorkom (Figuur 35). In geïmibibieerde nie-kiemkragtige saad is reste van die selinhoud dikwels in hierdie spasie te sien (Figuur 39). Villiers (1980) beskou hierdie verskynsel as die "point of no return" in saadveroudering. Hierdie outeur meen dat die herorganisasie van die plasmalemma nie kon plaasvind nie, omdat die membraankomponente tot so 'n mate beskadig is, dat herstel nie moontlik is nie. Hierdie wegtrek van die plasmalemma moet nie verwar word met die toestand wat as gevolg van dehidrasie voorkom nie, maar moet gesien word as die onvermoë van die plasmalemma om osmoties te funksioneer.

Die veroudering van selmembrane (die plasmalemma), word as gevolg van die warmwaterbehandeling, maar veral as gevolg van opberging by ongunstige toestande, versnel, moontlik

omdat die aktiwiteit van die vry radikale wat die fosfolipiedkomponente van die membrane oksideer, versnel word.

4.5.3. Lipiedvesikels:

Villiers (1980) verduidelik die oorsprong van die lipiedvesikels in droë saad soos volg: die selmembrane verloor 'n hoeveelheid lipiedkomponente tydens dehidrasie. Hierdie lipiedkomponente verskyn as die sogenaamde lipiedvesikels in noue assosiasie met die selmembrane (plasmalemma, tonoplast). Wanneer die saad dan weer water opneem tydens vroeë kieming, vind die herorganisasie van die selmembrane plaas, wat die geleidelike verdwyning van die lipiedvesikels verklaar (Mollenhauer & Kogut 1968, Villiers 1980).

Bogenoemde verduideliking verklaar met ander woorde die noue assosiasie van die lipiedvesikels met die plasmalemma en proteïenliggaammembrane in ongeïmbibeerde koolsaad (Figuur 25). Die aanwesigheid van lipiedvesikels in die koolsaad wat bestudeer is, selfs na die periode van membraanherstel verstreke is, dui egter daarop dat hierdie verklaring moontlik slegs deels aanvaarbaar is. Osborne (1980) vermoed dat daar moontlik 'n elektriese aantrekkingskrag tussen die lipiedvesikels en die betrokke membraankomponente bestaan.

Daar bestaan egter ook ander teorieë oor die oorsprong van lipiedvesikels in droë saad. Volgens Mollenhauer & Totten (1971a) is die lipiedvesikels skynbaar afkomstig van die endoplasmiese retikulum. Hierdie outeur voer verder aan dat dit nie korrek is om van "lipieddruppels" te praat nie, aangesien 'n omsluitende membraan teenwoordig is (Anderson et al. 1970, Mollenhauer & Totten 1972b). Daar is egter ook outeurs wat na "sferosome" verwys in plaas van lipiedvesikels.

Mollenhauer & Totten (1971 a,b) beskryf twee soorte lipiede wat in saad voorkom. Afgesien van die "gewone" lipiedvesikels wat ook in ander plantselle voorkom en reserwe voedingstowwe bevat, is daar "saamgestelde" lipiedvesikels in sekere weefsel en tydens sekere ontwikkelingstadiums van kieming teenwoordig. Daar bestaan egter 'n moontlikheid dat hierdie twee soorte lipiedvesikels eerder onversmelte en versmelte lipiedvesikels in verouderde en / of fungusbesmette saad mag wees.

Die versmelting van lipiedvesikels word as een van die simptome van saadveroudering beskou wat voor imbibisie sigbaar is (Villiers 1980). Lipiedversmelting is egter in kiemkragtige (Figuur 30) sowel as nie-kiemkragtige (Figuur 36) koolsaad waargeneem. Dit was tot 'n groot mate afwesig in sekere nie-kiemkragtige saad (Figuur 35). Daar is outeurs wat die versmelting van lipiede in saad eerder

toeskryf aan die teenwoordigheid van fungi in die saad (Anderson et al. 1970, Cherry 1983, Dini et al. 1984, Russell et al. 1982). Dit wil dus voorkom of die teenwoordigheid van versmelte lipiede in saad nie noodwendig dui op verouderde saad nie, behalwe waar dit in kombinasie met ander verouderingsimptome voorkom.

Afgesien van die feit dat die halfmembraan wat lipiedvesikels omsluit, beskadig kan word tydens die verouderingsproses (Villiers 1980), kan ensieme en metaboliete wat van die fungi afkomstig is, ook die versmelting van lipiede tot gevolg hê (Anderson et al. 1970).

4.5.4. Proteïenliggame:

Hieropvolgende bespreking oor die ontstaan en samestelling van proteïenliggame, is nodig om die gedrag van die proteïenliggame tydens kieming en veroudering te kan interpreteer.

Daar is al baie navorsing gedoen oor die oorsprong en inhoud van proteïenliggame wat in droë saad voorkom, sowel as die afbraak van reserwe proteïene tydens vroeë kieming.

Die een wyse van oorsprong is beskryf deur Chrispeels et

al. (1982) tydens die ontogenie van ertjiesaad en deur Chrispeels (1984) tydens die saadontogenie van peulplante. Polipeptiede word in membraangeassosieerde polisome wat op die growwe endoplasmiese retikulum waargeneem is, gesintetiseer. Hierdie polipeptiede word vervoer tot in die lumen van die growwe endoplasmiese retikulum, waar oligomere vorm. Op hierdie stadium vertoon die lumen dan ook besonder elektrondig. Die oligomere word via fyn tubule in die sitoplasma na die proksimale pool van die diktiosome vervoer. Vesikels vanaf die diktiosome, waarin die proteïene voorkom, word dan meer distaal vrygestel. Hierdie vesikels versmelt om groter vesikels te vorm en beland deur middel van 'n fagositiese proses binne in die vakuole. Laasgenoemde vakuole het ontstaan deur die versmelting van gladde vesikels, afkomstig van die growwe endoplasmiese retikulum (die dele van die growwe endoplasmiese retikulummembraan wat uitstulp om die vesikels te vorm, is nie geassosieer met ribosome nie). Proteïenneerlêgging vind gelyktydig in alle groottes vakuole plaas.

'n Tweede alternatief waarvolgens proteïenliggame gevorm word is beskryf deur Bergfeld et al. (1980). Sferiese tot onreëlmatige vesikels, aaneenlopend met die growwe endoplasmiese retikulum, word afgesnoer. Die ribosome wat op hierdie vesikels voorkom sintetiseer proteïene, ook voordat die vesikels afsnoer. Die proteïene word dan in die vesikels neergelê. Ribosome is egter nie meer

geassosieer met die groter vakuole nie. Die vakuole wat so gevorm word, versmelt om groter proteïenliggame te vorm.

Briarty et al. (1968) beskryf ook die teenwoordigheid van membraangeassosieerde polisome op die tonoplast van vakuole, geassosieer met gelyktydige proteïenneerlêgging, tydens die ontwikkeling van Vicia faba saad. Hierdie outeur beskryf ook die sintese van proteïene in die growwe endoplasmiese retikulum en die afsnoer van proteïengevulde vesikels, wat dan in die sentrale vakuool geïnkorporeer word. Daar word egter nie in hierdie geval melding gemaak van ribosome op die vesikels nie, soos wel deur Bergfeld et al. (1980) beskryf is.

Bergfeld et al. (1980) maak ook melding van proteïengevulde vesikels afkomstig van die diktiosome en beweer dat die samestelling van die proteïene wat deur die ribosome gesintetiseer word, verskil van die proteïene wat in die diktiosome gesintetiseer word.

Oparka & Harris (1982) bevind dat die proteïensamestelling van die vesikels afkomstig van die growwe endoplasmiese retikulum (die proteïene is dus deur die ribosome gesintetiseer), verskil van die proteïeninhoud van vesikels afkomstig van die gladde endoplasmiese retikulum (provakuole) en afkomstig van die diktiosome.

Afgesien van die verskillende maniere waarop die proteïene gesintetiseer word, is daar ook verskillende menings oor die proses van inkorporasie van proteïene in die vakuole.

Yoo & Chrispeels (1980) beskryf die neerlêgging van proteïene tydens die ontwikkeling van sojaboonsaad. Die proteïene word in die sentrale selvakuool neergelê, waarna die vakuool fragmenteer om 'n aantal kleiner proteïenliggame te vorm.

Adams et. al. (1985) het ook die vorming van proteïenliggame in sojaboonsaad bestudeer, maar vind dat fragmentasie van die sentrale vakuool die neerlêgging van proteïene voorafgaan.

In die geval van ontwikkelende Hordeum vulgare saad, beskryf Buvat & Robert (1982) weer die versmelting van 'n aantal kleiner proteïengevulde vakuole met mekaar om groter proteïenvakuole te vorm.

Die sintese van proteïene en die vorming van proteïenliggame verskil by verskillende spesies, waarskynlik ook by verskillende weefseltipes. Die membraan wat die proteïenliggame omsluit, is van die endoplasmiese retikulum afkomstig (Oparka & Harris 1982) en die neerlêgging van proteïene is slegs 'n tussenstap in die gewone vakuoolvormingsproses (Bergfeld et al. 1980).

Die chemiese samestelling van proteïenliggame is ook al deur 'n aantal outeurs by 'n aantal spesies ondersoek.

Altschul et al. (1966) het die chemiese samestelling van proteïenliggame van saad ondersoek en gevind dat veral Ca- en Mg-soute van fitiensuur in hierdie globofede voorkom. Hidrolitiese ensieme soos protease en fitase, asook oksaalsuur, lipiede, katione, ribonukleïensure en koolhidrate (met die uitsondering van stysel) is volgens hierdie outeurs ook in die proteïenliggame van saad teenwoordig.

Chrispeels (1984) lokaliseer die hidrolitiese ensieme fosfatase, alfa-mannosidase en ribonuklease in die proteïenliggame van peulplante en skryf die beheerde hidrolise van die proteïene tydens saailingontwikkeling aan hierdie ensieme toe.

Rost (1972) vind dat die globofede fosfor bevat en assosieer dit met 'n hoë suurfosfatase aktiwiteit.

Berjak & Villiers (1970) lokaliseer suurfosfatase in die sogenaamde "lisosome", wat sinoniem beskou kan word met proteïenliggame (Villiers 1980), in die kaliptra van Zea mays embrio's. Dit wil lyk asof die lokaliteit van hierdie suurfosfatase in die proteïenliggame geassosieer kan word met die globofede.

Die swel van die proteïenliggame tydens imbibisie, die ligter word (waarskynlik as gevolg van die werking van die hidrolitiese ensieme wat tydens imbibisie geaktiveer word) van die proteïenmatriks en die uiteindelijke versmelting van die proteïenliggame om 'n sentrale vakuool te vorm, is al deur baie outeurs beskryf (Bhandari & Chitralkha 1984, Briarty et al. 1968, Mlodzianowski 1978, Paulson & Srivastava 1968b, Pernollet 1978, Rost 1972, Simola 1974, Vigil et al. 1985).

Rost (1972) beskryf die proteïenvertering van die proteïenliggame van Setaria lutescens. Volgens hierdie outeur is die proteïenmatriks homogeen, sonder enige globofede of kristalle. In hierdie geval begin die proteïenverteringsproses periferaal op die rante van die proteïenliggame en brei geleidelik uit na die middelpunt. Die outeur klassifiseer hierdie tipe van proteïenvertering as "ekstern", in teenstelling met die "interne" vertering wat deur bogenoemde outeurs beskryf is.

In die geval van die koolsaad wat bestudeer is, vind die vertering van proteïene tydens imbibisie "intern" plaas. Die verteringsproses wat in die proteïenliggame van die grondmeristoom (Figuur 31) en die prokambium (Figuur 32) onderskeidelik waargeneem is, verskil egter ietwat. Dit mag moontlik as gevolg van 'n verskil in chemiese samestelling wees, of ook moontlik as gevolg van 'n

verskil in die proteïenneerlêggingsproses.

Die vesikelagtige membrane wat in die ligter, meer verteerde gedeeltes van die proteïenliggame in die prokambium waargeneem is (Figuur 32), mag byvoorbeeld reste van kleiner proteïenvakuole wees wat versmelt het tydens die vorming van die proteïenliggame. Aangesien die membrane van die proteïenliggame funksioneel bestand moet wees teen die aktiwiteit van die hidrolitiese ensieme (om te verhoed dat die ensieme met die res van die selsitoplasma in aanraking kom), is dit moontlik dat die membrane wat tydens die invaginasieproses in die proteïenliggame beland het, struktureel nog redelik volledig kan wees. Vigil et al. (1985) beskou die membraanoorblyfsels in die proteïenliggame van die radikulas van katoensaad dan ook as moontlike reste van die diktiosoomvesikels wat tydens proteïenneerlêgging met die proteïenliggame versmelt het. Hierdie outeurs voer egter aan dat dit ook oorblyfsels mag wees van die endoplasmiese retikulum wat na die dehidrasieproses in die saad aanwesig was. Soortgelyke membraanreste is deur Bergfeld et al. (1980) en Buvat & Robert (1982) tydens die vertering van proteïene gedurende vroeë imbibisie opgemerk.

Die membrane wat in hierdie ondersoek in die sentrale deel van die proteïenliggame in die prokambium waargeneem is

(Figuur 32), mag ook moontlik oorblyfsels wees van die membrane wat die globofede omsluit het. (Simola 1974, Mlodzianowski 1978). Die moontlikheid dat hierdie membrane eerder artefakte kon wees, word betwyfel, omdat daar nie soortgelyke membrane in enige ander organel waargeneem is nie.

Die noue assosiasie van die endoplasmiese retikulum met die protefenliggame tydens imbibisie, soos wat veral in die prokambiumselle waargeneem is (Figuur 32), mag funksioneel van aard wees, in dié opsig dat die gemobiliseerde protefene vervoer moet word na dele van die sitoplasma waar dit verbruik moet word. Mollenhauer & Kogut (1968) meen dat die endoplasmiese retikulum ontstaan uit 'n herorganisasie van die globulêre materiaal. 'n Verdere aspek wat ook die assosiasie van endoplasmiese retikulum met die plasmalemma verduidelik (Figuur 32), is dat die lipiedkomponente van die membrane moontlik afkomstig is van die lipiedvesikels, wat op hulle beurt weer geassosieer is met die plasmalemma en die protefenliggaammembrane (Villiers 1980).

