



UNIVERSITY  
OF  
JOHANNESBURG

## COPYRIGHT AND CITATION CONSIDERATIONS FOR THIS THESIS/ DISSERTATION



- Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use.
- NonCommercial — You may not use the material for commercial purposes.
- ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original.

### How to cite this thesis

Surname, Initial(s). (2012) Title of the thesis or dissertation. PhD. (Chemistry)/ M.Sc. (Physics)/ M.A. (Philosophy)/M.Com. (Finance) etc. [Unpublished]: [University of Johannesburg](https://ujdigispace.uj.ac.za). Retrieved from: <https://ujdigispace.uj.ac.za> (Accessed: Date).

BP<sub>10</sub>  
MASI

30

( FENIELMERKURI-ASETAAT AS VOORKOMINGSMIDDEL  
VIR LOOFBLAARVERBRUINING BY  
PROTEA NERIIFOLIA ) R.Br.

deur

20

WILLIAM E MASIE

Verhandeling

voorgelê ter vervulling van die vereistes

vir die graad

MAGISTER IN DIE NATUURWETENSAPPE



UNIVERSITY  
OF  
JOHANNESBURG

in

PLANTKUNDE

in die

FAKULTEIT NATUURWETENSAPPE

aan die

RANDSE AFRIKAANSE UNIVERSITEIT

STUDIELEIER: PROF GH DE SWARDT

NOVEMBER 1979



## DANKBETUIGINGS

Graag bedank ek die volgende persone en instansie by name:

- \* Prof GH de Swardt vir sy deurgaans waardevolle hulp, leiding, belangstelling, geduld en aanmoediging
  
- \* Prof AHP Engelbrecht en dr J Pretorius vir hulp met die anatomiese ondersoeke
  
- \* Mnr S Lourens vir die gebruik van sy fasiliteite en vir sy hulp met die foto's
  
- \* My vrou, Bramble, vir haar opoffering, liefdevolle bystand, begrip en aanmoediging
  
- \* Die Randse Afrikaanse Universiteit vir die beskikbaarstelling van geriewe vir voltooiing van hierdie ondersoek

# I N H O U D S O P G A W E

Bladsy

Opsomming	(i)
Summary	(iv)
1. INLEIDING EN LITARATUUROORSIG	1
1.1 Inleiding	1
1.2 Literatuuoroorsig	3
1.2.1 Verbruiningsverskynsels in plantweefsels	3
1.2.2 Moontlike verbindings betrokke by loofblaar= verbruining van <u>Protea neriifolia</u>	9
1.2.3 Moontlike ooreenkomte tussen aspekte van normale verouderingsverskynsels van plantweefsels en loofblaarverbruining van <u>Protea neriifolia</u>	12
1.2.4 Tanniene en ander flavonofede in plantweefsels: polimerisasie en reaksies met protefene (ensieme)	15
1.2.5 Kompartementasie van tanniene in <u>Protea neriifolia</u>	20
1.2.6 Die moontlike invloed van plantwatertekorte op fisiologiese prosesse van <u>Protea neriifolia</u>	22
1.2.7 Transpirasie en faktore wat transpirasietempo kan beheer	27
1.2.8 Plant-antitranspirante met spesiale verwysing na fenielmerkuri-asetaat	31
1.2.9 Endogene fisiologiese meganismes van plante om oormatige waterverlies te verhoed	37
1.2.10 Hipotese	40
2. MATERIAAL EN METODEDES	42
2.1 Bron, keuse en voorbereiding van plantmateriaal	42
2.2 Anatomiese ondersoeke	43
2.3 Invloed van fenielmerkuri-asetaat op die massa van individuele loofblare	44
2.3.1 Behandelings en keuse van blaarmonsters	44
2.3.2 Eksperimentele ondersoeke	45
2.4 Invloed van verskillende behandelings op die respirasietempo's van individuele blare	45
2.4.1 Keuse en voorbereiding van blaarmonsters	45

## I N H O U D S O P G A W E (vervolg)

	<u>Bladsy</u>	
2.4.2	Bepaling van die respirasietempo	46
2.5	Die invloed van PMA en 8-HQS op proteablomme (bloeiwyse aan bloeistele)	46
2.5.1	Keuse en voorbereiding van eksperimentele materiaal	46
2.5.2	Invloed van PMA en 8-HQS op die massaveranderinge van blomme	47
2.5.3	Oopheid van blomknoppe	48
2.5.4	Bepaling van die mate van loofblaarverbruining	48
2.5.5	Persentasie transmittansie van vaasmedia	48
2.5.6	Totale vogopname van proteablomme	49
2.6	Die invloed van verskillende PMA-konsentrasies op protealoofblare en -blomme	49
2.6.1	Keuse en voorbereiding van materiaal	49
2.6.2	Eksperimentele ondersoeke	50
2.7	Invloed van PMA-doping en -bespuiting op die massa= veranderinge van individuele loofblare	50
2.7.1	Behandelings, keuse en voorbereiding van materiaal	50
2.7.2	Doping en bespuiting van loofblare en bepaling van massaverandering	51
2.8	Invloed van PMA-bespuitings van verskillende kon= sentrasies op individuele loofblare	51
2.8.1	Invloed van PMA-bespuitings op die massaverande= ringe op individuele loofblare	52
2.9	Invloed van PMA-bespuitings van verskillende kon= sentrasies op proteablomme (bloeiwyse & bloeistele)	52
2.9.1	Invloed van PMA-bespuitings op die massaveranderinge van proteablomme	53
2.10	Invloed van PMA-bespuitings op proteablomme (nie in vaasmedium na bespuiting gelaat nie)	53
2.10.1	Invloed van PMA-bespuitings op die massaverande= ringe van proteablomme	53
2.11	Infiltrering van loofblare met PMA teen 'n druk= gradient	54
2.11.1	Materiaal en eksperimentele prosedure	54

## I N H O U D S O P G A W E (vervolg)

Bladsy

2.12	Bepaling van die bindingskapasiteit van feniel=merkuri-asetaat met geëkstraheerde flavonofede en bepaling van leuko-antosianiene in presi=pitate	55
2.12.1	Materiaal en eksperimentele prosedure	55
2.13	Bepaling van die bindingskapasiteit van feniel=merkuri-asetaat met verskillende protefene	56
2.13.1	Materiaal	56
2.13.2	Eksperimentele metode	57
3.	RESULTATE	58
3.1	Anatomiese ondersoek	58
3.2	Invloed van PMA en 8-HQS op die massaveranderinge van individuele blare	58
3.3	Die invloed van verskillende behandelings op die respirasietempo's van protealoofblare	59
3.4	Invloed van verskillende behandelings op protea=blomme	60
3.4.1	Invloed van verskillende behandelings op die massaverandering van proteablomme	60
3.4.2	Die invloed van verskillende behandelings op die oopgaan van bloeiwyses	61
3.4.3	Die invloed van verskillende behandelings op loof=blaarverbruining	62
3.4.4	Invloed van verskillende behandelings op vaasme=diumopname deur proteablomme	62
3.4.5	Invloed van verskillende behandelings op die per=sentasie transmittansie van vaasmedia	64
3.5	Invloed van verskillende PMA-konsentrasies op proteablomme	65
3.5.1	Invloed van verskillende PMA-konsentrasies op die massaveranderinge van proteablomme	65
3.5.2	Die invloed van verskillende PMA-konsentrasies op die oopgaan van bloeiwyses	66
3.5.3	Invloed van verskillende PMA-konsentrasies op loofblaarverbruining	66
3.5.4	Invloed van verskillende PMA-konsentrasies op die vogopname van proteablomme	67

## I N H O U D S O P G A W E (vervolg)

	<u>Bladsy</u>	
3.5.5	Invloed van verskillende PMA-konsentrasies op die persentasie transmittansie van vaasmedia	68
3.6	Invloed van PMA-doping en -bespuiting op die massaveranderinge van individuele blare	68
3.7	Invloed van PMA-bespuitings op die massaveranderinge van individuele blare	69
3.8	Invloed van PMA-bespuitings van verskillende konsentrasies op protealoofblare en -blomme	70
3.8.1	Invloed van PMA-bespuitings op die massaveranderinge van proteablomme	70
3.8.2	Invloed van PMA-bespuitings op loofblaarverbruining	71
3.9	Invloed van PMA-bespuitings van verskillende konsentrasies op protealoofblare en -blomme (blomme nie in vaasmedium gelaat na bespuiting)	71
3.9.1	Invloed van PMA-bespuitings op die massaveranderinge van proteablomme	71
3.9.2	Invloed van PMA-bespuitings op loofblaarverbruining	72
3.10	Invloed van PMA-infiltrering op die massa van individuele loofblare	72
3.11	Bepaling van die bindingskapasiteit van PMA met geëkstraheerde flavonofede en bepaling van leukoantosianiene	74
3.12	Bindingskapasiteit van PMA met verskillende protefene	74
4.	BESPREKING EN GEVOLGTREKKINGS	76
5.	LITERATUURVERWYSINGS	103

OPSOMMING

Hierdie ondersoek is onderneem om vas te stel of die antitranspirantmiddel, fenielmerkuri-asetaat (PMA) doeltreffend as voorkomingsmiddel teen loofblaarverbruining van Protea neriifolia aangewend kan word. 8-Hidroksi-kinoleensulfaat (8-HQS), 'n kommersiële preparaat wat antitranspirant-eienskappe besit, is ook aangewend. Daar is van die standpunt uitgegaan dat indien PMA doeltreffend as antitranspirant aangewend kan word, dit die ongewenste series van verbruiningsreaksies, wat op oormatige vogverlies volg, sal strem. Daar is in 'n mate daarin geslaag om vogverlies deur blare met PMA te verminder. Loofblaarverbruining is egter as gevolg hiervan slegs in 'n geringe mate bekamp. Die invloed van PMA op massaveranderinge, respirasietempo, graad en tempo van loofblaarverbruining, oopheid van bloeiwyses, vogopname en graad van uitloging van verbruiningskomponente in vaasmedia, was bepaal. Verskillende metodes van PMA-toediening is ondersoek deur dit as komponent in vaasmedia, doopmiddels, bespuitings en infiltrering aan te wend. Dit is gevind dat PMA die beste deur 'n bespuitingsmetode toegedien word. Blomme het PMA tydsaam uit vaasmedia opgeneem en het na opname toksiese effekte gelewer. Dopingstegnieke was daarenteen slegs teen hoë PMA-konsentrasies redelik suksesvol. Daar is gevind dat verskillende toedieningsmetodes almal teen verskillende optimum konsentrasies van PMA bevredigend funksioneer. Die dik kutikula van die blaar en die klein stomatale openinge het deurgaans die aanwending van PMA op proteablare bemoeilik. Infiltrering van PMA teen drukgradiënte was ook nie suksesvol nie, aangesien dit toksiese effekte in die blaar tot gevolg gehad het.



(ii)

PMA is suksesvol as tannienbinder in vaasmedia aangewend. Die presipitasie van uitgeloogde tanniene deur PMA in vaasmedia verhoed opname daarvan deur stingelhoutvate en gevolglike translokasies na gebiede waar kruisbindingsreaksies van die tanniene met funksionele ensieme tot loofblaarverbruining kan bydra. Die moontlikheid of PMA met verskillende proteïene (ensieme ingesluit) bind, is ook ondersoek. Daar is gevind dat PMA proteïenbindingseienskappe besit. As gevolg hiervan sal PMA in staat wees om teen geskikte konsentrasies gedeeltelike onderdrukking van metaboliese prosesse (veral kataboliese prosesse) te bewerkstellig om sodoende reserwe voedingstowwe langer in snyblomweefsels te behou.

Die anatomiese eienskappe van die blaar asook die ligging en verspreiding van tanniene in die blaar en in stingels van verskillende stadia van ontwikkeling, is mikroskopies ondersoek. In blare is die tanniene (belangrikste verbruiningskomponente) hoofsaaklik in gespesialiseerde selle in die floëem, vaatbondelskedes van die kleiner are en in enkele selle van die sponsparenchiem gelokaliseer. In stingels van verskillende stadia van ontwikkeling is tannienselle hoofsaaklik tot die korteks en murg teenaan die vaatweefsel, die floëem, sowel as vaatstrale beperk. Geen tannienselle is in die xileemelemente van blare of stingels aanwesig nie. Die goed-ontwikkelde kutikula aan beide die boonste en onderste epidermis verklaar waarom chemikalieë moeilik deur doping of bespuiting toegedien word.

(iii)

Alhoewel PMA loofblaarverbruining onder bepaalde omstandighede verminder het, kan dit nie as enkele komponent teen hierdie probleem aanbeveel word nie. PMA kan egter as gevolg van sy tannien- en proteïenbindingseienskappe tannienopname uit vaasmedia en ongewenste inter- en intrasellulêre translokasie van verbruiningskomponente strem, asook onderdrukking van metabolismiese prosesse bewerkstellig.



UNIVERSITY  
OF  
JOHANNESBURG

SUMMARY

The purpose of this investigation was to determine whether the antitranspirant, phenylmercury acetate (PMA), could control the browning of foliage of Protea neriifolia effectively.

8-Hydroxyquinoline sulphate (8-HQS), a compound with antitranspirant properties, was tried as well. The view was taken that if PMA were effective as an antitranspirant, it would reduce the undesirable browning which follows excessive vapour loss by leaves. A degree of success was achieved in reducing vapour loss by application of PMA, but the browning of foliage was only marginally decreased. The influence of PMA on changes in mass, rate of respiration, degree and rate of browning of foliage, opening of inflorescences, water uptake and the degree of leaching of browning components into vase media was determined. Different methods of PMA-application were studied by applying the PMA in vase media, immersion agents and spraying and infiltration solutions. It was found that PMA is best applied by spraying. Immersion techniques, on the other hand, were marginally successful, but only at high PMA concentrations. Surface application of PMA to leaves was generally ineffective due to the thick cuticle and the small stomatal apertures.

(v)

Infiltration of leaves with PMA at certain pressure gradients was also inadvisable, since toxic effects resulted. PMA was successfully used as a binder of tannin in vase media. The precipitation by PMA of leached tannins in vase media prevents the uptake of such compounds by transporting vessels in the stem and the consequent translocation to areas where crossbinding reactions of tannins with functional enzymes could contribute to the browning of the foliage. The possibility that PMA could bind with certain proteins (enzymes included) was also studied. PMA was found to have protein binding properties and would, at appropriate concentrations, be able to cause partial suppression of metabolic processes (especially catabolic processes), thereby maintaining food reserves in cut-flower tissues for longer periods.

The anatomy of the leaves as well as the location and distribution of tannins in the leaf and in stems at different stages of development, were studied microscopically. In leaves the tannins (regarded as the most important browning components) were located mainly in specialized cells of the phloem and vascular bundle sheaths of the smaller veins. In stems tannin cells are limited mainly to the cortex and pith adjacent to the vascular tissue, the phloem and the vascular rays.

The well-developed cuticle limits the uptake of PMA applied to the leaves.

Although PMA decreased the browning of foliage under certain circumstances, it cannot be recommended for use on its own. Because of its tannin and protein binding properties, however, PMA can reduce the uptake of tannins from vase media, curb inter- and intracellular translocation of browning components and cause partial suppression of the metabolic processes.



## 1. INLEIDING EN LITERATUURDOORSIG

### 1.1 INLEIDING

Die kweek en bemarking van inheemse Suid-Afrikaanse snyblomme, veral verskillende spesies van die Proteaceae, het die afgelope dekade aansienlik uitgebrei. Uitvoere van proteas dra tans 'n geringe deel by as verdieners van buitelandse valuta, terwyl die huidige aanvraag die aanbod by verre oorskry. Behalwe die bekende kommersiële spesies wat bemerk word, sal gepoog moet word om variante en spesies te selekteer wat 'n goeie houvermoë sonder fisiologiese afwykings het. Die kweek en bemarking van proteas het ook uitgebrei tot gebiede soos die Transvaal, waar proteaverbouing tot onlangs toe nog beperk was. Die Transvaal bied ideale groeitoestande vir sekere proteaspesies en daar bestaan 'n groot belangstelling vir grootskaalse aanplantings.

'n Groot probleem in die snyblombedryf is die verskynsel van loof- en blaarverbruining van sekere sensitiewe proteaspesies wat binne 'n dag na verwydering van die blomme vanaf die plant, kan intree. Vervoer van blomme oor lang afstande, vanaf die kwekers na die plaaslike en buitelandse markte, vererger die gevaar van verbruining. Benewens aansienlike jaarlikse uitvoerafkeurings staan koopers en verbruikers skepties teenoor die verbruiningsverskynsel, aangesien dit die voorkoms nadelig beïnvloed en as 'n minderwaardige produk met swak gehalte beskou word. 'n Studie van die primêre oorsaak van verbruining is dus uiters essensieel om metodes

te vind om hierdie verskynsel te beheer. Daar is egter beperkte literatuur oor die fisiologiese en biochemiese aspekte, wat met verbruining geassosieer word, beskikbaar. Die oorsake en primêre meganismes betrokke by verbruining en moontlike beheermaatreëls geniet intensiewe aandag in die Departement Plantkunde aan die Randse Afrikaanse Universiteit, waar hierdie ondersoeke uitgevoer is. Aspekte soos voorsorgmaatreëls tydens verbouing, optimale pluktyd, verpakking, vervoer, hantering en bemarking, geniet steeds aandag. Die enigste beskikbare kennis oor loofblaarverbruining by P. neriifolia is aan die Randse Afrikaanse Universiteit in twee verhandelings, naamlik dié van Mulder (1977) en Jansen (1977), saamgevat. Hierdie verhandelings het dan ook as rigsgnoer vir hierdie ondersoek gedien en is 'n voortsetting daarvan. Mulder (1977) maak die aanname dat loofblaarverbruining van P. neriifolia deur 'n oormatige vogverlies gefinisieer word, wat tot 'n verlies aan kompartementasie lei. Volgens Mulder (1977) en andere (Jansen, 1977; De Swardt, 1977) volg daarna 'n delokalisering van die verbindings betrokke by bruinwording en oksidasie van hierdie verbindings tot bruin-gekleurde produkte.

Mulder (1977) het sekere flavonofiedverbindings, hoofsaaklik leuko-antosianiene, geïsoleer en geïdentifiseer as die verbindings betrokke by verbruining. Jansen (1977) en De Swardt (1977) het daarop gewys dat toekomstige navorsing rakende bruinwording, toegespits moet word op die aanwending van geskikte antitranspirante om vogverlies deur blare te beperk, geskikte reduseermiddels wat die

oksidasie van tanniene sal strem, verbindings wat met tanniene sal bind om die inter- en intrasellulêre beweging van hierdie verbruiningskomponente te beperk, middels wat die beweging van water deur die houtvate sal vergemaklik en fisiologiese verstoping van houtvate sal uitskakel, asook doeltreffende middels om mikrobiële groei in die vaasmedium te beheer.

Hierdie ondersoek handel oor spesifieke aspekte van bogenoemde voorgestelde maatreëls om loofblaarverbruining van P. neriifolia te beheer, naamlik die aanwending van fenielmerkuri-asetaat of PMA as 'n antitranspirant. Hier word ook na moontlike ander voordele van PMA verwys, soos PMA se tannienbindingskapasiteit en onderdrukking van mikroörganismes. Die moontlikheid vir die aanwending van PMA om loofblaarverbruining in P. neriifolia te beheer, is die belangrikste doelstelling van hierdie verhandeling.

## 1.2 LITERATUURDOORSIG

### 1.2.1 Verbruiningsverskynsels in plantweefsels

Die beskikbaarheid van Suid-Afrikaanse literatuur oor die verbruining van P. neriifolia se loofblare is baie gering en is beperk tot enkele bronne van onlangse navorsing wat by die Randse Afrikaanse Universiteit afgehandel is. Geen oorsese literatuur is in hierdie verband beskikbaar nie. P. neriifolia is een van die inheemse proteasiespesies van die suidelike deel van Afrika (Rousseau, 1970) en verteenwoordig een van die belangrikste spesies wat in



Suid-Afrika as snyblomme gekweek en bemark word. Daar bestaan egter aansienlike literatuur oor verwante verbruiningsverskynsels in ander plantweefsels, veral in dié van klimakteriese vrugte.

Tanniene en ander fenoliese verbindings, soos leuko-antosianiene en katesjole, is deur verskillende navorsers as die verbindings geïdentifiseer wat by verbruining van verskillende plant- en vrugweefsels (Biale en Young, 1973) en P. neriifolia (Mulder, 1977) betrokke is. Oksiderende ensieme soos die fenolases, katalases, peroksidases en polifenoloksidases word deur verskillende navorsers met die verbruiningsverskynsel geassosieer (Biale en Young, 1973; Palmer, 1973; Mulder, 1977).

baie plant-, blom- en vrugweefsels verbruin op gekneusde areas of waar meganiese beskadiging veroorsaak is. Die reaksies is gewoonlik ensimaties van aard of volg na oksidasie deur atmosferiese suurstof. Polifenoloksidase oksideer fenole en polifenole tot ooreenstemmende kinone. Die kinone wat ontstaan, word dikwels verder tot kenmerkende bruin pigmente geoksideer en gepolimeriseer. Dit word met die eintlike kleurveranderinge van beskadigde plantweefsels geassosieer (Knapp, 1965).

Katalase en peroksidase is ook universeel in weefsels van hoër plante versprei. Beide katalase en peroksidase besit die vermoë om 'n verskeidenheid substrate te oksideer deur gebruikmaking van waterstofperoksied as oksidant (Knapp, 1965). Katalase is verder in staat

om waterstofperoksied tot molekulêre suurstof in die afwesigheid van addisionele substraat af te breek. Baie fenole en ander aromatiëse stowwe word deur laasgenoemde twee ensieme in die aanwesigheid van waterstofperoksied geoksideer (Bonner en Galston, 1952). Polifenoloksidases is skynbaar die belangrikste ensieme wat by die verbruining van plantweefsels en -organe betrokke is. Die fenolases, katalase en peroksidase speel moontlik 'n sekondêre rol en funksioneer aanvullend met polifenoloksidase (Hulme en Rhodes, 1973).

In piesangvrugte is die fenoliese verbinding dopamien, die primêre substraat van verbruiningsreaksies (Palmer, 1973). Palmer (1963) het 'n polifenoloksidase uit piesangvrugweefsel geïsoleer wat die oksidasie van 'n reeks difenoliese verbindings kataliseer, terwyl monofenole nie geoksideer was nie. Dopamien was die mees doeltreffende substraat vir hierdie ensiem. 'n Groot hoeveelheid tanniene kom ook in gespesialiseerde selle in piesangs voor (Barnell en Barnell, 1945). 'n Fraksie van die tanniene is vir die vrank-smaak van onryp piesangs verantwoordelik (Barnell en Barnell, 1945). Polimerisasie van sekere tannienverbindinge word met die verlies in vrankheid tydens rypwording van piesangs geassosieer (Goldstein en Swain, 1963). Flavonofiede kan ook tot die intensiteit en graad van verbruining in piesangweefsel bydra (Simmonds, 1954; Goldstein en Swain, 1963).

In appels kom fenoliese verbindings en chlorogeensuur in hoë konsentrasies tydens die vroeë stadia van groei voor en verminder

drasties tydens rypwording (Hulme en Rhodes, 1973). Williams (1960) het ook katesjole, epikatesjole en leuko-antosianiene in appels gevind. Die verbruiningsensiem in appels is fenolase en die vernaamste substraat is chlorogeensuur. 'n Gedeelte van die oksidasie in appels is te wyte aan nie-ensimatiese oksidasie deur metaalione (Hulme en Rhoder<sup>s</sup>, 1973). Chlorogeensuur is ook die vernaamste substraat in die verbruiningsreaksies van aartappelknolle (Walker, 1975) en pere (Hulme en Rhoder<sup>s</sup>, 1973) deur fenolase. Katalase en peroksidase is ook uit vrugte soos appels en pere geïsoleer (Hulme en Rhodes, 1973). Daar word egter nie veel van hierdie ensieme se spesifieke reaksies vermeld nie.

Lea (1978) het vier verskillende groepe polifenole in gefermenteerde appelsap geïdentifiseer, naamlik polifenoliese sure soos chlorogeensuur, floretienverbindings soos floridsien, katesjole en epikatesjole, asook prosianidiene wat baie polimeries van aard was. Lea (1978) klassifiseer die prosianidiene as tanniene wat polimere van katesjol- en epikatesjoleenhede is. Lea en Timberlake (1978) het daarin geslaag om die appelsap met polifenoloksidase natuurlik te verbruin. Die finale produkte was gepolimeriseerde prosianidien-tanniene. 'n Bruin kleur was slegs by die geoksideerde fenole opgemerk.

Die ensieme katalase, peroksidase en polifenoloksidase was in avokadopeervrugweefsel gevind (Knapp, 1965). Makower en Schwimmer (1957) het die verdonkering van avokadopeerweefsel bestudeer en verdonkering met polifenoloksidase gekorreleer. Tanniene in avokado-

peer was in twee groepe deur kolom-kromatografie geskei, naamlik 'n katesjol en 'n flavoon (Biale en Young, 1973). Avokadosade is ook 'n ryk bron van 'n komplekse mengsel van polifenoliese verbindings wat saamgestel is uit eenvoudige katesjole, epikatesjole en gepolimeriseerde fenoliese verbindings (Biale en Young, 1973).

Jong tamaties bevat groot hoeveelhede polifenoliese verbindings wat afneem namate die tamaties verouder (Hobson en Davies, 1973). Daar is min inligting oor die funksies van hierdie fenoliese verbindings. Tamatieweefsel wat nadelig deur 'n bepaalde roes beïnvloed word, bevat 'n groot hoeveelheid donkerbruin tot swart materiaal. Hierdie materiaal mag wel 'n polimeer wees wat uit die oksidasie en kondensasie van eenvoudige fenole ontstaan het (Hobson en Davies, 1973). Die verbruining van tamatieweefsel as gevolg van virussiektes, kan ook aan fenolase-aktiwiteit te wyte wees (Hobson en Davies, 1973).

Polifenoloksidase is ook verantwoordelik vir die ensimatiese oksidasie van polifenoliese verbindings tydens fermentasie van teeblare. Die ensimatiese oksidasie word gevolg deur herrangskikking en polimerisasie van die oksidasieprodukte (Vuatez, Brandenburger en Egli, 1959; Vuatez en Brandenburger, 1961; Kato et al, 1976).

Tydens opberging van wit wyne word verbruining ook met fenoliese verbindings geassosieer (Du Plessis en Uys, 1968). Die wit druifvariëteite bevat hoë konsentrasies tanniene en leuko-antosianiene in hul doppe (Du Plessis en Uys, 1968). Swart druifvariëteite

teite is veral ryk aan antosianidiene en tanniene (Peynaud en Ribereau-Gayon, 1973). Die druiwekorrel is 'n voorbeeld van 'n nie-klimakteriese vrug wat fenoliese verbindings bevat (Biale en Young, 1973; Biale, 1960).

Benewens die genoemde meer bekende verbruiningsverskynsels wat in plantweefsels voorkom, is gevind dat lug-oksidasie van fenoliese verbindings 'n rol tydens die bereiding van swart olywe speel (Fernandez Diez, 1973). Die oksidasie van tanniene en fenoliese verbindings deur polifenoloksidase veroorsaak ook bruin en swart vlekke op bepaalde variëteite van dadelpruime (Ito, 1973).

Die ongewenste verkleurings in ingemaakte vrugte word ook aan fenoliese verbindings toegeskryf. Polivalente metaalione soos tin of yster, wat in metaalhouers ontstaan, reageer met fenoliese verbindings om verdonkering te veroorsaak (Adams en Blundstone, 1973). Ingemaakte pere, perskes en piesangs ontwikkel soms ligroos-verkleurings as gevolg van kleurlose leuko-antosianiene wat na antosianiene onder suurkondisies omgeskakel word (Adams en Blundstone, 1973). Die polifenoloksidase-sisteem in piesangs kan ensimatiese verbruining by ingemaakte piesangs veroorsaak (Adams en Blundstone, 1973). Nie-ensimatiese verbruining kom ook algemeen in ingemaakte vrugte voor. Dit word hoofsaaklik aan polimerisasie van kleurlose leuko-antosianiene na bruin flobafene toegeskryf (Adams en Blundstone, 1973).

Ensiem-gekataliseerde oksidatiewe verbruining in vrugte soos dadels, vye en pruime tydens droging en in appels, appelkose, perskes en pere wanneer hierdie vrugte gesny word, is ook grotendeels aan ok-

sidasie van natuurlike substrate deur polifenolase toe te skryf (McBean, Joslyn en Nury, 1973).

Dit is dus uit voorafgaande duidelik dat verbruining van 'n wye verskeidenheid plantweefsels aan ensiem-gekataliseerde oksidasies van bepaalde fenoliese verbindings te wyte is.

### 1.2.2 Moontlike verbindings betrokke by loofblaarverbruining van *P. neriifolia*

*P. neriifolia*, *P. compacta* en *P. macrocephala* se loofblare verbruin spoedig nadat dit van die plant verwyder is, terwyl dit nie die geval by spesies soos *P. aristata* en *P. repens* is nie (De Swardt, 1977). Dit word toegeskryf aan die aan- en afwesigheid van leuko-antosianiene en moontlike ander verbruiningskomponente soos proef-ondervindelik met *P. neriifolia* vasgestel is (De Swardt, 1977, Mulder, 1977). Volgens Elsworth en Martin (1971) kom leuko-antosianiene in 'n groot verskeidenheid proteaspesies soos onder andere *P. neriifolia*, *P. compacta* en *P. macrocephala* voor, terwyl dit in *P. aristata* en *P. repens* ontbreek (Elsworth en Martin, 1971). Mulder (1977) het die leuko-antosianien wat vir loofblaarverbruining van *P. neriifolia* verantwoordelik is, deur chromatografiese en spektrofotometriese metodes, as leuko-sianidien geïdentifiseer. Dit stem met die bevindinge van Elsworth en Martin (1971) ooreen. Leuko-sianidien is die mees algemene leuko-antosianien en kom wydverspreid in verskillende plantsoorte voor (Harborne, 1967).

Leuko-antosianiene kan in plante as monomere, dimere, oligomere of gepolimeriseerd as tanniene voorkom (Lewak, 1967). Kleurlose

leuko-antosianiene lewer ooreenstemmende gekleurde antosianidiene in kenmerkende oksidatiewe reaksies in 'n suurmedium, gepaardgaande met verlies van waterstofatome en 'n dehidrasie (Robinson, 1963). Oksidasie van hierdie polimere tydens verhitting in 'n suurmedium, lewer gekleurde verbindings, veral flobafene (Robinson, 1963).

Die leuko-antosianiene is glukosiede van ooreenstemmende leuko-antosianidiene (Borgorad, 1958). Die glukosiedvorme (leuko-antosianiene) kom nie so algemeen as die leuko-antosianidiene voor nie (Robinson, 1963). Leuko-antosianidiene toon 'n strukturele ooreenkoms met katesjole en verskil slegs in 'n enkel alifatiese hidroksielgroep. Die katesjole kan onder dieselfde reaksieomstandighede (verhitting in 'n suurmedium) soos genoem vir leuko-antosianiene, soortgelyke gekondenseerde tanniene en gekleurde flobafene vorm (Robinson, 1963). Die polimerisasie van leuko-antosianiene en katesjole is kenmerkende reaksies tydens die produksie van gekondenseerde tanniene (Haslam, 1966). Sommige leuko-antosianidien-dimere (biflavone) word tydens die verbinding van een eenheid flavan-3-4-diol met 'n katesjoleenheid naamlik flavan-3-ol verkry (Robinson, 1963). Polimeriese leuko-antosianidiene (gekondenseerde tanniene) bestaan uit soortgelyke strukture met 'n herhalende flavan-3-4-diol en 'n flavan-4-ol eenheid (Harborne, 1967). Tydens polimerisasie van leuko-antosianidiene word 'n groter persentasie flobafene as antosianidiene gevorm, terwyl lugoksidasië ook 'n rol hierby speel (Ribereau-Gayon, 1972).

Die leuko-antosianidiene is basies flavan-3-4-diole, met enkele variasies (Robinson, 1963). Die leuko-antosianiene, katesjole en tanniene word almal as flavonofede geklassifiseer. Flavonofede word gekenmerk deur twee gesubstitueerde fenielringe wat met 'n  $C_3$ -alifatiese of 'n  $-O-C_3$ -heterosikliese piraanring aanmekaar verbind is (Bogorad, 1958; Robinson, 1963). Die flavonofedgroep kan dus as 'n reeks  $C_6-C_3-C_6$  verbindings beskryf word (Robinson, 1963; Harborne, 1967; Bogorad, 1958). 'n Verdere klassifikasie en indeling van die flavonofede berus op die konfigurasie en oksidasietoestand van die  $C_3$ -gedeelde van die molekule (Bogorad, 1958). Flavonofede kom dikwels as glukosiede voor (Robinson, 1963).

De Swardt (1977) en Mulder (1977) meld dat daar veral twee primêre faktore by die verkleuring van loofblare van P. neriifolia betrokke is, naamlik die leuko-antosianiene en vogverlies deur die blare deur transpirasie. Daar bestaan, volgens hierdie navorsers, 'n verwantskap tussen hierdie twee faktore wat lei tot uiteindelijke afsterwing van lewende blaarselle en gevolglike verbruining. Leuko-antosianiene is kleurloos in normaal gesonde blare en kom in gespesialiseerde selle, tannienidioblaste, in 'n gereduseerde toestand voor (De Swardt, 1977). Leuko-antosianiene is in hoë konsentrasies uit blare en stingels van P. neriifolia geëkstraheer (Mulder, 1977). Dit is vasgestel dat die verbindings hoofsaaklik in die blaarnerwe en stingelbas in gespesialiseerde tannienselle voorkom (Mulder, 1977; Jansen, 1977), en is sodoende geïsoleer van die metaboliserende funksionele inhoud van die verskillende plantweefsels. Tydens transpirasie verloor die mesofielselle wat die nerwe in die blaar



omring, vinniger water as die selle wat die leuko-antosianiene bevat. Water plus leuko-antosianiene word dan vanaf die blaarnerwe en stingelbas uit die gespesialiseerde selle na die mesofielselle as gevolg van 'n gunstige waterpotensiaalgradiënt getrek (De Swardt, 1977; Mulder, 1977). Die leuko-antosianiene met 'n effektiewe proteïenbindingskapasiteit, reageer met die ensieme. Die normale metabolismiese reaksies word sodoende versteur en die leuko-antosianiene word vervolgens deur ensieme geoksideer en verbruining tree in (De Swardt, 1977; Mulder, 1977). Daar word egter nie veel melding gemaak oor spesifieke ensieme wat tydens bogenoemde reaksies betrokke is nie, hoewel Mulder (1977) gevind het dat leuko-antosianiene met 'n verskeidenheid van proteïene (ensieme ingesluit) bind. Vogverlies bring moontlik 'n verhoging in permeabiliteit van selmembrane en ook gevolglike dekompartementasie mee (Mulder, 1977). Dit verklaar die moontlike vervoer van makromolekule, soos leuko-antosianiene, deur differensieel deurlatende membrane. Benewens die leuko-antosianiene is daar moontlik ook ander flavanofede in die proteaweefsels wat in teenwoordigheid van suurstof en sekere ensieme bruin kan verkleur (De Swardt, 1977).