4.5.5. Die nukleus.

Die "tipiese" nukleus in die radikula van ongeïmbibeerde, kiemkragtige koolsaad het 'n golwende nukleusmembraan, waarskynlik as gevolg van die gedehidreerde toestand van die saad. Die areas van gekondenseerde chromatien

(heterochromatien) wat in die nukleoplasma voorkom is 'n normale verskynsel in droë saad (Hallam 1973).

Wanneer kiemkragtige saad water opneem tydens imbibisie, swel die nukleus om 'n meer sferiese vorm aan te neem. Tergelykertyd word die nukleoplasma meer homogeen, dit wil sê die gekondenseerde geaardheid van die chromatien verdwyn. Die verlenging van die tyd wat dit neem vir die heterochromatien om te verdwyn sodat die nukleoplasma meer homogeen vertoon, kan as 'n teken van verswakking of veroudering geïnterpreteer word. In die geval van koolsaad wat die vermoë om te kiem verloor het, verdwyn die heterochromatien nie soos in geval van die kiemkragtige saad na 'n tydperk van imbibisie nie (Figuur 40).

In geval van nie-kiemkragtige koolsaad is daar afwykings in die eweredige afstand tussen die eenhede van die dubbelle nukleusmembrane waargeneem, sodat dit lyk asof daar blasies in die nukleusmembraan voorkom (Figuur 37). 'n Ooreenstemmende verskynsel, maar in 'n drastieser mate, is deur Villiers (1980) beskryf in lang-dormante, geïmbibeerde saad van Fraxinus excelsior. Die outeur voer aan dat dit as gevolg van 'n beskadiging in die struktuur van die membraanporieë plaasvind.

Wanneer die nukleus van nie-kiemkragtige koolsaad nie swel

na 'n tydperk van imbibisie nie en wanneer dit lyk asof die nukleusinhoud uitlek (Figuur 40), wil dit voorkom asof die nukleusmembraan van nie-kiemkragtige saad sy osmotiese funksie verloor het, hetsy as gevolg van beskadiging van die membraanstruktuur as sodanig, of dan as gevolg van die beskadiging van die membraanporieë.

4.5.6. Die plastiede.

Styselkorrels is nie in ongeïmbibeerde radikulas waargeneem nie. Reserwe voedingstowwe kom dus slegs voor in die vorm van proteïene in die proteïenliggame en lipiede in die lipiedvesikels. In geval van groeikragtige saad, vorm styselkorrels na ongeveer 24 uur van imbibisie. Die vorming van styselkorrels is nie waargeneem in geval van minder-groeikragtige saad nie, waarskynlik omdat alle metaboliese prosesse in die saad vertraag is, tot die selmembrane genoegsaam herstel het. Die totale afwesigheid van styselkorrels in saad wat die vermoë om te kiem verloor het, kan moontlik in die lig gesien word van die elektrondigte vlekke in die stroma van dergelyke saad.

Die elektrondigte vlek wat in die stroma van die proplastiede in nie-kiemkragtige saad verskyn (Figuur 38 en 41), is nie soortgelyk aan die membraanomgeefde insluiting wat in sommige proplastiede van ongeïmbibeerde, groeikragtige saad beskryf is nie (Figuur 29). Die elektrondigte vlekke is deurgaans waargeneem in die

stromas van die plastiede van nie-kiemkragtige saad, terwyl die membraanomgeefde insluitings in sekere proplastiede van kiemkragtige saad waargeneem is.

Die elektrondigte vlekke in die plastiede van nie-kiemkragtige saad mag moontlik iets in gemeen hê met die elektrondigte insluitings (glikoproteïene), waargeneem deur Paramonova (1984), wat in die chloroplaste van die blare van suikerbeet gevorm het in 'n suurstofarme atmosfeer. Hierdie elektrondigte insluitings word beskryf as moontlike rudimentêre styselkorrels, waarop proteïene (ensieme) oppervlakkig voorkom. In geval van nie-kiemkragtige koolsaad sou hierdie insluitings moontlik 'n aanduiding kon wees van 'n beskadigde respiratoriese meganisme.

Die interpretasie van die sogenaamde dubbelmembraanomgeefde insluiting wat algemeen in die stroma van die proplastiede van kiemkragtige, ongeïmbibeerde saad (Figuur 29) waargeneem is, is moeilik.

In die eerste plek kan dit moontlik 'n snit deur 'n instulping van die grondplasma in die proplastied wees, aangesien die voorkoms van die inhoud van die insluiting dikwels, maar nie in alle gevalle nie, baie ooreenstem met ribosome en grondplasma, met selfs lipiedvesikels (laasgenoemde is egter net by wyse van uitsondering

waargeneem). Alhoewel hierdie insluiting in meeste proplastiede waargeneem is, is daar egter in geen geval 'n lengtesnit deur so 'n "sitoplasmiese instulping" waargeneem nie. Daar is ook nie dergelyke insluitings in enige ander selorganel waargeneem nie - die insluiting blyk net in proplastiede teenwoordig te wees.

Paulson en Srivastava (1968 a,b) maak melding van soortgelyke strukture in die radikula van Lactuca sativa saad, en verwys na Israel en Stewart (1967) se interpretasie van dieselfde strukture in floëem-selkulture van Daucus carotus as sogenaamde "pretilakoïdale liggame". Die outeurs meen dat dit gespesialiseerde strukture kan wees wat te doen het met die vorming van tilakoïede wanneer die proplastiede tot chloroplaste ontwikkel. Die vorming van fotosintetiserende chloroplaste vind egter nie in die wortel plaas nie, en die outeurs het nie 'n spesifieke funksie aan hierdie "pretilakoïdale liggame" in die geval van radikulas toegewys nie.

'n Laaste moontlike verklaring vir hierdie verskynsels mag moontlik wees dat 'n klein hoeveelheid sitoplasma of tydens die ontstaan van die proplastiede, of tydens die dehidrasieproses, in die organel beland het.

Na 6 ure van imbibisie is hierdie insluitings nie meer waargeneem nie. Dit is moontlik as gevolg van disintegrasie, of omdat die plastiede as gevolg van

wateropname swel en die "sitoplasmiese instulpings" verdwyn.

Aangesien die dubbelmembraanomgeefde insluitings morfologies baie ooreenstem met die sogenoemde mikoplasmas wat uitsonderlik in plantselle teenwoordig is, is die moontlikheid dat hierdie insluitings mikroorganismes kon wees, oorweeg. As gevolg van die verdwyning van die insluitings na 'n tydperk van imbibisie, is hierdie oorweging egter laat vaar.

4.5.7. Die mitochondrions.

Die mitochondrions van koolsaad behou 'n tipiese struktuur nadat die fynstruktuur van ander selorganelle as gevolg van progressiewe veroudering verander het. Daar is nie op 'n sigbare vlak beskadiging van hierdie organelle waargeneem voordat die algemene selstruktuur onherkenbaar beskadig is nie. Dit wil egter nie sê dat die mitochondrionfunksie nie beïnvloed is nie.

Daar is wel deur ander outeurs in ander saad gewys op die beskadiging van die mitochondrionmembrane. Mitochondrions met 'n gebarste voorkoms, afwykende profiele en geswolle kristas is beskryf (Samuel et al. 1986a,b, Villiers 1980).

Die mitochondrionaktiwiteite word in alle geval wel in

sojaboonsaad en mieliegraanvrugte beïnvloed tydens langtermyn opberging. Abu-shakra (1967) het gevind dat daar 'n afname in die fosforileringsaktiwiteit in die mitochondrions van ouer sojaboonsaad voorkom. Gepaardgaande hiermee, het die matriks van die mitochondrions verdig. Throneberry & Smith (1955) het 'n afname in die aktiwiteit van sitochroomoksidase, alkoholdehidrogenase en appelsuur-dehidrogenase waargeneem in die mitochondrions van verouderde mieliegraanvrugte.

Samuel et al. (1986c) het met behulp van diaminobensidien die afname van sitochroomoksidase in verouderde mieliegraanvrugte aangedui. Die diaminobensidien vorm 'n elektrondigte reaksieproduk in die sones waar die aktiwiteit van die ensiem hoog is.

Berjak & Villiers (1972a) beskryf die oormatige vorming van endoplasmiese retikulum tydens die "herstelperiode" van mieliegraanvrugte. Hierdie oormatige vorming van endoplasmiese retikulum was afwesig in koolsaad, ook in die geval van saad waarvan die kiemingstempo vertraag is as gevolg van 'n verlaagde saadvogpeil of as gevolg van die warmwaterbehandeling. Berjak & Villiers (1972a) beskou die aanvanklik oormatige endoplasmiese retikulum as 'n alternatiewe respiratoriese meganisme in die saad, om tydelik te vergoed vir die beskadigde mitochondrions. Hierdie outeurs oorweeg ook 'n ander moontlikheid vir die oormatige endoplasmiese retikulum tydens vroeë imbibisie.

Aangesien die meganisme wat veronderstel is om die sintese van membrane in die sel te beheer, dalk tydelik nie funksioneer nie, is dit moontlik dat die oormatige endoplasmiese retikulum eerder hieraan toe te skryf is.

In geval van die koolsaad wat bestudeer is, is daar nie oormatige endoplasmiese retikulum in die saad waargeneem nie. 'n Moontlike verduideliking hiervoor mag wees dat die mitochondrions nie tot so 'n mate beskadig is dat 'n alternatiewe vorm van respirasie nodig was nie. Die skynbare onbeskadigde fynstruktuur van hierdie organelle sou hierdie moontlikheid ondersteun.

Die onderliggende meganisme vir die veroudering van koolsaad blyk die verlies van membraanintegriteit te wees. Dit word gemanifesteer in die gedegenerende plasmalemma en tot 'n mate in die fynstruktuurafwykings van die nukleusmembraan.

Die afname in die kiemingstempo van minder groeikragtige saad, is waarskynlik as gevolg van 'n verlengde periode waarin die herrangskikking van die membrane tydens hidrasie van die saad, plaasvind. Skade wat deur die oksidasieproses aan die lipiedkomponente van die membrane, deur die sogenoemde vry radikale, aangerig is, moet eers herstel word.

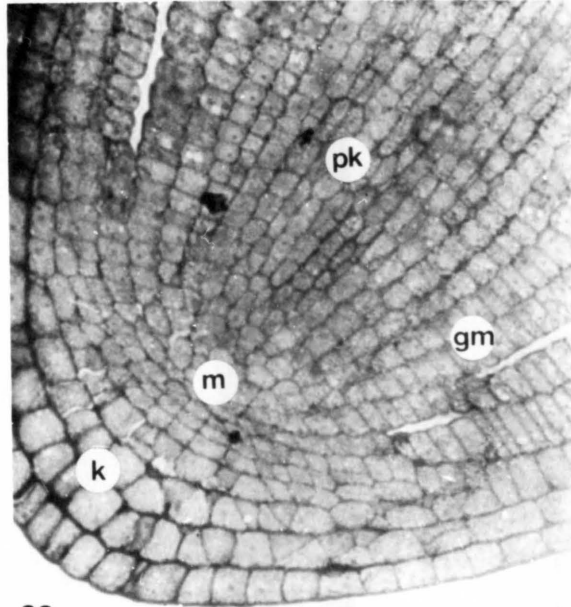
Die volgehoue integriteit van die proteïenliggaammembrane, nadat die beskadiging van die plasmalemma en die nukleusmembraan al sigbaar is, dui daarop dat dieselfde mate van beskadiging nie in die geval van al die membrane plaasvind nie. Dit mag moontlik wees omdat die struktuur van die membraan om die proteïenliggame verskil van dié van die membraan om die nukleus en van dié van die plasmalemma. Uit die aard van die saak verskil die funksies van hierdie membrane. Berjak & Villiers (1972a) doen aan die hand dat die proteïenliggaammembraan (of te wel lisosoommembraan) die hidrolitiese ensieme van die res van die sitoplasma skei en daarom sou dit in die belang van die organisme wees dat hierdie membraan nie maklik sou kon degenereer nie. Die proses van saadveroudering sou dus reeds ver gevorder wees, wanneer die proteïenliggaammembraan tot so 'n mate gedegeneer het, dat lise van die sitoplasma kon plaasvind.

Volgens hierdie ondersoek word die sigbare struktuur van die mitochondrions behou. Die elektrondigte vlek in die stroma van die plastiede van nie-kiemkragtige saad, mag egter tog tentatief dui op 'n beskadigde respirasie meganisme. Dit is nie moontlik om op grond van hierdie studie uitspraak te lewer oor die afname in die funksionaliteit van die mitochondrions tydens saadveroudering nie.

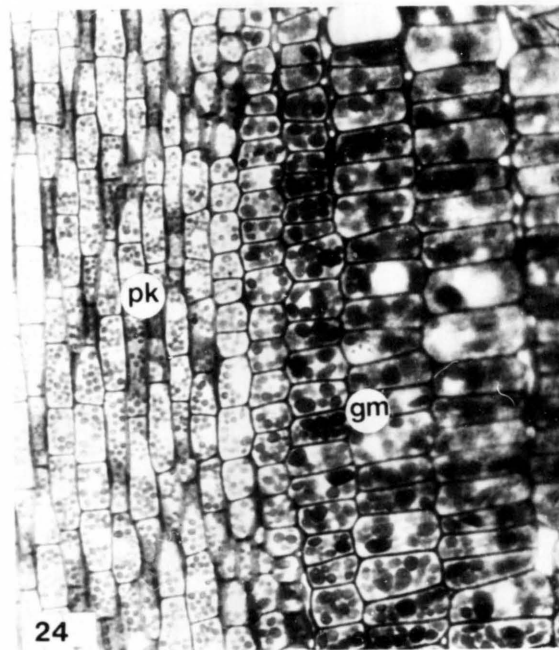
Plaat 1. Ligmikroskoopfoto's om die weefseltipes in die radikula van 'n koolembrio aan te dui.

Figuur 23. Lengtesnit deur die radikula van 'n koolembrio, om die promeristeeem (m), die prokambium (pk), die grondmeristeeem (gm) en die kaliptraweefsel (k) aan te dui.

Figuur 24. Lengtesnit deur die radikula van 'n koolembrio, om die verskil in die aantal en grootte van die protefenliggame van die grondmeristeeem (gm) en die prokambium (pk) onderskeidelik, aan te dui.



23



24

Plaat 2. Die fynstruktuur van radikula grondmeristeemselle van kiemkragtige (onbehandelde en onopgebergde), ongeëmbibeerde (maar hidries gefikseerde) koolsaad.

Figuur 25. Effens weggetrekte plasmalemma (pl); proteïenliggame (p); lipiedvesikels (l); intersellulêre lugruimtes (is) (Skaal: balkie = 1 μm).

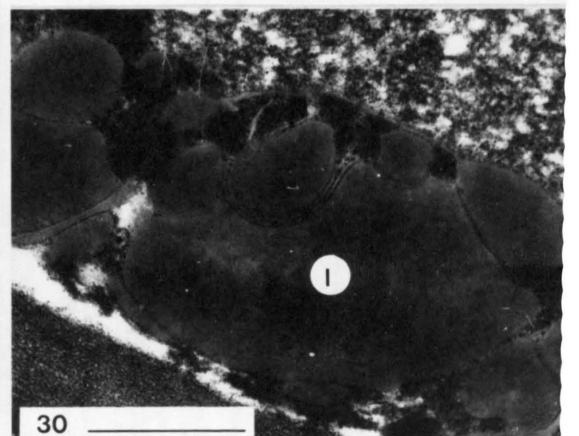
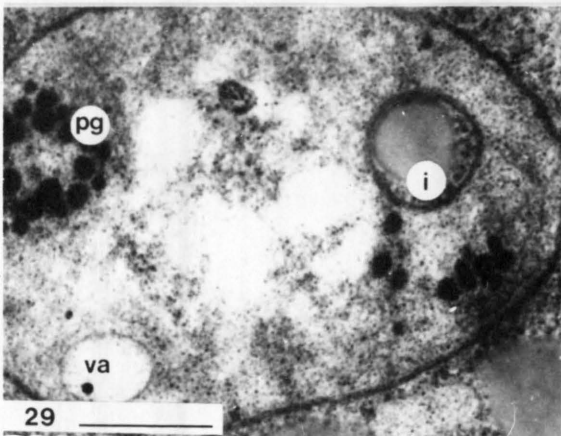
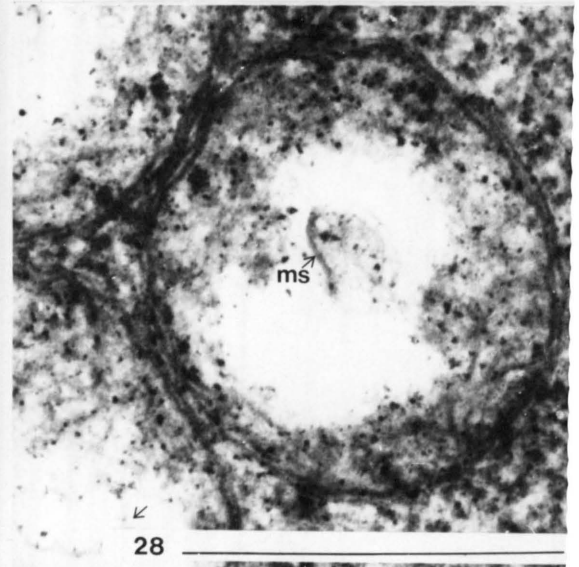
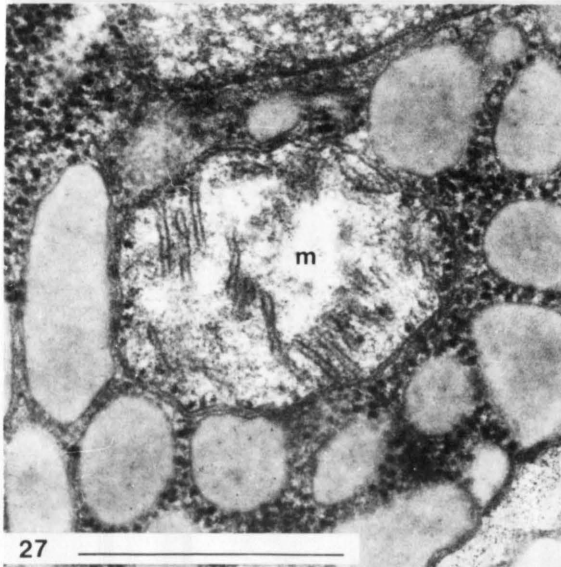
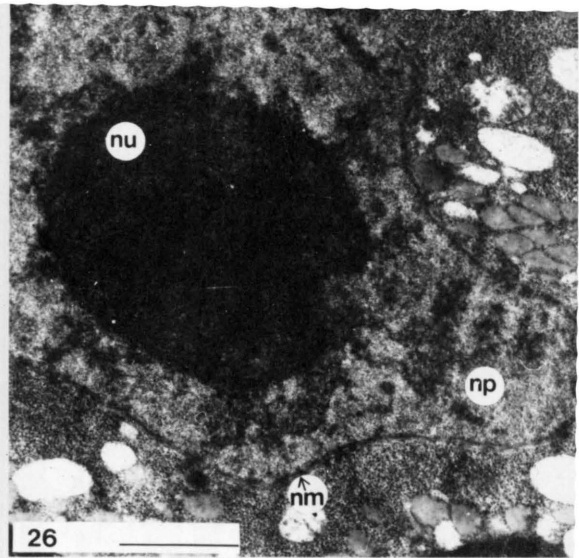
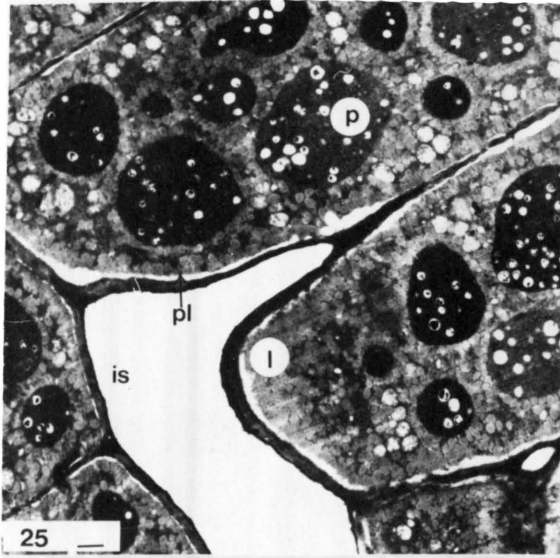
Figuur 26. Onreëlmatige nukleus met vlekkerige nukleoplasma (np) en 'n duidelike nukleusmembraan (nm) (Skaal: balkie = 1 μm).

Figuur 27. Mitochondrion (m) met 'n relatief digte matriks (Skaal: balkie = 0,5 μm).

Figuur 28. Membraansirkels (ms) in sommige mitochondrions (Skaal: balkie = 0,5 μm).

Figuur 29. Proplastied (pp) met plastoglobuli (pg), 'n dubbelmembraanomgeefde insluiting (i) en 'n gevakuoleerde area (va) (Skaal: balkie = 0,5 μm).

Figuur 30. Lipiedversmelting (l) (Skaal: balkie = 0,5 μm).



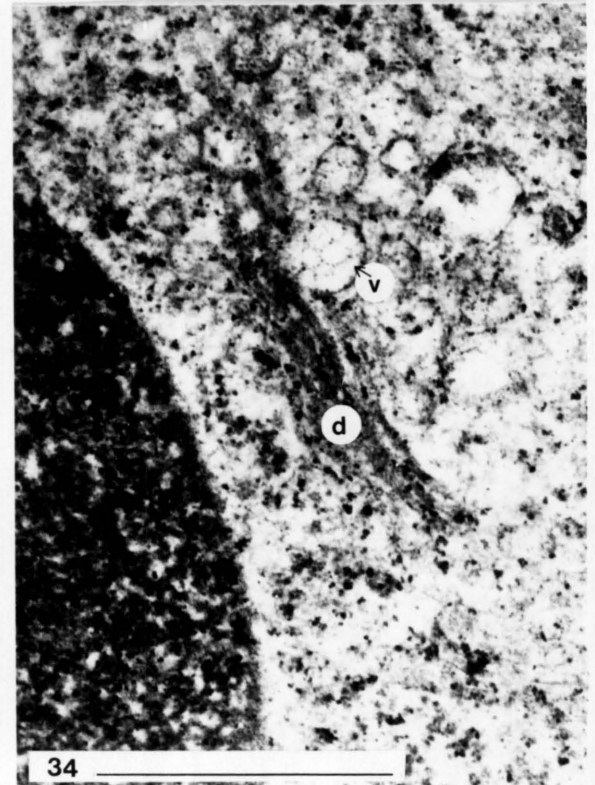
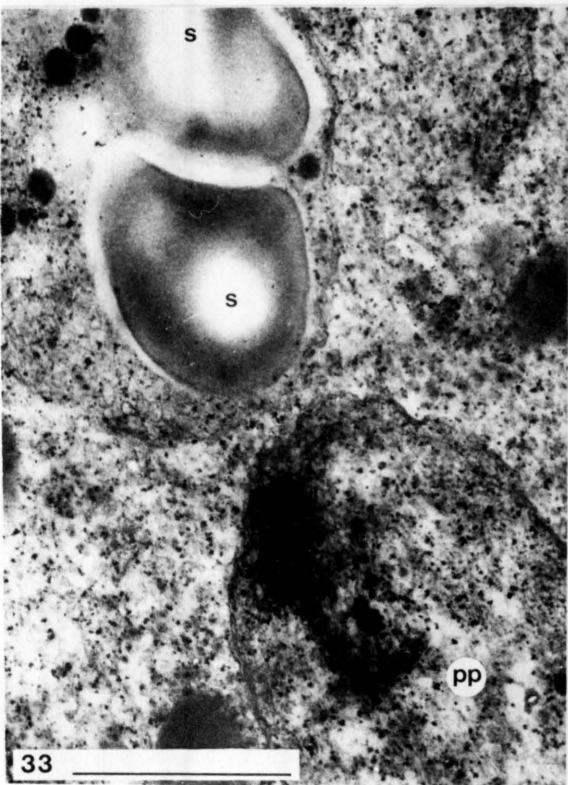
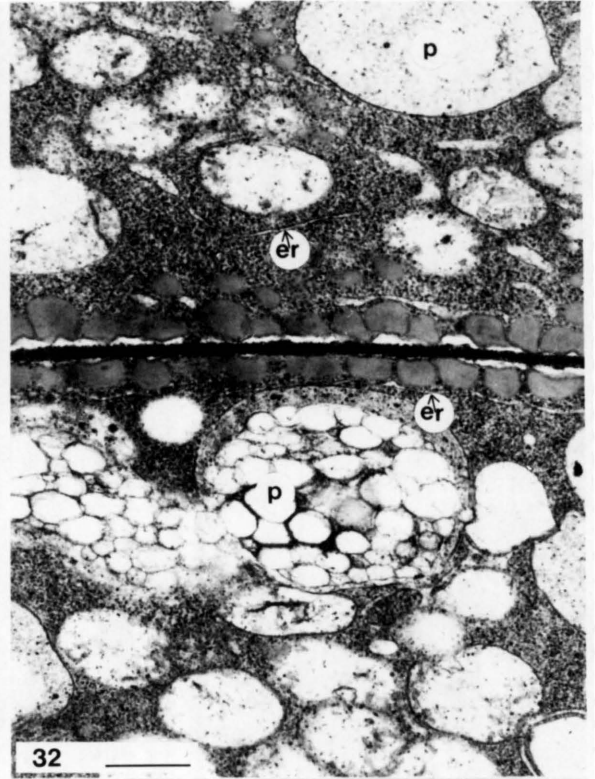
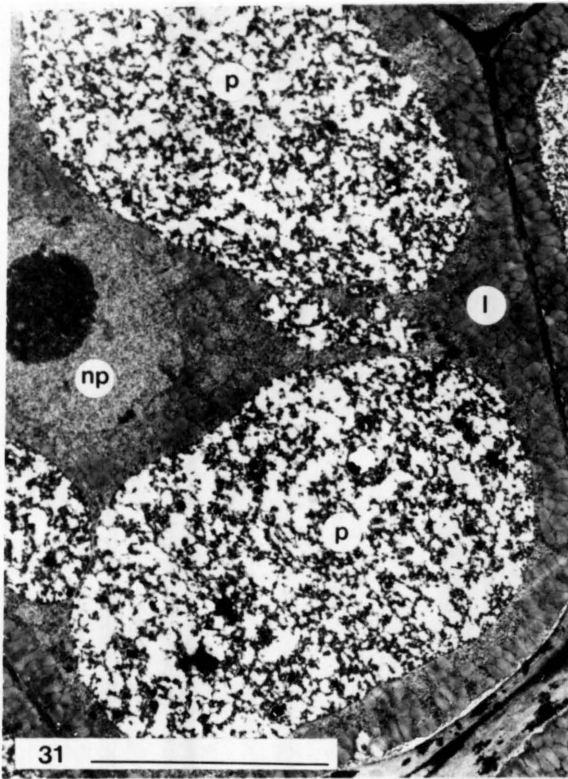
Plaat 3. Die fynstruktuur van die radikula van kiemkragtige, geïmbibeerde (6 - 24 uur) koolsaad.

Figuur 31. Grondmeristeemsel. Proteïenliggaam (p); nukleoplasma (np); lipiedvesikels (l) (Skaal: balkie = 0,5 μm).

Figuur 32. Prokambiumselle. Proteïenliggaam (p) met sentrale vesikelagtige membrane (Skaal: balkie = 0,5 μm).

Figuur 33. Proplastied (pp); styselkorrels (s) in plastied (Skaal: balkie = 1 μm).