### 1.2.3 Moontlike ooreenkomste tussen aspekte van normale verouderingsverskynsels van plantweefsels en loofblaarverbruining van *P. neriifolia*

Verouderingsverval van hoër plante word in drie hooftepes geklassifiseer, naamlik populasie-, organisme- en orgaanveroudering soos

blare, vrugte en kroonblare (Sacher, 1973). Die term verouderingsverval of fitogerontologie verwys na die finale fase in die ontogenie van die orgaan waarin 'n reeks onomkeerbare prosesse gefinisieer word wat tot sellulêre verval en afsterwing van die orgaan lei (Sacher, 1973). Gespesialiseerde vorms van verval behels onder andere die fotosintetiese agteruitgang van blare van bladwisselende bome tydens die herfs net voor blaarval, eenjarige plante soos koring en mielies wat gelyktydig op landerye vergeel en afsterf, asook die verval van snyblomme nadat dit gepluk is. Vrugrypwording word ook as 'n reeks onomkeerbare prosesse beskou en word as 'n verouderingsfase in vrugte beskou (Sacher, 1973; Varner, 1961). Esteties en kommersieel gesproke was die term rypwording bo dié van veroudering verkies. Onder sekere eksperimentele omstandighede kan verouderingsverval gedeeltelik in blare en tot 'n sekere mate in vrugte omgekeer word (Sacher, 1973).

Verskeie teorieë van oorsake van verouderingsverval is ook al geformuleer, alhoewel die primêre stimulus wat aanleiding tot die proses gee, nog onbekend is. Benewens menings dat verouderingsvervalprosesse in die chromosoommateriaal geprogrammeer is, is wysiginge in ensiemaktiwiteite, akkumulasie van remstowwe, permeabiliteitsveranderinge, oorskakeling van metaboliese weë, verlies in normale aktiwiteite van selorganelle, degradering van chemiese komponente, selorganelle en makromolekule, asook eksogene faktore soos lig, temperatuur en water, almal as moontlike oorsake van veroudering beskryf (Muir, De Kock, De Kock en Jackson, 1959; Varner, 1961; Strehler, 1967).

'n Versteuring in die hormoonbalans mag ook verouderingsverval beïnvloed. Oksiene, sitokiniene en gibberelliene vertraag verouderingsverval, terwyl etileen en absissiensuur dit stimuleer (Sacher, 1973; Varner, 1961). Daar bestaan bepaalde teorieë oor die afsonderlike aksiemeganisme van planthormone, alhoewel die gesamentlike nog onbekend is.

De Swardt (1977), Jansen (1977) en Mulder (1977) se bevindings dui op 'n moontlike verwantskap tussen normale verouderingsverval van plantweefsels en die verbruining van protealoofblare. Volgens Mulder (1977) word loofblaarverbruining van P. nerifolia deur 'n oormatige vogverlies deur die blare veroorsaak. Dit lei tot 'n verhoogde membraanpermeabiliteit en 'n gevolglike verlies aan kompartementasie. Verouderingsverval gaan, volgens Sacher (1973), onder andere met veranderinge in membraanpermeabiliteit gepaard. Behoud van kompartementasie is 'n belangrike faktor vir normale funksionering van plantselle. Daar word egter nie uitsluitel gegee of 'n verlies in kompartementasie 'n primêre of sekondêre gebeurtenis van veroudering is nie. Volgens Sacher (1966; 1973) word permeabiliteitsveranderinge in sellulêre membrane deur lekkasie van vaste stowwe, verhoging in die persentasie skynbare vrye ruimte en vloeistofblokkering van intersellulêre ruimtes gekenmerk. Die gevolglike verlies in kompartementasie en organisasie veroorsaak 'n abnormale kontak tussen ensieme en substrate wat normaalweg van mekaar geskei is. Volgens Mulder (1977) kan die leuko-antosiene as gevolg van 'n verhoogde membraanpermeabiliteit uit va-

kuole en gespesialiseerde tannienselle na die funksionele sitoplasma weens 'n waterpotensiaalgradiënt diffundeer om tot gepolimeriseerde tanniene geëksideer te word en bruin verkleur. Die tanniene vorm vervolgens kruisbindings met ensieme en proteïene in die sitoplasma om sodoende metaboliese prosesse te staak of te inhibeer en selle te dood (Mulder, 1977).

#### 1.2.4 Tanniene en ander flavonofede in plantweefsels: polimerisasie en reaksies met proteïene (ensieme)

Tanniene word deur Esau (1965) as een van die algemene groepe van ergastiese verbindings in plantselle beskryf. Tanniene kom wyd verspreid in die planteryk voor (Esau, 1965). Tanniene kom as granulêre massas van verskillende groottes wat geel, rooi of bruin gekleur mag wees, voor (Esau, 1965). Geen weefsel ontbreek heeltemal aan tanniene nie. Dit kom selfs in meristematische selle voor. Tanniene is volop in die blare van baie plante, vaatweefsels, periderm, onryp vrugte, saadhuide en streke van patologiese groei (Esau, 1965). Tanniene is in die selsap van vakuole aanwesig, maar word meer dikwels in selwande aangetref en akkumuleer dikwels in groot hoeveelhede in dooie weefsels. Tanniene mag in baie selle van 'n gegewe weefsel voorkom of verspreid in die weefsel in bepaalde geïsoleerde selle wat tannienidioblaste genoem word, of hulle mag geïsoleer wees in vergrote selle wat tanniensakke genoem word (Esau, 1965).

Gekondenseerde tanniene ontstaan uit die polimerisasie van leuko-

antosianiene en katesjole (Haslam, 1966; Robinson, 1963). Flobafene en antosianidiene is die vernaamste gekondenseerde tanniene, terwyl polimerisasie van leuko-antosianidiene meer flobafene as antosianidiene lewer (Ribereau-Gayon, 1972). Volgens Goldstein en Swain (1963) kan veral drie groepe gekondenseerde tanniene deur leuko-antosianidiene of die ooreenstemmende leuko-antosianiene gevorm word. Eerstens, verbindings met lae molekulêre massa, wat moontlik dimere is wat gevorm word deur verbindings van 'n flavan-3,4-diol met 'n katesjol, tweedens, oplosbare oligomere wat 4 tot 8 flavan-eenhede bevat en derdens, onoplosbare polimere van 10 of meer eenhede. Die drie groepe kom saam in plantweefsels voor en oligomere word algemeen in polimere omgesit (Harborne, 1967).

Die vrank smaak in vrugte word algemeen deur leuko-antosianiene veroorsaak (Harborne, 1967). Die vrank sensasie is te wyte aan die vernietiging van die smeer-effek van speeksel as gevolg van 'n kruisbindingsaksie van die polimeriese fenolverbindings met proteïene (Swain, 1962). Die eienskap van vrankheid word beperk tot die oligomere en daarom kan die verlies aan vrankheid tydens rypwording van vrugte soos pere, perskes, pruime en piesangs direk aan die verdwyning van die oligomere toegeskryf word (Harborne, 1967). Polimere word tydens rypwording uit die oligomere gevorm en die onoplosbare polimere word op die selwande neergelê en kan sodoende nie tot die smaak bydra nie (Harborne, 1967; Goldstein en Swain, 1963).

Tanniene word deur Swain (1965) omskryf as verbindings van natuurlike oorsprong met 'n molekulêre massa van ongeveer 500 tot 3000 met ge-

noegsame fenoliese hidroksiel of ander geskikte groepe om effektiewe kruisbindings met proteïene en/of ander makromolekule te vorm. Die vermoë van tanniene om effektiewe kruisbindings met proteïene en ander polimere te vorm, onderskei tanniene van ander fenoliese verbindings (Swain, 1965).

Kruisbindings tussen tanniene en proteïene sluit verskeie tipes chemiese bindings in. Waterstofbindings kan tussen fenoliese hidroksielgroepe van tanniene en vry amino- en amidogroepe van proteïene of die hidroksiel- en karbonielgroepe van ander polimere gevorm word (Swain, 1965). Benewens ioniese bindings tussen anioniese groepe van tanniene en kationiese groepe van proteïene of metaalione kan kovalente bindings ook gevorm word. Laasgenoemde word gevorm deur 'n interaksie van enige kinnon- of semikinnongroep in die tanniene met enige geskikte aktiewe groep in die proteïen of ander polimere. Dit is veral die kovalente bindings wat 'n belangrike rol in die looiproses speel (Swain, 1965). Genoegsame fenoliese groepe is in die tanniene nodig om deur kruisbindings stabiele komplekse met 'n enkel proteïenketting of tussen twee of meer proteïenkettings te vorm. Te groot tannienmolekule sal nie op 'n geskikte manier oriënteer om stabiele kruisbindings met proteïenmolekule te vorm nie (Ribereau-Gayon, 1972), daarom is die oligomeer-tipe tannienmolekule die doeltreffendste. Groot aggregate van tanniene met kollofdale afmetings, breek maklik op in kleiner oligomere wat stabielere komplekse met proteïene kan vorm (Ribereau-Gayon, 1972).

Die teenwoordigheid van tanniene in plantekstrakte kan bepaal word deur die ekstrakte se proteïenbindingskapasiteit te bepaal (Swain, 1965). Tanniene met verskillende molekulêre groottes en konfigurasies se proteïenbindingskapasiteite verskil (Swain, 1965). Tannienmolekule se vermoë tot kruisbindings is afhanklik van 'n optimum molekulêre grootte (Ribereau-Gayon, 1972).

Tanniene in die onryp piesangvrug bemoeilik die ekstrahering van ensieme vanweë tanniene wat kruisbindings met proteïene en ander polimere vorm (Swain, 1965). Tanniene inhibeer dus ensieme en sodoende word die funksionele aktiwiteit van geïsoleerde selorganelle gewysig (Swain, 1965). Tannienbinders moet dus aangewend word om ensiemverliese tydens ekstraksie te verhoed. Tanniene verkry uit appelskille, kan die aktiwiteite van mitochondria inhibeer (Hulme en Jones, 1963). Die leuko-antosianiene en veral die meer gepolimeriseerde fenoliese verbindings tree inhiberend op (Hulme en Jones, 1963). Tydens rypwording van piesangs is 'n afname in inhibisie van ensieme deur leuko-antosianiene gevind. Dit word toegeskryf aan 'n toenemende polimerisasie van leuko-antosianiene tot molekulêre groottes wat stabiele bindings met proteïene onmoontlik maak (Goldstein en Swain, 1963).

Pektolitiese ensieme deur swamme vrygestel om die selwande van gasheer te dring kan deur komplekse tanniene ge-onaktiveer word (Williams, 1963). Williams (1963) het gevind dat geokseerde leuko-antosianiene veral in hierdie opsig doeltreffend is en het swambesmetting in appels gestrem. Selfs virusinfeksies

kan deur fenoliese verbindings verhoed word. Cruickshank en Perrin (1964) het 'n toename in die konsentrasie van sekere fenoliese verbindings as gevolg van virusinfeksie by verskeie plantsoorte waargeneem. Die aard van die fenoliese verbinding was van die gasheer afhanklik. Dit is gevind dat kumarien in tabakweefsel, die replisering van tabakmosaiekvirus inhibeer het (Cruickshank en Perrin, 1964). Polifenoliese verbindings kan kruisbindings met nukleoproteïene van virusse vorm en hulle soodoende on-aktiveer (Cadman, 1959). PMA (fenielmerkuri-asetaat) se swamdodingseffek berus moontlik ook op die inhibering van bepaalde ensieme van die swam.

Tanniene is jare gelede al uit plantmateriaal geëkstraheer en in die looiproses aangewend om diervelle in leer te omskep deur kruisbindings van die proteïene in die diervelle met tanniene (Ribereau-Gayon, 1972). Tanniene uit die bas van proteaspesies is ook reeds lank gelede doeltreffend in die Ou-Kaap vir die looi van velle aangewend (Watt en Breyer-Brandwijk, 1962).

Leuko-antosianiene dra verder by tot die geur en smaak van voedselsoorte en drank (Harborne, 1967). 'n Mate van vrankheid, soos bitterheid of suurheid, is nodig om smaakloosheid van sekere dranksoorte te verhoed. Geskikte vermengings van leuko-antosianiene en suiker is daarom essensiële komponente vir die smaaklikheid van wyn en sider (Swain, 1962). Leuko-antosianiene dra ook by tot die geureienskappe van tee en sjokolade en is ook in klein hoeveelhede in



baie vrugte teenwoordig om sodoende 'n balans teen oormatige suikerkonsentrasies in sekere variëteite te bewerkstellig.

#### 1.2.5 Kompartementasie van tanniene in *P. neriifolia*

Mulder (1977) en Jansen (1977) het uit anatomiese ondersoeke van *P. neriifolia* mikroskopiese bewyse gelewer dat tanniene in normale en verbruinde weefsels van die plant voorkom. Dwarsdeursneë van normale onverbruinde blare het aangetoon dat tanniene in gespesialiseerde selle in die vaatbondels aangetref word (Mulder, 1977). Die floeëem bevat die meeste tannien-bevattende selle. Mulder (1977) is van mening dat tannienvoorlopers, soos by die blare van *Quercus* (Thomas et al., 1973), ook in die proteablare gesintetiseer word. Dit word moontlik vandaar deur die sifvate na die stingel getranslokeer om opgeberg te word. In normale blare is tanniene van die funksionele protoplasma in die vakuool as ergastiese bestanddele, afgesonder (Mulder, 1977; Jansen, 1977). Die relatiewe groot molekulêre dimensies van die tanniene verhoed intra- en intersellulêre translokasie (Thomas et al., 1973).

In blare van *P. neriifolia* wat reeds besig was om te verbruin was tanniene nie net tot die vaatbondels en naasliggende sponsparenchiem beperk nie, maar was veral volop in die palisadeweefsel (Mulder, 1977). Dit word toegeskryf aan die uitlekking van die tannien-bevattende inhoud van vakuole as gevolg van wysigings in die tonoplaststruktuur. Gevolglik vind vermenging en reaksies van die tanniene met die funksionele inhoud van die sitoplasma plaas. Soort-

gelyke verskynsels is by piesangs opgemerk. Tanniene maak in piesangs 'n deel van die melkerige inhoud van melksapkanale uit (Swain, 1965; Barnell en Barnell, 1945). Sodra rypwording intree, word tanniene ook in selle wat grens aan die melksapkanale, aangetref (Palmer, 1973). Volgens Mulder (1977) is die tanniene wat vanaf die vakuole van die tannienidioblaste in die vaatbondels van P. neriifolia lek en deur diffusie na die res van die blaar versprei en geoksideer word, skynbaar vir die ongewenste verbruining van die blare verantwoordelik.

Dwarsdeursneë deur die stingel van P. neriifolia toon dat tanniene hoofsaaklik in gespesialiseerde selle in die floeëem, korteks- en murgweefsels in die omgewing van die vaatbondels en in die vaatstrale tussen die vaatbondels voorkom (Jansen, 1977). In die vaatbondels is stringe tannienselle wat vanaf die floeëem tot in die primêre xileem strek (Jansen, 1977). In die vaatstrale tussen die vaatbondels was die tannien-bevattende selle afgewissel deur selle wat skynbaar styselkorrels bevat het (Jansen, 1977). Kenmerkend uit die anatomiese ondersoeke was die groot oppervlakte wat deur tanniene in die betrokke selle beslaan word. Mulder (1977) meen dat hulle as tannienselle of tannienidioblaste beskou kan word. Die lokalisering van tanniene in selle in die omgewing van vaatbondels, impliseer ook moontlik die kambium as oorsprong van tannienvoorlopers (Mulder, 1977).

### 1.2.6 Die moontlike invloed van plantwatertekorte op fisiologiese prosesse van *P. neriifolia*

Mulder (1977) het 'n teorie geformuleer om die verbruiningsverskynsel in *P. neriifolia* te verklaar. Die verlies van water as gevolg van transpirasie deur blare op stingels van afgesnyde plantdele, inisieer die reaksies van bruinwording (Mulder, 1977). Volgens Mulder (1977) verloor die epidermale en mesofielselle vinniger water as die gespesialiseerde selle wat die leuko-antosianiene bevat. Die verlaagde waterpotensiaal verhoog membraanpermeabiliteit en leuko-antosianiene plus water diffundeer langs 'n waterpotensiaalgradiënt uit die tannienselle na die aangrensende lewende selle (Mulder, 1977). Die leuko-antosianiene reageer met proteïene en ensieme en word tot 'n bruin kleur geoksideer (Mulder, 1977). 'n Vogspanning verskaf dus volgens Mulder (1977) moontlik 'n stimulus vir die ongewenste verbruiningsreaksies in *P. neriifolia*. Dit is ook bekend dat 'n vogspanning 'n groot aantal ander fisiologiese prosesse en verskynsels in plante kan beïnvloed. Die invloed van 'n vogspanning op ander plante word kortliks vervolgens weergegee.

Water is essensieel vir die funksionering en normale groei prosesse van plante en is een van die belangrikste bestanddele van die plantsel waar dit 'n groot verskeidenheid funksies vervul (Vaadia *et al.*, 1961). Die grootste gedeelte van die water wat deur wortels opgeneem word, beweeg deur die stingel tot in die blare en vandaar in die eksterne atmosfeer in die vorm van waterdamp (Vaadia *et al.*, 1961). Aangesien water by so 'n groot verskeidenheid faktore betrokke is, het interne watertekorte in die plant gewoonlik

drastiese gevolge (Hsiao, 1973).

Die waterpotensiaal, relatiewe waterinhoud, vars massa, blaar- en stingeldikte en visuele verwelking is almal parameters wat aangewend word om die graad van waterspanning of plantwaterstatus aan te dui. Die eersgenoemde twee faktore het die meeste byval by navorsers gevind (Hsiao, 1973). 'n Lae waterspanning word algemeen aanvaar as 'n vermindering van 'n paar bar of atmosferiese plantwaterpotensiaal, of 'n verlaging van 8 of 10 persent in die relatiewe waterinhoud. 'n Matige waterspanning of -tekort verwys na 'n verlaging in waterpotensiaal van enkele tot ongeveer 15 bar, of 'n verlaging van 10 tot 20 persent in die relatiewe waterinhoud. Watertekorte word groot bestempel as die waterpotensiaal met meer as 15 bar en relatiewe waterinhoud met meer as 20 persent verlaag word. Die term desikkasie word gereserveer vir gevalle waar die vogverlies van die weefsel 50 persent oorskry (Hsiao, 1973).

'n Aantal fisiologiese prosesse en verskynsels wat in plante deur 'n vogspanning beïnvloed word, is die volgende: stomatale bewegings (Davies en Kozlowski, 1974; Hall en Kaufmann, 1975; Jarvis et al., 1976; Poljakoff-Mayber en Gale, 1972), fotosintese (Hsiao, 1973; Jarvis, 1971), respirasie (Boyer, 1970; Boyer, 1971; Bell, Koeppe en Miller, 1971), selturgor (Cleland, 1971), selverlenging en groei (Hsiao, 1973; Doley en Leyton, 1968; Acevedo et al., 1971; Boyer, 1968), selwand metabolisme (Cle-

land, 1971), hormoonvlakke (Livné en Vaadia, 1972; Tal en Imber, 1971; Itai et al., 1968; Darbyshire, 1971; Itai en Vaadia, 1971; Jordan et al., 1972; McMichael et al., 1972), proteïen- en ensiemvlakke (Hsiao, 1970; Naylor, 1972; Todd, 1972), loonopname en -vervoer (Hsiao, 1973), seldeling (Doley en Leyton, 1968) en membraanpermeabiliteit (Bell, Koeppe en Miller, 1971; Mulder, 1977). Hierdie genoemde watertekort-effekte mag direk of indirek 'n invloed op verbruiningsverskynsels in blare uitoefen. Die effek van vogspanning op membraanpermeabiliteit ondersteun ook die teorie van Mulder (1977) dat vogspanning 'n rol mag speel tydens loofblaarverbruining van P. nerifolia deur affektering van membraanpermeabiliteit.

'n Belangrike gevolg van waterspanning is stomatale sluiting en vermindering in transpirasie (Meidner en Mansfield, 1968). Stomatale sluiting beskerm die blaar teen oormatige waterverlies tydens droë omstandighede (Davies et al., 1978).

Sluiting van stomata bewerkstellig 'n styging in blaartemperatuur tydens periodes van watertekort, omdat afkoeling as gevolg van transpirasie ontbreek (Poljakoff-Mayber en Gale, 1972). In meeste gevalle is die styging in temperatuur as gevolg van vermindering van transpirasie slegs 'n paar grade celsius (Meidner en Mansfield, 1968; Hsiao, 1973). Lig mag die stomatale reaksies tydens watertekorte wysig. By hoër ligintensiteite is groter watertekorte nodig om sluiting te bewerkstellig (Hsiao, 1973; Stalfelt, 1955).

Stomatale opening en sluiting is die gevolg van turgorverskille tussen sluitselle en aangrensende selle (Meidner en Mansfield, 1968). Die hoeveelheid water in die plant beheer die hoeveelheid osmotiese opgeloste stowwe in sluitselle (Hsiao, 1973). Sommige resultate dui daarop dat matige of groot watertekorte 'n verhoging van interne koolsuurgas-konsentrasie veroorsaak. Dit is genoegsaam om 'n gedeelte van die stomatale sluiting te verklaar (Meidner en Mansfield, 1968). Absissiensuur neem opmerklik in blare wat aan waterspanning onderwerp word, toe en eksogene absissiensuur is 'n snelwerkende inhibeerder van stomatale opening (Horton, 1971; Jones en Mansfield, 1970; Cummins, Kende en Raschke, 1971; Mittelheuser en Van Stevininck, 1969; Davies, Mansfield en Orton, 1978). Watertekorte het dus moontlik 'n invloed op die hormoonbalans, spesifiek die balans tussen absissiensuur en sitokiniene (Hsiao, 1973; Davies et al., 1978; Cummins et al., 1971; Kriedemann et al., 1972; Livné en Vaedia, 1972; Mizrahi et al., 1970; Tal en Imber, 1971). Stomatale opening verminder skynbaar onder toestande van watertekorte as gevolg van vermindering in sitokiniene en styging in absissienvlakke.

Daarbenewens is stomata sensitief vir chemikalieë soos die anti-transpirante fenielmerkuri-asetaat (PMA), naftoksie-asiensuur en asetielsalisielsuur (Mansfield, 1967; Fischer, 1970; Zelitch, 1965).

Watertekorte affekteer ook fotosintese deur vermindering in koolsuurgas-assimilasie in lig (Hsiao, 1973). Selverlenging of -uitsetting is een van die plantprosesse wat uiters sensitief teenoor watertekorte is (Hsiao, 1973).

Shah en Loomis (1965) het gevind dat die oplosbare en totale proteïeninhoud van suikerbeetblare (per gram droë massa) progressief binne 'n paar dae verminder as water weerhou word. 'n Vermindering in proteïeninhoud mag toegeskryf word aan 'n afname in proteïensintese of 'n versnelling van proteïendegradasie (Naylor, 1972). Todd (1972) het bewyse gelewer dat watertekorte en uitdroging oor die algemeen ensiemvlakke verlaag, alhoewel matige tot hoë waterspanning 'n styging in hidrolitiese en degraderende ensieme kan bewerkstellig. As gevolg van verminderde ensiemsintese mag 'n aantal belangrike metaboliese aktiwiteite beëindig word. Watertekorte lei tot vrystelling of aktivering van degraderende ensieme (Todd, 1972).

Uit die voorafgaande bespreking blyk dit dat watertekorte moontlik die bruinwordingsverskynsel in P. nerifolia kan inisieer en 'n verskeidenheid fisiologiese prosesse in plante mag geaffekteer word.

1.2.7 Transpirasie en faktore wat transpirasietempo kan beheer  
'n Groot gedeelte van die water deur die wortels geabsorbeer, word nie in die plant behou nie, maar gaan deur transpirasie verlore. Transpirasie geskied hoofsaaklik deur stomata en tot 'n mindere mate

deur die kutikula (Strassburger, 1965). Die kutikula is 'n relatief ondeurlaatbare bedekking op plante. As die kutikula dun is, kan tot 20 persent van die totale transpirasie hierdeur geskied, maar namate die dikte toeneem, verminder kutikulêre transpirasie (Strafford, 1967).

Stomatale transpirasie kan gereguleer word deur die stomatale opening te beheer, en selfs deur algehele sluiting van die stomata gestaak word (Meidner en Mansfield, 1968). Beheer van transpirasie is belangrik vir normale waterverhoudings in plante, want tydens transpirasie word ongeveer 1 persent van die water wat deur die wortels geabsorbeer word, deur die plant behou (Gale en Hagan, 1966).

Die meeste water wat deur besproeiing aan plante voorsien word, gaan met transpirasie verlore (Poljakoff-Mayber en Gale, 1972). 'n Vermindering van transpirasie kan dus besproeiingsbehoefte verminder, ontwikkeling van waterspanning in plante beperk en die leeftyd van kommersiële snyblomme verleng (Poljakoff-Mayber en Gale, 1972). Waterspanning ontwikkel in plante wanneer die transpirasietempo die tempo van waterabsorpsie oorskry. Hierdie spanning word uitgedruk as 'n val in plant waterpotensiaal en turgor (Poljakoff-Mayber en Gale, 1972). Onder sulke omstandighede volg 'n verminderde groei, selfs as die grond klam is (Kozlowski, 1968).

Daar bestaan 'n groot behoefte vir doeltreffende chemiese verbindings en materiale wat transpirasie sal verminder (Gale en Hagan, 1966). Sodanige middels word antitranspirante of transpirasie-onderdrukkers genoem (Gale en Hagan, 1966). In die verlede was



beheer van stomatale opening algemeen verkry deur ligintensiteit te verminder of deur blare te laat verwelk, metodes wat vanselfsprekend ander blaarselle as sluitselle sal affekteer (Zelitch, 1965). Die vraag bestaan egter of transpirasie essensieel vir die plant is. Wat sal die nagevolge vir die plant wees as die transpirasiestroom gestaak word? Wat is die mees effektiewe manier om transpirasie te verminder? Watter invloede kan die aanwending van verskillende antitranspirante op verskillende plantekosisteme onder variërende ekologiese kondisies hê (Gale en Hagan, 1966)? Die vraag bestaan ook of plante endogene fisiologiese meganismes besit om hul water te bewaar en of antitranspirante daarop kan verbeter (Davies, Mansfield en Orton, 1978).

Transpirasie bevorder die opname en translokasie van minerale elemente en dra by tot die afkoeling van blare (Poljakoff-Mayber en Gale, 1972; Gale en Hagan, 1966). Tydens die aanwending van antitranspirante moet hierdie genoemde voordele van transpirasie nie nadelig beïnvloed word nie.

Volgens Gale en Hagan (1966) skyn dit asof slegs 'n uiters groot vermindering in transpirasietempo 'n noemenswaardige effek op die plant se minerale balans sal hê. Dit is dus redelik om antitranspirante aan te wend, aangesien 'n relatief lae tempo van transpirasie voldoende is om minerale vervoer te bewerkstellig (Poljakoff-Mayber en Gale, 1972). Gale en Hagan (1966) beweer dat die transpirasietempo ten minste gehalveer kan word, sonder nadelige gevolge op mineralevoeding en blaartemperature. Antitranspi-

rante moet dus verkieslik slegs 'n gedeeltelike sluiting van stomata bewerkstellig (Meidner en Mansfield, 1968). Vermindering van transpirasie deur antitranspirante is veral geskik om die ontwikkeling van watertekorte en die meegaande nadelige gevolge daarvan te verhoed.

Die eerste vereiste vir enige metode wat aangewend word om transpirasie te verminder, is dat dit nie plantegroei sal strem nie (Gale en Hagan, 1966). Om transpirasie te verminder is relatief eenvoudig, maar om dit te bewerkstellig sonder stremming van fotosintese en groei, is die sentrale probleem van antitranspirantestudies.

Verskeie metodes om transpirasie te verminder, is ondersoek.

Die vier belangrikstes is:

- a) Toediening van geskikte middels om blaarweerkaatsing te verhoog en sodoende hoër temperature te vermy;
- b) windbrekers wat verlies van waterdamp deur lugbeweging verlaag;
- c) verhoogde eksterne atmosferiese humiditeit om sodoende die blaar tot atmosfeer waterdampgradiënt te verminder en
- d) gebruikmaking van middels soos plastiese filmagies en chemiese antitranspirante wat stomata sluit (Gale en Hagan, 1966; Meidner en Mansfield, 1968; Poljakoff-Mayber en Gale, 1972; Serr en Foot, 1963; Abu-Khaled et al., 1970; Rosenberg en Brown, 1971; Moss et al., 1961).

Die bevinding van Mulder (1977) dat transpirasie 'n belangrike rol by loofblaarverbruining van proteas speel, het gelei tot die hipotese dat antitranspirante moontlik die verbruiningsverskynsel mag beheer en het tot hierdie verhandeling aanleiding gegee. Gevolglik sal die klem slegs op antitranspirante gelê word, aangesien die ander voorkomende maatreëls om transpirasie te beperk nie direk van toepassing op moontlike voorkoming van loofblaarverbruining is nie.

Antitranspirante is chemiese middels wat as bespuiting of doopmiddel of moontlik vaasmediumkomponente, aangewend kan word om stomata gedeeltelik te sluit, sonder dat dit blaarweefsele nadelig beïnvloed (Meidner en Mansfield, 1968). Afgesien van chemiese wat gedeeltelike of soms algehele sluiting van stomata bewerkstellig, word oppervlakte filmagies soms as antitranspirante aangewend (Meidner en Mansfield, 1968).

Bedekking van blaaroppervlaktes met filmagies is een van die ouer metodes om waterverlies te verhoed. Filmagies op blare moet ondeurlaatbaar vir waterdamp wees, maar deurlaatbaar vir koolsuurgas en suurstof om fotosintese en respirasie in stand te hou. Hierdie oogmerke kan nog nie bereik word nie, gevolglik word die aandag tans hoofsaaklik op chemiese antitranspirante toegespits (Gale en Hagan, 1966; Poljakoff-Mayber en Gale, 1967; Woolley, 1967).

Chemiese antitranspirante verskaf dus 'n alternatiewe metode om waterdampverlies te inhibeer. Blandy (1957) het aanvanklik in sek- en swamdoders aangewend om transpirasie te verminder. Uitgebreide ondersoeke van antitranspirantverbindings is die afgelope dekade onderneem (Zelitch en Waggoner, 1962; Shimshi, 1963; Waggoner et al., 1964; Waggoner en Zelitch, 1965). Antitranspirante, maontlike toksiese effekte daarvan en hul invloed op fotosintese word onder 1.2.8 bespreek.

Dit blyk dus dat elke metode om transpirasie te verminder voor- en nadele het, terwyl elkeen spesifieke gebruike en beperkings het.

#### 1.2.8 Plant-antitranspirante met spesiale verwysing na feniel-merkuri-asetaat

Vir verskeie land- en tuinboupraktyke, bekamping van waterspanning, voorkoming van verouderingsverval in plante en preservering van snyblomme, is 'n vermindering in die tempo van waterverlies deur transpirasie dikwels wenslik, tensy dit nie die algemene metabolisme van die plante, veral die tempo van fotosintese, affekteer nie (Meidner en Mansfield, 1968).

Die doel van antitranspirantaanwending is die beperking van transpirasie deur gedeeltelike stomatale sluiting, maar nie algehele sluiting nie, sodat slegs 'n gedeelte van die verkoelingeffect verlore sal gaan (Meidner en Mansfield, 1968). 'n Ideale antitranspirant se werking moet dus spesifiek tot die sluitselle beperk wees, sodat ongewenste toksiese interaksies met metaboliese sisteme

uitgesluit word (Slatyer en Bierhuizen, 1964). Dit is veral fotosintese en plantgroei wat nadelig beïnvloed kan word (Slatyer en Bierhuizen, 1964; Shimshi, 1963).

Transpirasie en fotosintese deel dieselfde vervoerweë vir diffusie van waterdamp en koolsuurgas. Slatyer en Bierhuizen (1964) het egter eksperimenteel aangetoon dat 'n verhoogde stomatale sluiting onder die invloed van antitranspirante, transpirasie meer as fotosintese sal verminder. Sulke effekte is deur Zelitch en Waggoner (1962) en deur Slatyer en Bierhuizen (1964) vir fenielmerkuri-asetaat as antitranspirant op enkele blare van geringe plante, aangetoon. Stowwe wat dus op die sluitselle funksioneer om die stomata te sluit, inhibeer die transpirasietempo meer as netto-fotosintese. Indien fotosintese in die mesofielselle ook ernstig beïnvloed word deur chemikalieë wat stomata sluit, sal die vermindering van fotosintese meer wees as dié van transpirasie.