Figuur 34. Diktiosoom (d) met saamgestelde vesikel (v) in naburige grondplasma (Skaal: balkie = 0,5 μm)



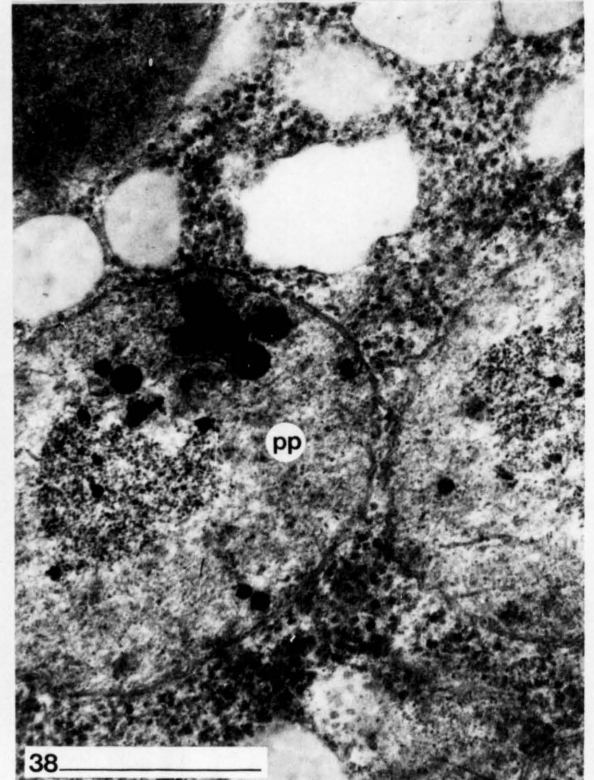
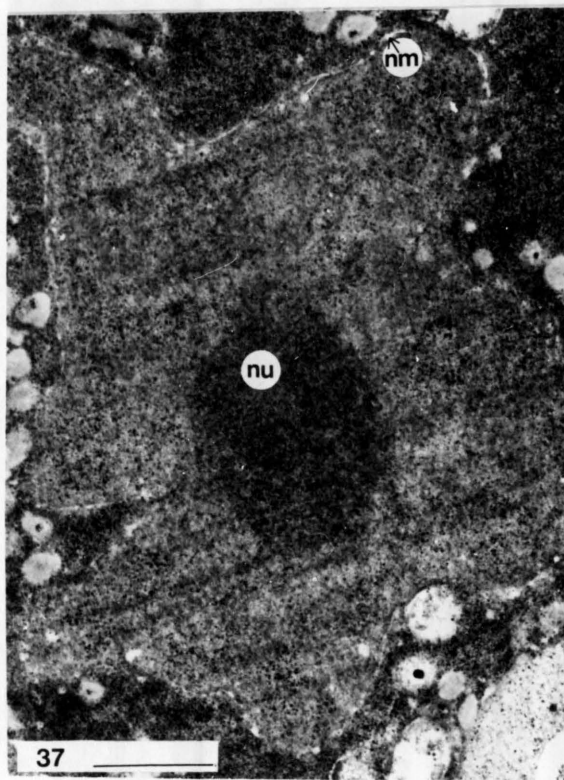
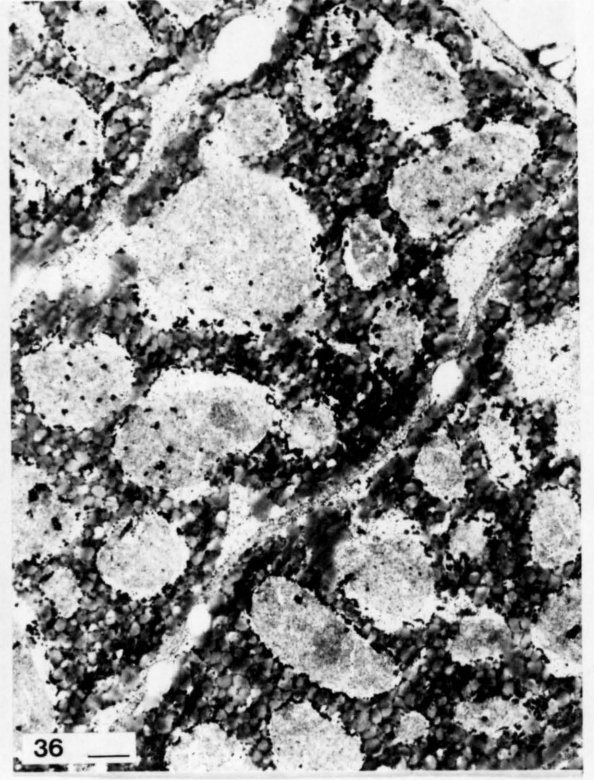
Plaat 4. Die fynstruktuur van grondmeristeemselle van die radikula van ongeïmbibeerde (maar hidries gefikseerde), nie-kiemkragtige koolsaad.

Figuur 35. Die plasmalemma (pl) is drasties weggetrek van die selwand (Skaal: balkie = 2 μm).

Figuur 36. Drasties beskadigde grondmeristeemselle (Skaal: balkie = 1 μm).

Figuur 37. Gelobde nukleus met nukleolus (nu). Die nukleusmembraan (nm) vertoon gevesikuleerd (Skaal: balkie = 1 μm).

Figuur 38. Proplastied (pp) met elektrondigte vlek in stroma (Skaal: balkie = 0,5 μm).

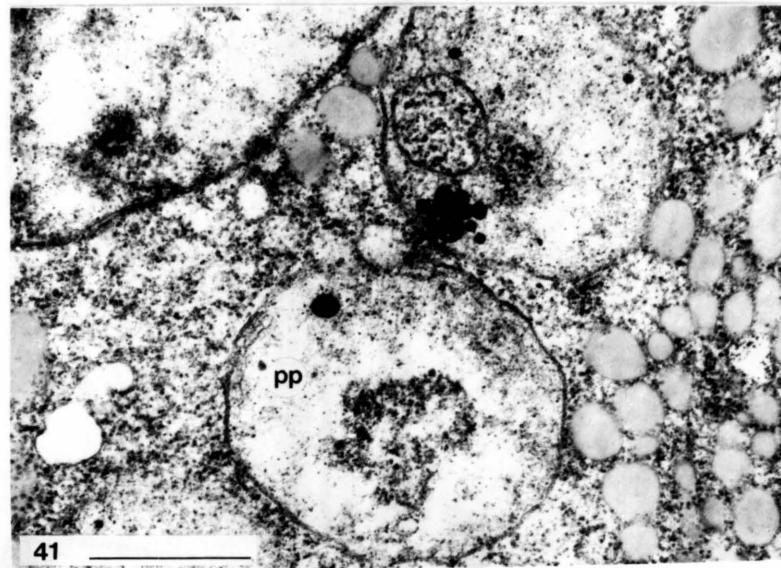
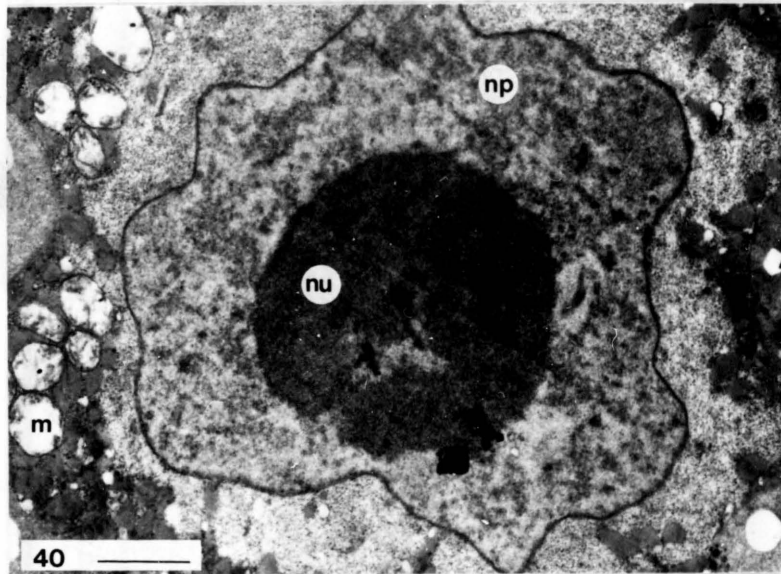
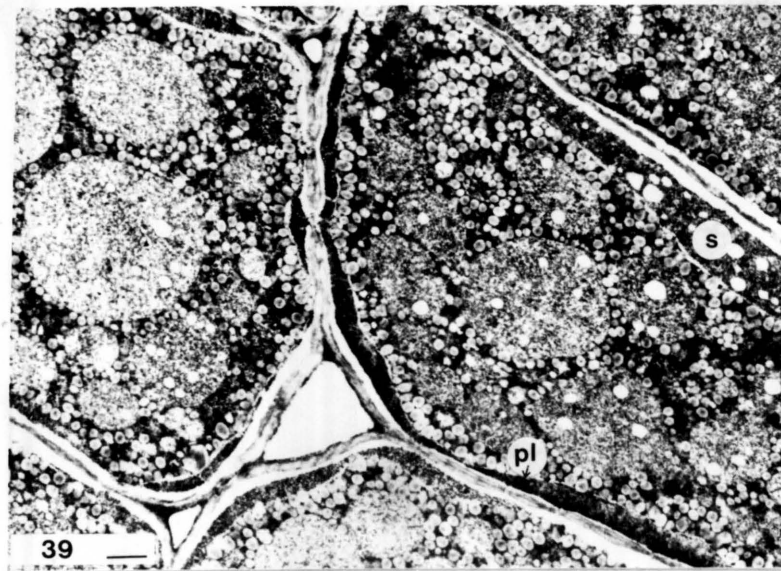


Plaat 5. Fynstruktuur van grondmeristeemselle en prokambiumselle van die radikula van gefimbibeerde (6 - 24 uur), nie-kiemkragtige saad.

Figuur 39. Uitgeloogde sitoplasma (s) tussen die plasmalemma (pl) en die selwand (Skaal: balkie = 1 μm).

Figuur 40. Nukleus met nukleolus (nu) en vlekkerige nukleoplasma (np). Mitochondrions (m) vertoon sferies en minder elektrondig (Skaal: balkie = 1 μm).

Figuur 41. Elektrondigte vlekke in die stroma van die proplastiede (pp) (Skaal: balkie = 0,5 μm).



Plaat 6. Die warmwaterbehandeling beïnvloed die fynstruktuur van sommige proteïenliggame in sommige selle.

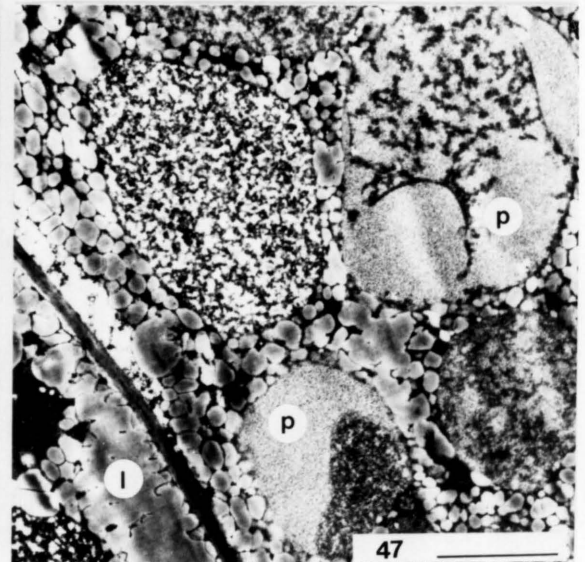
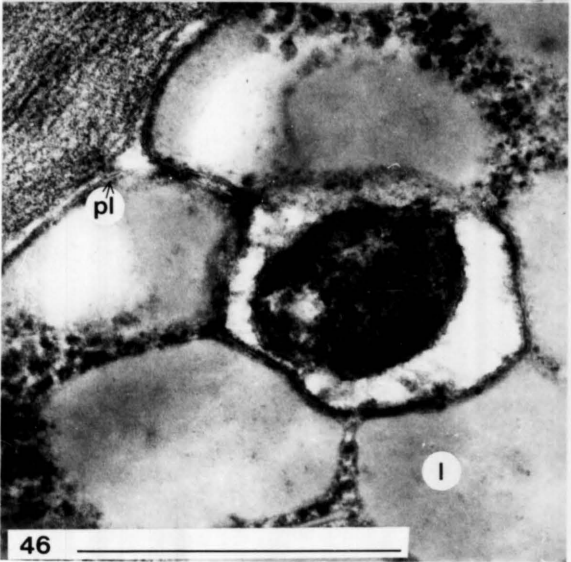
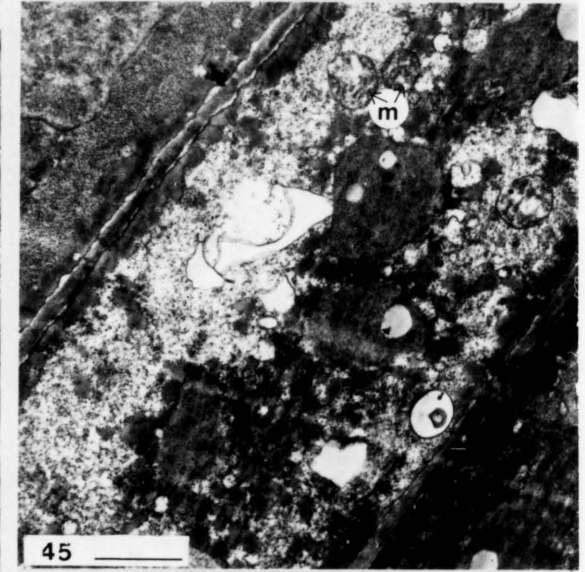
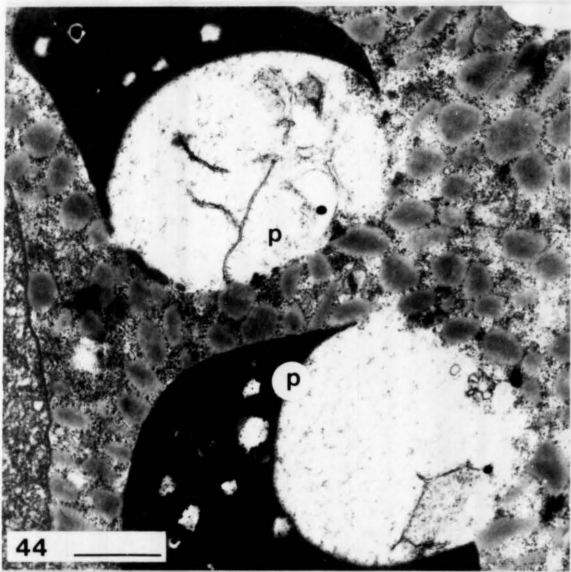
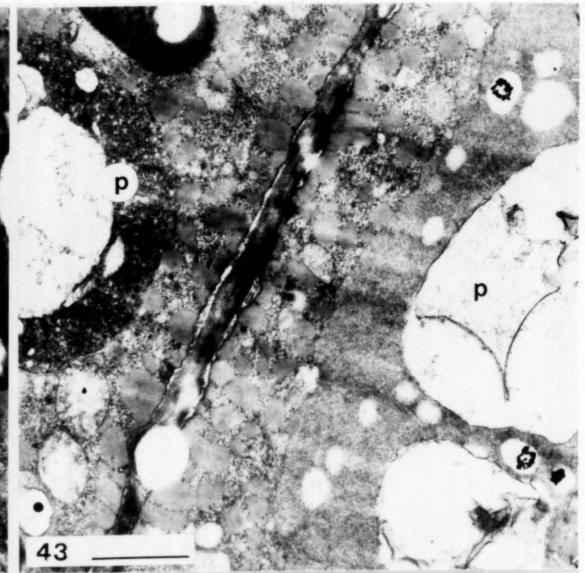
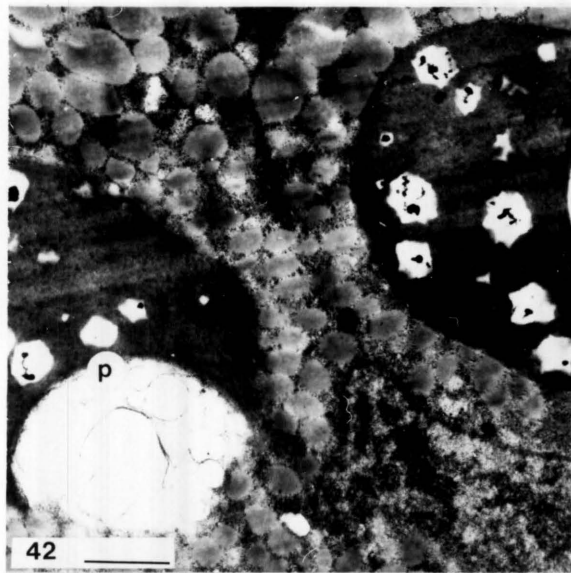
Figure 42, 43 en 44. Die proteïenliggame vertoon gebars en gedeeltelik afgebreek (Skaal: balkie = 1 μm).

Figuur 45. Wanneer die hidrolitiese ensieme van bogenoemde proteïenliggame tydens imbibisie geaktiveer word, vind lise van die sitoplasma van die betrokke selle plaas (Skaal: balkie = 1 μm).

Moontlike tekens van die teenwoordigheid van fungi in die saad:

Figuur 46. 'n Invaginasië van die plasmalemma (pl) met ongeïdentifiseerde materiaal. Lipiedvesikel (l). (Skaal: balkie = 0,5 μm).

Figuur 47. Inhoud van die proteïenliggame (p) kom gemodifiseer voor. Lipiedversmelting (l) (Skaal: balkie = 1 μm).



Hoofstuk 5. Die invloed van streptomisien-behandeling van koolsaad op die fynstruktuur van die chloroplaste in die saadlobbe van die saailinge.

5.1. Inleiding.

In Suid-Afrika is die behandeling van saad met antibiotiese middels onwettig as gevolg van die moontlike gesondheidsgevaare wat dit mag inhou. Die beheer van saadgedraagde patogene op koolgewassade asook ander saad is egter nie heeltemal doeltreffend nie. Een van die behandelings wat waarskynlik in die toekoms oorweeg mag word is die beheerde behandeling van saad met 'n antibiotikum of 'n kombinasie van antibiotikums. Die navorsing oor die invloed wat sulke behandelings op die saad mag hê, is dus noodsaaklik.

Die antibiotikum streptomisien word o.a. in die V.S.A. gebruik om saadgedraagde patogene te beheer. Dit is belangrik om te weet dat daar uiters versigtig te werk gegaan moet word wanneer saad met streptomisien behandel word, aangesien dit bekend is dat die antibiotikum die gehoorbeentjies in 'n mens se oor beskadig en selfs doofheid tot gevolg kan hê. Die gereelde inname van klein hoeveelhede antibiotikum kan ook 'n weerstand teen die antibiotikum tot gevolg hê. Streptomisien bly vir ongeveer 90 dae aktief. Saad wat met streptomisien

behandel is, moet dus vir hierdie tydperk met sorg hanteer word.

Dit is bekend dat die behandeling van koolsaad met hierdie antibiotikum chlorotiese saailinge tot gevolg het (Klisiewicz & Pound 1961). Daar is besluit om vir die doel van hierdie studie die fynstruktuur van die chloroplaste van sulke saailinge te bestudeer en na ander moontlike sitoplasmiese afwykings te kyk. Die doeltreffendheid van streptomisien as saadbehandeling teen saadgedraagde patogene is egter nie in hierdie studie ondersoek nie.

5.2. Materiaal en Metode.

Dieselfde saad, naamlik saad van Brassica oleracea var. capitata kultivar Drumhead, wat gebruik is vir die ondersoeke in die res van hierdie studie, is ook in hierdie geval gebruik.

Saad wat 30 minute in water geweek is en daarna oornag gedroog is, is as kontrole gebruik. Saad wat vir 30 minute in 'n 0,1g streptomisien per 100g water oplossing geweek is, is verder soos volg hanteer voordat dit oornag gedroog is:

- a). nie verder hanteer nie.
- b). 10 minute in water gespoel.
- c). 3 minute in NaOCl gespoel.

- d). 10 minute in water gespoel, 3 minute in NaOCl gespoel.
e). 10 minute in water gespoel, 3 minute in NaOCl gespoel en weer vir 10 minute in water gespoel.

'n Sterk NaOCl- oplossing is gebruik nl. 3,7g HTH-poeier opgelos in 100ml H₂O. Voor gebruik is die inerte draer toegelaat om uit te sak en die oplossing is gefiltreer.

Die saad is volgens die internasionale reëls geïnkubeer.
'n Kiemingspersentasie van 100 is deurgaans verkry.

5.3. Resultate.

Die saad wat ter wille van 'n kontrole vir 30 minute in water geweek is, het normale saailinge met groen saadlobbe gelewer.

Die saad wat vir 30 minute in die streptomisien-oplossing geweek is, sonder dat dit daarna met steriele water afgespoel is, het saailinge gelewer met chlorotiese saadlobbe.

Die saad wat met streptomisien behandel is, maar daarna in water afgespoel is, het ook chlorotiese saailinge tot gevolg gehad.

Die saad wat egter met NaOCl afgespoel is nadat dit in die

streptomisien-oplossing geweek is, het normale saailinge met groen saadlobbe gelewer, soos in geval van die saad wat slegs in water geweek is.

Dit is egter moeilik om te bepaal of die NaOCl die effek van die streptomisien ophef, of direk met die streptomisien reageer om sodoende die uitwerking van die streptomisiene te verhoed. Deur die saad eers met water af te spoel nadat dit in die streptomisien-oplossing geweek is en daarna met NaOCl af te spoel, is dit minstens moontlik om die oppervlakkige streptomisien af te spoel. Sodoende word die NaOCl-aksie dan moontlik beperk tot die streptomisien-uitwerking, alhoewel dit nog steeds moontlik is dat dit slegs die streptomisien buite werking kon stel wat die saad binnegedring het en nie deur die spoelproses verwyder is nie.

Laastens het die saad wat na weking in die streptomisien-oplossing met water afgespoel is, hierna met NaOCl afgespoel en weer met water afgespoel is, saailinge met tipiese groen saadlobbe geproduseer. Dit gee 'n aanduiding dat die opheffingsaksie van die NaOCl nie verhoed word wanneer die NaOCl oppervlakkig met water afgespoel word nie.

Die resultate word ook in tabel 4 opgesom.

Tabel 4. Die uitwerking van streptomisien- en NaOCl-saadbehandelings op die kleur van die saadlobbe van 10-dagoue saailinge.

Behandeling.	Kleur van saadlobbe van 10-dagoue saailinge.
a). Slegs in water geweek	Groen
b). Streptomisien	Chloroties
c). Streptomisien + water	Chloroties
d). Streptomisien + NaOCl	Groen
e). Streptomisien + water + NaOCl	Groen
f). Streptomisien + water + NaOCl + water	Groen

Die gemiddelde hipokotiellengtes van die chlorotiese saailinge was sigbaar korter as dié van die saailinge met groen saadlobbe. Uiteindelik (na ongeveer 22 dae tot 'n maand) het die chlorotiese saailinge afgesterf.

Hier en daar is 'n saailing aangetref wat met streptomisien behandel was, maar nie in NaOCl afgespoel is nie, wat nie heeltemal chloroties was nie. Die groen areas wat op die saadlobbe teenwoordig was, het egter na 'n paar dae verdwyn. Dele tot waar die streptomisien waarskynlik nie aanvanklik gedring het nie, is dus uiteindelik ook geaffekteer.

5.4. Elektronmikroskopiese ondersoek.

Om die invloed van streptomisien en die opheffingseffek van NaOCl op die fynstruktuur van die chloroplaste te bestudeer, asook ander moontlike sitoplasmiese afwykings as gevolg van die streptomisien-behandeling, is die volgende materiaal voorberei vir elektronmikroskopiese ondersoek:

a). Saadlobweefsel van 'n tipiese groen saailing waarvan die saad net in water geweek was, vir die bestudering van die fynstruktuur van tipiese chloroplaste.

b). Saadlobmateriaal van 'n saailing met groen saadlobbe, waarvan die saad wat met streptomisien behandel is en met NaOCl afgespoel is.

c). Chlorotiese saadlobweefsel van 'n saailing waarvan die saad met streptomisien behandel is.

d). 'n Stukkie saadlobweefsel wat nie heeltemal chloroties vertoon het nie, maar groen areas op gehad het. Soos reeds genoem het die saad wat met streptomisien behandel is, in enkele gevalle saailinge gelewer waarvan die saadlobbe nie heeltemal chloroties vertoon het nie.

Vir die elektronmikroskopiese ondersoek, is dieselfde metode gevolg wat in hoofstuk 4 vir die voorbereiding van die radikulaweefsel beskryf is.

5.5. Resultate.

a). Chloroplaste van saailinge van onbehandelde saad:

Die chloroplaste is relatief groot en goed ontwikkel en kom voor in die perifere sitoplasma van die subepidermale sellae van die saadlob. Die dubbelle eenheidsmembraan wat die chloroplaste omsluit, tilakoïede, grana en plastoglobuli kan waargeneem word (Figuur 48 en 50).

b). Chloroplaste van saailinge waarvan die saad in streptomisien behandel is, maar waarvan die effek van die streptomisien opgehef is deur NaOCl:

Hierdie chloroplaste is soortgelyk aan die "normale" chloroplaste wat hierbo beskryf is.

c). Plastiede van die chlorotiese saailinge:

Die plastiede het in hierdie geval nie tot "normale" chloroplaste ontwikkel nie. Alhoewel tilakoïedagtige membrane in die stroma onderskei kan word, is daar nie sprake van granumvorming nie (Figuur 49 en 51).

d). Saadlobchloroplaste van saailinge waarvan die saad met

streptomisien behandel is, maar waarvan die saadlobbe nie totaal chloroties vertoon nie:

Hierdie saailinge raak mettertyd wel heeltemal chloroties, dus is die ideale materiaal om die invloed van streptomisien op chlorofil-bevattende chloroplaste te bestudeer. Tipiese, "normale" chloroplaste is nie in hierdie weefsel waargeneem nie, maar wel "abnormale" vorms.

In sommige chloroplaste was die tilakofede nie meer onderskeibaar nie, maar aan die een kant van die plastied vasgedruk in 'n breë halfmaanvormige, elektrondigte band. Min vry membraanstrukture het in die stroma van dergelyke plastiede voorgekom. Groepe plastoglobuli is veral in assosiasie met die punte van hierdie elektrondigte band opgemerk (Figuur 52). In 'n paar gevalle het hierdie band sirkelvormig in die plastied voorgekom. Die rangskikking van die tilakofedagtige membrane in sommige chloroplaste, herinner aan die struktuur van 'n prolaminêre liggaam (Figuur 53).

Soos reeds genoem word hierdie "half-groen" saailinge uiteindelik heeltemal chloroties, totdat hulle uiteindelik afsterf. Die beskadigde plastiede het dus nie weer herstel nie. Nuwe chloroplaste het ook nie ontwikkel nie, of is ook deur die antibiotikum beskadig.

Daar is nie afwykings in die fynstruktuur van die mitochondrions, of enige ander sitoplasmiese afwykings in die saailinge waarvan die saad met streptomisien behandel is, waargeneem nie.

Plaat 7. Die invloed van streptomisien op die chloroplaste in die saadlobbe van koolsaad en -saailinge.