Die meeste navorsers gebruik chemikalieë wat spesifiek die stomatale openinge beheer of filmagies wat die blaaroppervlakte bedek. In 1.2.7 is reeds genoem dat bestaande films nie geskik is nie, aangesien die films meer weerstand teen waterdampbeweging as koolsuurgasbeweging bied (Gale en Hagan, 1966). Daar word verder van beide chemikalieë en filmagies verlang om spesifiek op die epidermis te funksioneer om gasdiffusie te beperk, sonder beskadiging van enige meganisme of weerstand binne die blaar (Gale en Hagan, 1966; Wooley, 1967).

baie chemikalieë wat op plante gespuit word, sluit stomata en verminder transpirasie. Sulke effekte was met onkruiddoders, metabolismiese inhibeerders (Stoddard en Miller, 1962; Ventura, 1954) en groeihormone (Bradbury en Ennis, 1952; Davies, Mansfield en Orton, 1978) waargeneem. Sekere groeihormone en verbindings veroorsaak daarenteen vermeerderde transpirasie, soos byvoorbeeld naftaleen-asynsuur op appelbome (Kelley, 1955).

Daar is geringe gegewens oor die effekte van hierdie chemikalieë op ander fisiologiese prosesse en groei. Gevolglik is daar ook baie min literatuur beskikbaar oor aksiemeganismes van chemiese antitranspirante. Volgens Zelitch (1965) kan die chemikalieë in twee groepe verdeel word. Eerstens, chemikalieë wat die metabolismiese reaksies, wat vir die vermeerdering van sluitselturgor verantwoordelik is, affekteer en tweedens, chemikalieë wat membraanpermeabiliteit affekteer. Mansfield (1967) stel 'n derde kategorie voor, naamlik verbindings wat stomatale sluiting veroorsaak waar koolsuurgaskonsentrasies in die intersellulêre ruimtes van blare en in die sluitselle beïnvloed word. Volgens Zelitch (1965) kan stomatale beweging ook soms onder genetiese beheer wees. Davies, Mansfield en Orton (1978) skryf die natuurlike endogene beheer van stomatale beweging grotendeels aan absissiensuur toe.

Navorsers het lank reeds besef dat aangesien sluitselle op die buite-oppervlaktes van blare voorkom, spesifieke stomatale beheer die beste deur bespuitingstegnieke verkry sal word of deur blaarweefsels in oplossings te laat dryf (Zelitch, 1961; Zelitch en

Waggoner, 1962). Chemikalieë wat die sluitselle deur die wortels, stingels of blomstelsel bereik, vergroot die gevaar dat inhibeerders die mesofielselle sowel as die sluitselle mag affekteer (Zelitch, 1965). Navorsers poog verder om antitranspirantverbindings teen die laagste moontlike effektiewe konsentrasies en vir die kortste periodes te gebruik, om inhiberingseffekte tot 'n minimum te beperk (Zelitch, 1965).

Vir die verkryging van doeltreffende antitranspirante en om die meganismes van antitranspirantwerking te verklaar, is 'n voorafgaande kennis van ander faktore wat stomatale bewegings affekteer, essensieel. Hierdie faktore sluit onder andere in, die behoeftes aan fotosintese en lig wat stomatale opening beheer (Zelitch, 1966), suurstofbenodigdhede om moontlike aktiewe stomatale openinge te bewerkstellig (Heath en Orchard, 1956), die toename van stomatale opening met toename in temperatuur (Stalfelt, 1962), sluiting van stomata teen hoë koolsuurgaskonsentrasies in die intersellulêre ruimtes van blare (Mansfield, 1967), die welbekende stysel- en suikerhipotese waar omsetting van suikers na onoplosbare stysel, sluiting van stomata veroorsaak (Heath, 1959; Ketellaper, 1963), die rol van glikolaatoksidasie en -metabolisme tydens stomatale opening (Zelitch, 1965), die rol van kaliumione en mineraaltekorte tydens stomatale sluiting (Meidner en Mansfield, 1968) en ook oorwegings van die unieke stomatale opening in die donkerte wat kenmerkend vir die  $C_4$ -crassula plante is (Nishida, 1963). Al die bogenoemde faktore wat 'n invloed op

stomatale beweging uitoefen, moet dus tydens die bepaling van antitranspirantwerking oorweeg word.

Indien antitranspirantwerking nie spesifiek tot sluitselle beperk word nie, mag die fotosinteseproses en/of ander metaboliese prosesse geaffekteer word. Heath en Orchard (1956) beskrywe stomatale opening as 'n aktiewe proses wat energie benodig vir die handhawing van turgor van sluitselle. Volgens Zelitch (1965) mag ATP die energielever-skaffer vir stomatale opening wees. Sekere antitranspirante affekteer moontlik stomatale beweging deur vermindering van turgor as gevolg van hul effek op metaboliese reaksies, terwyl sommige antitranspirante die permeabiliteit van die plasmamembrane van sluitselle mag verander (Zelitch, 1965). Volgens Zelitch (1965) is die laasgenoemde meganisme op fenielmerkuri-asetaat (PMA) van toepassing. Hierdie verbinding verhoed stomatale opening deur 'n vermeerdering van permeabiliteit van die plasmamembrane van sluitselle te veroorsaak, sodat die sluitselle osmotiese stowwe, water en vervolgens turgor verloor (Zelitch, 1965). Volgens Iljin (1957) kan anorganiese ione ook veranderinge in die struktuur van sluitselmembrane teweegbring.

In hierdie ondersoek is fenielmerkuri-asetaat as antitranspirant aangewend om die doeltreffendheid daarvan op loofblaartranspirasie van P. nerifolia te bepaal. Fenielmerkuri-asetaat was in verskeie ondersoeke aangewend waar gepoog was om transpirasie deur stomatale beheer, te verminder. Volgens Zelitch (1965) vorm dit



moontlik merkaptiedbande met sulfhidriëlgroepe van die proteïene in sluitselmembrane. Dit veroorsaak gevolglik 'n verhoogde permeabiliteit van die membrane en 'n verlies van water en turgor.

Hierdie meganisme is volgens Zelitch (1965) die rede waarom PMA vir omtrent 14 dae effektief is. Volgens Zelitch (1965) is die aksie van PMA dus spesifiek die inhibering van plasmamembrane van sluitselle. Mansfield (1967) beweer dat PMA meer dieperliggend as die sluitselle funksioneer en 'n meganisme anders as dié van Zelitch (1965) word vir PMA voorgestel. Volgens Mansfield (1967) inhibeer PMA fotosintetiese koolsuurgasopname, wat lei tot 'n vermeerdering van die koolsuurgaskonsentrasie in die blaar en gevolglike stomatale sluiting.

Indien PMA meer dieperliggend as die sluitselle funksioneer, kan dit moontlik toksies vir die plant wees. Volgens Shimshi (1963) kan selfs 'n benattingsmiddel tydens bespuiting of doping gevaarlik wees, omdat dit moontlik kan veroorsaak dat PMA-bespuiting deur die stomata tot in die mesofiel dring. Zelitch (1965) het toksiese effekte van PMA-behandelings by gars- en eikeblare gevind. Nozaki, Tagawi en Arnon (1961) het aangetoon dat PMA nie-sikliese fosforilasie heeltemal in kromatofore van Rhodospirillum rubrum teen 'n konsentrasie van  $1 \times 10^{-4}$  M inhibeer, terwyl sikliese fosforilasie slegs gedeeltelik teen hierdie konsentrasie beïnvloed was. Volgens Shimshi (1963) is PMA geredelik immobiel en bespuitings is in meeste gevalle tot die sluitselle beperk. Verskeie navorsers beskou PMA as een van die uitsonderlike antitranspirante wat fotosin-

tese minder as transpirasie beïnvloed (Shimshi, 1963; Slatyer en Bierhuizen, 1964; Gale en Hagan, 1966; Zelitch, 1965). Die meeste ander effektiewe antitranspirante veroorsaak 'n groter nadelige effek as PMA op fotosintese (Slatyer en Bierhuizen, 1964).

Materiale wat al aangewend was as filmvormende lagies op blare om transpirasie te beperk, is veral van twee tipes, naamlik materiale wat dun films vorm en materiale wat relatief dik films vorm (Gale en Hagan, 1966). Eersgenoemde sluit onder andere die hoër alkohole soos heksadekanol en ook silikonverbindings in (Gale en Hagan, 1966). Materiale wat dik films vorm is onder andere plastiese materiale soos poli-etileen en bepaalde tipe van was-emulsies (Gale en Hagan, 1966). In die algemeen is gevind dat filmvormende materiale fotosintese meer inhibeer as transpirasie as gevolg van redes wat alreeds vooraf genoem is.

#### 1.2.9 Endogene fisiologiese meganismes van plante om oormatige waterverlies te verhoed

As 'n blaar sy ontwikkeling voltooi het, kan waterdampverlies slegs deur stomatale bewegings beheer word (Davies et al., 1978). Volgens Davies et al. (1978) is die spoedige reaksies van stomata op die lugomgewingsfaktore, die eerste primêre meganismes om spanning te verhoed. Stomata reageer snel op veranderinge in atmosferiese waterdamp en koolsuurgaskonsentrasie (Davies et al., 1978). Reaksies op waterdampdruktekorte is in 'n groot variasie van spesies gevind, en sodanige reaksies is beide vinnig en omkeer-

baar (Davies en Kozlowski, 1974; Hall en Kaufmann, 1975; Jarvis et al., 1976; Lange, 1971). Die stomata tree dus as humiditeitsensore op wat in staat is om blare teen uitermatige waterverlies tydens droë omstandighede te beskerm. Dit is ook lank bekend dat stomata tydens klein toenames in koolsuurgaskonsentrasie in die sub-stomatale ruimtes sluit (Mansfield, 1967).

Die tweede fisiologiese verdedigingsmeganisme teen ontwikkeling van waterspanning, berus op die deelname van die sogenaamde spanningshormone, waarvan absissiensuur die belangrikste is (Jones en Mansfield, 1970; Davies et al., 1978). Die vorming van absissiensuur (ABA) in koringblare tydens waterspanning, is eerste deur Wright (1969) en Wright en Hiron (1969) gevind. Die styging in ABA tydens waterspanning veroorsaak stomatale sluiting. Selfs eksogene toedienings van ABA op plante induseer stomatale sluiting (Davies et al., 1978). Volgens Davies et al. (1978) beïnvloed dit moontlik sluitselle direk, aangesien stomata van geïsoleerde epidermale selle ook beïnvloed kan word. Alhoewel die effekte van ABA op stomata aanvaar word, is die presiese aksiemeganisme daarvan nog nie heeltemal duidelik nie. Stomatatale sluiting as 'n reaksie op dalinge in waterpotensiaal, kan egter plaasvind voordat die vlak van ABA in die weefsel noemenswaardig gestyg het (Beardsel en Cohen, 1975). 'n Aantal uiteenlopende redes word hiervoor aangegee.

Die nagevolge van 'n waterspanning op stomata is lank reeds bekend. Baie mesofiete, selfs wanneer hulle vol turgor herwin het, besit nog verminderde stomatale opening vir ten minste 'n aantal dae, of

selfs vir 'n paar weke (Allaway en Mansfield, 1970; Fisher, 1970). Tans is daar min twyfel dat hierdie verlengde effek die gevolg is van die akkumulاسie van ABA in die blare (Davies et al., 1978). Selfs eksogene toediening van ABA kan die akkumulاسie van endogene ABA simuleer en 'n vermindering van stomatale opening vir 'n week of meer, bewerkstellig (Jones en Mansfield, 1970).

Biddington en Thomas (1978) het sintetiese sitokiniene aangewend en gevind dat hierdie sintetiese stowwe veroudering vertraag maar transpirasie vermeerder en wel in 'n meerdere mate as die natuurlike sitokiniene. Hulle het verder gevind dat sitokiniene transpirasie slegs in die lig kan vermeerder. Geen effek was in die donkerte waargeneem nie.

Die moontlikheid van hormonale beheer van stomatale bewegings is van groot belang. Dit mag lig werp op onbekende aspekte van stomatale gedrag, soos die oordrag van stimuli. Volgens Jones en Mansfield (1970) is dit moontlik dat stomatale bewegings wel tot 'n mate deur veranderinge in die balans tussen sitokiniene en abisisiensuur of verwante verbindings gereguleer word. Die bevindinge gee ook verdere aanmoediging vir die idee dat natuurlike verbindings in die plant, of verwante sintetiese verbindings moontlik in die toekoms as antitranspirante aangewend kan word (Jones en Mansfield, 1970; Davies et al., 1978). Sodanige verbindings sal dan ook meer bevredigend wees as die fitotoksiese chemikalieë wat tans as antitranspirante aangewend word.

### 1.2.10 Hipotese

Hierdie ondersoek is onderneem om vas te stel of fenielmerkuri-asetaat (PMA) doeltreffend as voorkomingsmiddel vir loofblaarverbruining by P. neriifolia aangewend kan word. Volgens De Swardt (1977) en Mulder (1977) is daar veral twee primêre faktore by die verkleuring van loofblare van P. neriifolia betrokke, naamlik die leuko-antosianiene en vogverlies deur die blare deur transpirasie. Die leuko-antosianiene kom in die blaarnerwe en stingelbas in tannienidioblaste voor (Mulder, 1977; Jansen, 1977). Tydens transpirasie verloor die mesofiëlselle wat die nerwe in die blare omring, vinniger water as die selle wat die leuko-antosianiene bevat. Water plus leuko-antosianiene word dan vanaf die blaarnerwe en stingelbas uit die tannienidioblaste na die mesofiëlselle as gevolg van 'n gunstige waterpotensiaalgradiënt getrek (De Swardt, 1977; Mulder, 1977). Die leuko-antosianiene met 'n effektiewe proteïenbindingskapasiteit reageer met die ensieme. Die normale metaboliese reaksies word sodoende versteur en die leuko-antosianiene word vervolgens deur ensieme geoksideer en verbruining tree in (De Swardt, 1977; Mulder, 1977). Die inisiele transpirasie stimuleer dus die verbruiningsreaksies. Die vogverlies verhoog moontlik die permeabiliteit van selmembrane en bring gevolglik dekompartementasie mee (Mulder, 1977).

Die hoofdoel van hierdie ondersoek is om transpirasie van loofblare van P. neriifolia te verminder deur aanwending van PMA as anti-transpirant. Daar word hier ook ondersoek of PMA as 'n tannienbinder

funksioneer om sodoende die leuko-antosianiene wat verbruining veroorsaak, neer te slaan. Die moontlikheid of PMA met verskillende proteïene (ensieme) bind, word hier ook ondersoek. Daar word verder ondersoek of PMA onderdrukking van metaboliese prosesse bewerkstellig om sodoende reserwe voedingstowwe langer in snyblomme te behou. Moontlike funksies van PMA word ook in rekening gehou. PMA word verder in hierdie ondersoek teen verskillende konsentrasies aangewend om die doeltreffendste konsentrasie vir elke tipe ondersoek te bepaal. PMA is dus 'n moontlike voorkomingsmiddel vir loofblaarverbruining by P. nerifolia as gevolg van bogenoemde aspekte.



## 2. MATERIAAL EN METODEDES

### 2.1 Bron, keuse en voorbereiding van plantmateriaal

Blomme (bloeiwyse aan bloeistele) van Protea neriifolia R.Br. is vanaf 'n proteakweker te Hekpoort, distrik Krugersdorp, verkry. Om 'n redelike na-plukleef tyd te verseker, is die blomme by die sogenaamde sagtepunt stadium gepluk wanneer die skutblare net van die bloeiwyse begin losgaan. Slegs lang reguit bloeistele sonder sylote is geselekteer. Die bloeistele het drie tot vier op-eenvolgende groeistreke op elke stingel gehad, omdat daar verskillende periodes van vegetatiewe groei tydens 'n groeiseisoen voorkom. Bloeiwyse met homogene kleure en bloeistele met gesonde normale loofblare is geselekteer. Daar is veral op uniforme groottes van loofblare en afwesigheid van letsels, siektes en wonde gelet. Die jong blaartjies direk onder die hofie is met behulp van 'n skêr verwyder. Die ouer blare aan die onderpunt van die bloeisteel is op kommersiële manier met die hand gestroop, terwyl voorsorg getref is om die minimum wonde te veroorsaak. Die oortollige blare is met 'n skêr teenaan die stingel afgeaans, terwyl slegs twintig gesonde, volwasse blare op die bloeisteel gelaat is. Die totale lengte van die bloeiwyse en bloeisteel was 50 cm in alle gevalle. Die blomme is altyd tydens die vroeë oggend gepluk en is binne ongeveer drie uur na pluk vir 'n spesifieke eksperimentele doel voorberei of in 'n houer met kraanwater geplaas. Tensy anders vermeld, is al die eksperimente in 'n vertrek met lugreëling met normale dag- en naglengte tydens die bepaalde tyd van die jaar

uitgevoer. Geen direkte sonlig het die vertrek bereik nie en dag- en nagtemperature het tussen 18 en 22<sup>o</sup>C gewissel. In hierdie verhandeling verwys die term „blom" na bloeiwyses wat op bloeistele gedra word.

## 2.2 Anatomiese ondersoeke

Die volgende plantmateriaal is vir die anatomiese ondersoeke geselekteer:

- (i) Normale onverbruinde blare;
- (ii) 'n Stingelgedeelte net onder die groeipunt.

Die geselekteerde blaar- en stingelmonsters is onmiddellik in form-aset-alkohol (F.A.A.) (Johansen, 1940) of Craff III (Sass, 1958) gefikseer. Die materiaal is hierna gedehidreer deur dit op-eenvolgend in 10, 20, 30, 40 en 50% etanol en daarna in toenemende konsentrasies (tot 100%) tersiêre butielalkohol te plaas (T.B.A.-metode van Gray, 1958). Vir impregnering van die weefselmonsters, is van „Tissuemat"-was met 'n smeltpunt van 55<sup>o</sup>C, gebruik gemaak. Mikrotomsneë van 12 tot 14  $\mu$ m dikte is vir die dwarsdeursneë van blare en stingels gemaak. Net voor die mikroskopiese ondersoeke is die sneë op mikroskoopplaatjies gemonteer en met safranien en vaste groen gekleur.



## 2.3 Invloed van fenielmerkuri-asetaat op die massa van individuele loofblare

### 2.3.1 Behandelings en keuse van blaarmonsters

Die behandelings was soos volg:

- (i) Gedefoniseerde water (kontrole);
- (ii) Fenielmerkuri-asetaat (PMA) (0,8 mg/l gedefoniseerde water);
- (iii) 8-Hidroksiekinoleensulfaat (8-HQS) (50 mg/l gedefoniseerde water);
- (iv) 'n Mengsel bestaande uit 0,8 mg PMA & 50 mg 8-HQS per liter gedefoniseerde water.

Verteenwoordigende blaarmonsters vir elke behandeling is van tien verskillende plante verkry. Een tak per plant is afgesny en is sodanig geselekteer dat die meeste loofblare daaraan van ongeveer dieselfde grootte was. Van elke takkie is vier gesonde loofblare van ongeveer gelyke massa, met 'n skerp skêr teen die stingeloppervlakke afgesny. Onmiddellik nadat die blare afgesny is, is elke individuele blaar se massa bepaal en direk hierna is die blare afsonderlik in 25 ml-glasbekertjies met die betrokke medium geplaas. Tien bekere (herhalings) is dus vir elke behandeling gebruik. Elke behandeling het een blaar van elke takkie, elk in tien afsonderlike bekere, bevat. Die blare is regop in die 25 ml-bekertjies geplaas sodat die blaarbasisse op die bodem gerus het. Gelyke volumes (20 ml) van die spesifieke oplossings is by die onderskeie bekere gevoeg sodat ongeveer 15 mm van die blaarbasisse bedek was.

### 2.3.2 Ekperimentele ondersoeke

Tydens ondersoeke is die massa van elke blaar daaglik op 'n geseette tyd bepaal en die massaveranderinge (bereken vanaf die oorspronklike massa) was vervolgens bereken. Voor massabepalings is die blaarbasisse met absorberende papier gedroog. Direk na die massabepaling is elke blaar in die betrokke beker teruggeplaas. Hierna is die medium in elke beker tot die oorspronklike merk opgevul. Die bekere met die blare is daarna in 'n groeikabinet by  $24^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) en 50% relatiewe humiditeit geplaas.

### 2.4 Invloed van verskillende behandelings op die respirasietempo's van individuele blare

#### 2.4.1 Keuse en voorbereiding van blaarmonsters

Die behandelings was dieselfde soos onder 2.3.1 uiteengesit is. Vyf plante is geselekteer en een takkie per plant is afgesny. Elke takkie is sodanig gekies dat dit ten minste tien gesonde loofblare, van ongeveer dieselfde grootte, gehad het. Nadat die takkies met blare vir ongeveer 20 uur in water gestaan het, is vier blare van elke takkie geselekteer en met 'n skerp skêr teen die stingel afgesny. Elke behandeling het vyf blare, afkomstig van die vyf verskillende plante, bevat. Die blare is individueel in 20 verskillende bekertjies geplaas. Vir elk van die vier behandelings is dus vyf blare geselekteer, dit wil sê een blaar van elke tak. Vyf herhalings per behandeling is dus gebruik. Die beker met blare is vervolgens

in 'n groeikabinet by  $24^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) en 50% relatiewe humiditeit geplaas, waar dit vir die volle tydsduur van die respirasieproef gelaat is.

#### 2.4.2 Bepaling van die respirasietempo

Die respirasietempo's van die individuele blare is elke tweede of derde dag, op gesette tye, met behulp van 'n Gilson-respirasiemeter bepaal. Die massa van elke blaar is voor respirasiemeting noukeurig tot vier desimale syfers bepaal, nadat die blaarbasis met absorberende papier gedroog was. Die hele blaar is hierna versigtig in 'n Gilson-flessie geplaas. Vir koolsuurgasabsorpsie is 0,2 ml 20% KOH in die sentrale kompartement van die flessie gepipetteer. Die flessie is daarna aan 'n Gilson-respirasiemeter gekoppel. 'n Ekwilibrasieperiode van 20 minute is toegelaat en daarna is die respirasietempo oor 'n periode van 30 minute bepaal, terwyl die temperatuur konstant by  $24^{\circ}\text{C}$  gehou is. Die blare is vervolgens versigtig uit die flessies gehaal en weer in die oorspronklike oplossings geplaas vir verdere absorpsie van die verskillende oplossings vir latere respirasiemetings.

#### 2.5 Die invloed van PMA en 8-HQS op proteablomme (bloeiwyse aan bloeistele)

##### 2.5.1 Keuse en voorbereiding van eksperimentele materiaal

Vanaf vyf verskillende plante is elk vier blomme met 'n skerp snoei-skêr afgeknip. Beskadiging van die bas by die snoeiwond is tot 'n

minimum beperk. Die bloeiwyse is sodanig geselekteer dat die vorm, blomootheid, kleur en grootte sover moontlik dieselfde was. Die blomme is oornag in 'n houer met water geplaas en die volgende dag (24 uur na pluk) vir eksperimentering voorberei. Die klein blaartjies direk onder die bloeiwyse is met 'n skerp skêr weggeknipt en 20 ewe groot, gesonde, onverbruinde blare is net onder die blomknop aan die boonste gedeelte van die bloeisteel gelaat. Hierna is die bloeisteel ongeveer 50 cm vanaf die bopunt van die blomknop, diagonaal afgeknipt. Ongeveer 2 cm van die stingelbasisse is net voor plasing in die verskillende media, afgesny.

#### 2.5.2 Invloed van PMA en 8-HQS op die massaveranderinge van blomme

Die volgende behandelings was toegepas:

- (i) Gedefoniseerde water (kontrole);
- (ii) PMA (0,8 mg/l gedefoniseerde water);
- (iii) 8-HQS (50 mg/l gedefoniseerde water);
- (iv) 'n Mengsel bestaande uit 0,8 mg PMA & 50 mg 8-HQS per liter gedefoniseerde water.

Die blomme was geselekteer soos in 2.5.1 uiteengesit is. Vier blomme elk was van vyf verskillende plante geselekteer. Die 20 blomme is tussen vier houers op so 'n wyse verdeel dat elke houer se vyf blomme een blom van elke plant ingesluit het. In elke houer is 1500 ml van die bepaalde medium gevoeg. Die totale massa van die vyf blomme bestem vir elke behandeling, is bepaal, alvorens dit in die bepaalde medium geplaas is. Daarna is die massas elke tweede of

derde dag op gesette tye geneem. Die persentasie massaveranderinge is vervolgens bereken. Terselfdertyd was die oopheid van blomknoppe, mate van verbruining van loofblare, persentasie transmittansie van vaasmedia en vogopname soos in 2.5.3 tot 2.5.6 uiteengesit word, bepaal.

### 2.5.3 Oopheid van blomknoppe

Die oopheid van die blomme (bloeiwyse) is bepaal deur die omtrekke daarvan, ongeveer 2cm, vanaf die bopunt van die skutblare, te meet. Dit is tydens dieselfde tyd as die massabepalings uitgevoer.

### 2.5.4 Bepaling van die mate van loofblaarverbruining

'n Puntestelsel is gebruik om die mate van verbruining van die 20 loofblare aan elke bloeisteel te bepaal. Die bepunting was soos volg: Een punt vir 'n gesonde onverbruinde blaar, 2 punte vir 'n minder as 25% verbruinde blaar en 3 punte vir 'n meer as 25% verbruinde blaar. Vir 'n bloeisteel waarvan al die blare verbruin het, is dus 60 punte toegeken. Die mate van loofblaarverbruining van die bloeistele in verskillende media is elke tweede of derde dag, na massabepalings, genoteer.

### 2.5.5 Persentasie transmittansie van vaasmedia

Voordat die flesse met die behandelings soos genoem in 2.5.2 op spesifieke dae tot die 1500 ml-merk opgevul is, is die vaasmedium eers goed gemeng alvorens 10 ml monsters vir die bepaling van die

persentasie transmittansie geneem is. Die monsters is vir 15 minute teen  $10\ 000 \times g$  in 'n voorafverkoelde sentrifuge gesentri-fugeer. Die bo-vloeistowwe is in skoon buisies gedekanteer en die persentasies transmittansie daarvan by 'n golflengte van 420 nm ge-meet. Dit is die maksimum absorpsiewaarde van uitgeloogde flavonofie-de uit proteastingels in gedefoniseerde water. Hierna is die 10 ml-monsters terug by hul onderskeie vaasmedia gevoeg.

#### 2.5.6 Totale vogopname van proteablomme

Oplossings in flesse is tydens elke ondersoek tot by die oorspronk-lyke 1 500 ml-merk opgevul en die volume wat deur die blomme op-geneem was, is genoteer.

### 2.6 Die invloed van verskillende PMA-konsentrasies op protealoof-blare en -blomme

#### 2.6.1 Keuse en voorbereiding van materiaal

Die behandelings was soos volg:

- (i) Gedefoniseerde water (kontrole);
- (ii) PMA (0,4 mg/l gedefoniseerde water);
- (iii) PMA (0,04 mg/l gedefoniseerde water);
- (iv) PMA (0,004 mg/l gedefoniseerde water);
- (v) PMA (0,0004 mg/l gedefoniseerde water).

Die blomme was geselekteer soos onder 2.5.1 uiteengesit is. Die

blomme is in die oggend gepluk en ongeveer 3 uur na pluk vir eksperimentering voorberei. Vyf blomme was van vyf verskillende plante geselekteer. Die 25 blomme is sodanig verdeel dat elke houer vyf blomme, een van elke plant, bevat het. In elke houer is 1 500 ml van die bepaalde medium gevoeg.

### 2.6.2 Eksperimentele ondersoeke

Eksperimentele ondersoeke is elke tweede of derde dag op gesette tye bepaal. Massa, oopheid van blomknoppe, persentasie transmittansie van vaasmedia, vogopname en die graad van loofblaarverbruining is bepaal soos onder 2.5.2 tot 2.5.6 uiteengesit is.

## 2.7 Invloed van PMA-doping en -bespuiting op die massaveranderinge van individuele loofblare

### 2.7.1 Behandelings, keuse en voorbereiding van materiaal

Die behandelings was soos volg:

- (i) Doping in gedefoniseerde water;
- (ii) Blare sonder doping;
- (iii) PMA-doping (4 mg/l gedefoniseerde water);
- (iv) PMA-doping (40 mg/l gedefoniseerde water);
- (v) PMA-bespuiting (4 mg/l gedefoniseerde water).

Eksperimentele materiaal is drie uur na pluk vir eksperimentering voorberei. Die blaarmonsters was op dieselfde wyse soos in 2.3.1 beskryf is, geselekteer. Drie takkies van verskillende plante is

geselekteer. Vir elk van die behandelings was drie blare geselekteer, dit wil sê, een blaar van elke tak.

### 2.7.2 Doping en bespuiting van loofblare en bepaling van massa-verandering

Die massa van die drie blare van 'n behandeling is gesamentlik bepaal, waarna doping en bespuiting toegepas is. Drie 250 ml-bekers is elk ongeveer die helfte van hul volume met die oplossings wat vir doping bestem was, gevul. Die drie blare van 'n bepaalde behandeling is elk afsonderlik in die bepaalde oplossing gedoop deur die blaar vir 15 sekondes in die oplossing te dompel. Die blare is daarna op 'n werksbank gelaat om droog te word. Hierna is die blare in droë 50 ml-bekers geplaas en oornag in 'n groesikabinet by  $24^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) en 50% relatiewe humiditeit gelaat. Die drie blare van 'n behandeling se massas is die volgende dag, 18 uur na doping, gesamentlik bepaal en die persentasie massaverlies vervolgens bereken. Een van die behandelings is nie gedoop of bespuit nie, terwyl 'n ander behandeling bespuit in plaas van gedoop is. Bespuitings is met 'n fyn sproeier in 'n dampkas uitgevoer. Albei oppervlaktes van 'n blaar is bespuit en gelaat om droog te word. Dopings en bespuitings is slegs een keer met die aanvang van die eksperiment aangewend.

### 2.8 Invloed van PMA-bespuitings van verskillende konsentrasies op individuele loofblare



### 2.8.1 Invloed van PMA-besputings op die massaveranderinge van individuele blare

Die behandelings was soos volg:

- (i) Kontrole (geen besputing);
- (ii) Gedefoniseerde water;
- (iii) PMA (0,4 mg/l gedefoniseerde water);
- (iv) PMA (4 mg/l gedefoniseerde water);
- (v) PMA (40 mg/l gedefoniseerde water).

Die blaarmonsters is op 'n soortgelyke wyse as onder 2.3.1 uiteengesit, geselekteer. Verteenwoordigende blaarmonsters vir elke behandeling is van tien takke van verskillende plante verkry.

Vyf blare is van tien verskillende takke, geselekteer. Die vyftig blare is sodanig verdeel dat elke behandeling tien blare, een aan elke plant, bevat het. Die tien blare van elke behandeling is vir die duur van die eksperiment in tien afsonderlike droë 25 ml-bekertjies geplaas. Die blare is bespuit soos in 2.7.3 uiteengesit is. Besputings is slegs een keer met die aanvang van die eksperiment uitgevoer. Die afsonderlike massas van die tien blare van 'n behandeling was direk voor besputing bepaal en daarna elke dag op 'n gesette tyd. Die persentasie massaveranderinge (bereken vanaf die oorspronklike massa) is daarna bereken.

### 2.9 Invloed van PMA-besputings van verskillende konsentrasies op proteablomme (bloeiwyses & bloeistele)

### 2.9.1 Invloed van PMA-besputings op die massaveranderinge van proteablomme

Besputings was met die volgende uitgevoer:

- (i) Gedefoniseerde water (kontrole);
- (ii) PMA (0,4 mg/l gedefoniseerde water);
- (iii) PMA (4 mg/l gedefoniseerde water).

Die blomme is op 'n soortgelyke wyse soos onder 2.5.1 uiteengesit is, geselekteer. Drie blomme elk was van vyf verskillende plante geselekteer. Die vyftien blomme is tussen die drie behandelings op so 'n wyse verdeel dat elke behandeling se vyf blomme een blom van elke plant ingesluit het. Elke behandeling het een blom van elke plant in vyf verskillende houers, bevat. Vyf houers (herhalings) is dus vir elke behandeling gebruik. Die bloeistele waaraan 20 blare gelaat was, is soos in 2.7.2 uiteengesit is, met gedefoniseerde water en PMA onder druk met 'n fyn sproeier bespuit. Die besputings was elke dag of tweede dag op gesette tye behandel. Vir die duur van die eksperiment was die bespuite blomme in flesses met 800 ml gedefoniseerde water gehou. Die flesses was elke tweede dag tot die oorspronklike merk opgevol. Die gesamentlike massa van die vyf blomme was direk voor die inisiele besputing bepaal. Massabepalings is daarna elke dag of tweede dag op gesette tye uitgevoer. Die persentasie massaveranderinge is daarna bereken. Loofblaarverbruining is op gesette tye na massabepalings ondersoek, terwyl die graad van verbruining soos onder 2.5.4 uiteengesit word, bepaal is.

2.10 Invloed van PMA-besputings op proteablomme (nie in vaas=medium na besputing gelaat nie)

2.10.1 Invloed van PMA-besputings op die massaveranderinge van proteablomme

Die behandelings was soos volg:

- (i) Kontrole (geen besputing);
- (ii) Gedefoniseerde water;
- (iii) PMA (0,4 mg/l gedefoniseerde water);
- (iv) PMA (4 mg/l gedefoniseerde water).

Die blomme is op 'n soortgelyke wyse as onder 2.5.1 uiteengesit is, geselekteer. Vier blomme elk was van vyf verskillende plante geselekteer. Die 20 blomme is tussen die vier behandelings op so 'n wyse verdeel dat elke behandeling se vyf blomme een blom van elke plant ingesluit het. Elke behandeling het een blom van elke plant in vyf afsonderlike houers, bevat. Vyf houers (herhalings) is dus vir elke behandeling gebruik. Die bloeiwyses waaraan 20 blare gelaat was, is met gedefoniseerde water en PMA onder druk met 'n fyn sproeier besput. Die besputings was elke dag of tweede dag op gesette tye herhaal. Vir die duur van die eksperiment was die bespute blomme in flesses sonder vaasmedia gehou. Die gesamentlike massa van die vyf blomme van 'n behandeling was direk voor die inisiele besputing bepaal. Die blomme was slegs een keer met die aanvang van die eksperiment besput. Massabepalings is elke dag of tweede dag op gesette tye uitgevoer. Die graad van loofblaar=

verbruining is elke dag of tweede dag, soos onder 2.5.4 aangedui word, bepaal.