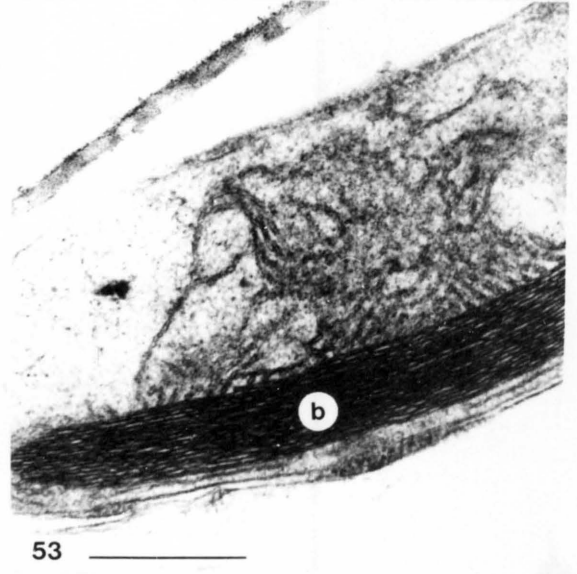
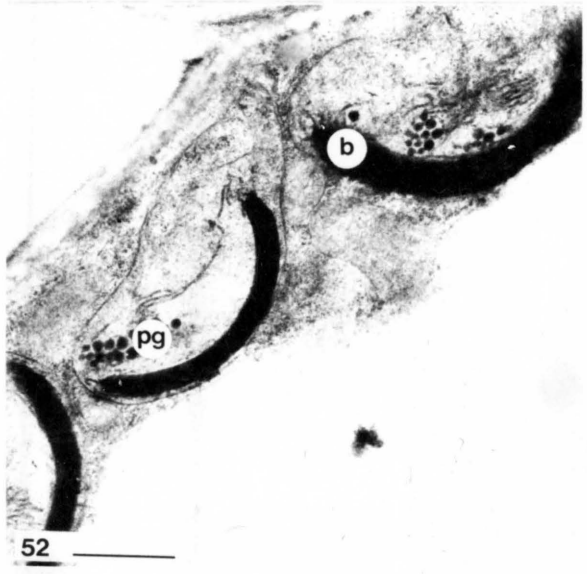
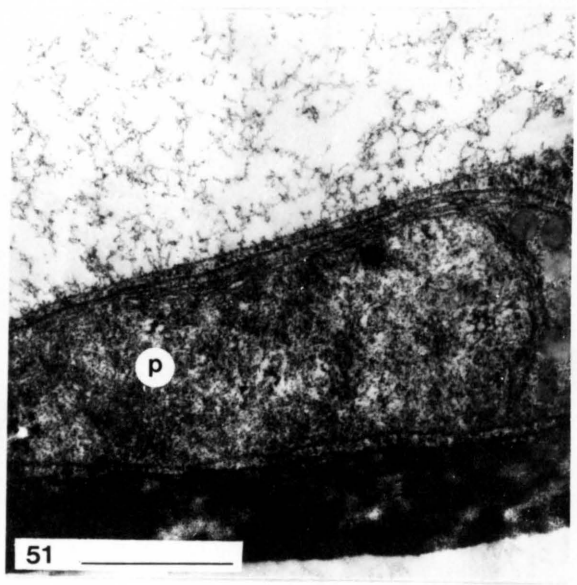
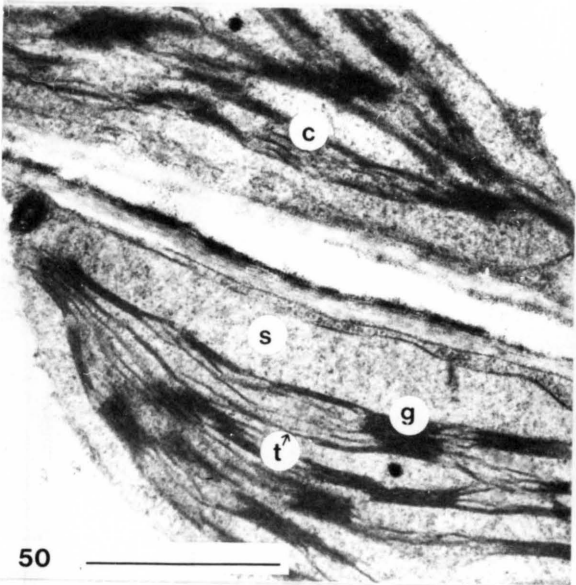
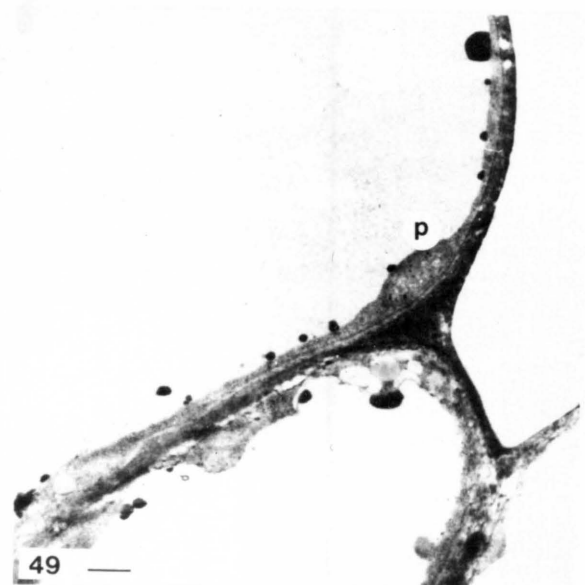
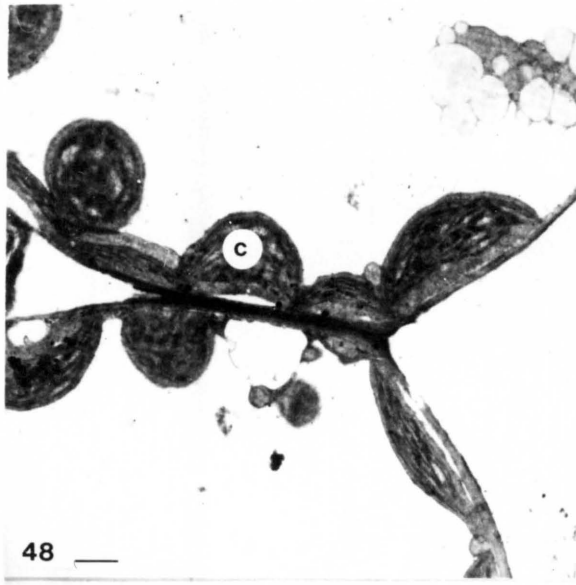
Figuur 48. Chloroplaste in die mesofil van die saadlobbe van 'n normale 10-dagoue saailing (c: chloroplast). Skaal: balkie = 1 μm .

Figuur 49. Die plastiede in die mesofil van 'n 10-dagoue chlorotiese saailing, van streptomisien-behandelde saad (p: plastied). Skaal: balkie = 1 μm .

Figuur 50. Die fynstruktuur van normale chloroplaste (c: chloroplast, g: granum, s: stroma, t: tilakoïed). Skaal: balkie = 1 μm .

Figuur 51. Die fynstruktuur van 'n plastied in die saadlob van 'n chlorotiese saailing (p: plastied). Skaal: balkie = 0,5 μm .

Figuur 52 en 53. Die fynstruktuur van plastiede in die groen areas van die saadlobbe van half-chlorotiese saailinge. Die rangskikking van die tilakoïedagtige membrane in Figuur 53 herinner aan die struktuur van 'n prolaminêre liggaam (b: bandvorminge versameling tilakoïede, pg: plastoglobuli). Skaal: Figuur 52: balkie = 0,5 μm ; Figuur 53: balkie = 1 μm .



5.6. Bespreking.

Daar is verwysing in die literatuur dat streptomisien proteïensintese inhibeer (Thimann 1980) en inwerk op chloroplasribosome. Esser en Tudzinsky (1980) gebruik ook streptomisien in die groeimedium van Podospora sp. ('n fungus), as 'n inhibeerder van mitochondriale metabolisme. Streptomisien werk in op die 50-S prokariotiese ribosome. Volgens Zamski en Umiel (1982) affekteer streptomisien die 30-S eenheid van die 80-S ribosome in die chloroplaste van tabak. Volgens genoemde outeurs is daar streptomisienweerstandbiedende tabaklyne en hulle beweer dat die konsentrasie van die antibiotikum 'n rol speel in die mate van afwyking van die organelle, asook die sensitiwiteit van die spesifieke kultivar. Die outeurs vind dat die antibiotikum ook die struktuur van die mitochondrions affekteer, maar kwalifiseer die stelling verder deur te beweer dat die mitochondrions minder sensitief vir lae konsentrasies van die antibiotikum is as die chloroplaste.

In die geval van koolsaad is daar nie afwykings in die struktuur van die mitochondrions waargeneem nie. Die afwykings in die struktuur van die chloroplaste is ongeveer dieselfde as in die geval van die tabaksaailinge, alhoewel in 'n erger graad. Dit kan toegeskryf word aan die hoër konsentrasie streptomisien wat in hierdie geval

toegedien is.

Zamski & Umiel (1982) beskou die chloroplaste van chlorotiese saailinge as gedegenerereerd. Aangesien die struktuur van die "chloroplaste" in die geval van chlorotiese koolsaailinge goed vergelyk met dié van die droë saad se saadlobbe (die saadlobbe van droë koolsaad vertoon geel), is hierdie plastiede waarskynlik eerder onontwikkelde proplastiede is wat nooit in funksionerende chloroplaste ontwikkel het nie. Die saailinge het immers nooit groen vertoon nie. In geval van die half-groen saailinge wat mettertyd ook heeltemal chloroties vertoon, is dit moeilik om te bepaal of die afwykende vorm van die chloroplaste so ontwikkel het uit die proplastiede en of die chloroplaste normaal ontstaan het, maar as gevolg van die teenwoordigheid van die antibiotikum begin afwyk het, aangesien dit nie moontlik was om 'n kronologiese volgorde toe te ken aan die afwykende vorms chloroplaste wat waargeneem is nie.

Daar is chloroplaste in hierdie half-groen saadlobbe waargeneem waarin die afwyking in die rangskikking van die tilakofede baie herinner aan die rangskikking van 'n prolaminêre liggaam (Figuur 53). Dit kan moontlik wees dat die groen areas op die saadlobbe van die half-groen saailinge aanvanklik nie met die streptomisien gekontamineer was nie en normale chloroplaste bevat het. Namate die antibiotikum egter uiteindelik wel hierdie

weefsel bereik het, is die proteïensintese in die plastiede geïnhibeer en die onderhoud van die membraanstrukture van die plastiede is onderbreek.

As die saad na streptomisien-behandeling met NaOCl afgespoel word, ontwikkel die saailinge normaal met normale chloroplaste. Een van twee moontlikhede moet nou oorweeg word: óf die nadelige invloed wat die streptomisien op die chloroplaste het, word deur die NaOCl "opgehef", óf die uitwerking van die streptomisien word verhoed. Oppervlakkige afspoeling van die saad met water nadat dit met streptomisien behandel is, maar voor dit in NaOCl afgespoel is, verseker nie die verwydering van die streptomisien wat reeds deur die saad opgeneem is nie. In geval waar die NaOCl slegs met die streptomisien reageer om die fitotoksiese effek van die antibiotikum te verhoed, is dit dan ook moontlik dat die toediening van die antibiotikum sinneloos mag wees, indien die streptomisien dan ook nie meer die patogene organismes doeltreffend sou kon bestry nie. Meer werk is dus in hierdie verband nodig.

Hoofstuk 6. Samevatting.

Die beheer van saadgedraagde patogene op koolsaad is noodsaaklik. Verdere navorsing om 'n doeltreffende behandeling te vind wat die groeikragtigheid van koolsaad glad nie nadelig beïnvloed nie, is nodig.

Die onderliggende rede vir hierdie ondersoek was egter die kommer wat uitgespreek is oor die kwaliteit (groeikragtigheid) van koolsaad. Lae groeikragtigheid is voorheen hoofsaaklik toegeskryf aan saadbehandelings (veral die warmwaterbehandeling) om saadgedraagde patogene op koolsaad te beheer. Alhoewel dit bekend is dat ongunstige opbergingstoestande (relatief hoë opbergings-temperature en saadvogpersentasies tydens opberging) saad-groeikragtigheid benadeel, was die invloed van hierdie faktore in wisselwerking met die warmwaterbehandeling, nie in ag geneem nie. Verder moes die tydperk van opberging asook die tydstip van die warmwaterbehandeling in ag geneem word.

Na afloop van hierdie studie is dit duidelik dat die warmwaterbehandeling as sodanig nie die gemiddelde hipokotiellengtes van koolsaailinge of die kiemingspersentasie van koolsaad betekenisvol beïnvloed nie, mits die saad eerder ná as vóór opberging behandel

word en mits die opbergings temperatuur en die saadvogpersentasie tydens opberging gunstig is.

Die warmwaterbehandeling het egter wel 'n nadelige invloed op saadgroei kragtigheid wanneer die opbergingstoestand ongunstig is, afgesien van die nadelige effek van die ongunstige opbergingstoestand as sodanig. Hierdie nadelige invloed van die warmwaterbehandeling is aansienlik groter wanneer die saad voor opberging behandel word.

Om die groeikragtigheid van die koolsaad te bepaal, is die gemiddelde hipokotiellengtes van 10-dagoue saailinge, die kiemingspersentasie op dag 10 en die kiemingstempo bepaal. Die kiemingstempo het dikwels die eerste aanduiding van 'n afname in saadgroei kragtigheid gegee, voordat die gemiddelde hipokotiellengtes en die kiemingspersentasie noemenswaardig beïnvloed is.

Die afname van die kiemingstempo van die koolsaad is gekorreleer met 'n vertraging in die opeenvolgende subsellulêre verskynsels tydens imbibisie.

Leopold & Vertucci (1986) onderskei in biologiese materiaal 3 fases van waterbinding. 'n Afname in bindingsentalpie by opeenvolgende hoër persentasies voginhoud, word toegeskryf aan die binding van watermolekule met molekulêre posisies met afnemende

hidrofiliteit. Die eerste fase is verteenwoordigend van rustende saad waarin geen of min metaboliese aktiwiteit plaasvind nie. Die tweede fase verteenwoordig die oorgangsfase tussen die droë toestand en die ten volle geïmbibeerde toestand, dit wil sê, die fase van imbibisie. Die derde fase verteenwoordig die ten volle geïmbibeerde toestand.

Tydens die imbibisiefase (fase 2) is die uitloeg van proteïene uit sojaboonsaad deur Vertucci & Leopold (1986) waargeneem. Die outeurs stel voor dat veranderinge in die organisasie en struktuur van selkomponente tydens die imbibisiefase (fase 2) plaasvind, en wel as gevolg van die volgende waarnemings tydens hierdie fase:

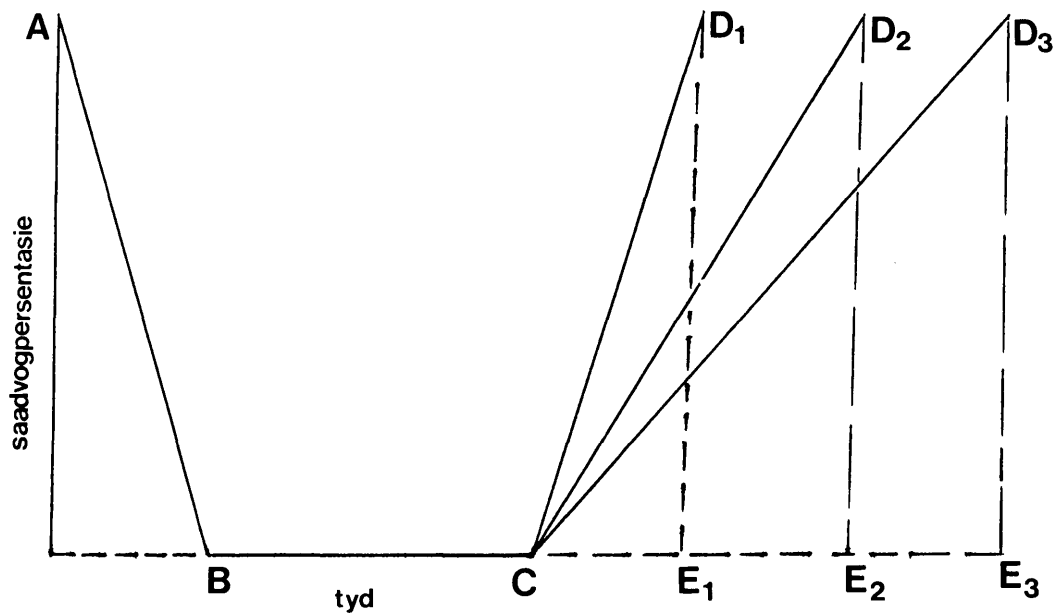
- a). Die toename in die volume van saad (as gevolg van die ontvouing van proteïenmolekule).
- b). Die verskuiwing van die fluoressensie opwekkingspiek van chlorofil a, waarskynlik as gevolg van 'n toenemende polêre omgewing, van 667 nm na 683 nm.
- c). Die verhoging van die smeltpunte van die trigliseriede in die selle soos die voginhoud van die weefsel verhoog.

Die outeurs voer ook verder aan dat die fosfolipiedlaag van selmembrane eers aan die einde van die imbibisiefase, dit wil sê by die aanvang van fase 3 (die ten volle geïmbibeerde toestand), ten volle herstel het.

Indien daar aanvaar word dat die afname in die kiemingstempo van koolsaad en die vertraging van die opeenvolgende subsellulêre verskynsels tydens imbibisie die gevolg is van 'n langer tydperk van membraanherstrukturering tydens imbibisie, sou die kiemingstempo ook as 'n aanduiding kon dien van die mate waarin die membrane beskadig is.

Ongunstige opbergingstoestande as sodanig, asook die warmwaterbehandeling (veral voor opberging) in kombinasie met ongunstige opbergingstoestande, veroorsaak 'n afname in die kiemingstempo, asook opeenvolgende subsellulêre veranderinge tydens imbibisie (Figuur 54). Die afleiding kan dus gemaak word dat ongunstige opbergingstoestande, sowel as die warmwaterbehandeling in kombinasie met ongunstige opbergingstoestande, die membraanbeskadigingsproses versnel en dus verder laat verloop, wat 'n langer tydperk van herstrukturering noodsaak. Die tweede fase van waterbinding (die imbibisiefase) wat deur Leopold & Vertucci (1986) onderskei is, word dus verleng.

Bogenoemde geld tot die punt bereik word waar die mate van beskadiging van die membraankomponente membraanherstrukturering verhoed - Villiers (1980) se "point of no return".



Figuur 54. Skematiese voorstelling van die afname in tempo van membraanherstrukturering (kiemingstempo) as gevolg van die warmwaterbehandeling en / of ongunstige opberging.

- A: Vogpersentasie van metabolies aktiewe, morfologies volwasse saad.
- A-B: Dehidrasie (herorganisasie van membraankomponente).
- B: Gedehidreerde, onopgebergde saad met 'n bepaalde saadvogpersentasie.
- B-C: Opbergingstydperk (by bepaalde toestande).
- C: Ongeïmbibeerde, opgebergde saad.
- C-D: Imbibisie, waartydens herstrukturering van membrane plaasvind.
- D: Ten volle geïmbibeerde saad, metabolies aktief, met funksionerende membrane.
- C-E: Die tydperk van membraanherstrukturering, dit wil sê, die tempo van membraanherstrukturering, of die kiemingstempo.

Terwyl die kiemingspersentasie van 'n monster van 'n bepaalde saadlot wel 'n aanduiding sou kon gee van die persentasie groeikragtige saad in die saadlot, sou die tempo van membraanherstrukturering (kiemingstempo) die algemene toestand van die saad, of te wel die toestand van die membrane in die saad, kon aandui.

Met behulp van die Buro vir Rekenaardienste, Universiteit van Pretoria, asook Prof. J.A. Snyman, Departement Wiskunde, Universiteit van Pretoria, is 'n rekenkundige model ontwerp ten einde in staat te wees om die kiemingstempo (wat dan ook 'n aanduiding sou wees van die subcellulêre toestand van die saad) by verskillende toestande van opberging, te voorspel (met ander woorde, die tydperk C-E in Figuur 54).

Die variante wat in ag geneem is vir die ontwerp van die model, sluit die volgende in:

a). Die absolute waarde (V) van die verskil tussen die saadvogpersentasie by 45% relatiewe humiditeit ($V_1=7,0$) en die saadvogpersentasie tydens opberging (V_2), met ander woorde, $V = |V_1 - V_2|$. (Die saadvogpersentasie van 7,0 was die mees ideale saadvogpersentasie in die geval van hierdie studie. Aangesien beide die hoër (10,0) en die laer (4,5) saadvogpersentasies in die geval van sekere

wisselwerkings met die opbergings tydperk, die opbergings temperatuur en die tyd stip van die warmwaterbehandeling, die kiemingstempo benadeel het, is daar besluit om met absolute waardes te werk. Dit sou die ontwerp van die model vergemaklik).

b). Die opbergings tydperk (T).

c). Die opbergings temperatuur (t).

d). Die tyd stip van warmwaterbehandeling moes ook in gedagte gehou word, maar dit is nie moontlik om 'n numeriese waarde hieraan toe te ken nie, sodoende is drie verskillende modelle ontwerp.

Die model is gebaseer op die liniêre regressie van die kiemingstempo wanneer alle variante behalwe een konstant gehou word en het soos volg daaruit gesien:

$$K = V + T + t + .$$

Die waardes van die konstantes , , en is met behulp van die rekenaar bereken:

a). In die geval van koolsaad wat nie met warm water behandel is nie:

$$K = - 9715V - 0,2742T - 0,1366t + 15,5894$$

b). In die geval van koolsaad wat na opberging met warm water behandel is:

$$K = - 0,9729V + 0,0217T - 0,1090t + 9,8849$$

c). In die geval van koolsaad wat voor opberging met warm water behandel is:

$$K = - 1,113V - 0,2440T - 0,0758t + 8,6113$$

Die kiemingstempowaardes wat eksperimenteel verkry is, is vergelyk met die berekende kiemingstempowaardes wanneer V, T en t vervang word met die werklike waardes wat tydens hierdie studie ondersoek is. Die wortel van die gemiddelde kwadraatafwykings (WGKA) tussen die eksperimentele waardes en die berekende waardes gee 'n aanduiding van die betroubaarheid van hierdie modelle:

a). In die geval van koolsaad wat nie met warm water behandel is nie: WGKA = 2,5.

b). In die geval van koolsaad wat na opberging met warm water behandel is: WGKA = 3,2.

c). In die geval van koolsaad wat voor opberging met warm water behandel is: WGKA = 2,3.

Die grootste kritiek wat teen hierdie model geopper kan word, is die afwyking van die liniêre regressiepatroon van

die eksperimentele kiemingstempowaardes in die geval van saad wat by uiters ongunstige toestande (relatief hoë opbergings temperatuur en saadvogpersentasie) opgeberg is. Dit is dan ook in hierdie gevalle waar die eksperimentele kiemingstempowaardes en die berekende kiemingstempowaardes groot afwykings toon. Hoofsaaklik as gevolg van hierdie afwykings word die betroubaarheid van die voorgestelde modelle verlaag. Die afwykende lae eksperimentele kiemingstempowaardes kan waarskynlik gekorreleer word met die "point of no return" van Villiers (1980).

'n Verdere afwyking van die liniêre regressiepatroon van die eksperimenteel verkreë kiemingstempowaardes kom voor in die gevalle waar $T = 0$, met ander woorde, in die gevalle waar geen opbergings plaasgevind het nie. Hierdie tekortkoming van die model sou egter prakties aanvaarbaar kon wees. Die berekening van die kiemingstempo van saad (of dan die subsellulêre toestand van die saad) wat nie opgeberg sou word nie, met ander woorde in die geval van vars saad, sou tog nie werklik van toepassing wees nie.

Afgesien van bogenoemde tekortkominge, is die model redelik betroubaar, aangesien die afwykings tussen die eksperimenteel verkreë kiemingstempowaardes en die berekende kiemingstempowaardes in al die ander gevalle nie noemenswaardig is nie.

'n Eksperiment wat ontwerp is om die patroon van die

afname van die kiemingstempo, veral dan in die geval van ongunstige opberging, te bepaal, met meer waarnemingspunte, sou 'n verfyning van die model kon moontlik maak.

In die geval van die laer kiemingstempo as gevolg van bykomende verlaging van die saadvogpersentasie voor opberging, sou die kiemingstempo nie noodwendig 'n aanduiding gee van die mate waarin die membrane beskadig is nie. Daar kan van die standpunt uitgegaan word dat meer watermolekule eers opgeneem moet word voordat die saadtoestand herstel, aangesien meer watermolekule aanvanklik onttrek is. Dit wil egter nie sê dat die saad wat tot sulke lae vogpersentasies geëkwilibreer is, nie ook meer kwesbaar is vir membraanbeskadiging nie.

Volgens Leopold & Vertucci (1986) is membrane sensitief vir uitdrogingskade en word toleransie bewerkstellig deur 'n bepaalde beskermingsmeganisme. In die geval van spore en grondnematode, blyk dit dat trehalose, wat weerstand verleen teen kristallisasie, waarskynlik tydens uitdroging die watermolekule op die hidrofiliese posisies verplaas. In die geval van angiospermmateriaal (saad, stuifmeel, opstandingsplante) is daar nie genoeg trehalose teenwoordig om 'n dergelyke funksie te verrig nie. Die outeurs stel egter voor dat 'n mengsel van sukrose en raffinose of stachiose, hierdie funksie wel sou kon

vervul, aangesien hierdie mengsel ook in staat sou wees om kristallisasie te verhoed. Sodoende sou sukrosemolekule wel die watermolekule op die hidrofiliese posisies van die gedehidreerde membrane kon verplaas, om 'n mate van membraanbeskerming te verseker.

Indien bogenoemde aanvaar word, is die "natuurlike" uitdroging van saad 'n delikate proses waartydens bepaalde meganismes om die membrane teen beskadiging te beskerm, in werking tree. Bykomende dehidrasie van reeds droë saad wat metabolies onaktief is, sou waarskynlik die membrane kon blootstel aan bykomende beskadiging.

Hoofstuk 7. Literatuurverwysings.

ABU-SHAKRA S.S. 1967. Mitochondrial activity in germinating new and old soybean seeds. Crop Sci. 7: 115-118.

ADAMS C.A., NORBY S.W. & RINNE R.W. 1985. Production of multiple vacuoles as an early event in the ontogeny of protein bodies in developing soybean seeds. Crop Sci. 25: 255-266.

ALLEN J.D. & SMITH H.C. 1961. Dry-rot (Leptosphaeria maculans) of Brassicas: seed transmission and treatment. N. Z. J. Agric. Res. 4: 676-685.

ALTSCHUL A.M., YATSU L.Y., ORY R.L. & ENGLEMAN E.M. 1966. Seed proteins. Ann. Rev. Plant Physiol. 17:113-136.

ANDERSON J.D. & BAKER J.E. 1983. Deterioration of seeds during ageing. Phytopathology 73(2): 321-325.

ANDERSON J.D., BAKER J.E. & WORTHINGTON E.K. 1970. Ultrastructural changes of embryos in wheat infected with storage fungi. Plant Physiol. 46: 857-859.

BERGFELD R., KUHN T. & SCHOPFER P. 1980. Formation of protein storage bodies during embryogenesis in cotyledons of Sinapis alba L. Planta 148: 146-156.

BERJAK P. & VILLIERS T.A. 1970. I. The establishment of the sequence of development and senescence in the root cap during germination. New Phytol. 69: 929-938.

BERJAK P. & VILLIERS T.A. 1972a. Ageing in plant embryos. II. Age - induced damage and its repair during early germination. New Phytol. 71: 135-144.

BERJAK P. & VILLIERS T.A. 1972b. Ageing in plant embryos. III. Acceleration of senescence following artificial ageing treatment. New Phytol. 71: 513-518.

BERJAK P. & VILLIERS T.A. 1972c. Ageing in plant embryos. IV. Loss of regulatory control in aged embryos. New Phytol. 71: 1069-1074.

BERJAK P. & VILLIERS T.A. 1972d. Ageing in plant embryos. V. Lysis in the cytoplasm in non-viable embryos. New Phytol. 71: 1075-1079.

BHANDARI N.N. & CHITRALEKHA P. 1984. Degradation of protein bodies in germinating seeds of Brassica campestris L. var. sarson Prain. Ann. Bot. 53: 793-801.

BRIARTY L.G., COULT D.A. & BOULTER D. 1968. Protein bodies of developing seeds of Vicia faba. J. Exp. Bot. 20 (63): 358-372.

BUTTROSE M.S., 1973. Rapid water uptake and structural changes in imbibing seed tissue. Protoplasma 77; 111-122.

BUVAT R. & ROBERT G. 1982. Cytological studies about maturation dehydration of barley embryo roots (Hordeum vulgare L.). I. Behaviour of the endoplasmic reticulum and the vacuolar apparatus. Annales des Sciences Naturelles 13(4): 1-14.

COETZEE J. & VAN DER MERWE C.F. 1984. Extraction of substances during glutaraldehyde fixation of plant cells. J. Microsc. 135(2): 147-158.

COETZEE J. & VAN DER MERWE C.F., 1985. Penetration rate of glutaraldehyde in various buffers into plant tissue and gelatin gels. J. Microsc. 137(2): 129-136.

COETZEE J. & VAN DER MERWE C.F., 1986. The influence of processing protocol on the ultrastructure of bean leaf cells. S. Afr. J. Bot. 52: 95-99.

CHERRY J.P. 1983. Protein degradation during seed deterioration. Phytopathology 73(2): 317-321.

CHRISPEELS M.J., HIGGINS T.J.V., CRAIG S. & SPENCER D. 1982. Role of the endoplasmic reticulum in the synthesis of reserve

proteins and the kinetics of their transport to protein bodies in developing pea cotyledons. J. Cell Biol. 93: 5-14.

CHRISPEELS M.J. 1984. Biosynthesis, processing and transport of storage proteins and lectins in cotyledons of developing legume seeds. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B304: 309-322.

CROWE J. H. & CROWE L.M. 1986. Stabilization of membranes in anhydrobiotic organisms. In: Membranes, metabolism and dry organisms, ed. Leopold A.C. Cornell University Press, New York. Pp. 188-209.

CUTTER E.G. 1975. Plant anatomy. Experiment and interpretation. Part 2. Organs. Pp. 5-44. William Clowes & Sons, Ltd., London.

DEACON J.W. & MITCHELL R.T. 1984. Comparison of rates of natural senescence of the root cortex of wheat (with and without mildew infection), barley, oats and rye. Plant and Soil 84: 129-131.

DINI M., GEVERS H.O. & BERJAK P. 1984. Deterioration in long-stored, fungal-infected, maize seeds. Proc. Electron Microsc. Soc. South Afr. 14: 39.

ESAU K. 1977. Anatomy of seed plants. John Wiley & Sons, New York.

ESSER K. & TUDZYNSKI P. 1980. Senescence in fungi. In: Senescence in plants, ed. Thimann K.V. CRC Press Inc., Florida. Pp. 67-83.