## 2.11 Infiltrering van loofblare met PMA teen 'n drukgradiënt

### 2.11.1 Materiaal en eksperimentele prosedure

'n PMA-oplossing van 4 mg PMA/l gedefoniseerde water is deurgaans vir die bepaalde PMA-behandelings aangewend. Agt handelings is soos volg uitgevoer:

- (i) Doop blare in water (geen infiltrering nie);
- (ii) Doop blare in PMA (geen infiltrering nie);
- (iii) Blare gefinfiltreer vir 2 minute (in water);
- (iv) Blare gefinfiltreer vir 2 minute (in PMA);
- (v) Blare gefinfiltreer vir 5 minute (in water);
- (vi) Blare gefinfiltreer vir 5 minute (in PMA);
- (vii) Blare gefinfiltreer vir 15 minute (in water);
- (viii) Blare gefinfiltreer vir 15 minute (in PMA).

Die blare is op 'n soortgelyke wyse soos onder 2.3.1 uiteengesit is, geselekteer. Een tak elk van tien verskillende plante was geselekteer en agt blare per tak was afgesny. Die blare was horisontaal in ses verskillende groot plat petribakke geplaas, sodat elkeen tien blare (een van elke tak) bevat het. Die tien loofblare in elke houer se gesamentlike massa was telkens voor infiltrasie geneem. Die massa is weer geneem nadat die blare teen 'n drukgradiënt (by 50 Kpa) gefinfiltreer en gedroog was. Die groepe van tien blare is daarna in bekere sonder medium geplaas, terwyl die massas op

gesette tye geneem is om die tempo van massaveranderinge te bepaal.

## 2.12 Bepaling van die bindingskapasiteit van fenielmerkuri-asetaat met geëkstraheerde flavonofiede en bepaling van leuko-antosianiene in presipitate

### 2.12.1 Materiaal en eksperimentele prosedure

'n Bloeiasteel wat na pluk vir twee dae in gedefoniseerde water gestaan het, is vir eksperimentering aangewend. Twee gram bas is vanaf 'n stingel verwyder en is in fyn stukkie opgesny. Die fyn stukkie bas is in 'n homogeniseringsfles oorgeplaas en hierby is 120 ml 80% metanol gevoeg. Die materiaal is vir 5 minute met 'n Virtis S23 homogeniseerder teen volspoed gehomogeniseer. Die homogenaat is deur 'n sinterglastregter gefiltreer en is daarna tot 'n volume van ongeveer 20 ml ingedamp. Hierdie 20 ml ekstrak is weer deur 'n sinterglastregter gefiltreer en tot 'n volume van 250 ml opgemaak. Hierdie finale filtraat het die flavonofedekstrak verteenwoordig.

'n PMA-oplossing van 40 dpm (40 mg PMA/1 gedefoniseerde water) is berei. In tien voorafgenommerde buise is elk 2 ml van die flavonofedekstrak gevoeg. Opeenvolgende toenemende volumes PMA is by die flavonofedekstrakte in elke buis geplaas. Buis nommer 1 was die kontrole wat geen PMA bevat het nie. Die ander buise het onder-

skeidelik 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0 en 5,0 ml PMA bevat. Hierdie volumes het onderskeidelik 0,02, 0,04, 0,06, 0,08, 0,10, 0,12, 0,14, 0,16 en 0,20 mg PMA verteenwoordig. Die volumes in elke buis is met behulp van gedefoniseerde water tot 'n totale volume van 7 ml opgemaak. Die buise is oornag vir 24 uur vir volledige presipitasie gelaat. Die buise is daarna teen 10 000 x g vir 15 minute gesentrifugeer. Die bo-vloeistowwe is versigtig gedekanteer en 5 ml leuko-antosianienreagens (25 ml gekonsentreerde soutsuur verdun tot 500 ml met n-butanol) is by die neerslag in elke buis gevoeg (Swain en Hillis, 1959). Elke buis is dig met 'n prop verseël, geskud en vir 40 minute in 'n kokende waterbad by 95°C geplaas. Na afkoeling tot kamertemperatuur is die optiese digtheid van die oplossings met 'n Spectronic 20 kolorimeter by 'n golflengte van 550 nm bepaal.

Optiese digtheid van die helder bo-vloeistowwe van elke monster, is met 'n Spectronic 20 kolorimeter by 'n golflengte van 450 nm bepaal. Die golflengte van 450 nm stem ongeveer ooreen met die maksimum absorpsie van bo-vloeistowwe, soos verkry vanaf absorpsiespektra.

## 2.13 Bepaling van die bindingskapasiteit van fenielmerkuri-asetaat met verskillende proteïene

### 2.13.1 Materiaal

Die proteïenoplossings is afsonderlik teen 'n konsentrasie van 3 mg/ml

gedefoniseerde water met die volgende proteïene berei:

- (i) Albumien (BSA);
- (ii) Ribonuklease;
- (iii) Lipase;
- (iv) Lisosiem;
- (v) Alkoholdehidrogenase.

### 2.13.2 Ekperimentele metode

'n PMA-oplossing met 'n konsentrasie van 40 mg PMA/100 ml gedefoniseerde water is berei. In afsonderlike buise is 3 ml (9 mg proteïen) van elke proteïenoplossing gevoeg. daarna is 3 ml PMA-oplossing (0,12 mg PMA) by elkeen gevoeg en goed geskud. Die mengsels is oornag vir 24 uur gelaat en is daarna vir 1 uur teen 10 000 x g gesentrifugeer. Van die b-vloeistof is 0,5 ml vir 'n proteïenbepaling, volgens die Folin-Ciocalteu metode (Lowry et al., 1951) gebruik. Die kontrole het 0,5 ml gedefoniseerde water bevat. Die absorbansies is teen 'n golflengte van 660 nm met 'n Spectronic 20 kolorimeter bepaal. Proteïenkonsentrasies is vanaf 'n standaardkurwe in terme van albumien (BSA) bepaal. Die proteïenkonsentrasies in die bo-vloeistowwe dui die proteïenfraksie aan wat nie met PMA gebind het nie.

### 3. RESULTATE

#### 3.1 Anatomiese ondersoek

Die algemene anatomiese struktuur van die blaar en stingel, asook die ligging en verspreiding van tanniene in blare en stingels van Protea neriifolia word in plate I tot III aangedui.

#### 3.2 Invloed van PMA en 8-HQS op die massaveranderinge van individuele blare

Die eksperimentele prosedure is onder 2.3.1 en 2.3.2 uiteengesit. Die massaveranderinge word in figuur 1 aangedui. Die blaarmassas van al die behandelings, behalwe dié van die kontrole waar slegs gedefoniseerde water toegedien is, het tot op die tiende dag 'n geleidelike toename getoon. Die kontrole se blaarmassas het aanvanklik tydens die eerste drie dae toegeneem, waarna 'n skerp afname tot 'n minimum op die vyfde dag voorgekom het. Na die vyfde dag het 'n opmerklike skerp styging tot op die agste dag plaasgevind, gevolg deur 'n geleidelike toename tot op die elfde dag. Die blare wat met PMA behandel was, het slegs vir die eerste twee dae 'n hoër massatoename as die blare van die ander behandelings gelewer. Die 8-HQS behandeling het na die vyfde dag deurgaans die grootste toename in massa gelewer, gevolg deur die blare wat onderskeidelik met die mengsel, PMA en kontrole behandel was. Die blare wat met die mengsel en PMA behandel was, het vanaf die tiende tot die elfde dag 'n geringe daling in massa getoon. Die kontrole se blaarmassas het tydens die volle verloop van die eksperiment die laagste waardes verteenwoordig.



**Plaat I : Dwarsdeursnee van 'n blaar van Protea neriifolia**

- a. Lae vergroting
- b. Hoë vergroting

**Sleutel : P - palisade**

**SP - sponsparenchiem**

**V - vaatbondel van die hoofaar**

**S - sklerenchiem**

**F - floëem**

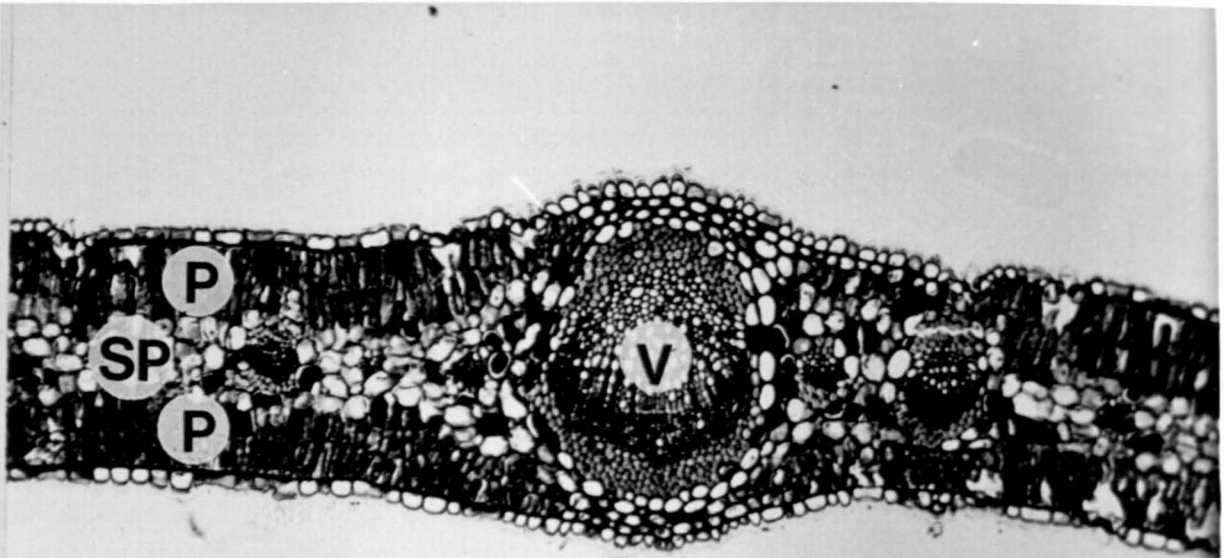
**T - tanniensel**

**X - xileem**

**KU - kutikula**



UNIVERSITY  
OF  
JOHANNESBURG



(a)



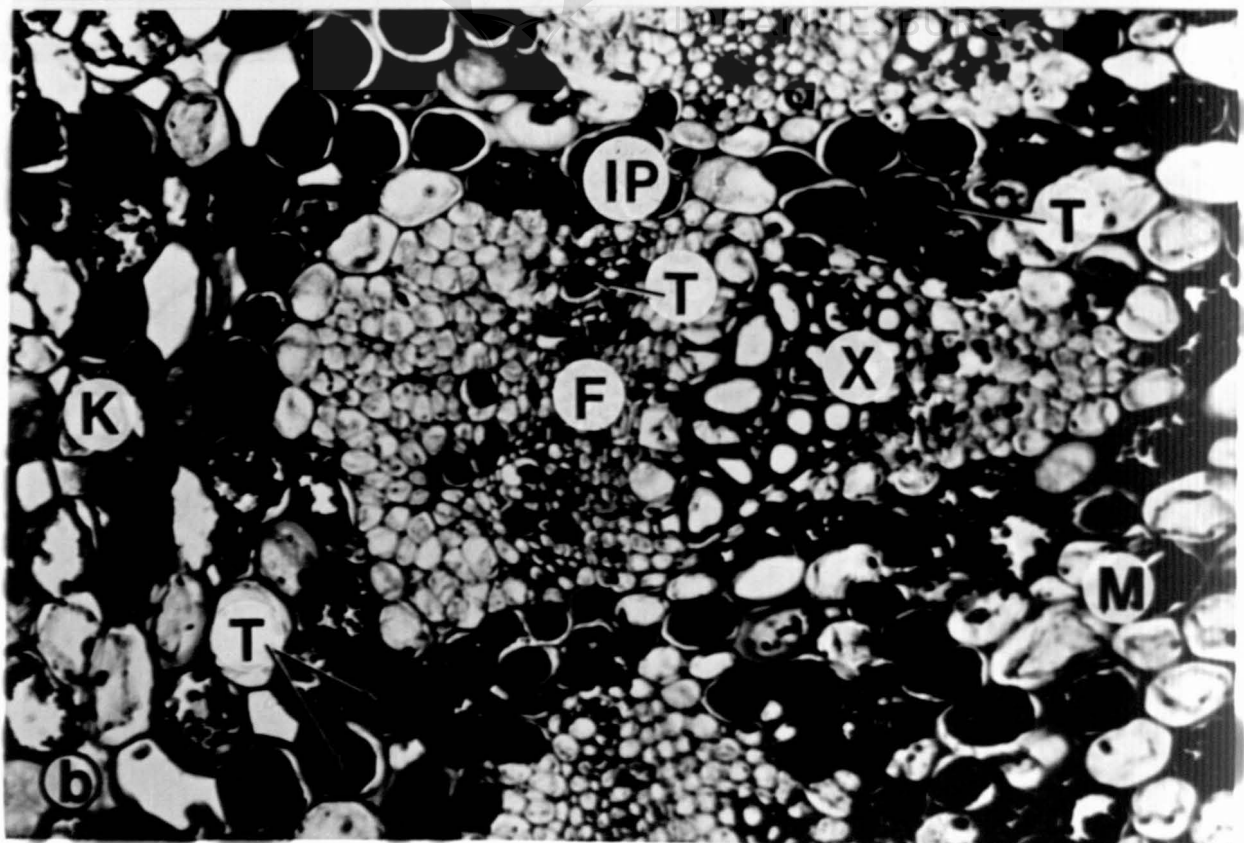
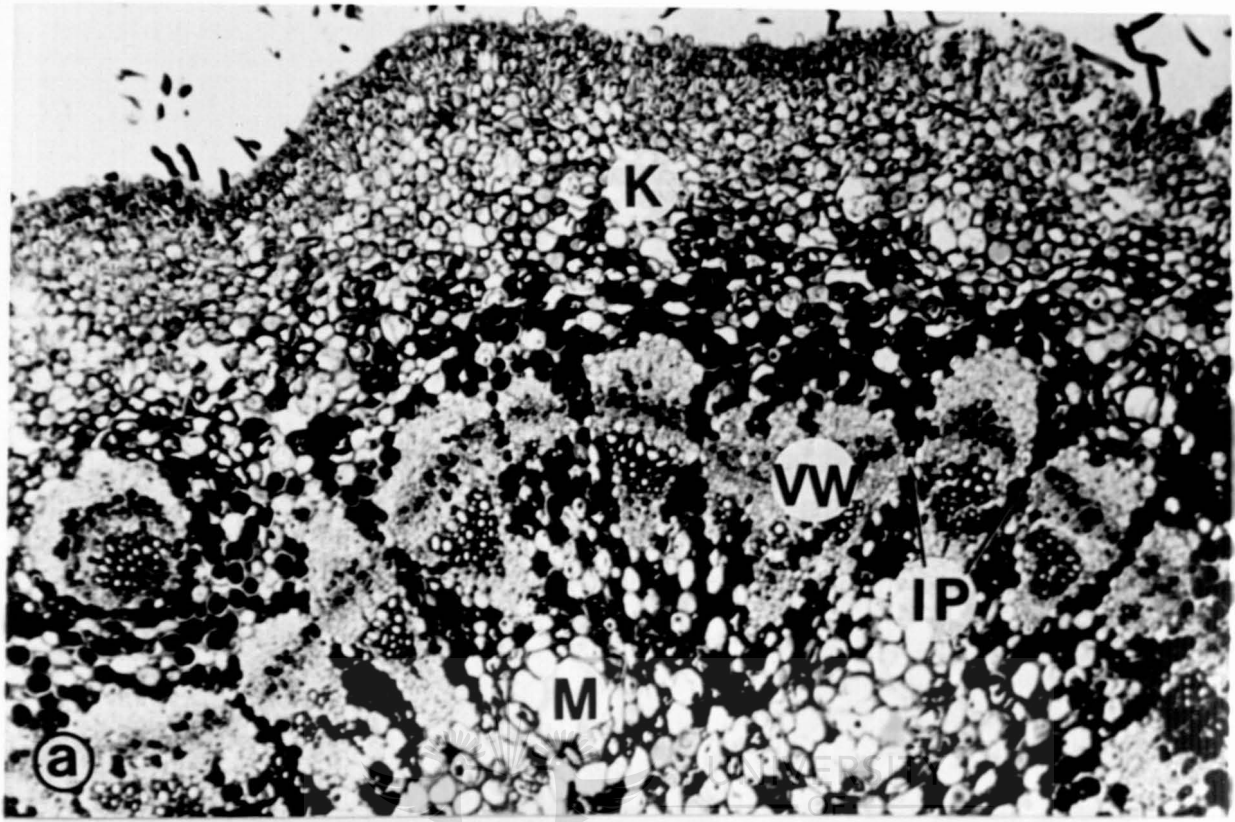
(b)

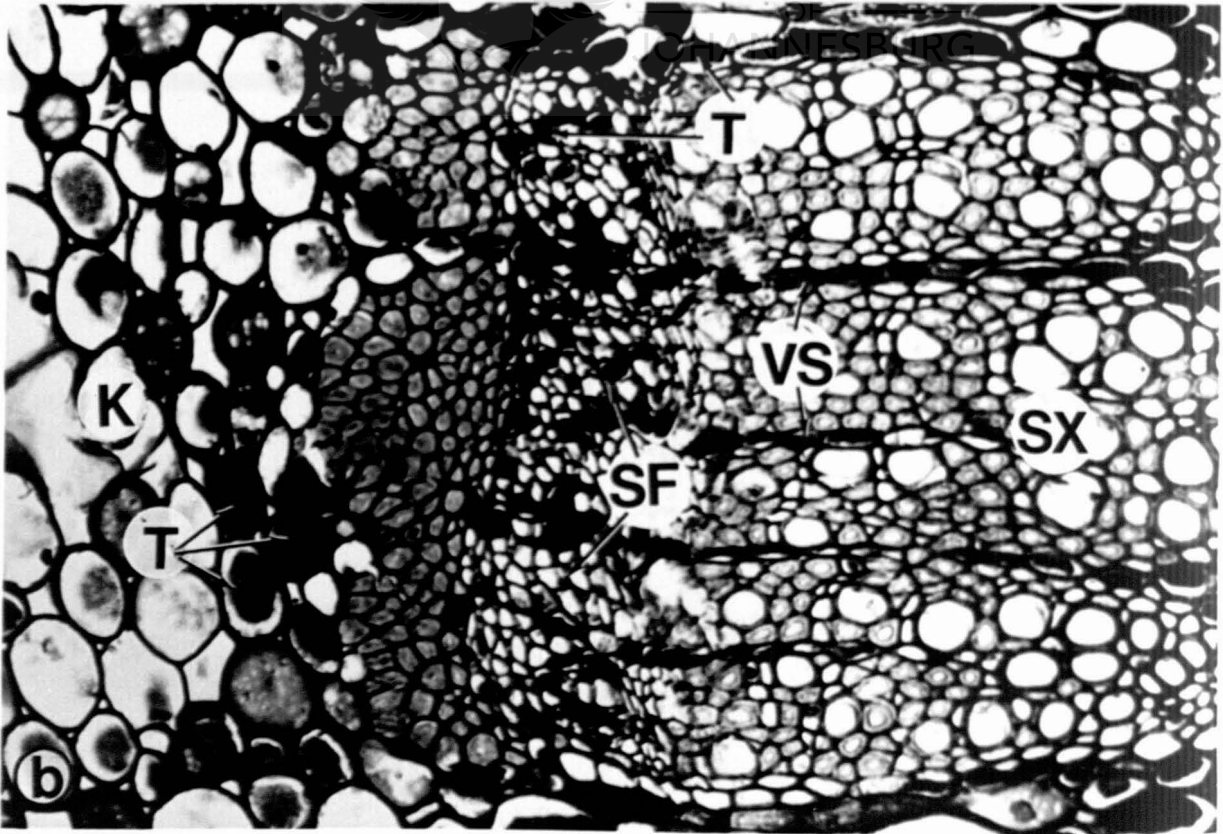
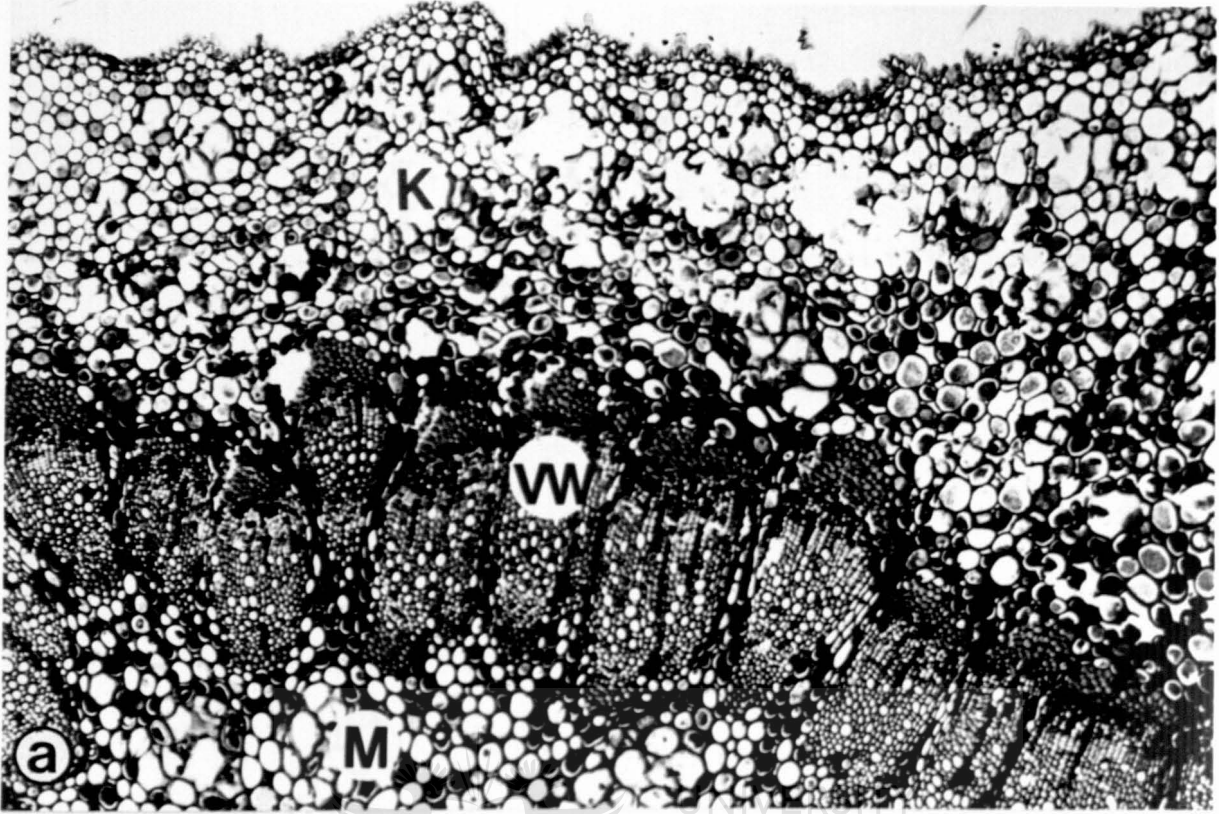
Plaat II : Dwarsdeursnee van 'n jong stingel van Protea  
neriifolia

- a. Lae vergroting
- b. Hoë vergroting

Sleutel : K - korteks  
VW - vaatweefsel  
IP - interfassikulêre parenchium  
M - murg  
T - tanniensel  
F - floëem  
X - xileem





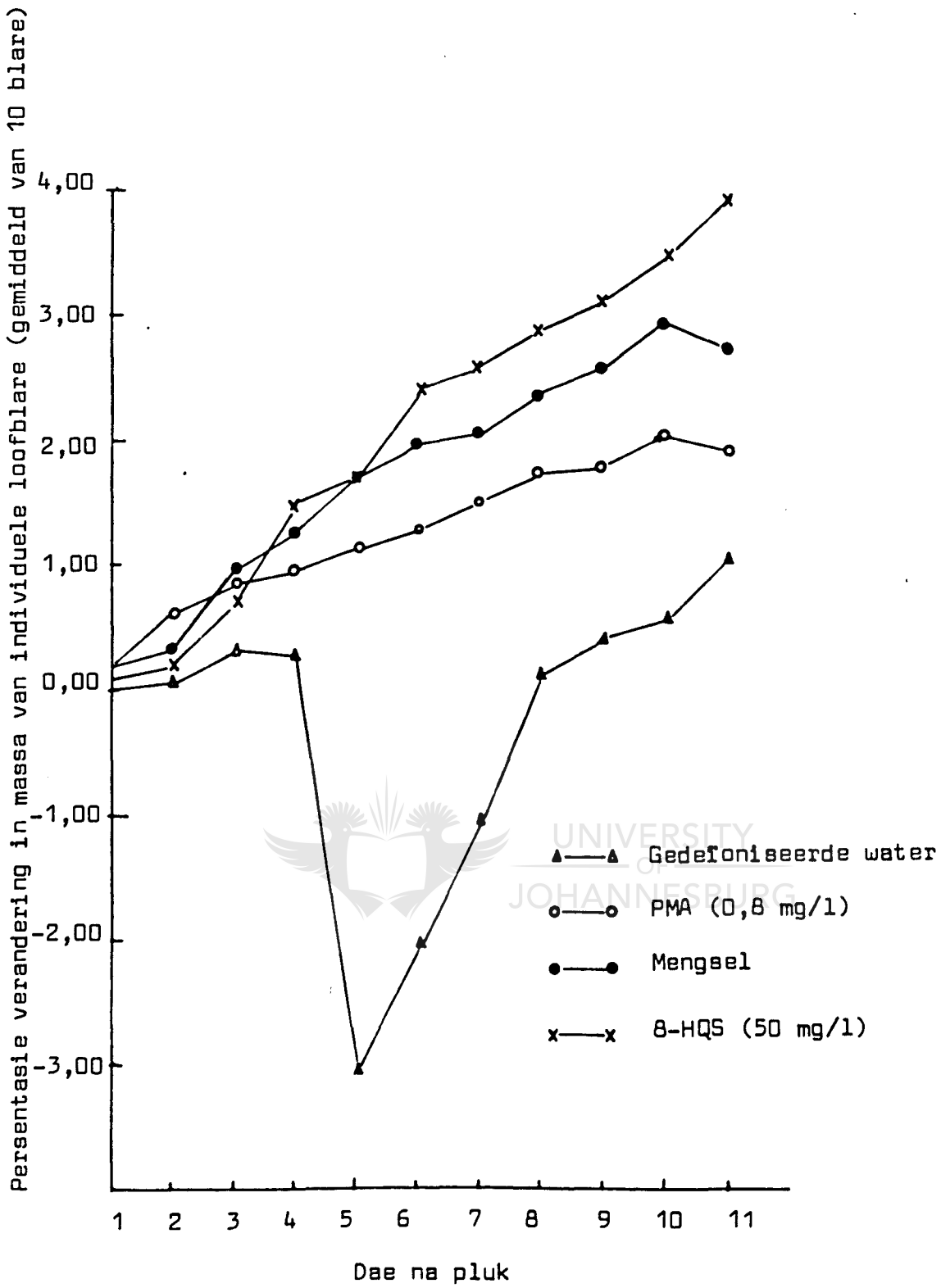


Plaat III : Dwarsdeursnee van 'n ouer stingel van  
Protea neriifolia

- a. Lae vergroting
- b. Hoë vergroting

Sleutel : K - korteks  
VW - vaatweefsel  
M - murg  
T - tanniensel  
SF - sekondêre floëem  
SX - sekondêre xileem  
VS - vaatstraal



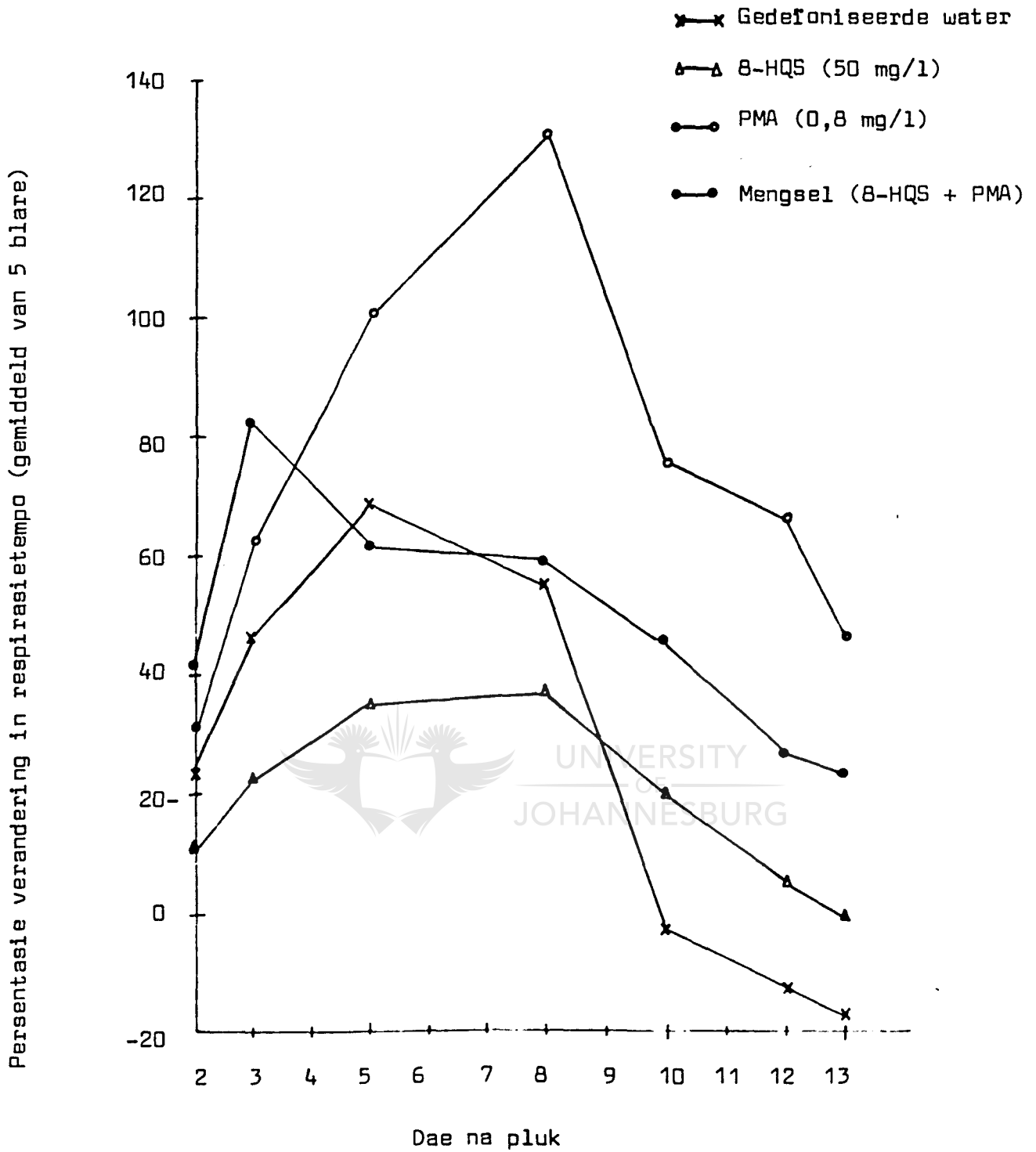


FIGUUR 1: Die invloed van fenielmerkuri-asetaat en ander behandelings op die massa van individuele loofblare

### 3.3 Die invloed van verskillende behandelings op die respirasietempo's van protealoofblare

Die keuse en voorbereiding van eksperimentele materiaal en respirasietempobepalings word in 2.4.1 en 2.4.2 beskrywe. Die resultate word in figuur 2 saamgevat. Volgens figuur 2 was daar vanaf pluk tot die derde dag in al die gevalle 'n opmerklieke toename in die respirasietempo's van die blare. Die blare wat met PMA behandel was, se respirasietempo was na vier dae deurentyd die hoogste. Die inisiele stygings het in al die gevalle tot 'n piekwaarde gelei, waarna 'n daling gevolg het. Die maksimum respirasietempo is op die agste dag vir die PMA-behandelde blare bereik, terwyl die piekwaardes vir die 8-HQS-behandeling, kontrole en mengsel onderskeidelik op die agste, vyfde en derde dag voorgekom het. Die respirasietempo's van die mengsel en kontrole se blare was tussen die vyfde en agste dag ongeveer dieselfde, terwyl die PMA-behandelde blare se respirasietempo tydens hierdie periode ongeveer 30 tot 70% hoër was. Die blare wat met 8-HQS behandel was, se respirasietempo was deurgaans vanaf pluk tot op die negende dag die laagste. Na die negende dag was die PMA-behandelde blare se respirasietempo steeds die hoogste, gevolg deur die mengsel, 8-HQS en die kontrole onderskeidelik. Tydens die laaste drie dae van eksperimentering het slegs die kontrole se respirasietempo onder die aanvangstempo gedaal, terwyl die PMA-behandelde blare se respirasietempo ongeveer 50% hoër as die aanvangstempo was.



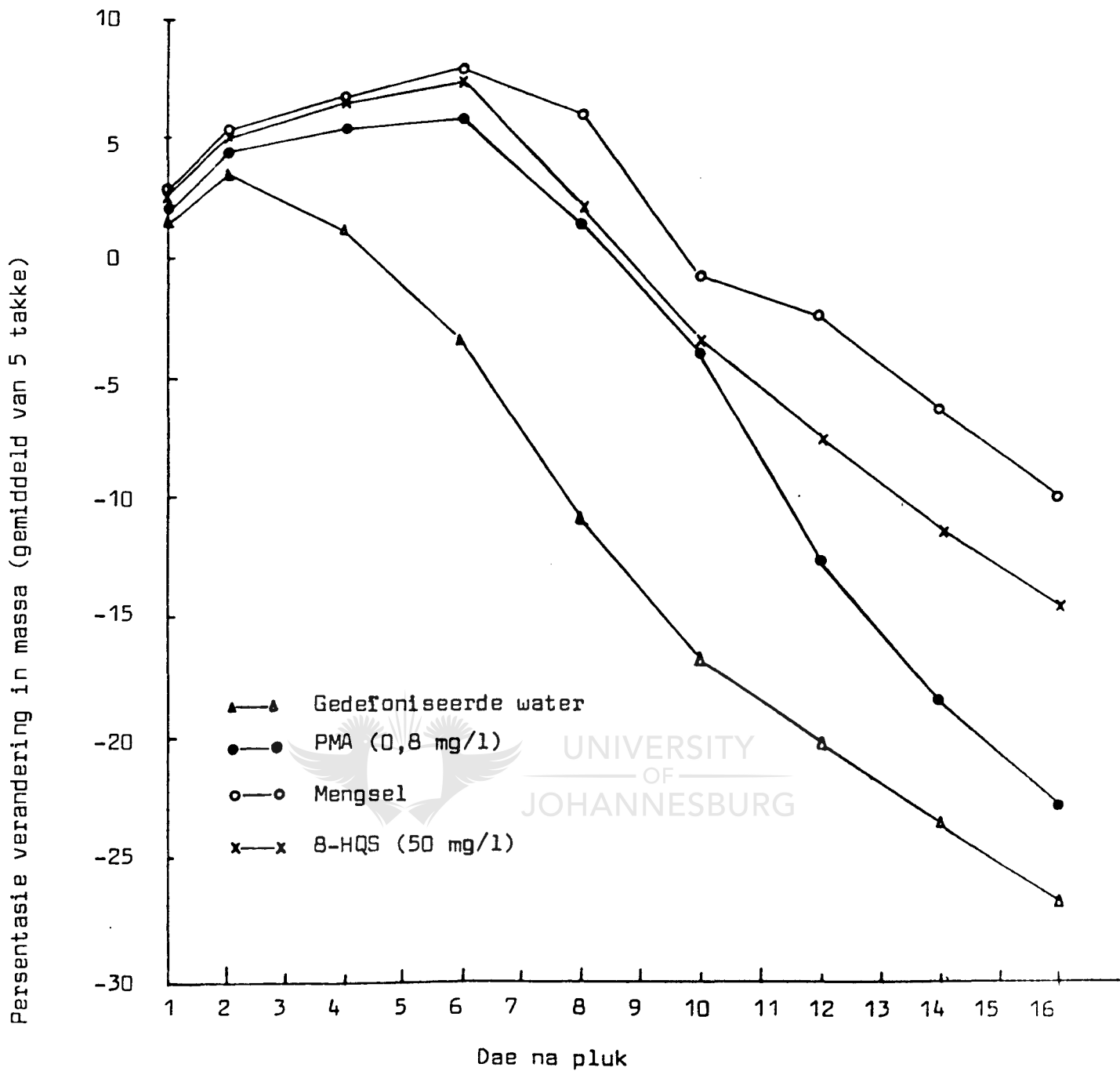


FIGUUR 2: Die invloed van Fenielmerkuri-asetaat en ander behandelings op die respirasietempo van protea= loofblare

### 3.4 Invloed van verskillende behandelings op proteablomme

#### 3.4.1 Invloed van verskillende behandelings op die massaverandering van proteablomme

Die bepaling van die massa en die verskillende behandelings wat toegepas is, is in 2.5.1 en 2.5.2 uiteengesit. Volgens figuur 3 toon al die blomme van die verskillende behandelings gedurende die eerste drie dae 'n styging in massa. Die blomme van die mengsel se massa was deurgaans die hoogste, terwyl dié van die kontrole die laagste was. Die massa van die water-behandelde blomme (kontrole) het reeds vanaf die derde dag gedaal en hierdie daling het tot op die sewentiende dag voortgeduur. Die massas van die blomme van die drie behandelings het geleidelik tot 'n maksimum op die sewende dag gestyg. Daarna was 'n massa-afname by al die behandelings tot op die sewentiende dag waargeneem. Vanaf pluk tot op die elfde dag was die blomme van die mengsel se massa die hoogste, gevolg deur die massas van die blomme wat onderskeidelik met PMA, 8-HQS en water (kontrole) behandel was. Na elf dae tot op die sewentiende dag was die massa van die mengsel se blomme die hoogste, gevolg deur die massas van die blomme wat onderskeidelik met 8-HQS, PMA en water behandel was. Die massa van die kontrole se blomme het reeds na vyf dae onder die aanvanklike massa gedaal, terwyl die blommassas van die PMA- en 8-HQS-behandelings eers na ongeveer nege dae en dié van die mengsel eers na ongeveer elf dae onder die oorspronklike massas gedaal het.



FIGUUR 3: Die invloed van fenielmerkuri-asetaat en ander behandelings op die massa van proteablomme

### 3.4.2 Die invloed van verskillende behandelings op die oopgaan van bloeiwyses

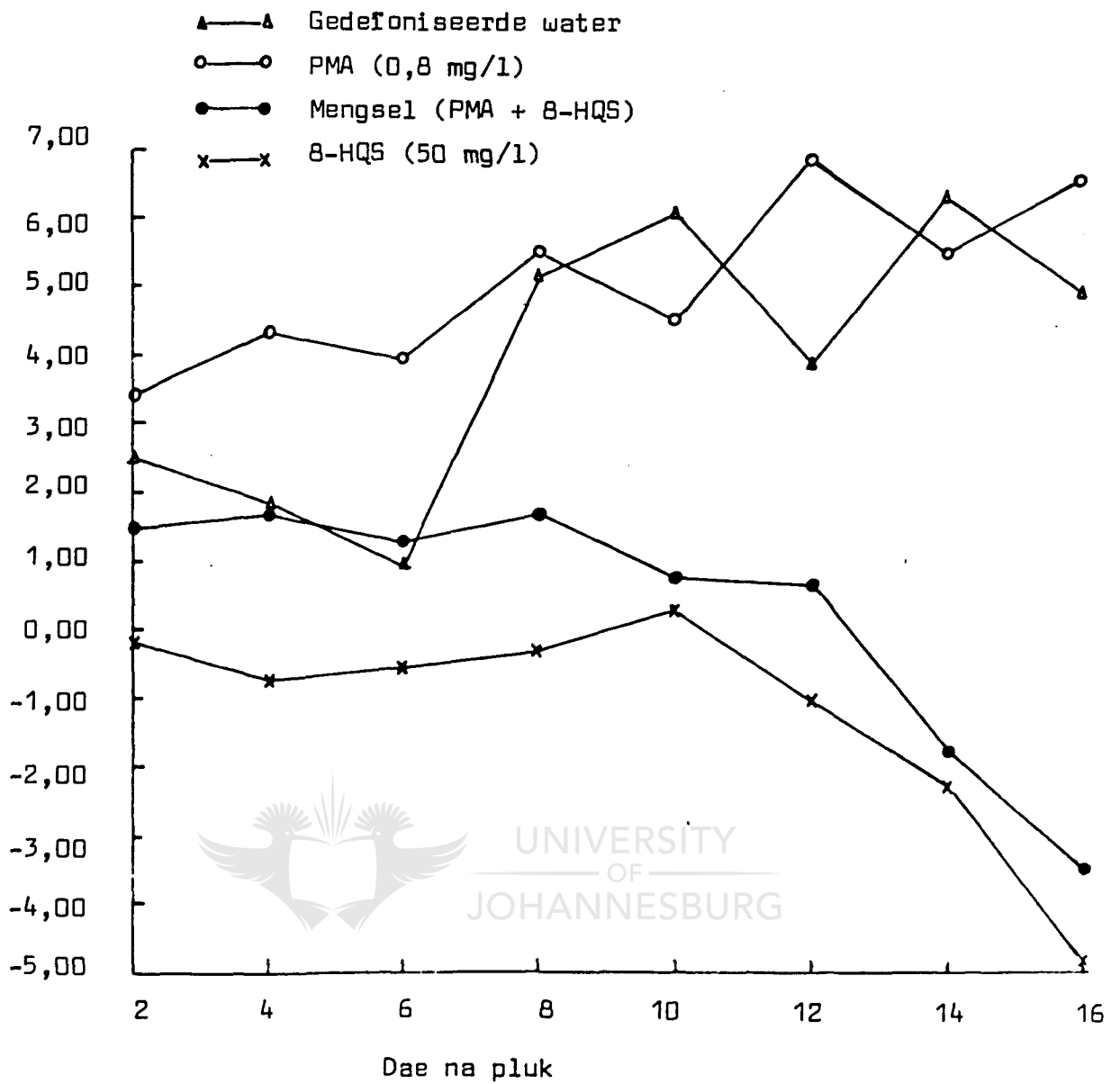
Die bepaling van die oopheid van bloeiwyses is in 2.5.3 uiteengesit en die resultate word in tabel 1 en figuur 4 saamgevat.

Tabel 1 : INVLOED VAN FENIELMERCURI-ASETAAT EN ANDER BEHANDELINGS OP DIE TEMPO VAN ONTLUIKING VAN BLOEIWYSES VAN PROTEA NERIIFOLIA

Behandeling	Persentasie verandering in oopheid van bloeiwyses (gemiddeld van 5 bloeiwyses)							
	Dae na pluk							
	2	4	6	8	10	12	14	16
Gedefoniseerde water	2,50	1,80	0,90	5,10	6,00	3,80	6,30	4,90
PMA (0,8 mg/l)	3,45	4,35	3,95	5,47	4,46	6,89	5,47	6,59
8-HQS (50 mg/l)	-0,20	-0,69	-0,59	-0,39	0,29	-1,08	-2,26	-4,90
Mengsel	1,42	1,72	1,21	1,62	0,71	0,61	-1,82	-3,54

Volgens tabel 1 en figuur 4 gaan die bloeiwyses van die PMA-behandelde blomme die meeste oop, gevolg deur die bloeiwyses van die kontrole (gedefoniseerde water), mengsel en 8-HQS onderskeidelik. Die mengsel se bloeiwyses bereik 'n maksimum oopheid van slegs ongeveer 2% bo die aanvangswaarde, wat ongeveer 4 tot 5% laer as die

Persentasie verandering in oopheid van bloeiwyses (gemiddeld van 5 bloeiwyses)



FIGUUR 4: Die invloed van fenielmerkuri-asetaat en ander behandelings op die oopheid van bloeiwyses van Protea neriifolia

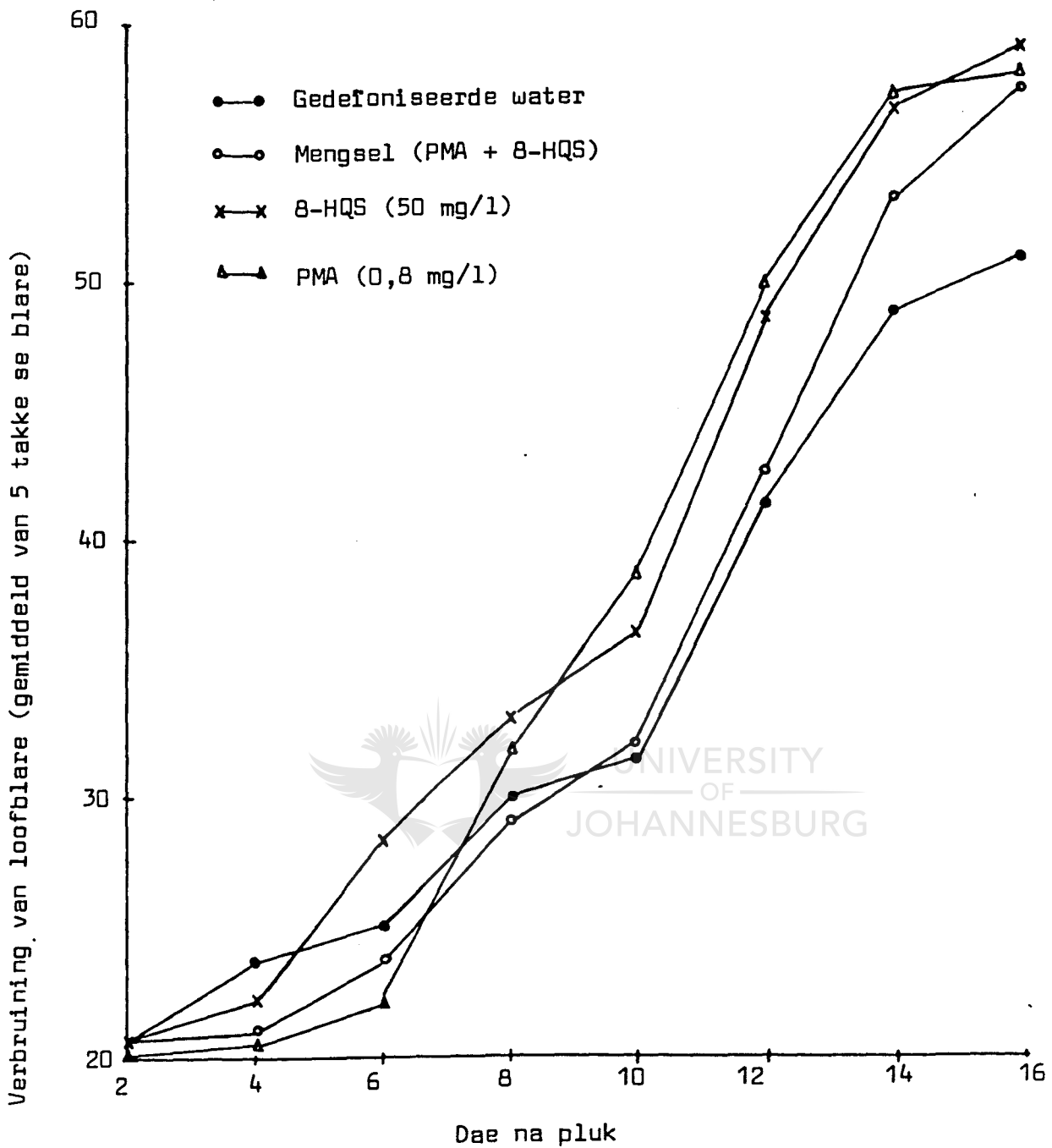
maksimum oopheid van die water- en PMA-behandelde blomme was. Die bloeiwyses van die 8-HQS-behandelde blomme was, behalwe vir die tiende dag, deurgaans minder oop as tydens die aanvang van die eksperiment.

### 3.4.3 Die invloed van verskillende behandelings op loofblaarverbruining

Die bepunting vir loofblaarverbruining is in 2.5.4 beskryf. Die resultate word in figuur 5 weergegee. Verbruining was in al die gevalle eers na die derde dag noemenswaardig. Al die behandelings volg min of meer dieselfde patroon van verbruining. Die verbruining van die loofblare van al die behandelings vermeerder geleidelik in 'n mindere of meerdere mate tot op die sewentiende dag. Tot op die sewende dag het die PMA-behandelde blare die minste verbruining gelewer, maar na elf dae 'n meer toenemende graad van verbruining. Die blare van die PMA-behandeling het na tien dae die meeste verbruin, gevolg deur die blare van die 8-HQS-, mengsel- en water-behandelings respektiewelik. Op die laaste dag van eksperimentering was die 8-HQS-behandeling se blare die meeste verbruin, terwyl die kontrole die beste was.

### 3.4.4 Invloed van verskillende behandelings op vaasmediumopname deur proteablomme

Die prosedure vir die bepaling van vaasmediumopname deur proteablomme word in 2.5.6 beskryf. Die mediumopname van die proteablomme word in tabel 2 saamgevat.



FIGUUR 5: Die invloed van fenielmerkuri-asetaat en ander behandelings op loofblaarverbruining van Protea neriifolia

Tabel 2 : INVLOED VAN PMA, 8-HQS EN 'n MENGSEL BESTAANDE  
UIT PMA EN 8-HQS OP VOLUME VAASMEDIUMOPNAME

Behandeling	Vaasmediumopname $\text{cm}^3/100\text{g}$ vars massa								Totale medium= opname
	Dae in vaasmedium								
	3	5	7	9	11	13	15	17	( $\text{cm}^3$ )
Gedefoniseerde water	36,2	44,8	49,6	39,0	30,6	23,0	22,3	14,8	260,3
PMA (0,8 mg/l)	33,2	31,9	48,6	58,9	63,7	42,0	21,6	15,7	314,6
8-HQS (50 mg/l)	31,5	39,2	48,0	58,2	69,4	53,6	48,0	31,7	379,6
Mengsel	33,4	47,1	47,4	68,3	74,3	64,3	58,0	35,7	428,5

Na sewe dae is daar nie noemenswaardige verskille in mediumopname tussen die verskillende behandelings waargeneem nie. Vanaf die negende dag is die verskille in mediumopname meer opvallend. Die kontrole se blomme het vanaf die negende tot dertiende dag minder water as die ander behandelings se blomme opgeneem. Die PMA-behandelde blomme se mediumopname was, met die uitsondering van die kontrole, vanaf die elfde dag die minste. Die mediumopname deur die mengsel-behandelde blomme was in die meeste gevalle die hoogste, terwyl die 8-HQS-behandelde blomme ook vanaf die elfde dag noemenswaardig meer medium as die kontrole- en PMA-behandelde blomme opgeneem het.



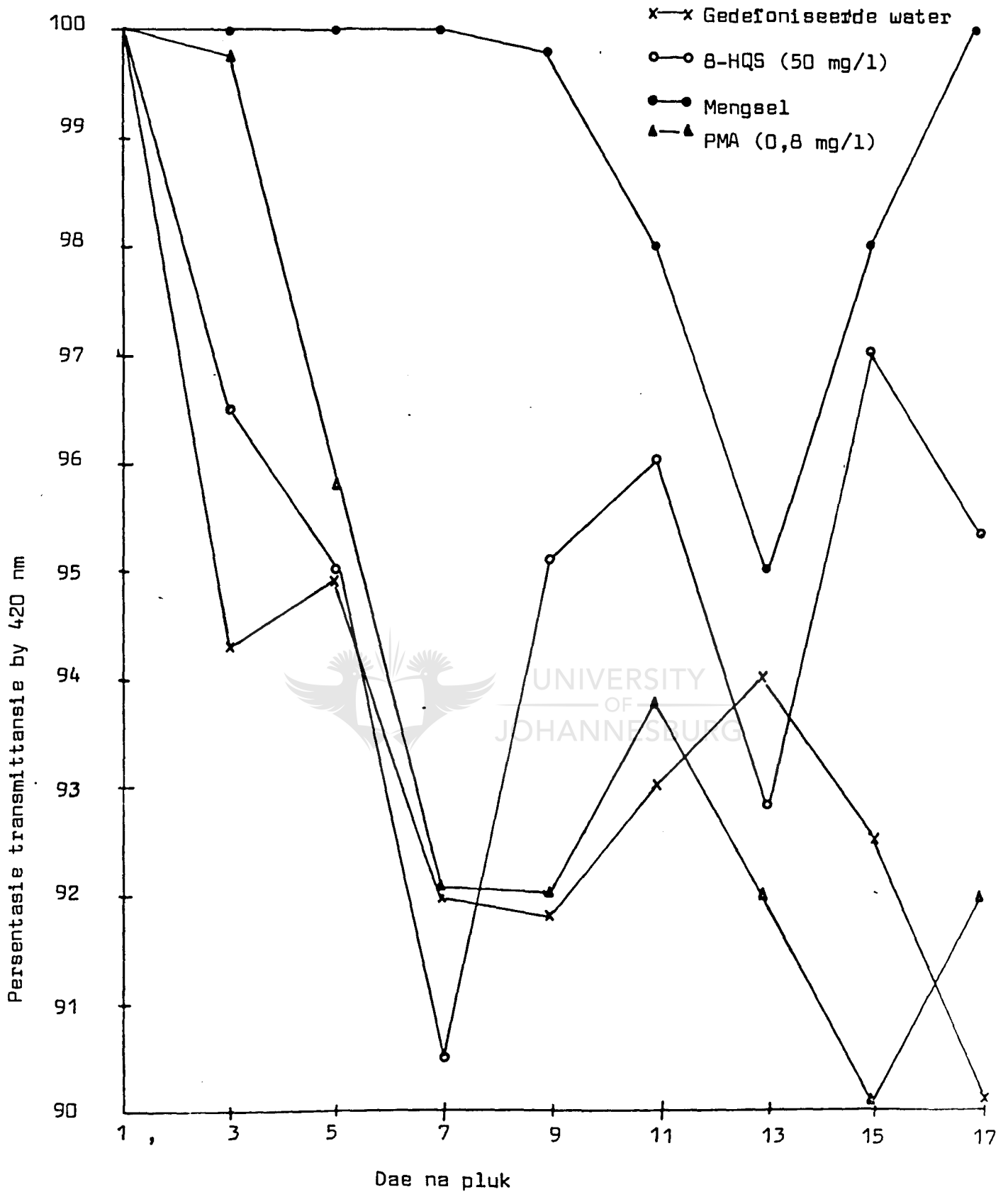
### 3.4.5 Invloed van verskillende behandelings op die persentasie transmittansie van vaasmedia

Die metode vir die bepaling van die persentasie transmittansie van die vaasmedia is in 2.5.5 uiteengesit. Die resultate is in tabel 3 en figuur 6 saamgevat.

Tabel 3 : DIE INVLOED VAN FENIELMEREKURI-ASETAAT EN ANDER BEHANDELINGS OP DIE PERSENTASIE TRANSMITTANSIE VAN DIE VAASMEDIA NA GELANG VAN STINGELUIT-LOGING VAN LEUKO-ANTOSIANIENE

Behandeling	Persentasie transmittansie by 450 nm							
	Dae na pluk							
	3	5	7	9	11	13	15	17
Gedefoniseerde water	94,3	94,9	92,0	91,8	93,0	94,0	92,5	90,1
PMA (0,8 mg/l)	99,8	95,8	92,0	92,0	93,8	92,0	90,1	92
8-HQS (50 mg/l)	96,5	94,9	90,2	95,1	96,0	92,8	97,0	95,3
Mengsel	100	100	100	99,8	98	95	98	100

Die persentasie transmittansie van die mengsel het vir die eerste sewe dae na pluk onveranderd van die oorspronklike waarde gebly en het ook die hoogste waardes tydens die duur van die eksperiment getoon. Die persentasie transmittansie van die ander behan-



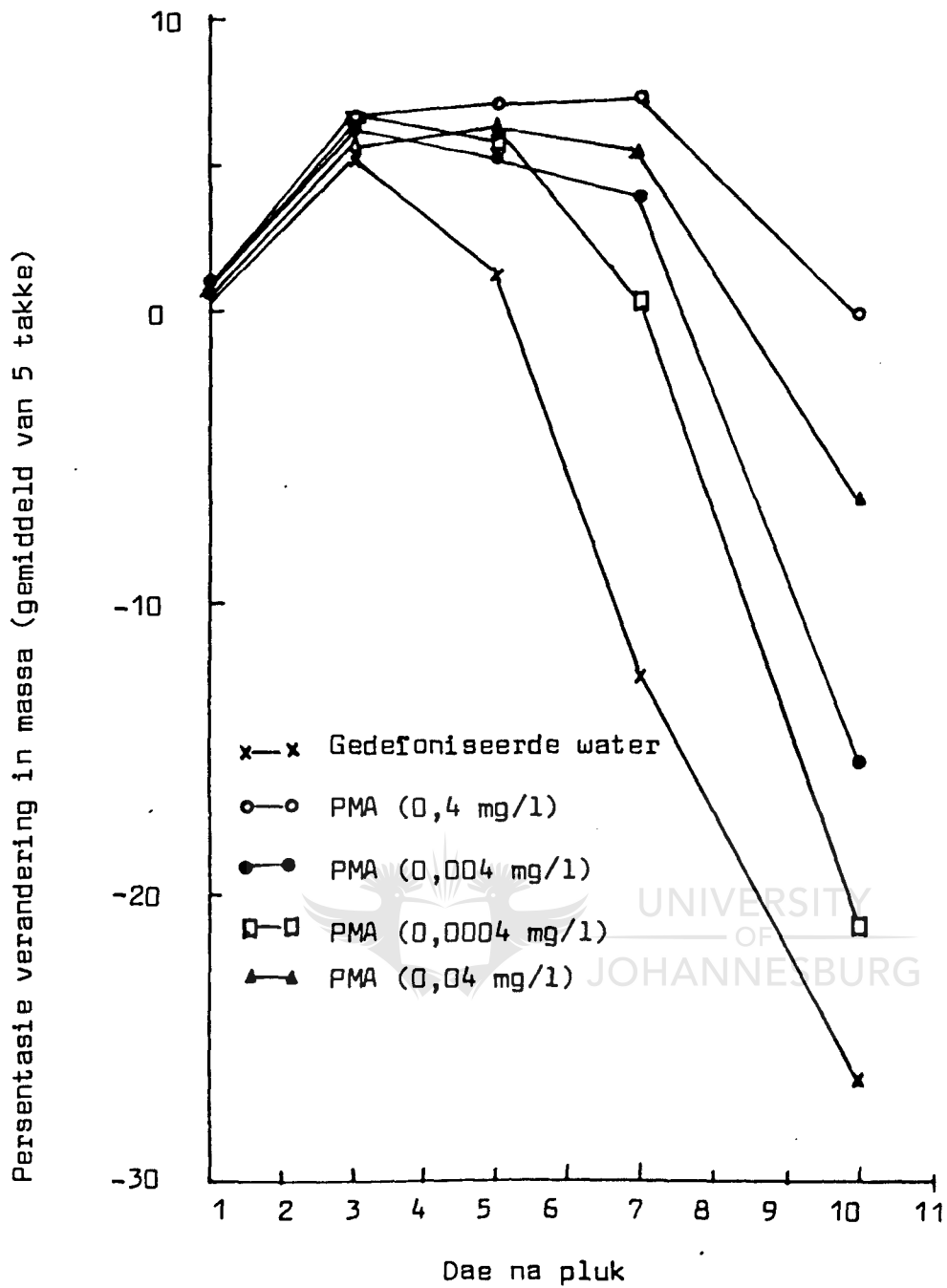
FIGUUR 6: Die invloed van fenielmerkuri-aetaat en ander behandelings op die persentasie transmittansie van die vaasmedia na gelang van stingeluitloging van leuko-antosianiene

delings het onmiddellik na pluk oor die algemeen 'n skerp daling tot op die sewende dag getoon. Die persentasie transmittansie van die mengsel het vanaf die sewende tot dertiende dag gedaal en daarna weer tot 'n maksimum waarde van 100% gestyg. Vanaf die sewende tot sewentiende dag het opvallende skommeling met opmerklike stygings en dalings in die persentasie transmittansie van die ander behandelings voorgekom.

### 3.5 Invloed van verskillende PMA-konsentrasies op proteablomme

#### 3.5.1 Invloed van verskillende PMA-konsentrasies op die massa-veranderinge van proteablomme

Die keuse en voorbereiding van die plantmateriaal is in 2.6.1 weergegee. Die prosedure vir massabepalings is in 2.5.2 en 2.6.2 beskryf en die resultate in figuur 7 saamgevat. Die blommassas van al die behandelings het tot op die derde dag opmerklik gestyg. Die blommasse van die kontrole het reeds vanaf die derde dag opmerklik meer as die ander behandelings se blommassas tydens die duur van die ondersoek gedaal. Die massas van die 0,004 mg PMA/l en 0,0004 mg PMA/l behandelings se blomme het ook drie dae na pluk gedaal, maar nie so opmerklik soos dié van die kontrole nie. Die 0,04 mg PMA/l behandelde blomme se massa het vanaf die vyfde dag na pluk begin daal, terwyl die 0,4 mg PMA/l behandelde blomme se massa eers na die sewende dag begin daal het. Die massa van die kontrole se blomme het reeds na ongeveer vyf dae laer as die



FIGUUR 7: Die invloed van verskillende PMA-konsentrasies op die massas van proteablomme

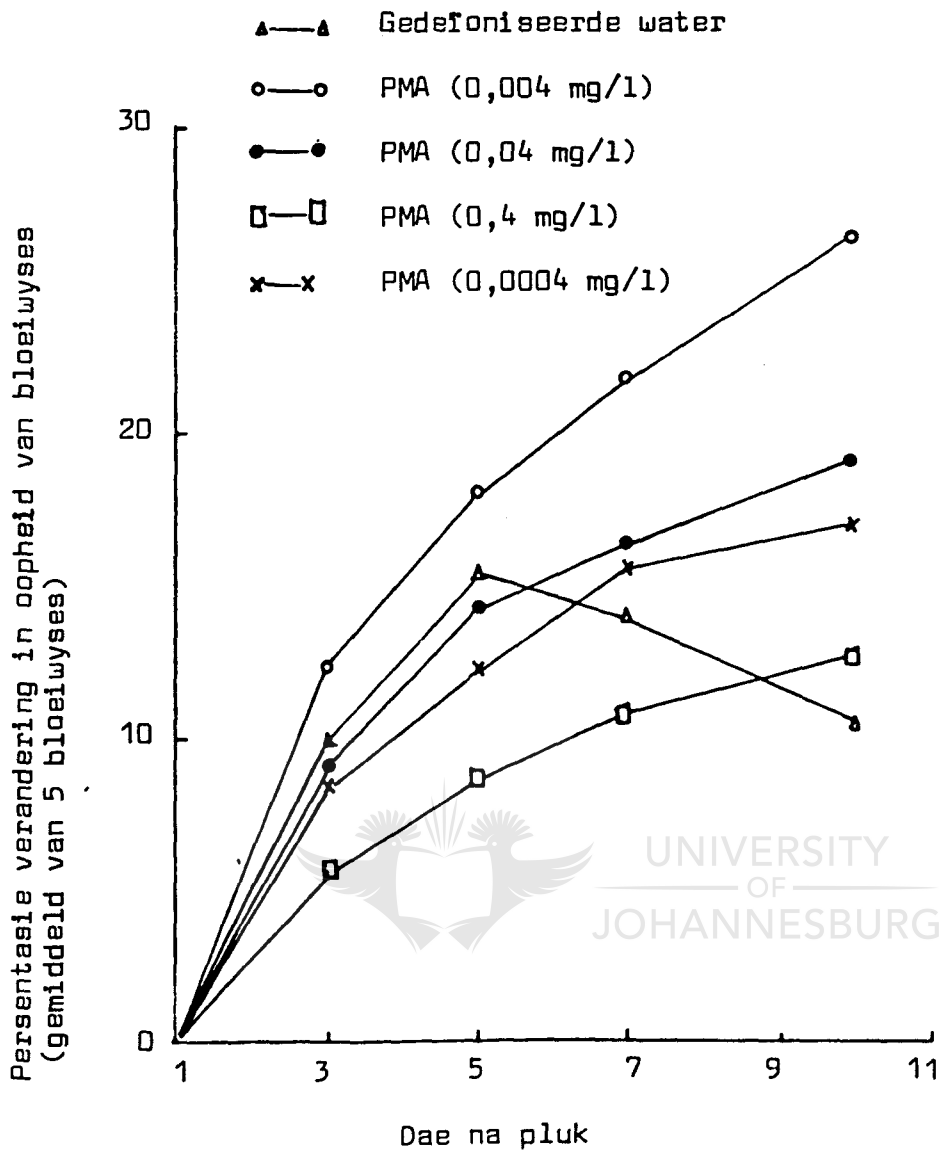
aanvanklike massa gedaal. Hoe hoër die PMA-konsentrasie in die vaasmedium, hoe laer was die aanvanklike massawaarde bereik. Dit is opmerklik dat al die PMA-behandelings se blomme deurgaans hoër massas as die blomme van die kontrole gehandhaaf het. Die blommassas het tydens die duur van die eksperiment progressief minder gedaal met toenemende PMA-konsentrasies in die vaasmedia.

### 3.5.2 Die invloed van verskillende PMA-konsentrasies op die oopgaan van bloeiwyses

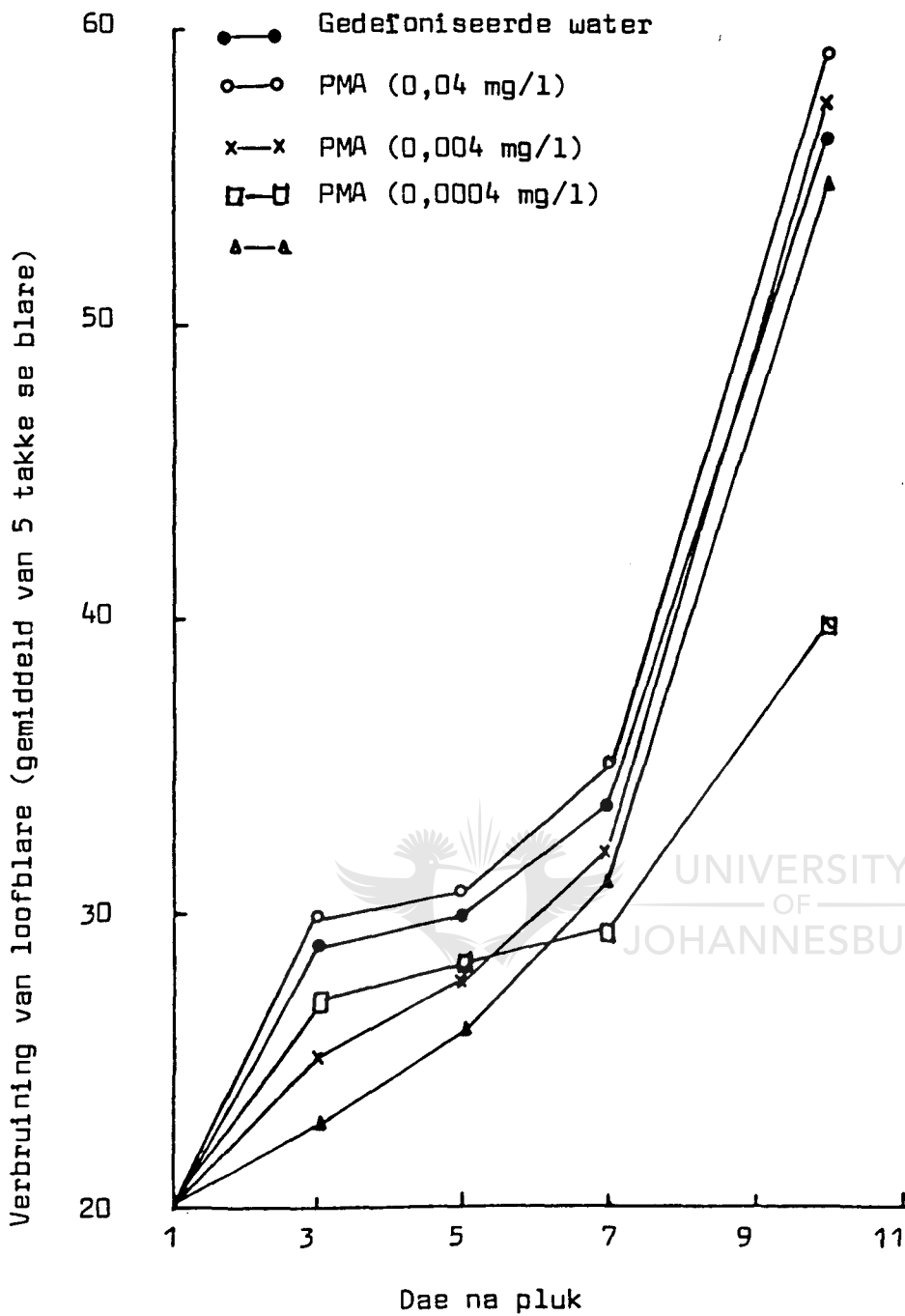
Die prosedure vir die bepaling van die oopheid van bloeiwyses word in 2.5.3 beskrywe en die resultate is in figuur 8 saamgevat. Die oopheid van bloeiwyses neem vir al die handelings tot op die vyfde dag opmerklik toe. Die toename in oopheid het deurgaans vir al die PMA-behandelings se bloeiwyses tot op die tiende dag voortgeduur. Die kontrole se bloeiwyses het egter vanaf die vyfde tot die tiende dag, geleidelik toegeneem. Die 0,4 mg PMA/l behandeling se bloeiwyses was vanaf die aanvang van die eksperiment tot op die negende dag die minste oop. Na die negende dag was die bloeiwyses van die 0,004 mg PMA/l behandeling die meeste oop, gevolg deur die bloeiwyses van die 0,04 mg PMA/l, 0,0004 mg PMA/l en die kontrole onderskeidelik.