GABRIELSON R.L., MULANAX M.W., MATSUIKA K., WILLIAMS P.H., WHITEAKER G.P. & MAGUIRE J.D. 1977. Fungicidal eradication of seedborne Phoma lingam of crucifers. Plant Dis. Rep. 61(2): 118-121.

GLAUERT A.M. 1981. Fixation, dehydration and embedding of biological specimens. North-Holland Publishing Company, Amsterdam.

HALLAM N.D., ROBERTS B.E. & OSBORNE D.J. 1973. Embryogenesis and germination in rye (Secale cereale L.). III. Fine structure and biochemistry of the non-viable embryo. Planta 110: 279-290.

HARMAN G.E. & NASH G. 1978. Soaking Brassica seeds in fungicide solutions to eradicate seedborne fungi: a comparison of aqueous and organic solvent infusion techniques. Plant Dis. Rep. 62: 408-412.

HARMAN G.E. & GRANETT A.L. 1972. Deterioration of stored pea seed: changes in germination, membrane permeability and ultrastructure resulting from infection by Aspergillus ruber and from ageing. Physiol. Plant Pathol. 2: 271-278.

HARRINGTON J.F. 1973a. Biochemical basis of seed longevity. Seed Sci. & Technol. 1: 453-461.

HARRINGTON J.F. 1973b. Problems of seed storage. In: Seed ecology, ed. Heydecker W. Pa. State University Press, London. Pp. 251-263.

HOLTZHAUSEN M.A. 1978. Seed-borne fungal pathogens and diseases of japanese radish and their control in South-Africa. Phytophylactica 10: 107-114.

HOLTZHAUSEN M.A. & KNOX-DAVIES P.S. 1974. Pathogens of cruciferous vegetable crops in commercial seed samples in South-Africa. Phytophylactica 6: 289-294.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 1985. International rules for seed testing. Rules 1985. Seed Sci. & Technol. 13(2): 299-355.

ISRAEL, H.W. & STEWARD, F.C. 1967. The fine structure and development of plastids in cultured cells of Daucus carota. Ann. Bot. (N.S.) 31: 1-18.

JACOBSEN B.J. & WILLIAMS P.H. 1971. Histology and control of Brassica oleracea seed infection by Phoma lingam. Plant Dis. Rep. 55 (10): 934-938.

JUSTICE O.L. & BASS L.N. 1979. Principles and practices of seed storage. Williams Clowes & Sons Ltd., London.

KLISIEWICZ J.M. & POUND G.S. 1961. Studies on control of black rot of crucifers by treating seeds with antibiotics. Phytopathology 51: 419-494.

LEOPOLD A.C. & VERTUCCI C.W. 1986. Physical attributes of desiccated seeds. In: Membranes, metabolism, and dry organisms, ed. Leopold A.C. Pp. 22-34.

MAGUIRE J.D. 1962. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Sci.2: 176-177.

MLODZIANOWSKI F. 1978. The fine structure of protein bodies in lupine cotyledons during the course of seed germination. Z. Pflanzenphysiol.86: 1-13.

MOLLENHAUER H.H. & KOGUT C. 1968. Ultrastructure of germinating seeds. J. Cell Biol. 39: 156a.

MOLLENHAUER H.H. & TOTTEN C. 1971a. Studies on seeds. II. Origin and degradation of lipid vesicles in pea and bean cotyledons. J. Cell Biol. 48: 395-405.

MOLLENHAUER H.H. & TOTTEN C. 1971b. Studies on seeds. III. Isolation and structure of lipid-containing vesicles. J. Cell

Biol. 48: 533-541.

NAUTIYAL A.R. & PUROHIT A.N. 1985. Seed viability in sal. III. Membrane disruption in ageing seeds of Shorea robusta. Seed Sci. & Technol. 13: 77-82.

OPARKA K.J. & HARRIS N. 1982. Rice protein-body formation: all types are initiated by dilation of the endoplasmic reticulum. Planta 154: 184-188.

OPIK H., 1985. The fine structure of some dry seed tissues observed after completely anhydrous chemical fixation. Ann. Bot. 56: 453-466.

OSBORNE D.J. 1980. Senescence in seeds. In: Senescence in plants, ed. Thimann K.V. CRC Press, Inc. Florida. Pp. 13-37.

PARAMONOVA N.V. 1984. Histochemical investigation of inclusions forming in chloroplasts during photosynthesis in an atmosphere containing 0,08% CO₂ and 3% O₂. Sov. Plant Physiol. (Eng. Transl.) 31(2): 174-179.

PAULSON R.E. & SRIVASTAVA L.M. 1968a. The fine structure of the embryo of Lactuca sativa. I. Dry embryo. Can. J. Bot. 46: 1437-1445.

PAULSON R.E. & SRIVASTAVA L.M. 1968b. The fine structure of

the embryo of Lactuca sativa. II. Changes during germination. Can. J. Bot. 46: 1447-1460.

PELISSIER B., THIBAUD J.B., GRIGNON C. & ESQUERRE-TUGAYE M.T. 1986. Cell surfaces in plant-microorganism interactions. VII. Elicitor preparations from two fungal pathogens depolarize plant membranes. Plant Sci. 46(2): 103-109.

PERNER E. 1965. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Zellen von Embryonen im Zustand Voliger Samenruhe. I. Mitteilung. Die Zellulare Strukturordnung in der Radicula lufttrockner Samen von Pisum sativum. Planta (Berl.) 65: 334-357.

PERNOLETT J.C. 1978. Protein bodies of seeds: ultrastructure, biochemistry, biosynthesis and degradation. Phytochemistry 17: 1473-1480.

REYNOLDS E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17: 208-212.

ROBERTS E.H. 1973. Loss of viability: ultrastructural and physiological aspects. Seed Sci. & Technol. 1: 529-545.

ROST T.L. 1972. The ultrastructure and physiology of protein bodies and lipids from hydrated dormant and nondormant embryos of Setaria lutescens (Graminae). Amer. J. Bot. 59(6):

607-616.

RUSSELL G.H., MURRAY M.E. & BERJAK P. 1982. Storage microflora on the nature of the host / pathogen relationship in fungal-infected maize seeds. Seed Sci. & Technol. 10: 605-618.

SAMUEL B., BERJAK P. & LAMB J. 1986a. Deterioration of age-accelerated, infected, inbred, maize seeds. Proc. Electron Microsc. Soc. South Afr. 16: 129-130.

SAMUEL B., BERJAK P. & LAMB J. 1986b. Deterioration of age-accelerated, uninfected, inbred maize seeds. Proc. Electron Microsc. Soc. South Afr. 16: 131-132.

SAMUEL B., BERJAK P. & LAMB J. 1986c. Cytochrome oxidase activity in mitochondria: a cytochemical study. Proc. Electron Microsc. Soc. South Afr. 16: 133-134.

SENARATNA T. & MCKERSIE B.D. 1986. Loss of desiccation tolerance during seed germination: a free radical mechanism of injury. In: Membranes, metabolism and dry organisms, ed. Leopold A.C. Cornell University Press, New York. Pp. 85-101.

SIMOLA L.K. 1974. The ultrastructure of dry and germinating seeds of Pinus sylvestris L. Acta Bot. Fenn. 103: 1-31.

SIVARAM D. 1982. Hot water treatment of crucifer seed. Malays Agric. J. 52(3):228-239.

SOLOMON M.E. 1951. Control of humidity with potassium hydroxide, sulphuric acid, or other solutions. Bull. ent. Res. 42: 543-554.

SPITZER E.J. & LOTT N.A. 1980. Thin-section, freeze-fracture and energy dispersive X-ray analysis studies of the protein bodies of tomato seeds. Can. J. Bot. 58: 669-711.

SPURR A.R. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastruct. Res. 26: 31-43.

THIMANN K.V. 1980. The senescence of leaves. In: Senescence in plants, ed. Thimann K.V. CRC Press Inc., Florida. Pp. 85-115.

THRONEBERRY G.O. & SMITH F.G. 1955. Relation of respiratory and enzymatic activity to corn seed viability. Plant Physiol. 30: 337-343.

TILDEN R.L. & WEST S.H. 1985. Reversal of the effects of aging in soybean seeds. Plant Physiol. 77: 584-586.

VAN DER MERWE C.F. & COETZEE J., 1984. Infiltrating oily seeds with epoxy resin. Proc. Electron Microsc. Soc. South Afr. 14: 77-78.

VERTUCCI C.W. & LEOPOLD A.C. 1986. Physiological activities associated with hydration level in seeds. In: Membranes, metabolism, and dry organisms, ed. Leopold A.C. Cornell University Press, New York. Pp. 35-49.

VIGIL E.L., STEERE M.N.C. & ERBE E.F. 1985. Structural changes in protein bodies of cotton seed radicles during seed maturation and germination. In: Botanical Microscopy, ed. Robards A.W. Oxford University Press, Oxford; New York. Pp. 311-334.

VILLIERS T.A. 1980. Ultrastructural changes in seed dormancy and senescence. In: Senescence in plants, ed. Thimann K.V. CRC Press, Florida. Pp. 39-66.

WALKER J.C. 1923. The hot water treatment of cabbage seed. Phytopathology 13: 251-253.

WALKER J.C., LARSON R.H. & TAYLOR A.L. 1958. Diseases of cabbage and related plants. Agricultural Handbook No. 144. U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C.

WILLIAMS P.H. 1980. Black rot: a continuing threat to world crucifers. Plant Dis. Rep. 64(8): 736-742.

WOLFE J., DOWGERT M.F., MAIER B., STEPONKUS P.L. 1986.

Hydration, dehydration, and the stresses and strains in membranes. In: Membranes, metabolism, and dry organisms, ed. Leopold A.C. Cornell University Press, New York. Pp. 286-305.

YOO B.Y. & CHRISPPEELS M.J. 1980. The origin of protein bodies in developing soybean cotyledons; a proposal. Protoplasma 103: 201-204.

ZAMSKI E. & UMIEL N. 1982. Streptomycin resistance in tobacco: IV. Effects of the drug on the ultrastructure of plastids and mitochondria in cotyledons of germinating seeds. Z.Pflanzenphysiol. 105: 143-148.

Samevatting.

Die invloed van opberging en saadbehandelingsmiddels op die kiemingsfisiologie en fynstruktuur van Brassica oleracea var. capitata.

deur

Suzanne E. Meyburgh

Leier: Prof. dr. H. A. Van de Venter

Medeleier: Prof. dr. P. J. Robbertse

Departement Plantkunde

Magister Scientae

Die invloed van die warmwaterbehandeling, in wisselwerking met verskeie opbergingsfaktore, op die groeikragtigheid en fynstruktuur van koolsaad, is ondersoek. Die invloed van benomyl- en tiramflodderbehandelings is ook nagegaan. Laastens is die fynstruktuur van die saadlobbe van chlorotiese saailinge, 'n direkte gevolg van streptomisiensaadbehandeling, bestudeer.

Die warmwaterbehandeling het 'n nadelige invloed op saadgroeikragtigheid gehad, veral op die kiemingstempo, wanneer die saad voor opberging behandel is en by ongunstige toestande opgeberg is. Die warmwaterbehandeling na opberging en opberging by gunstige toestande, het hierdie nadelige invloed tot 'n minimum beperk. Die fynstruktuurondersoek het aan die lig gebring dat die skade soortgelyk, alhoewel versnel, is aan die skade wat gewoonlik aangetref word by

saadveroudering, naamlik hoofsaaklik beskadiging van die fynstruktuur van die membrane.

'n Tentatiewe korrelasie is getref tussen die afname van die kiemingstempo en die toename in tyd nodig vir fynstruktuurherorganisasie van die membrane, tydens vroeë imbibisie.

Ekwilibrasie van die koolsaad tot 'n relatief lae vogpersentasie (4,5) het ook 'n afname in die kiemingstempo veroorsaak. Dit kan waarskynlik toegeskryf word aan die groter hoeveelheid watermolekules wat aanvanklik opgeneem moet word.

Daar is nie 'n direkte negatiewe invloed van die benomyl- en tiramflodderbehandelings aangetoon nie.

Koolsaad wat met streptomisien behandel is, het saailinge met afwykende chloroplaste tot gevolg gehad. Hierdie effek kon verhoed word deur die saad na die antibiotikumbehandeling in NaOCl te spoel, maar dit is nie duidelik of die NaOCl die nadelige effek van die streptomisien omgekeer het, of slegs die uitwerking van die streptomisien verhinder het nie.

Summary.

The influence of storage conditions and seed treatments on the germination physiology and ultrastructure of seed of Brassica oleracea var. capitata.

by

Suzanne E. Meyburgh

Leader: Prof. dr. H. A. Van de Venter

Co-leader: Prof. dr. P. J. Robbertse

Department of Botany

Master of Science

The influence of the hot water treatment in conjunction with various storage conditions, on the vigour and ultrastructure of cabbage seed, was studied. The influence of benomyl and thiram as slurry treatments was also investigated. Lastly, the ultrastructure of the cotyledons of chlorotic cabbage seedlings, as a direct result of seed treated with streptomycin, was studied.

The hot water treatment was shown to be detrimental to cabbage seed vigour, especially germination rate, when seed was treated before storage and then stored at unfavourable storage conditions. The hot water treatment after storage, and storage under favourable conditions, limited this damage to a large extent. An ultrastructural investigation showed

this. damage to be similar, although accelerated, to the damage usually encountered during seed senescence, which is largely ultrastructural reorganization of the membranes during early imbibition.

A tentative correlation was made between the decline in germination rate and increase in time necessary for ultrastructural reorganization of the membranes during early imbibition.

Equilibrating cabbage seed to a relatively low seed moisture percentage (4,5) also slowed the germination rate, possibly as a result of the increased amount of water to be initially imbibed.

No direct negative influence of benomyl and thiram seed treatments could be deduced from this investigation.

Treating cabbage seed with streptomycin resulted in seedlings with ultrastructurally abnormal chloroplasts. Although this was prevented by rinsing the seed in NaOCl after the antibiotic treatment, it is not clear whether the NaOCl "repaired" the damage caused by the streptomycin, or prevented the streptomycin action.

My opregte dank aan prof. dr. H. A. Van de Venter, prof. dr. P. J. Robbertse, prof. dr. J. Coetzee, Chris Van der Merwe en Inge Von Teichman, vir daadwerklike hulp, raad en ondersteuning.

Die Departement Landbou en Watervoorsiening en die Universiteit van Pretoria word bedank vir die finansiële ondersteuning waarsonder hierdie studie nie moontlik sou gewees het nie.