### 3.5.3 Invloed van verskillende PMA-konsentrasies op loofblaarverbruining

Die prosedure vir die bepaling van loofblaarverbruining is in 2.5.4 beskryf en die resultate word in figuur 9 weergegee. Op die derde dag was alreeds 'n mate van verbruining by al die PMA-behande-



FIGUUR 8: Die invloed van verskillende PMA-konsentrasies op die oopheid van bloeiwyses



FIGUUR 9: Die invloed van verskillende PMA-konsentrasies op die verbruining van loofblare

lings en kontrole se blare waargeneem. Al die PMA-behandelings, uitgesonderd die hoogste PMA-konsentrasie (0,4 mg/l), het min of meer dieselfde patroon en graad van verbruining as die kontrole getoon. 'n Geleidelike toename het vir al die handelings vanaf die derde tot die sewende dag plaasgevind. Daarna het die verbruining van al die handelings opmerklik gestyg. Vanaf die sewende dag was die tempo van verbruining van die 0,4 mg PMA/l behandelde blare opmerklik minder as dié van die ander handelings.

### 3.5.4 Invloed van verskillende PMA-konsentrasies op die vogopname van proteablomme

Die prosedure vir die bepaling van vogopname van proteablomme is in 2.5.6 beskryf en die resultate word in tabel 4 saamgevat.

Tabel 4 : INVLOED VAN VERSKILLENDE PMA-KONSENTRASIES OP DIE GEMIDDELDE VAASMEDIUMOPNAME VAN 5 TAKKIES ELK

Behandeling	Vaasmedium-opname, cm <sup>3</sup> /100g versmassa				Totale medium-opname (cm <sup>3</sup> )
	Dae in vaasmedium				
	2	4	6	9	
Gedefoniseerde water	37,0	70,5	37,2	34,2	178,9
PMA (0,4 mg/l)	43,5	76,2	66,4	154,2	340,3
PMA (0,04 mg/l)	34,5	71,3	58,7	108,6	274,1
PMA (0,004 mg/l)	38,5	72,6	60,5	84,6	256,2
PMA (0,0004 mg/l)	40,0	79,3	62,6	75,7	257,6



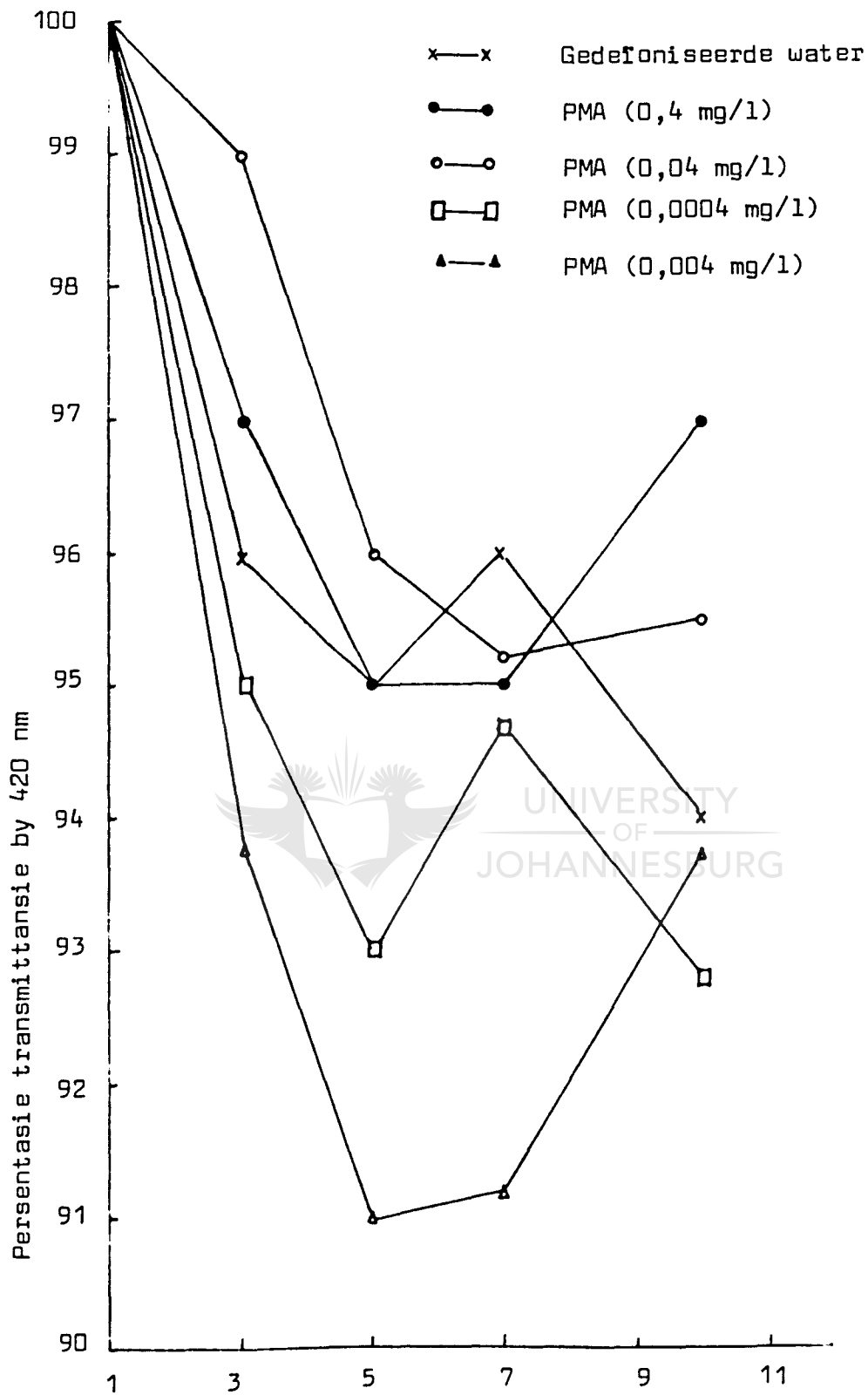
Die 0,4 mg PMA/l behandeling se blomme het deurgaans die meeste en die kontrole se blomme die minste water opgeneem. Die ander PMA-behandelings se blomme het ook deurgaans meer water as dié van die kontrole opgeneem.

### 3.5.5 Invloed van verskillende PMA-konsentrasies op die persentasie transmittansie van vaasmedia

Die eksperimentele prosedure is in 2.5.5 beskryf en die resultate word in figuur 10 saamgevat. Die persentasies transmittansie van al die vaasmedia het vanaf pluk tot op die vyfde dag opmerklik gedaal. Van die vyfde tot sewende dag het die meerderheid van die behandelings 'n geringe styging in die persentasie transmittansie getoon. Die 0,4 mg PMA/l behandeling se waardes het deurgaans relatief hoog gebly en het die ander behandelings na die agste dag oortref. Die kontrole en die PMA-behandeling met die laagste konsentrasie (0,0004 mg/l) se persentasie transmittansie het na die sewende dag opmerklik gedaal.

### 3.6 Invloed van PMA-doping en -bespuiting op die massaveranderinge van individuele blare

Die keuse en voorbereiding van die materiaal en die eksperimentele metodes is in 2.7.1 en 2.7.2 beskryf. Die resultate is in tabel 5 saamgevat.



Dae na pluk  
 FIGUUR 10: Die invloed van verskillende PMA-konsentrasies op die persentasie transmittansie van vaasmedia na ge=  
 lang leuko-antosianiene uit die stingels loog

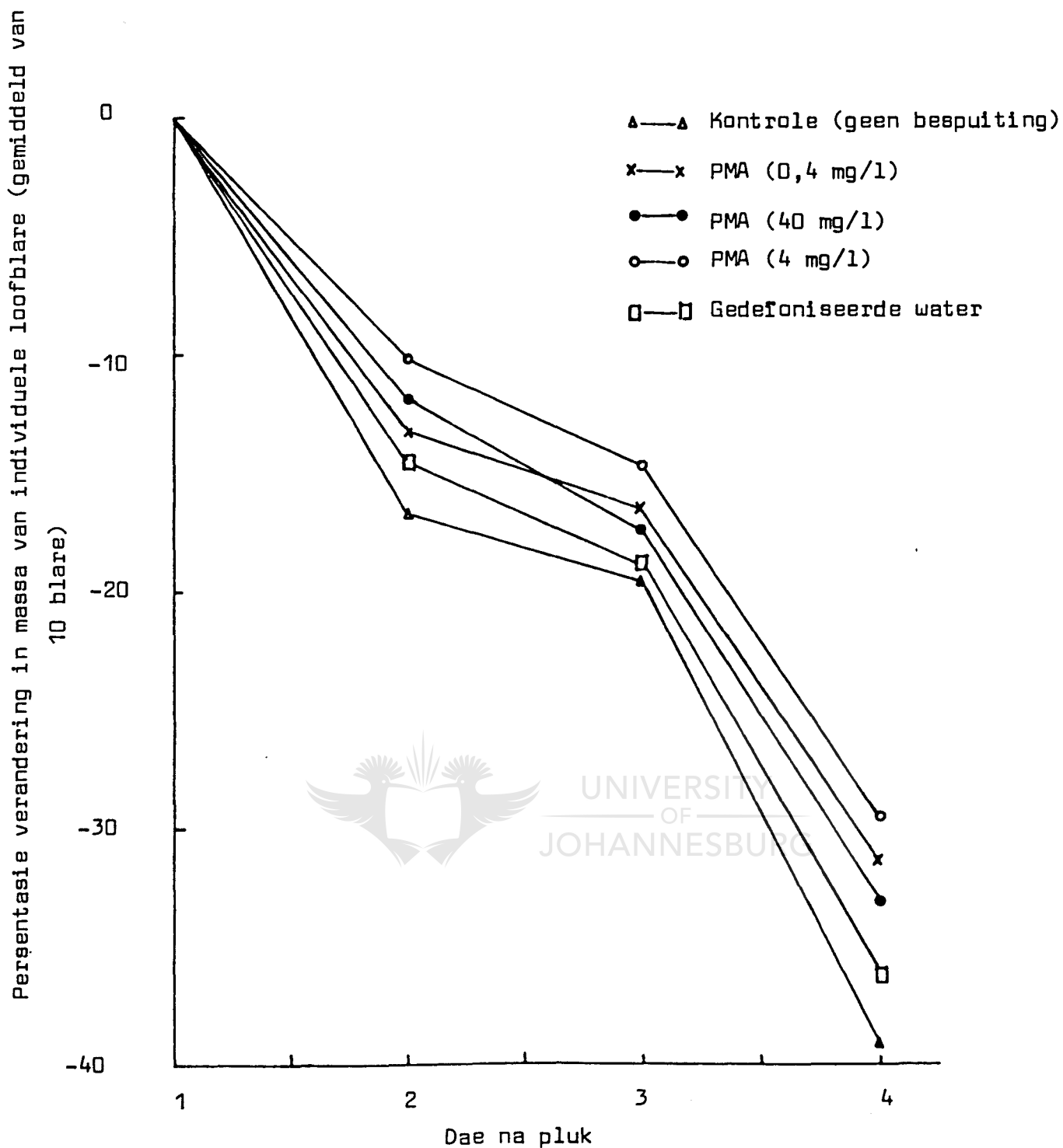
Tabel 5 : GEMIDDELTE PERSENTASIE MASSAVERLIES VAN INDIVIDUELE BLARE TYDENS DOPING IN PMA-OPLOSSINGS (GEMIDDELD VAN 3 HERHALINGS)

Behandeling	Persentasie massaverlies (18 uur na doping)
Geen behandeling	42,43
Gedeïoniseerde water gedoop	22,50
4 dpm PMA gedoop	31,25
40 dpm PMA gedoop	17,41
4 dpm PMA bespuit	13,50

Die blare wat in 'n oplossing van 4 mg PMA/l gedoop was, se persentasie massaverlies was groter as dié van blare wat in water gedoop was. Doping van blare in 'n 40 mg PMA/l-oplossing het egter 'n kleiner massaverlies as water-gedoopte blare veroorsaak. 'n Bespuiting van blare met 'n 4 mg PMA/l oplossing het die kleinste persentasie massaverlies gelever.

### 3.7 Invloed van PMA-bespuitings op die massaveranderinge van individuele blare

Die keuse en voorbereiding van die blaarmonsters is in 2.3.1 beskryf. Die behandelings en eksperimentele metodes is in 2.8.1 uiteengesit. Die resultate is in figuur 11 saamgevat. Die blaar-



FIGUUR 11: Die invloed van PMA-bespuitings van verskillende konsentrasies op die massaveranderinge van individuele loofblare

massas van al die behandelings het deurgaans met verloop van tyd afgeneem, terwyl die patroon van massaverlies omtrent dieselfde was. Die 4 mg PMA/l-bespuite blare het die minste massaverlies getoon, gevolg deur 0,4 mg PMA/l, 40 mg PMA/l, water en geen bespuiting, onderskeidelik.

### 3.8 Invloed van PMA-bespuitings van verskillende konsentrasies op protealoofblare en -blomme (blomme in waterige vaasmedium na bespuitings)

#### 3.8.1 Invloed van PMA-bespuitings op die massaveranderinge van proteablomme

Die PMA-konsentrasies wat gebruik is vir die bespuiting en die bepaling van die massaveranderinge word in 2.9.1 uiteengesit. Die resultate word in figuur 12 saamgevat. Dieselfde patroon van massaveranderinge is deurgaans vir die verskillende behandelings waargeneem. Daar is nie noemenswaardige verskille tussen die persentasie massaveranderinge van die verskillende behandelings waargeneem nie. Die 0,4 mg PMA/l-behandelde blomme se massas was oor die algemeen deurgaans hoër, terwyl die kontrole (gedefoniseerde water) se blommassas die laagste was. Tussen die vyfde en sewende dag het die massas van al die behandelings se blomme onder die aanvangsmassas gedaal.

Percentasie verandering in massa van proteablomme (gemiddeld van 5 takke)



FIGUUR 12: Invloed van PMA-bespuiting van verskillende konsentrasies op die massaveranderinge van proteablomme (blomme in waterige vaasmedium na bespuiting)

### 3.8.2 Invloed van PMA-besputings op loofblaarverbruining

Die bepunting vir loofblaarverbruining is onder 2.5.4 uiteengesit. Volgens figuur 13 het die verbruining van die blare eers na die vierde dag geleidelik tot op die veertiende dag toegeneem. Daar was nie 'n noemenswaardige verskil in die patroon van loofblaarverbruining tussen die verskillende behandelings nie. Na ongeveer ses dae het die water-bespuite blare deurgaans meer verbruining as die ander behandelings getoon. Die 4 mg PMA/l-bespuite blare het na vier dae deurgaans minder verbruining as die 0,4 mg PMA/l-bespuite blare gelewer.

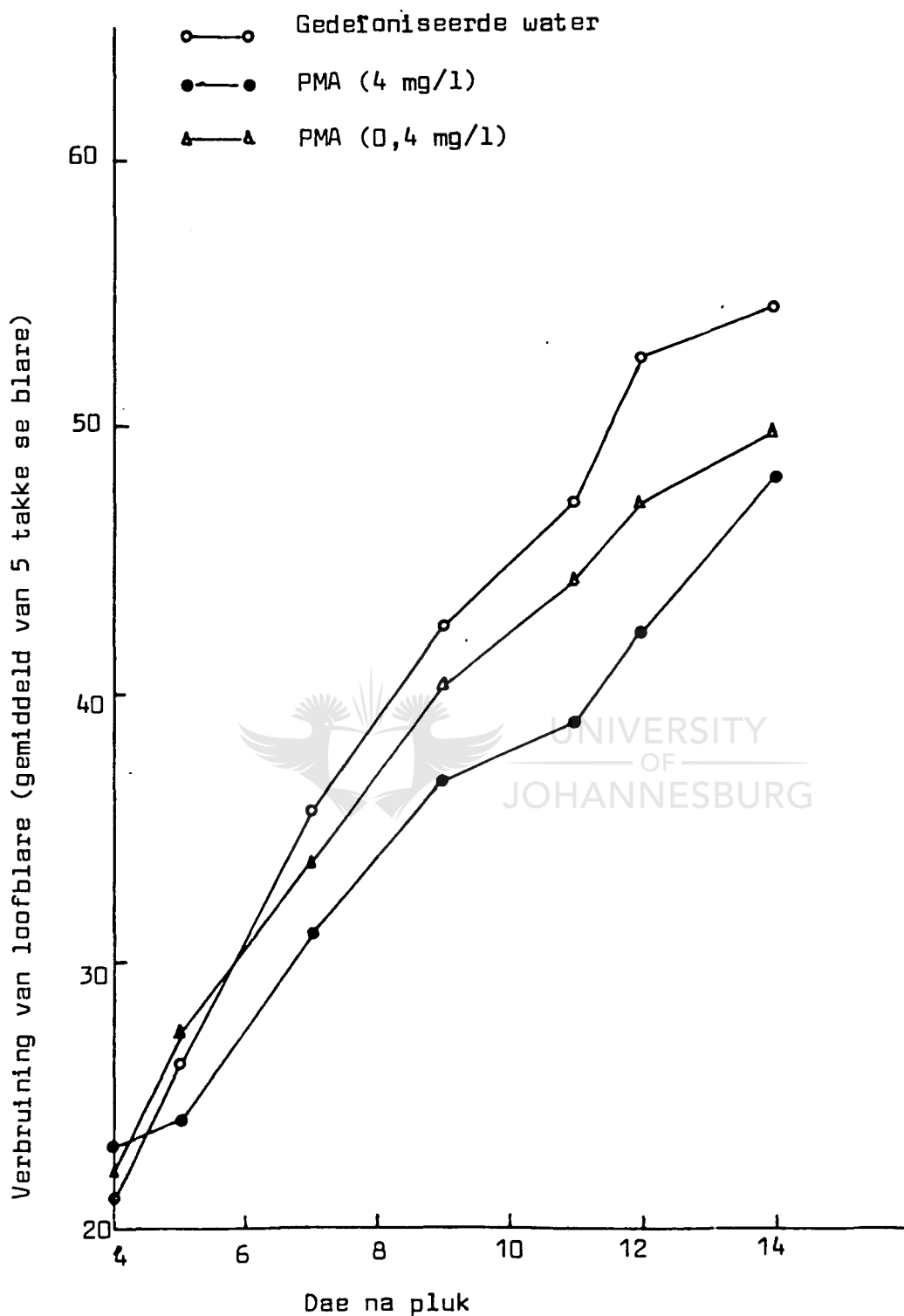
### 3.9 Invloed van PMA-besputings van verskillende konsentrasies op protealoofblare en -blomme (blomme nie in vaasmedium gelaat na besputing)



UNIVERSITY  
OF  
JOHANNESBURG

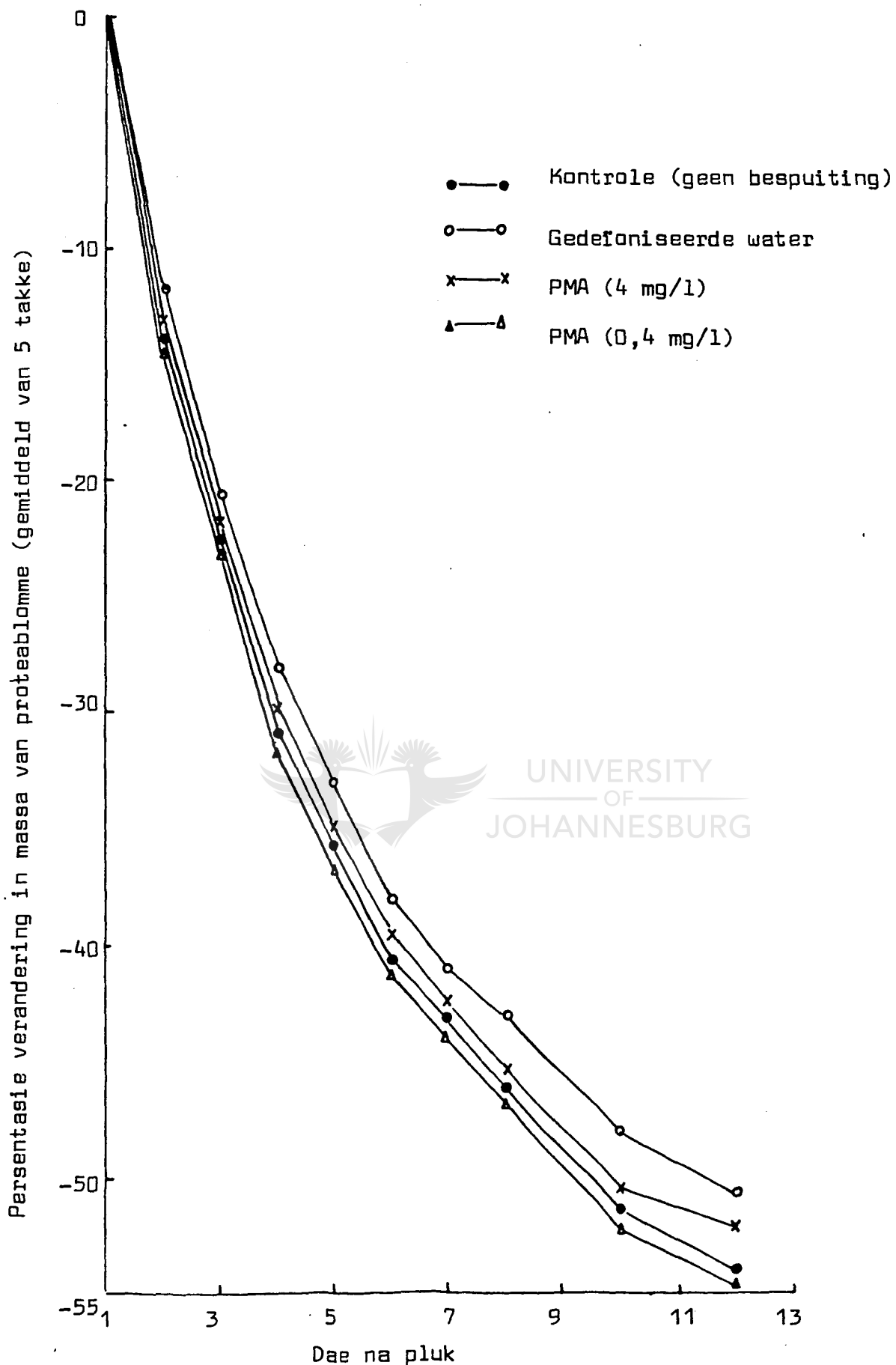
#### 3.9.1 Invloed van PMA-besputings op die massaveranderinge van proteablomme

Die PMA-konsentrasies wat gebruik is vir besputing en massabepalings word in 2.10.1 uiteengesit. Die resultate word in figuur 14 saamgevat. Daar is deurgaans dieselfde patroon van massaverlies vir die verskillende behandelings waargeneem. Die verskillende behandelings se blaarmassas het vanaf pluk deurgaans laer as die aanvangsmassas gedaal, vanweë die totale gebrek aan 'n vaasmedium. Al die behandelings se blare het vanaf die eerste tot die twaalfde dag na pluk 'n aansienlike daling in massa getoon. Daar was weining verskil in die persentasie massaveranderinge tussen die verskillende behandelings.



FIGUUR 13: Invloed van PMA-besputtings van verskillende konsentrasies op die loofblaarverbruining van Protea neriifolia (blomme in waterige vaas medium na besputting)





FIGUUR 14: Invloed van PMA-bespuittings van verskillende konsentrasies op die massaveranderinge van proteablomme (blomme nie in vaasmedium gelaat na bespuiting)

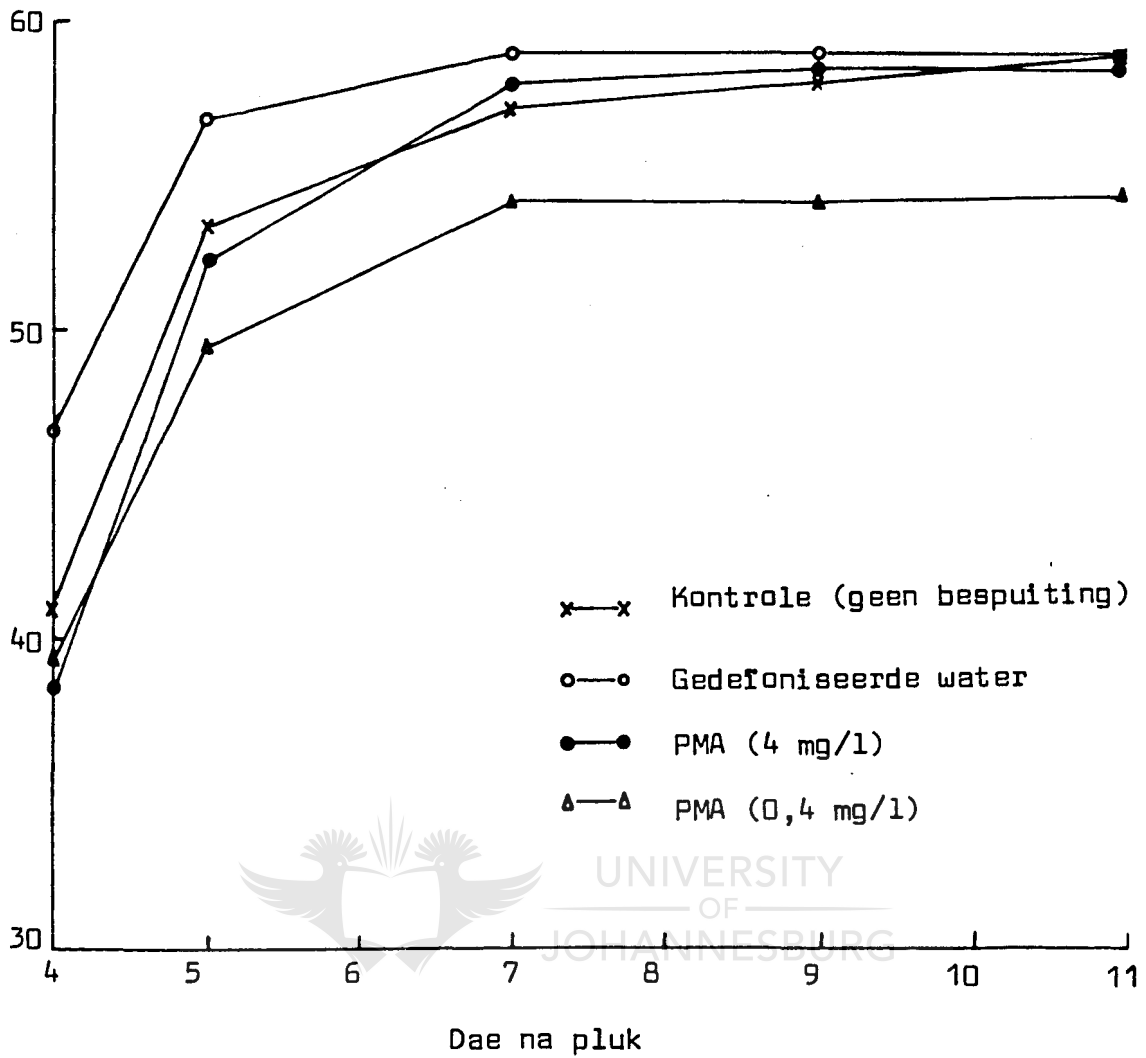
### 3.9.2 Invloed van PMA-bespuittings op loofblaarverbruining

Die bepunting vir loofblaarverbruining is onder 2.5.4 uiteengesit. Volgens figuur 15 het verbruining van al die behandelings aansienlik vinnig tot op die vyfde dag ingetree en daarna meer geleidelik tussen die vyfde en sewende dag. Die grafieke het deurgaans dieselfde tendens gevolg. Daar is geen noemenswaardige toename in verbruining tydens die laaste vyf dae van eksperimentering waargeneem nie. Die water-behandelde blare het vir die totale duur van die eksperiment meer verbruining as die ander behandelings gelewer. Die 0,4 mg PMA/l-behandelde blare het minder verbruining as die 4 mg PMA/l-behandelde blare getoon en was meer doeltreffend.

### 3.10 Invloed van PMA-infiltrering op die massa van individuele loofblare

Die verskillende metodes van infiltrering teen 'n drukgradiënt en die massabepalings is in 2.11.1 beskryf. Die resultate word in tabel 6 saamgevat.

Verbruining van loofblare (gemiddeld van 5 takke se blare)



FIGUUR 15: Invloed van PMA-bespuittings van verskillende konsentrasies op die verbruining van loofblare (blomme nie in vaasmedium gelaat na bespuiting)

Tabel 6 : INVLOED VAN PMA-INFILTRERING OP DIE MASSAVERANDERINGE  
VAN PROTEALOOFLARE

Behandeling	Persentasie massaverandering (gemiddeld van 10 blare)						
	Ure na behandeling						
	4	21	28	44	52	70	76
Doop blare in water (geen infiltrering nie)	1,96	-11,72	-16,19	-23,12	-28,33	-35,12	-37,61
Doop blare in PMA (geen infiltrering nie)	2,21	-10,33	-14,60	-20,47	-25,65	-33,10	-35,70
Infiltrering in water vir 2 minute	2,46	-12,05	-16,77	-23,83	-28,32	-34,80	-37,88
Infiltrering in PMA vir 2 minute	1,55	-12,23	-16,73	-22,53	-27,15	-34,73	-38,56
Infiltrering in water vir 5 minute	2,31	-11,16	-15,38	-21,44	-26,43	-33,57	-37,22
Infiltrering in PMA vir 5 minute	2,67	-11,96	-16,67	-23,57	-28,40	-35,46	-38,65
Infiltrering in water vir 15 minute	2,33	-11,39	-16,07	-22,52	-27,56	-35,01	-38,26
Infiltrering in PMA vir 15 minute	2,67	-11,70	-15,99	-21,86	-26,91	-33,61	-37,25

Infiltrering met PMA onder vakuum vir verskillende tydperke was in geen gevalle noemenswaardig beter as infiltrering met gedefo-niseerde water nie. Die massaveranderinge was in al die gevalle ongeveer dieselfde.

### 3.11 Bepaling van die bindingskapasiteit van PMA met geëkstra= heerde flavonofede en bepaling van leuko-antosianiene

Die eksperimentele prosedure is in 2.12.1 beskryf. Die resultate word in figuur 16 saamgevat. Die verskillende PMA-konsentrasies presipiteer die flavonofede effektief uit die loogekstrak.

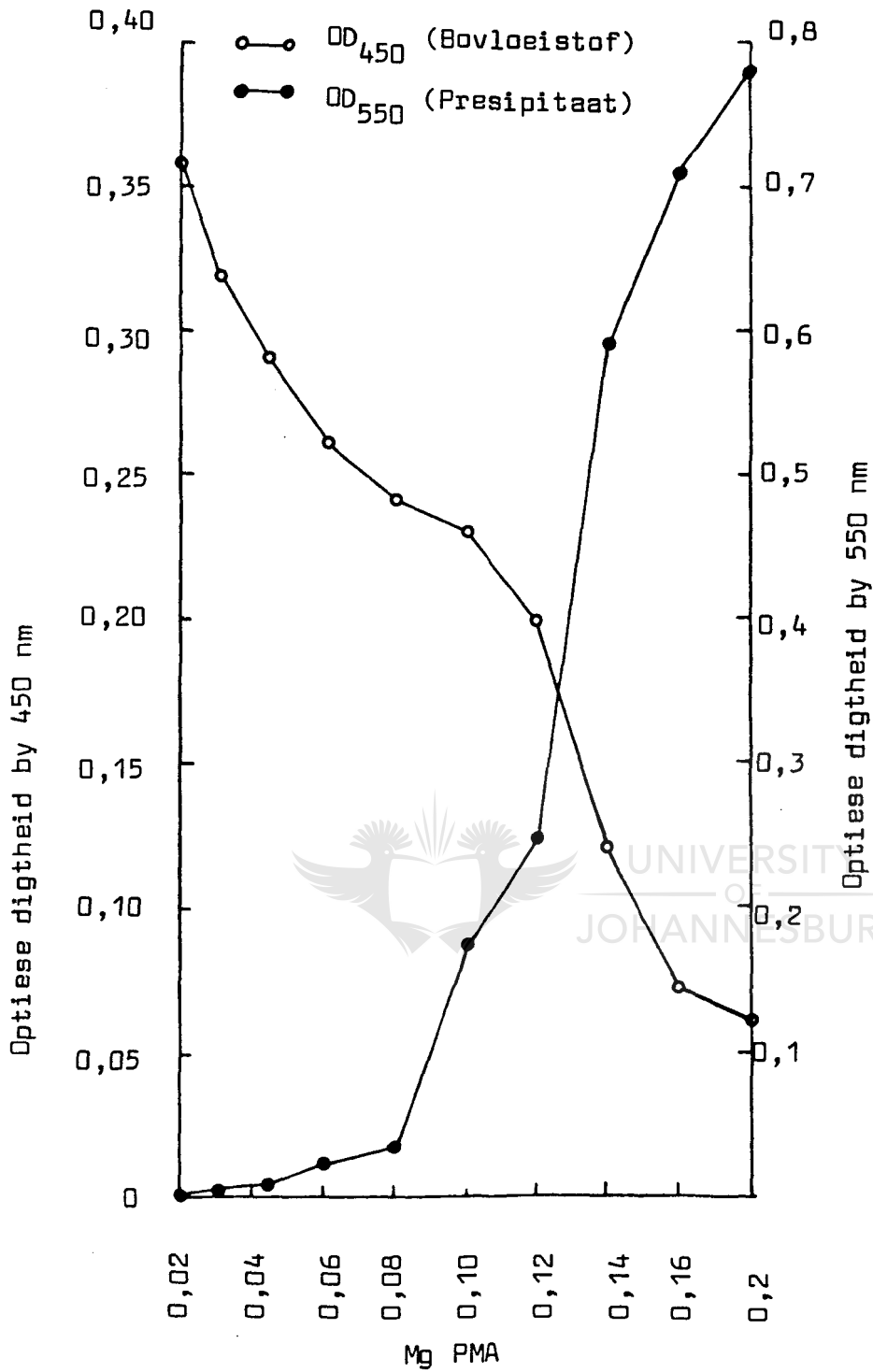
Met 'n byvoeging van 1,6 mg PMA is die presipitasie byna volledig. Die  $OD_{550}$ -lesings dui daarop dat 1,6 mg PMA ook die leuko-anto-sianiene byna volledig presipiteer.

### 3.12 Bindingskapasiteit van PMA met verskillende proteïene

Die eksperimentele metode word in 2.13.1 en 2.13.2 beskryf en die resultate in tabel 7 saamgevat.

Tabel 7 : BEPALING VAN BINDINGSKAPASITEIT VAN PMA MET  
VERSKILLENDE PROTEÏENE

Persentasie proteïene gebind deur PMA					
Albumien BSA	Ribonuklease	Lipase	Alkohol dehidroge= nase	Lisosiem	Kon= trole
0,00	6,02	46,21	18,84	12,57	0,00



FIGUUR 16: Bindingskapasiteit van fenielmerkuri-  
 asetaat (PMA) met verbruiningskompo-  
 nente in loogekstrak

Die betrokke albumienpreparaat was die enigste proteïene wat nie deur PMA gebind was nie. Die ander proteïene het verskillende bindingskapasiteite met PMA getoon. PMA het die effektiwiefste met lipase gebind, terwyl lisosiem en alkoholdehidrogenase minder doeltreffend gebind was. Ribonuklease het naas BSA die swakste met PMA gebind.



#### 4. BESPREKING EN GEVOLGTREKKINGS

'n Verskeidenheid van lokaliteitsvariante van Protea neriifolia word in die Republiek van Suid-Afrika aangetref. Die meeste van die bestaande variante word ook by die kommersiële blokaanplantings te Hekpoort, waar die proefmateriaal versamel en geselekteer was, aangetref. Die variante toon na pluk verskillende gevoeligheede ten opsigte van loofblaarverbruining. Proefmateriaal is dus sodanig geselekteer dat verskillende behandelings in 'n bepaalde ondersoek verteenwoordigende blaarmonsters of bloeistele met bloeiwyses van verskillende variante van Protea neriifolia bevat het. 'n Beperkte aantal blomme is op die optimale plukstadium van 'n spesifieke plant op 'n bepaalde tydstip beskikbaar. As gevolg hiervan is betroubare herhalings van eksperimente wat verskillende behandelings insluit, nie altyd moontlik nie, terwyl statistiese analises ook aansienlik bemoeilik word.

Uit die literatuuroorsig is dit duidelik dat tanniene en ander fenoliese verbindings soos leuko-antosianiene en katesjole, deur verskillende navorsers as die verbindings geïdentifiseer is wat by verbruining van verskillende plant- en vrugweefsels (Biale en Young, 1973) en P. neriifolia (Mulder, 1977) betrokke is. Die verbruining van 'n wye verskeidenheid plantweefsels word in die meeste gevalle aan ensiem-gekataliseerde oksidasies van bepaalde fenoliese verbindings toegeskryf. Oksiderende ensieme soos die katalases, peroksidases en veral polifenoloksidases word deur verskillende navorsers met die verbruiningsverskynsel geassosieer (Biale en Young, 1973; Palmer, 1973; Mulder, 1977). Die vernaamste van



hierdie verbruiningsensieme, naamlik die polifenoloksidases, oksideer fenole en polifenole tot ooreenstemmende kinone. Die kinone word dikwels verder tot kenmerkende bruin pigmente geoksideer en gepolimeriseer (Knapp, 1965). In ander plantweefsels soos swart olywe (Diez, 1973) is nie-ensimatiese lug-oksidase van fenoliese verbindings vir die verbruiningsverskynsel verantwoordelik.

Die loofblare van Protea neriifolia kan ook spoedig nadat dit van die plant verwyder is, verbruin. Dit word deur De Swardt (1977), Mulder (1977) en Jansen (1977) aan die aanwesigheid van bepaalde fenoliese flavonofiedverbindings bekend as leuko-antosianiene, toegeskryf. Mulder (1977) het die leuko-antosianiene wat vir die loofblaarverbruining van P. neriifolia verantwoordelik is, deur chromatografiese en spektrofotometriese metodes, as leuko-sianidien geïdentifiseer. Dit stem met die bevindinge van Elsworth en Martin (1971) ooreen. Leuko-sianidien is verder die mees algemene leuko-antosianien en kom wydverspreid in verskillende plantsoorte voor (Harborne, 1967).

Volgens Lewak (1967) kan hierdie leuko-antosianiene in plante as monomere, dimere, oligomere of gepolimeriseerd as tanniene voorkom. Kleurlose leuko-antosianiene lewer in die meeste gevalle ooreenstemmende gekleurde antosianidien in kenmerkende oksidatiewe reaksies in 'n suurmedium. Dit gaan met 'n verlies in waterstofatome en 'n dehidrasie gepaard (Robinson, 1963). Die verdere oksidasie van

hierdie polimere tydens verhitting in 'n suurmedium lewer gekleurde verbindings, veral flobafene (Robinson, 1963).

Benevens leuko-antosianiene, meld De Swardt (1977) en Mulder (1977) dat vogverlies deur die blare, as gevolg van transpirasie, moontlik die primêre stimulus vir loofblaarverbruining van Protea neriifolia is. Volgens hierdie navorsers bestaan daar 'n verwantskap tussen die twee primêre faktore, leuko-antosianiene en vogverlies deur transpirasie, wat tot verbruining en uiteindelijke afsterwing van lewende blaarselle lei. Leuko-antosianiene is kleurloos in normaal gesonde blare en kom in gespesialiseerde selle, bekend as tannienidioblaste, in 'n gereduseerde toestand in vaatweefsels voor (De Swardt, 1977). Mulder (1977) het die leuko-antosianiene in betreklike hoë konsentrasies uit blare en stingels van Protea neriifolia geëkstraheer. Dit is deur Mulder (1977) en Jansen (1977) anatomies vasgestel dat die verbindings hoofsaaklik in die blaarnerwe en stingelbas in gespesialiseerde tannienselle voorkom. Dit is sodoende geïsoleer van die metaboliserende funksionele inhoud van die verskillende plantweefsels. Tydens transpirasie verloor die mesofielselle wat die nerwe in die blaar omring, vinniger water as die selle wat die leuko-antosianiene bevat. Water plus leuko-antosianiene word dan vanaf die blaarnerwe en stingelbas uit die gespesialiseerde selle na omringende selle as gevolg van 'n gunstige waterpotensiaalgradiënt, getrek (De Swardt, 1977; Mulder, 1977). Leuko-antosianiene met effektiewe proteïenbindingskapasiteite reageer dan met die ensieme. Die normale reaksies word sodoende versteur en die

leuko-antosianiene word vervolgens deur ensieme of suurstof geoksideer en verbruining tree in (De Swardt, 1977; Mulder, 1977).

In blare van Protea neriifolia waar verbruining reeds 'n aanvang geneem het, was tanniene nie net tot vaatbondels en naasliggende sponsparenchium beperk nie, maar was ook veral volop in die palisadeweefsel (Mulder, 1977). Dit word toegeskryf aan die uitlekking van die tannienbevattende inhoud van vakuole as gevolg van wysigings in die tonoplasstruktuur. Daarna vind ongewenste vermenging en reaksies van tanniene met die funksionele sitoplasma, plaas. By piesangs is soortgelyke verskynsels opgemerk. In piesangs maak tanniene 'n deel van die melkerige inhoud van melksapkanale uit (Swain, 1965; Barnell en Barnell, 1945). Sodra rypwording plaasvind, word tanniene ook in selle wat aan die melksapkanale grens, aangetref (Palmer, 1973). Volgens Mulder (1977) is die tanniene wat vanaf die vakuole van die tannienidioblaste in die vaatbondels van P. neriifolia lek en deur diffusie na die res van die blaar versprei en geoksideer word, skynbaar vir die ongewenste verbruining van die loofblare verantwoordelik.

Jansen (1977) het deur middel van dwarsdeursnee deur die stingel van P. neriifolia aangetoon dat tanniene ook in gespesialiseerde selle in die floeem, korteks- en murgweefsels naasliggend aan die vaatbondels, en in die selle tussen die vaatbondels (interfassikulêre parenchium) voorkom. In die vaatbondels kom tannienbevattende selle wat vanaf die floeem tot in die primêre xileem strek, in vaatbondels voor (Jansen, 1977). Uit die anatomiese studies van

Mulder (1977) en Jansen (1977) was die groot area wat deur tanniene in die betrokke selle beslaan word, veral opmerklik. Die rede hiervoor is dat tanniene hoofsaaklik in die vakuole aanwesig is. Mulder (1977) meen dat hulle as tannienselle of tannienidoblaste beskou kan word. Volgens Mulder (1977) impliseer die ligging van tannienselle in die omgewing van vaatbondels moontlik die kambium as oorsprong van tannienvoorlopers.

Plate I tot III steun grotendeels die resultate en waarnemings, asook sekere afleidings wat Mulder (1977) en Jansen (1977) uit hul anatomiese ondersoeke met Protea neriifolia verkry het. Die blaaranatomie toon sekere xeromorfiiese eienskappe. Die belangrikste hiervan is die isobilaterale mesofil (plaat Ia, P, SP), die goed ontwikkelde kutikula (plaat Ib, KU) en die sklerenchiem (plaat Ib, S) by die vaatbondels (plaat Ia, V). Tannienselle is hoofsaaklik in die floëem (plaat Ib, F), die vaatbondelskedes van die kleiner are en die parenchiem wat vaatbondel (plaat Ia, V) van die hoofaar omring, aanwesig. Enkele tannienselle kom ook in die sponsparenchiem (plaat Ia, SP) voor. Die xileem (plaat Ia, X) bevat geen tannienselle nie.

In die jong sekondêr onverdikte stingel (plate IIa en b) van P. neriifolia word die tannienselle (plaat IIb, T) hoofsaaklik in die korteks (plate IIa en b, K) en murg (plate IIa en b, M) teenaan die vaatweefsel (plaat IIa, VW), die interfassikulêre parenchiem (plate IIa en b, IP), sowel as die floëem (Plaat IIb, F) aangetref. In die xileem (plaat IIb, X) is geen tannienselle aanwesig nie.

Die vaatweefsel (plaat IIIa, VW) in die ouer stingel (plaat III) vorm 'n aaneenlopende silinder sonder interfassikulêre parenchiem. Die tannienselle (plaat IIIb, T) is hoofsaaklik tot die korteks (plate IIIa en b, K) en die murg (plaat IIIa, M) teenaan die vaatweefsel, die floëem (plaat IIIb, SF), sowel as die vaatstrale (plaat 3b, VS), beperk. Geen tannienselle is in die xileem (plaat 3b, SX) aanwesig nie.

Veral van belang, sover dit loofblaarverbruining aangaan, is dat beide die boonste en onderste epidermis 'n noemenswaardige dik kutikula toon (plate Ia en b). As gevolg van die goed ontwikkelde kutikula kan aanvaar word dat transpirasie hoofsaaklik deur die stomata plaasvind. Mulder (1977) het eksperimenteel gevind dat jonger en anatomies swakker ontwikkelde blare normaalweg eerste tekenes van verbruining toon. Bykomende kutikulêre transpirasie vanweë dun kutikulas, kan moontlik hierdie verskynsel verklaar.

Volgens Mulder (1977) word vogverlies krities wanneer membraanpermeabiliteit verhoog en bruinwording 'n aanvang neem, vanweë die vinnige transpirasietempo in sulke blare. Volgens plaat Ia is die kutikula veral prominent in die gebied bokant die stoma. Dit mag eksogene toediening van chemikalieë aan die blaar, deur bespuitings byvoorbeeld, moontlik bemoeilik.

Plate I tot III toon ook duidelik die opmerklike aaneenskakeling tussen tannienselle van die verskillende tannienbevattende streke. Tannienbevattende selle is hoofsaaklik in die omgewing van die vaatbondels gekonsentreer (plate I tot III). Volgens Esau (1965)

mag beide die korteks en murg idioblaste bevat. Moontlik kan gedeeltes van die skors en murg as afsetgebied of stoorplek van tanniene dien. Die vernaamste stoorplek blyk die bas van die stingel te wees (Swain, 1965; Mulder, 1977). Plate IIIa en b toon veral duidelik hoedat tannienbevattende selle van die korteks aaneenskakel met tannienselle in die interfassikulêre parenchium, floëem, vaatstrale en murg. Uit bogenoemde kan afgelei word dat tanniene moontlik hul oorsprong in die blare het, en vandaar versprei word deur floëemweefsel na die stingel waar dit in die bas en gedeeltes van die korteks- en murgweefsels geberg word. Plate I tot III toon dat die xileem oënskynlik tannienvry is. Die xileem behou die funksie van vervoer van water en minerale elemente, en is nie direk betrokke by die probleem van loofblaarverbruining nie.

Figuur 1 toon die massaveranderinge van individuele blare met verskillende behandelings. Die plasing van blaarbasisse in verskillende media verseker 'n toereikende vogopname wat normaalweg deur wortels aan blare op die intakte plant verskaf word. 'n Voldoende vogtoevoer is noodsaaklik om vir die vogverlies deur transpirasie te kompenseer. Die kontrole se blare het deurgaans 'n laer massa as die behandelings gehad en slegs by die kontrole is waargeneem dat die tempo van wateropname die tempo van transpirasie tydens 'n bepaalde periode (ongeveer die vierde tot agste dag) oorskry het. Die drie behandelings (8-HQS, PMA en die mengsel) se blare het deurgaans 'n geleidelike toename in massa getoon. In die geval van die kontrole mag mikroorganismes mettertyd in die water vermeerder wat

tot houtvatverstopping kan lei. Die uitlogging en lekkasie van leuko-antosianiene en moontlike ander verbindings vanaf die snyoppervlaktes van blaarbasisse in die waterige medium mag 'n verdere bydraende faktor tot houtvatverstopping wees. Die uitgeloopte leuko-antosianiene in die water kan na oksidasie polimeriseer. Die amorge gepolimeriseerde produkte mag moontlik in die houtvate beland wat tot verstopping bydra. Gedeeltelike houtvatverstopping van die kontrole se blare skyn veral die vierde dag na pluk prominent te wees, soos uit figuur 1 waargeneem kan word. Na vyf dae was daar weer 'n geleidelike toename in die massas van die blare. Dit dui daarop dat die houtvate nie totaal verstop geraak het nie. Namate 'n watertekort ontstaan, mag stomatale sluiting die transpirasietempo verlaag en met 'n beperkte wateropname is 'n massatoename van die blare moontlik. Volgens figuur 1 het die blare wat met 8-HQS behandel was die grootste toename in massa na die vyfde dag getoon. Dit is waarskynlik aan 'n hoër wateropname as gevolg van die onbelemmerde deurgang van water deur houtvate, te wyte (Jansen, 1977). Rogers (1973) en Marousky (1968) beweer dat die groei van bakterieë, giste en swamme, wat houtvatverstopping kan veroorsaak, deur 8-HQS geïnhibeer word. Skynbaar is 8-HQS 'n antioksidant en verhoed sodoende fisiologiese stingelverstopping wat deur oksidasie van natuurlike tanniene veroorsaak word (Zentmeyer, 1943). Zelitch (1963) het gevind dat 8-HQS 'n mate van stomatale sluiting kan bewerkstellig. Al hierdie faktore verklaar moontlik waarom die 8-HQS-behandelde blare 'n hoër massatoename gehandhaaf het. Die PMA-behandelde blare het ook deurgaans 'n gunstige waterbalans gehandhaaf. Oor 'n tydperk van elf dae het die massa van die

PMA-behandelde blare egter nie meer as 2% gestyg nie, in teenstelling met die 8-HQS-behandeling waar die styging 4% was. Dit dui daarop dat PMA as antitranspirant 'n geringer sluiting van stomata as 8-HQS tot gevolg gehad het. Indien PMA stomata slegs gedeeltelik sluit, kan dit as 'n ideale antitranspirant beskou word, aangesien 'n doeltreffende antitranspirant transpirasie slegs gedeeltelik verhoed deur gedeeltelike stomatale sluiting. Sodoende sal die verkoelende effek van transpirasie nie heeltemal verlore gaan nie (Meidner en Mansfield, 1968). Volgehoue transpirasie is ook essensieel vir die opname van vaasmedium via die houtvate na die blaarselle. Die PMA mag moontlik ook 'n antimikrobiale werking op die vaasmedium hê, aangesien hierdie middel as fungisied aangewend word (Meidner en Mansfield, 1968). Daarbenewens is PMA ook in staat om uitgeloogde tanniene in die vaasmedium te bind, sodat die tanniene nie houtvatverstopping veroorsaak nie. Die tannienbindingskapasiteit van PMA word in figuur 16 aangedui. Figuur 1 toon dat die mengsel moontlik die intermediêre effekte van PMA en 8-HQS tot gevolg het.

Volgens Laurie (1936) het die respirasietempo van snyblomme 'n invloed op die leeftyd daarvan en dit gee by verouderende plantweefsels 'n aanduiding van hul metaboliese aktiwiteite. Indien blomme vanaf die plant verwyder word, word die endogene toevoer van respiratoriese substrate vanaf die res van die plant stopgesit, tensy dit via die vaasmedium aangevul word. Indien substrate nie aangevul word nie, en interne tekorte ontstaan, sal die respirasie=



tempo van die blaar- en blomweefsels noodwendig afneem. Die handhawing van respirasie en ander metaboliese aktiwiteite hang ook grotendeels van 'n voldoende watervoorsiening en beskikbare water in die selle af. Water is dus 'n essensiële faktor wat 'n vername rol by die houvermoë van snyblomme speel. Besikbaarheid of afwesigheid daarvan sal noodwendig die respirasietempo van plantweefsels beïnvloed. Benewens die talryke funksies wat water in plantselle vervul, verskaf dit optimale turgor sodat die normale fisiologiese prosesse ongehinderd kan verloop (Rogers, 1973). Die respirasietempo's van loofblare soos in figuur 2 saamgevat, toon in al die gevalle tydens die eerste drie dae 'n aansienlike toename bo die aanvangswaardes. Na vier dae is die respirasietempo van die PMA-behandelde blare deurgaans die hoogste. Die respirasietempo van die PMA-behandeling wat deurgaans hoër as dié van die kontrole was, dui op 'n stimulerende effek van PMA. Die hoër respirasietempo mag gedeeltelik aan die onbeperkte opname van vaaswater, wat veroorsaak dat selle by vol turgor verkeer, toegeskryf word. Hierdie toestand mag verder as gevolg van die anti-transpirantwerking (gedeeltelike stomatale sluiting) van PMA volgehou word. Die blare wat slegs 8-HQS opgeneem het, se respirasietempo is vanaf pluk tot op die negende dag die laagste. Dit dui op 'n inhiberende effek van 8-HQS. Dit stem grotendeels met die bevindinge van Jansen (1977) ten opsigte van Protea neriifolia, ooreen. 'n Afname in respirasietempo met toediening van 8-HQS is deur Scholes (1963), asook Kaltaler en Boodley (1970) met rose gevind. Die 8-HQS mag respirasie inhibeer, aangesien dit moontlik

algehele stomatale sluiting bewerkstellig en vervolgens gaswisseling beperk. Die blare van die mengsel se respirasietempo was tydens die vyfde tot dertiende dag tussen dié van PMA en 8-HQS. Dit is onverklaarbaar, aangesien die twee komponente gelyktydig funksioneer en die endogene interaksies kan moeilik bepaal word. Na agt dae was daar 'n opmerklike daling in respirasietempo's in al die gevalle. Die afname in respirasietempo's kan aan die geleidelike uitputting van beskikbare assimileerbare koolhidrate as respirasiesubstrate en/of 'n interne watertekort in die blaarselle, toegeskryf word. Na regte was die respirasietempo van die kontrole se blare die laagste. Dit mag aan toenemende vaatverstopping deur mikrobes en die negatiewe effek van uitgeloogde flavonofede, te wyte wees (Jansen, 1977). Die verhoogde respirasietempo wat deur PMA veroorsaak word, mag tot 'n vinniger degradasie van reserwevoedingstowwe of sellulêre komponente en gevolglike verbruining lei. Dit mag moontlik inhibeer word deur addisionele respirasiesubstrate in die vaasmedium toe te dien.

Verskillende behandelings is aan proteablomme toegedien om die doeltreffendheid daarvan ten opsigte van massaveranderinge, oopheid van blomknoppe, verbruining van loofblare, persentasie transmittansie van vaasmedium en vogopname, te bepaal. Volgens figuur 3 is daar 'n aanvanklike styging tydens die eerste twee dae na pluk in die blommassas van al die behandelings waargeneem. Dit kan aan die inisiële hoë mediumopname as gevolg van die onbelemmerde deurgang van water deur houtvate en die bereiking van maksimum turgor

in blaarselle, toegeskryf word. Die blommasse van die kontrole het reeds vanaf die derde dag voortdurend tot op die sestiende dag gedaal. Die kontrole-bloem het tydens die volle duur van die eksperiment vinniger vog as die behandelings deur transpirasie verloor, soos in die massa-afnames weerspieël word. Die bloem van die mengsel-, PMA- en 8-HQS-behandelings se massas het reeds gestyg totdat 'n maksimum op die sesde dag bereik was. Na die sesde dag het die massas van al die behandelings egter tot op die sestiende dag gedaal. Die dalings in massa tree in sodra die transpirasietempo die mediumopname oorskry. Sluiting van stomata sal mettertyd die transpirasietempo verminder en gevolglik die opname van vaasmedium. Die massas van al die behandelings se bloem was deurgaans hoër as dié van die kontrole. Dit kan hoofsaaklik aan die antimikrobiale werking van PMA en 8-HQS in die vaasmedium toegeskryf word, wat verminderde fisiologiese vaatverstopping bewerkstellig. Die PMA bind en presipiteer ook in 'n mate die potensieël vaatverstoppende stowwe wat vanaf bloeistele uitloeg (figuur 16). 'n Kombinasie van PMA en 8-HQS (mengsel) het volgens figuur 3 die beste resultate gelewer.

Die bloeiwyses van die mengsel en 8-HQS-behandeling was oor die algemeen beter as dié van die kontrole (tabel 1 en figuur 4), aangesien dit nie vinnig ontluik het nie. Dit is moontlik omdat hierdie behandelings se bloem minder vog verloor het (figuur 3). Die bloeiwyses van die kontrole en PMA-behandeling was in die meeste gevalle die oopste, terwyl dit ook die vinnigste in massa afgeneem het (figuur 3). Veral die bloem van die kontrole het teen 'n vin-

nige tempo hul dekoratiewe waarde verloor. Die negatiewe effek van PMA kan in hierdie geval aan die relatiewe hoë konsentrasie (0,8 mg PMA/l) waarteen dit as vaasmediumskomponent toegedien was, toegeskryf word. Volgens Zelitch (1963) moet daar altyd gepoog word om antitranspirantverbindings, soos PMA, teen die laagste moontlike effektiwiese konsentrasies en vir die kortste moontlike periodes toe te dien. Dit sal inhiberingseffekte op metaboliese prosesse tot 'n minimum beperk.

Loofblaarverbruining het in al die gevalle vanaf die tweede dag na pluk ingetree (figuur 5). Die PMA-behandelde blomme se blare was tot op die sewende dag die minste verbruin. Dit kan aan die antitranspirantwerking van PMA toegeskryf word. Die PMA handhaaf moontlik 'n gunstige vogbalans in die blare en verhoed sodoende 'n verhoging in die permeabiliteit van selmembrane van die blare, gevolglike dekompartementasie en inter- en intrasellulêre verspreiding van verbruiningskomponente (leuko-antosianiene). Al hierdie reaksies mag volgens Mulder (1977) intree, indien oormatige vogverlies nie doeltreffend bekamp word nie. Volgens figuur 5 toon die PMA-behandeling se blare na ses dae 'n sneller verbruining en is uiteindelik meer as al die ander behandelings se blare verbruin, insluitende dié van die kontrole. Dit kan as gevolg van die akumulasie van 'n te hoë PMA-konsentrasie plaasvind. Dit bevestig dat 'n konsentrasie van 0,8 mg PMA/l vaasmedium te hoog is en met verloop van tyd 'n nadelige effek op die plantweefsels mag hê. Zelitch (1965) het ook toksiese effekte van PMA-behandelings by gars- en eikeblare gevind, terwyl Nozaki, Tagawi en Arnon (1961)

aangetoon het dat PMA teen 'n konsentrasie van  $1 \times 10^{-4}$  M fotosintese van Rhodospirillum rubrum inhibeer het. Die PMA as vaasmediumskomponent kan die interne weefsels van die blare makliker bereik as in die geval van bespuitings waar PMA meer tot die oppervlakte van blare beperk word (Zelitch, 1961; Zelitch en Waggoner, 1962; Zelitch, 1965).

Die persentasie transmittansie van die mengsel het onveranderd tydens die eerste sewe dae gebly, terwyl dié van die ander behandelings en kontrole onmiddellik begin daal het (figuur 6). Die mengsel veroorsaak skynbaar 'n mindere oksidasie en/of beter presipitasie van potensieële verbruiningskomponente. Die inisiele afname in die persentasie transmittansie word aan leuko-antosianiene en moontlike ander flavonofiede wat uit stingelwonde gelek het, toegeskryf. Die persentasie transmittansie van die PMA-vaasmedium is tydens die eerste sewe dae, naas die mengsel, hoër as dié van die 8-HQS-vaasmedium en die kontrole. Dit kan aan die binding en presipitasie van leuko-antosianiene deur PMA toegeskryf word (figuur 16). Toenames in persentasie transmittansie na aanvanklike afnames is moontlik aan polimerisasie en gevolglike presipitasie van uitgeloogde leuko-antosianiene na oksidasie te wyte. Verbruiningskomponente word sodoende uit die media onttrek. Hierdie aanname is bevestig deur die positiewe leuko-antosiantoetse wat met presipitate verkry is. Figuur 6 toon dat die mengsel se persentasie transmittansie die hoogste bly. Dit is moontlik die gevolg van die gekombineerde effekte, presipiterende en reduserende aksie, van PMA en 8-HQS.

Die totale wateropname deur die blomme in die mengsel-, 8-HQS- en PMA-media was oor die 17 dae periode hoër as dié van die kontrole (tabel 2). In die geval van die kontrole het die verstopping van houtvate deur onoplosbare amorfe gepolimeriseerde leuko-antosianiene en mikrobies vroeg ingetree. Sodoende is wateropname deur bloeistele uit die vaasmedium beperk. Fisiologiese stingelverstopping begin volgens Durkin en Kuc (1966), eers by die snyvlakke en versprei geleidelik opwaarts deur die stingel. Behalwe afskeidings van beskadigde selle mag verskillende verbindings ook deur floëmuitskeidings in vaasmedia vrygestel word. Presipitasie van leuko-antosianiene en die antimikrobiale werking deur PMA en 8-HQS het 'n gunstige wateropname bewerkstellig. 'n Kombinasie van hierdie twee verbindings (mengsel) het die hoogste wateropname tot gevolg gehad. Die 8-HQS-behandeling was meer effektief as PMA.

Aangesien PMA teen 'n konsentrasie van 0,8 mg PMA/l, nie doeltreffend genoeg was nie, en nadelige effekte tydens die bekamping van loofblaarverbruining veroorsaak het, is besluit om soortgelyke ondersoek met PMA teen vier verskillende laer konsentrasies uit te voer.

Volgens figuur 7 was daar, soos in die vorige ondersoek, 'n aanvanklike styging tydens die eerste drie dae in die blommassas van al die behandelings en die kontrole. Die massaveranderinge, soos bereken vanaf die aanvanklike massas, van die blomme van die verskillende behandelings is op dieselfde wyse verklaarbaar soos tydens die vorige ondersoek reeds bespreek is. Die aanvanklike skerp styging is aan 'n hoë mediumopname as gevolg van die onbelemmerde deurgang van media deur houtvate en die oormaat beskikbare media toe te skryf. In die

geval van al die PMA-behandelings kan blommassatoenames ook aan antimikrobiale werking, gedeeltelike sluiting van stomata en die binding en presipitasie van leuko-antosianiene toegeskryf word. Laasgenoemde sal 'n gevolglike verminderde fisiologiese stingelverstopping bewerkstellig. Die dalings in massa is te wyte aan die transpirasietempo wat die mediumopname oorskry. Mediumopname word in dié gevalle moontlik deur fisiologiese houtvaatverstopping beperk. Die blomme van die kontrole se massas daal reeds aansienlik vanaf die derde dag na pluk. Dit is volgens figuur 7 opmerklik hoedat die PMA-behandelde blomme se massas onderskeidelik later begin daal, namate hoër PMA-konsentrasies in die vaasmedia voorkom. Die blomme van die 0,004 mg PMA/l en 0,0004mg PMA/l-behandelings se massas daal ook drie dae na pluk, maar nie so opmerklik as dié van die kontrole nie. Die 0,04 mg PMA/l-behandelde blomme se massa daal vanaf die vyfde dag, terwyl dié van die 0,4 mg PMA/l-behandeling se massa eers na sewe dae begin daal. Die blommasse van die 0,4 mg PMA/l-behandelde blomme was dus na drie dae tydens die hele verloop van die eksperiment die hoogste, gevolg deur 0,04 mg PMA/l, 0,004 mg PMA/l, 0,0004 mg PMA/l en die kontrole, onderskeidelik. Die 0,4 mg PMA/l-behandeling was dus meer effektief om vogverlies te inhibeer. Dit kan toegeskryf word aan verskeie faktore soos reeds genoem is, naamlik die meer doeltreffende antimikrobiale werking, leuko-antosianienbindingskapasiteit en optimum stomatale sluiting teen die hoër konsentrasie.

Volgens figuur 8 het die 0,4 mg PMA/l-behandeling se bloeiwyses die stadigste en tot 'n mindere mate oopgegaan. Dit was ook die blomme

wat die minste vog verloor het (figuur 7). By die res van die PMA-behandelings was daar egter nie 'n direkte verwantskap tussen die oopgaan van bloeiwyses en PMA-konsentrasies nie. Moontlik verminder die hoër PMA-konsentrasie transpirasie doeltreffender as die ander PMA-behandelings. Sodoende word verhoed dat die bloeiwyses vinnig vog verloor en uitdroog, wat skynbaar tot blomknopopening lei. Die direkte invloed van PMA op metaboliese aktiwiteite van bloeiwyseweefsels kan egter nie buite rekening gelaat word nie.

Volgens figuur 9 is die 0,4 mg PMA/l behandeling se blare na die sewende dag opmerklik minder as die ander handelings en kontrole verbruin, terwyl die graad van verbruining in al die gevalle aanvanklik nie noemenswaardig van mekaar verskil het nie. Behalwe dus vir die 0,4 mg PMA/l-behandeling was daar 'n groot ooreenkoms in die loofblaarverbruining van die ander handelings tydens die verloop van die eksperiment. Verbruining is op dieselfde wyse verklaarbaar soos met die vorige blomeksperimente reeds bespreek is. Die PMA funksioneer dus skynbaar doeltreffend as antitranspirant teen 'n konsentrasie van 0,4 mg PMA/l vaasmedium. Die antitranspirantwerking is dan ook, soos reeds bespreek, vir die verminderde loofblaarverbruining verantwoordelik.

Volgens figuur 10 en tabel 3 is die persentasie transmittansie van die 0,4 mg PMA/l medium deurgaans relatief hoog en oortref die ander handelings en kontrole na die agste dag. Die kontrole het opmerklik na die sewende dag gedaal. Die veranderinge in die persen=



tasie transmittansie van die verskillende vaasmedia is op dieselfde wyse verklaarbaar soos met die vorige blomexperiment reeds bespreek is. Die aanvanklike afname is aan die leuko-antosianiene en moontlike ander verbruiningskomponente wat uitloog, te wyte, terwyl stygings aan polimerisasie en presipitasie van flavonofede toegeskryf word. Laasgenoemde is meer effektief met die 0,4 mg PMA/l-behandeling bewerkstellig.

Die 0,4 mg PMA/l-behandelde blomme het ook deurgaans die meeste en die kontrole die minste vaasmedium gebruik (tabel 4). Die PMA het dus teen hierdie konsentrasie moontlike houtvaatverstopping geïnhipeer deur doeltreffende presipitasie van ongewenste verbindings wat uit stingelweefsels in die vaasmedium lek. Die antimikrobiale werking deur PMA het ook verder tot 'n verhoogde vogopname bygedra. Dit is uit die vaasmediumexperimente met blomme dus duidelik dat PMA slegs teen die spesifieke konsentrasie van 0,4 mg PMA/l positiewe resultate ten opsigte van die verskillende parameters gelewer het.

Daar is ook van doping- en bespuitingstegnieke met PMA gebruik gemaak om vas te stel of loofblaarverbruining nie meer effektief beheer kan word nie. Toediening van PMA het wel loofblaarverbruining in 'n mate verminder, maar nie noemenswaardig nie. Volgens tabel 5 was PMA-doping by die laer konsentrasie (4 mg PMA/l) ondoeltreffend om massaverlies, wat met verbruining geassosieer word, te verminder. Blare wat in 'n 4 mg PMA/l-oplossing gedoop was, het feitlik tien persent meer massa as blare wat in water gedoop was, verloor. Doping van blare in 'n 40 mg PMA/l-oplossing het egter 'n kleiner massaverlies as

water-gedoopte blare veroorsaak. 'n Bespuiting van blare met 'n 4 mg PMA/l-oplossing het die kleinste persentasie massaverlies gelewer. Aangesien Mulder (1977) 'n verwantskap tussen massaverlies en verbruining aangetoon het, is dopingstegnieke nie doeltreffend om verbruining te beheer nie. Die ondoeltreffendheid van doping kan aan die buitengewone dik kutikula wat die proteablaar bedek (plate Ia en b) en die anatomiese struktuur van stomata (Du Toit, 1978), toegeskryf word. Die kutikula verhoed dat PMA daardeur dring om sodoende die onderliggende verbruiningskomponente te bereik. Stomatale openinge is daarbenewens ook baie klein, en is volgens Du Toit (1978) slegs 20 nm in deursnee. Genoegsame PMA, teen die laer konsentrasie, kan as gevolg hiervan nie deur die stomatale openinge deur die suprastomatale holtes tot by die sluitselle dring om dit doeltreffend te sluit nie. Die hoër PMA-konsentrasie (40 mg PMA/l) was wel meer suksesvol in hierdie verband. Die verminderde massaverlies as gevolg van die PMA-bespuiting is 'n verbetering wat toegeskryf kan word aan meer PMA wat deur die stomata as gevolg van fyner druppeltjies en 'n verhoogde druk gepenetreer het. Die PMA as 'n bespuiting toegedien, het dus 'n laer massaverlies veroorsaak as in gevalle waar PMA as dopings- of vaasmedium-komponent toegedien is. Die mate van sukses met 'n PMA-bespuiting (4 mg PMA/l) het gelei tot 'n verdere ondersoek om vas te stel of laer of hoër konsentrasies meer effektief is.

Van die verskillende PMA-oplossings wat as bespuitings aan individuele blare toegedien is, is gevind dat die 4 mg PMA/l bespuite

blare die minste massaverlies getoon het (figuur 11). Die hoër konsentrasie van 40 mg PMA/l tree moontlik metabolies inhibierend op met gevolglike skadelike effekte (Nozaki, Tagawi en Arnon, 1961; Zelitch, 1965). 'n Konsentrasie van 0,4 mg PMA/l is moontlik weer te laag en verskaf nie genoegsame PMA wat die blaaroppervlaktes kan penetreer nie.

Bespuitings van geplukte blomme (bloeiwyses aan bloeistele) het getoon dat die 0,4 mg PMA/l-bespuiting 'n geringer massaverlies as die 4 mg PMA/l-bespuiting veroorsaak het (figuur 12), waar blomme net na pluk en bespuiting in waterige vaasmedia geplaas was. Daar was nie 'n groot verskil in die mate van loofblaarverbruining tussen die 0,4 mg PMA/l en 4 mg PMA/l-behandelings gevind nie, alhoewel die 4 mg PMA/l-behandelde blomme se blare teen die verwagting effens minder as die 0,4 mg PMA/l-behandelde blomme verbruin het (figuur 13). Albei die PMA-behandelings se blomme het egter minder massa as die kontrole se blomme verloor, terwyl hulle ook minder loofblaarverbruining as die kontrole se blare gelewer het.

Indien blomme na bespuitings nie in waterige vaasmedia geplaas word nie, verloor hul egter meer massa as die blomme van die kontrole (figuur 14). Die verskille in massaverlies is egter minder opvallend as in die gevalle waar vaasmedia wel beskikbaar is. Die kontrole se blare het in die gevalle waar vaasmedia ontbreek het, steeds 'n hoër tempo van loofblaarverbruining as die PMA-behandelings gelewer (figuur 15). Die 0,4 mg PMA/l-behandelde blomme se blare het in hierdie geval opmerklik minder verbruining as die 4 mg PMA/l-behan-

deling se blare getoon. Dit blyk dus asof verbruining in hierdie geval nie net aan vogverlies te wyte is nie. Die PMA-werking kan dus aan ander faktore soos inhibering van inter- en intrasellulêre falvonofiedtranslokasie of metaboliese aktiwiteite toegeskryf word.

Uit die voorafgaande is dit duidelik dat PMA-besputings op blomme 'n mate van beheer teen loofblaarverbruining teen 'n konsentrasie van ongeveer 0,4 mg PMA/l lewer, mits blomme na besputings in waterige vaasmedia geplaas word. Alhoewel daar wel 'n vermindering in loofblaarverbruining tydens PMA-besputings verkry was, was dit te min vir 'n kommersiële aanbeveling. 'n Antitranspirant soos PMA hou wel belofte in, maar nie-toksiese effektiewe antitranspirante verdien verdere aandag.

Na verwagting was infiltrering van loofblare met PMA (teen 'n drukgradiënt van 50 kPa) vir verskillende tydperke in geen gevalle noemenswaardig beter as infiltrering met gedefoniseerde water nie.

Die massaverandering was in meeste gevalle ongeveer dieselfde (tabel 6). Aangesien blare wat met PMA gefiltreer was, in sommige gevalle meer massa as die ooreenkomstige water-behandelde blare verloor het, onderskraag dit die waarnemings van Shimshi (1963) en Zelitch (1965) dat PMA moontlik inhiberingseffekte op metaboliese prosesse (veral fotosintese) mag uitoefen, indien dit die onderliggende blaarweefsels bereik en nie tot die sluitselle beperk word nie. Infiltrering teen 'n drukgradiënt veroorsaak moontlik dat 'n oormaat PMA deur die stomatale openinge penetreer en vervolgens toksiese effekte op metaboliese prosesse in blaarweefsels veroorsaak. Die resultate toon dat die langer infiltreringsperiode hierdie probleme dus net verder

vererger. Infiltrering met PMA teen 'n drukgradiënt is op 'n groter skaal nie 'n aanvaarbare praktiese proposisie nie, terwyl dit om bogenoemde redes ook gevare inhou. Alhoewel die alternatiewe bespuitingstegnieke in alle opsigte die meer doeltreffende metode vir PMA-toediening is, bestaan hier ook die gevaar dat 'n oormaat PMA onder sekere omstandighede die blaar mag binnedring. Volgens Shimshi (1963) kan selfs 'n benattingsmiddel tydens bespuiting of doping gevaarlik wees. Infiltrering of penetrasie kan in sodanige gevalle nadelige effekte verder bevorder.

Die moontlikheid of PMA as 'n tannienbinder funksioneer, is ook ondersoek. Volgens figuur 16 was byna al die flavonofede (verbruiningskomponente) teen 'n bepaalde konsentrasie uit die loogekstrak gepresipiteer. Indien flavonofede wat vanaf stingelweefsels in die vaasmedia uitlek, nie deur geskikte chemikalieë gepresipiteer word nie, kan dit deur stingels opgeneem word en na die res van die plant getranslokeer word. Indien die flavonofede die blare bereik, sal loofblaarverbruining vinniger intree, terwyl die graad van verbruining sal vererger. Volgens die resultate hier verkry, kan PMA by vaasmedia gevoeg word om uitgeloogde flavonofede te presipiteer om ongewenste opname te verhoed. Die optimum PMA-konsentrasie vir hierdie doel is nie maklik bepaalbaar nie en is afhanklik van die hoeveelheid flavonofede wat vanaf stingelweefsels in die vaasmedium uitgeloog word. Die mate van uitloging word deur faktore soos wonde op stingels, variant of spesie en temperatuur bepaal. By die bepaling van 'n optimum PMA-konsentrasie moet ook in gedagte gehou word dat PMA deur blomme opgeneem kan word wat toksiese metaboliese skade

aan die plantselle mag berokken. Volgens die bevindinge is dit dus ook moontlik dat PMA die inter- en intrasellulêre translokasie van flavonofede sal inhibeer indien dit die lokaliteite bereik waar flavonofede geleë is.

Volgens tabel 7 was die betrokke albumienpreparaat die enigste proteïen wat nie deur PMA gebind was nie, terwyl die ander proteïene verskillende bindingskapasiteite met PMA getoon het. Die PMA toon volgens hierdie resultate 'n mate van spesifisiteit ten opsigte van proteïene waarmee dit sal bind. Volgens Zelitch (1965) vorm PMA veral merkaptiedbande met sulfhidriëlgroepe van proteïene. Ander aksiemeganismes van PMA tydens proteïenbinding kan ook nie uitgesluit word nie. Verskille in proteïenbindingskapasiteite kan aan faktore soos suiwerheid, denaturasie, teenwoordigheid van geskikte bindingsgebiede op proteïene, pH en molekulêre konfigurasie toegeskryf word. Indien PMA dus die plantselle sou indring, kan dit sekere ensieme inhibeer. Die PMA-konsentrasie sal in hierdie geval die mate van ensieminhibisie bepaal. Onder matige toediening mag PMA ongewenste oksiderende ensieme inhibeer en/of uitputting van respireerbare voedingstowwe verminder. Die nadeel is egter dat PMA fotosintese ook mag inhibeer, soos deur Nozaki, Tagawi en Arnon (1961) met Rhodospirillum rubrum verkry was.

Hierdie ondersoek was onderneem om vas te stel of fenielmerkuri-asetaat doeltreffend as voorkomingsmiddel teen loofblaarverbruining by P. nerifolia aangewend kan word. De Swardt (1977) en Mulder (1977) beweer dat daar veral twee primêre faktore by die

verkleuring van loofblare van Protea neriifolia betrokke is, naamlik bepaalde oormatige vogverlies deur die blare as gevolg van transpirasie. Volgens Mulder (1977) en Jansen (1977) kom die verbruiningskomponente in die blaarnerwe en stingelbas in tannienidioblaste voor. Hierdie waarnemings is tydens anatomiese ondersoeke in plate I tot III bevestig. Die reeks van verbruiningsreaksies begin, volgens De Swardt (1977) en Mulder (1977), spesifiek met 'n inisiële vogverlies as gevolg van transpirasie deur die blare. Die mesofielselle wat die nerwe in die blare omring, verloor vinniger water as die selle wat die leuko-antosianiene bevat. Water plus leuko-antosianiene word dan vanaf die blaarnerwe en stingelbas uit die tannienidioblaste na die mesofielselle as gevolg van die gunstige waterpotensiaalgradiënt getrek (Mulder, 1977; De Swardt, 1977). Die leuko-antosianiene met 'n effektiewe proteïenbindingskapasiteit reageer met die ensieme. Die normale metabolismiese reaksies word sodoende versteur en die leuko-antosianiene word vervolgens deur ensieme geoksideer en verbruining tree in (De Swardt, 1977; Mulder, 1977). Vogverlies verhoog moontlik die permeabiliteit van selmembrane en bring vervolgens dekompartementasie en 'n vryer diffusie van leuko-antosianiene mee (Mulder, 1977).

Daar is tydens hierdie ondersoek van die standpunt uitgegaan dat indien PMA doeltreffend as antitranspirant aangewend kan word, dit die daaropvolgende ongewenste series van ongewenste reaksies volgens bogenoemde hipotese sal strem. Daar is in 'n mate daarin geslaag om vogverlies deur blare met PMA te verminder. Die probleem van loofblaarverbruining is egter as gevolg hiervan slegs in geringe

mate bekamp.

Tydens hierdie ondersoek is PMA ook as tannienbinder aangewend. Kruisbindingsreaksies van tanniene (van optimum grootte) met funksionele ensieme dra 'n belangrike deel tot die verbruiningsreaksies by (Mulder, 1977). Tanniene kan ensieme as gevolg van die kruisbindingsreaksies inhipeer en sodoende die funksionele aktiwiteite van selorganelle wysig (Swain, 1965). Die PMA was tydens hierdie ondersoek in 'n groot mate as tannienbinder doeltreffend. Dit kan dus in vaasmedia bygevoeg word om uitgeloogde flavonofede te presipiteer. Die flavonofede sal dan sodoende nie deur stingelhoutvate uit die vaasmedium opgeneem en na verskillende organe vervoer word nie. Flavonofede word sodoende uitgeskakel en loofblaarverbruining gefnhipeer. Daarbenewens kan PMA die inter- en intrasellulêre translokasie van flavonofede beperk, indien genoegsame PMA die lokaliteite bereik waar die potensiele verbruiningskomponente geleë is.

Die moontlikheid of PMA met verskillende proteïene (ensieme ingesluit) bind, was ook ondersoek. Daar is gevind dat PMA proteïenbindingseienskappe besit. As gevolg hiervan sal PMA in staat wees om teen geskikte konsentrasies gedeeltelike onderdrukking van metabolismiese prosesse (veral kataboliese prosesse) te bewerkstellig om sodoende reserwe voedingstowwe langer in snyblomweefsels te behou.

Die moontlike hidrae van swamme en ander mikrobes tot loofblaarverbruining was nie ondersoek nie. Die literatuur verwys deurgaans



na PMA as 'n swamdoder en dit sal raadsaam wees om vas te stel tot watter mate PMA dié funksie by loofblaarverbruining vervul.

Daar is tydens hierdie ondersoek gevind dat PMA die beste deur 'n bespuitingsmetode toegedien kan word. Blomme het PMA tydsaam uit die vaasmedium opgeneem en het na opname toksiese effekte gelewer. Dopingstegnieke was daarenteen slegs teen hoë PMA-konsentrasies redelik suksesvol. Daar is gevind dat die verskillende toedieningsmetodes almal by verskillende optimum konsentrasies bevredigend funksioneer. Die dik kutikula van die blare (plate Ia en b) en die klein stomatale openinge (Du Toit, 1978) het deurgaans (selfs tydens bespuitings) die aanwending van PMA op proteablaare bemoeilik.

Volgens hierdie ondersoek is 'n redelike inhibisie van loofblaarverbruining met PMA verkry, vanweë die tannienbindingskapasiteit en die antitranspirasiewerking daarvan. Toekomstige navorsing moet toegespits word op verbindings met dieselfde eienskappe. Sodanige verbindings moet sluitselle doeltreffend gedeeltelik kan sluit en moet sonder toksiese effekte die potensieë verbruiningskomponente kan bereik om daarmee te bind dat dit nie inter- en intrasellulêr getranslokeer kan word nie. Indien so 'n verbinding ook reduserende eienskappe besit, sal dit verhoed dat die potensieë verbruiningskomponente geoksideer word. Die ander alternatief is om verskillende komponente (chemikalieë) aan te wend wat al die genoemde funksies sal vervul. Dit moet egter in gedagte gehou word dat die flavonofiedkonsentrasie in die blare buitengewoon hoog is en dat die penetrasie van gekose verbindings genoegsaam moet wees om doeltreffend

te funksioneer. 'n Verdere kompleksiteit wat uit die waarnemingsvoortspruit, is dat die verskillende variante van P. neriiifolia aansienlik ten opsigte van die mate van uitloogbare flavonofede uit stingelweefsels in vaasmedia, verskil. Die vasstelling van optimum konsentrasies van chemikalieë sal dus nie 'n maklike taak wees nie, tensy dit geen nadelige effek teen relatiewe hoë konsentrasies besit nie. Radio-aktiewe ondersoeke sal 'n aanduiding van die verspreiding van toegediende beheermiddels verskaf en moet sover moontlik aangewend word.



UNIVERSITY  
OF  
JOHANNESBURG

5. LITARATUURVERWYSINGS

- ABU-KHALED, A., R.M. HAGAN en D.C. DAVENPORT. 1970. Effects of kaolinite as a reflective antitranspirant, on leaf temperature, transpiration, photosynthesis, and water use efficiency. *Water Resour. Res.* 6 : 280-283.
- ACEVEDO, E., T.C. HSIAD en D.W. HENDERSON. 1971. Immediate and subsequent growth responses of maize leaves to changes in water status. *Plant Phys.* 48 : 631-636.
- ADAMS, J.B. en H.A.W. BLUNDSTONE. 1973. Canned fruits other than citrus. In: Hulme, A.C. (Ed.). The biochemistry of fruits and their products. Volume 2. Academic Press, London and New York.
- ALLAWAY, W.G. en T.A. MANSFIELD. 1970. Experiments and observations on the after-effect of wilting on stomata of Rumex sanguineus. *Can. J. Bot.* 48 : 513-521.
- BARNELL, H.R. en E. BARNELL. 1945. Studies in tropical fruits. XVI. The distribution of tannins within the banana and the changes in their condition and amount during ripening. *Ann. Bot. (Lond.)*. 9 : 77-99.
- BEARDSEL, M.F. en D. COHEN. 1975. Relationships between leaf water status, abscisic acid levels and stomatal resistance in Maize and Sorghum. *Plant Phys.* 56 : 207-212.
- BELL, D.T., D.E. KOEPPE en R.J. MILLER. 1971. The effects of drought stress on respiration of isolated corn mitochondria. *Plant Phys.* 48 : 413-415.

- BIALE, J.B. 1960. The postharvest biochemistry of tropical and subtropical fruits. *Adv. Fd. Res.* 10 : 293-354.
- BIALE, J.B. en R.E. YOUNG. 1973. The avocado pear. In: Hulme, A.C. (Ed.). The biochemistry of fruits and their products. Volume 2. Academic Press, London and New York.
- BIDDINGTON, N.L. en T.H. THOMAS. 1978. Influence of different cytokinins on the transpiration and senescence of excised oat leaves. *Physiol. Plant.* 42 : 369-374.
- BLANDY, R.V. 1957. The effect of certain fungicides on transpiration rates and crop yields. *Proc. Int. Congr. Crop Protect.* 4 : 1513 p.
- BOGORAD, L. 1958. The biogenesis of flavonoids. *Ann. Rev. Pl. Phys.* 9 : 417-1
- BONNER, J. en A.W. GALSTON. 1952. Principles of Plant Physiology. W.H. Freeman and Company, San Francisco,
- BOYER, J.S. 1968. Relationship of water potential to growth of leaves. *Plant Phys.* 43 : 1056-1062.
- BOYER, J.S. 1970. Leaf enlargement and metabolic rates in corn, soybean and sunflower at various leaf water potentials. *Plant Phys.* 46 : 233-235.
- BRADBURY, D. en W.B. ENNIS. 1952. Stomatal closure in kidney bean plants treated with ammonium 2,4-dichlorophenoxy acetate. *Am. J. Bot.* 39 : 324-328.

- CADMAN, C.H. 1959. Inhibition of plant virus infection by tannins. In: Pridham, J.B. (Ed.). Phenolics in plants in health and disease. Pergamon Press, Oxford, London, New York and Paris.
- CLELAND, R. 1971. Cell wall extension. *Ann. Rev. Pl. Phys.* 22 : 197-222.
- CRUICKSHANK, I.A.M. en D.R. PERRIN. 1964. Pathological functions of phenolic compounds in plants. In: Harborne, J.B. (Ed.). Biochemistry of phenolic compounds. Academic Press. London and New York.
- CUMMINS, W.R., H. KENDE en K. RASCHKE. 1971. Specificity and reversibility of the rapid stomatal response to abscisic acid. *Planta (Berl.)* 99 : 347-351.
- DARBYSHIRE, B. 1971. The effect of water stress on indoleacetic acid oxidase in pea plants. *Plant Phys.* 47 : 65-67.
- DAVIES, W.J. en T.T. KOZLOWSKI. 1974. Stomatal responses of five woody angiosperms to light intensity and humidity. *Can. J. Bot.* 52 : 1525-1534.
- DAVIES, W.J., T.A. MANSFIELD en P.J. ORTON. 1978. Strategies employed by plants to conserve water: can we improve on them? *Proc. Joint BCPC and BPGRG Symposium.* 45-53.
- DE SWARDT, G.H. 1977. Verbruining van protealoofblare. *Landbouweekblad* 30 : 30-33

- DOLEY, D. en L. LEYTON. 1968. Effects of growth regulation substances and water potential on the development of secondary xylem in Fraxinus. *New Phytol.* 67 : 579-594.
- DU PLESSIS, C.S., en A.L. UYS. 1968. Browning in white wines. II. The effect of cultivar, fermentation, husk, seed and stem contact upon browning. *S. Afr. J. Agric. Sci.* 11 : 637-648.
- DURKIN, D. en R. KUC. 1966. Vascular blockage and senescence of the cut rose flower. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 89 : 683-688.
- DU TOIT, S. 1978. Die moontlike bekamping van loofblaarverbruining by Protea neriifolia met difenielamiensulfoonsuur. MSc-verhandeling, Randse Afrikaanse Universiteit, Johannesburg.
- ELSWORTH, J.F. en K.R. MARTIN. 1971. Flavonoids of the proteaceae, Part 1. A chemical contribution to studies on the evolutionary relationships in the South African Proteoideae. *J.S. Afr. Bot.* 37 (3) : 199-212.
- ESAU, K. 1965. Plant anatomy. 2nd Ed. John Wiley and Sons. Inc., New York.
- FERNANDEZ DIEZ, M.J. 1973. The olive: In: Hulme, A.C. (Ed.). The biochemistry of fruits and their products. Vol. 2. Academic Press, London and New York.

- FISHER, R.A. 1970. After-effect of water stress on stomatal opening potential. II. Possible causes. *J. Exp. Bot.* 21 (67) : 386-404.
- GALE, J.R. en R.M. HAGAN. 1966. Plant antitranspirants. *Ann. Rev. Pl. Phys.* 17 : 269-282.
- GOLDSTEIN, J.L. en T. SWAIN. 1963. Changes in tannins in ripening fruits. *Phytochem.* 2 : 371-383.
- GRAY, P. 1958. Handbook of basic microtechnique. McGraw-Hill Book Company, New York.
- HALL, A.E. en M.R. KAUFMANN. 1975. Stomatal responses to environment with Sesamum indicum L. *Plant Phys.* 55 : 455-459.
- HARBORNE, J.B. 1967. Comparative biochemistry of the flavonoids. Academic Press, London and New York.
- HASLAM, E. 1966. Chemistry of vegetable tannins. Academic Press, London and New York.
- HEATH, O.V.S. 1959. The water relations of stomatal cells and the mechanisms of stomatal movement. In: Steward, F.C. (Ed.). *Plant Physiology*. Vol. 2. Academic Press, New York.
- HEATH, O.V.S. en B. ORCHARD. 1956. Temperature effects on the minimum intercellular space carbon dioxide concentration. *Nature* (London) 180 : 180-181.

- HOBSON, G.E. en J.N. DAVIES. 1973. The tomato. In: Hulme, A.C. (Ed.). The biochemistry of fruits and their products. Vol. 2. Academic Press, London and New York;
- HORTON, R.F. 1971. Stomatal opening: the role of abscisic acid. *Can. J. Bot.* 49 : 583-585.
- HSIAO, T.C. 1970. Rapid changes in levels of polyribosomes in Zea mays in response to water stress. *Plant Phys.* 46 : 281-285.
- HSIAO, T.C. 1973. Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Pl. Phys.* 24 : 519-570.
- HULME, A.C. en J.D. JONES. 1963. Tannin inhibition of plant mitochondria. In: Pridham, J.B. (Ed.). Enzyme chemistry of phenolic compounds. Pergamon Press, Oxford.
- HULME, A.C. en M.J.C. RHODES. 1973. Pome fruits. In: Hulme, A.C. (Ed.). The biochemistry of fruits and their products. Vol. 2. Academic Press, London and New York.
- ILJIN, W.S. 1957. Drought resistance in plants and physiological processes. *Ann. Rev. Pl. Phys.* 8 : 257-274.
- ITAI, C., A. RICHMOND en Y. VAADIA. 1968. The role of cytokinins during water and salinity stress. *Israel J. Bot.* 17 : 187-195.
- ITAI, C. en Y. VAADIA. 1971. Cytokinin activity in water-stressed shoots. *Plant Phys.* 47 : 87-90.



- ITO, S. 1973. The persimmon. In: Hulme, A.C. (Ed.). The biochemistry of fruits and their products. Vol. 2. Academic Press, London and New York.
- JANSEN, C.J. 1977. Beheermaatreëls vir die voorkoming van bruinwording van loofblare in Protea neriifolia. MSc-verhandeling, Randse Afrikaanse Universiteit, Johannesburg.
- JARVIS, P.G. 1971. Plant photosynthetic production. In: Sestak, Z., J. Gatsky en P.G. Jarvis (Eds.). Manual of methods. W. Junk, Hague.
- JARVIS, P.G., G.B. JAMES en J.T. LANDSBERG. 1976. In: Monteith, J.L. (Ed.). Vegetation and the atmosphere. Vol. 2. Academic Press, New York.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company, New York and London.
- JONES, R.J. en T.A. MANSFIELD. 1970. Suppression of stomatal opening in leaves treated with abscisic acid. J. Exp. Bot. 21 : 714-719.
- JORDAN, W.R., P.W. MORGAN en T.L. DAVENPORT. 1972. Water stress enhances ethylene-mediated leaf abscission in cotton. Plant Phys. 50 : 756-758.
- KALTALER, R.E.C. en J.W. BOODLEY. 1970. The effect of a chemical preservative and its components on the respiration rate, solution uptake, fresh weight changes, pH changes and the visual appearance of "Red American Beauty" roses during senescence. Hort. Sci. 5 : 134 p. (abstr.).

- KATO, C., I. URITANI, R. SAIZO en T. TAKEO. 1976. Cellular localization of particulate-bound polyphenoloxidase in tea leaves. *Plant and Cell Physiol.* 17 (5) : 1045-1052.
- KELLEY, V.W. 1955. The effect of N.A.A. on transpiration. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 66 : 65-66.
- KETELLAPER, H.J. 1963. Stomatal physiology. *Ann. Rev. Pl. Phys.* 14 : 249-270.
- KNAPP, F.W. 1965. Some characteristics of egg-plant and avocado polyphenolases. *J. Fd. Sci.* 30 : 930-936.
- KOZLOWSKI, T.T. 1968. Water deficits and plant growth. Vol. 1. Academic Press, New York.
- KRIEDEMANN, P.E., B.R. LOVEYS, G.L. FULLER en A.C. LEOPOLD. 1972. Abscisic acid and stomatal regulation. *Plant Phys.* 49 : 842-847.
- LANGE, O.L., R. LÖSCH, E.D. SCHULZE en L. KAPPEN. 1971. Responses of stomata to changes in humidity. *Planta (Berl.)* 100 : 76-86.
- LAURIE, A. 1936. A retrospect looking back ten years on floricultural research. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 34 : 669-676.
- LEA, A.G.H. 1978. The phenolics of ciders: oligomeric and polymeric procyanidins. *J. Sci. Fd. Agric.* 29 : 471-477.

- LEA, A.G.H. en C.F. TIMBERLAKE. 1978. The phenolics of ciders: effect of processing conditions. *J. Sci. Fd. Agric.* 29 : 484-492.
- LEWAK, S. 1967. Determination of the degree of polymerization of leucoanthocyanidins. *Phytochemistry* 7 : 665-667.
- LIVNÉ, A. en Y. VAADIA. 1972. Water deficits and hormone relations. In: Kozlowski, T.T. (Ed.). Water deficits and plant growth. Vol. 3. Plant responses and control of water balance. Academic Press, New York and London.
- LOWRY, C.H., N.J. ROSENBROUGH, A.L. FARR en R.J. RANDAL. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- MANSFIELD, T.A. 1967. Stomatal behaviour following treatment with auxin-like substances and phenylmercuric acetate. *New Phytol.* 66 : 325-330.
- MAROUSKY, F.J. 1968. Influence of 8HQ5 and sucrose on vase-life and quality of cut gladiolus. *Proc. Flo. State Hort. Soc.* 81 : 415-419.
- Mc BEAN, D.M., M.A. JOSLYN en F.S. NURY. 1973. Dehydrated fruit. In: Hulme, A.C. (Ed.). The biochemistry of fruit and their products. Vol. 2. Academic Press, London and New York.
- Mc MICHAEL, B.L., W.R. JORDAN en R.D. POWEL. 1972. An effect of water stress on ethylene production by intact cotton petioles. *Plant Phys.* 49 : 658-660.

- MEIDNER, H. en T.A. MANSFIELD. 1968. Physiology of stomata. McGraw-Hill publishing Company. Great Britain. 66-68.
- MITTELHEUSER, C.J. en R.F.M. VAN STEVENINCK. 1969. Stomatal closure and inhibition of transpiration induced by RS-abscisic acid. *Nature (London)* 221 : 281-282.
- MIZRAHI, Y., A. BLUMENFELD en A.E. RICHMOND. 1970. Abscisic acid and transpiration in leaves in relation to osmotic root stress. *Plant Phys.* 46 : 169-171.
- MOSS, D.N., R.B. MUSGROVE en E.R. LEMON. 1961. Photosynthesis under field conditions. III. Some effects of light, carbon-dioxide, temperature and soil moisture on photosynthesis, respiration and transpiration of corn. *Crop Sci.* 1 : 83-85.
- MULDER, P.W.A. 1977. Primêre meganismes betrokke by die bruinwording van loofblare in Protea neriifolia. MSc-verhandeling, Randse Afrikaanse Universiteit, Johannesburg.
- MUIR, G., L.L. DE KOCK, P.C. DE KOCK en R.H.E. INKSON. 1959. The effect of age on the responses of animal and plant tissues to metabolic inhibitors. *Experientia* 15 : 334-357.
- NAYLOR, A.W. 1972. Water deficits and nitrogen metabolism. In: Kozlowski, T.T. (Ed.). Water deficits and plant growth. Vol. 3. Plant responses and control of water balance. Academic Press, New York and London.

- NISHIDA, K. 1963. Studies on stomatal movement of Crassulacean plants in relation to the acid metabolism. *Plant Phys.* 16 : 281-298.
- PALMER, J.K. 1963. Banana polyphenoloxidase. Preparation and properties. *Plant Phys.* 38 : 508-513.
- PALMER, J.K. 1973. The banana. In: Hulme, A.C. (Ed.). The biochemistry of fruits and their products. Vol. 2. Academic Press, London and New York.
- PEYNAUD, E. en P. RIBEREAU-GAYON. 1973. The grape. In: Hulme, A.C. (Ed.). The biochemistry of fruits and their products. Vol. 2. Academic Press, London and New York.
- POLJAKOFF-MAYBER, A. en J. GALE. 1967. Effect of plant anti-transpirants on certain physiological processes of forest seedlings and other plant material. Final report to U.S.D.A. on project A10-FS-10, U.S. Dept. Agr., Washington, D.C. 1-107.
- POLJAKOFF-MAYBER, A. en J. GALE. 1972. Physiological basis and practical problems of reducing transpiration. In: Kozlowski, T.T. (Ed.). Water deficits and plant growth. Vol. 3. Plant responses and control of water balance. Academic Press, New York and London.
- RIBEREAU-GAYON, P. 1972. Plant phenolics. Oliver and Boyd, Edinburgh.

- ROBINSON, T. 1963. The organic constituents of higher plants. Burgess Publishing Company, Minneapolis.
- ROGERS, M.N. 1973. A historical and critical review of post-harvest physiology research on cut flowers. Hort. Sci. 8 : 189-194.
- ROSENBERG, N.J. en K.W. BROWN. 1971. Measured and modelled effects of micro-climate modification on evapotranspiration by irrigated crops in a region of strong sensible heat advection. Proc. UNESCO Symp. Plant response to climatic factors.
- ROUSSEAU, F. 1970. Die Proteaceae van S.A. Tafelberg-Uitgewers Beperk. Kaapstad en Johannesburg.
- SACHER, J.A. 1966. Studies of permeability, RNA and protein turnover during ageing of fruit and leaf tissues. Symposia of the Society for Experimental Biology: Aspects of the biology of ageing. Cambridge University Press.
- SACHER, J.A. 1973. Senescence and postharvest physiology. Ann. Rev. Pl. Phys. 24 : 197-224.
- SASS, J.E. 1958. Botanical microtechniques. Iowa State University Press, Ames.
- SCHOLLES, J.F. 1963. Some effects of various chemicals on the postharvest physiology of "Velvet Times" roses. MSc-Thesis, Cornell University.

- SERR, E.F. en J.H. FOOT. 1963. Effects of whitewash cover sprays on persian walnuts in California. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 82 : 243-245.
- SHIMSHI, D. 1963. Effect of soil moisture and phenylmercuric acetate upon stomatal aperture, transpiration and photosynthesis. Plant Phys. 38 : 713 p.
- SIMMONDS, N.W. 1954. Anthocyanins in Bananas. Ann. of Bot. 18 : 471-482.
- SLAYTER, R.O. en J.F. BIERHUIZEN. 1964. The influence of several transpiration suppressants on transpiration, photosynthesis and water use efficiency of cotton leaves. Austr. J. Biol. Sci. 17 : 131 p.
- STALFELT, M.G. 1955. The stomata as a hydrophotic regulator of the water deficit of the plant. Physiol. Plant. 8 : 572-593.
- STALFELT, M.G. 1962. The effect of temperature on opening of the stomatal cells. Physiol. Plant. 15 : 772-779.
- STODDARD, E.M. en P.M. MILLER. 1962. Chemical control of water loss in growing plants. Science 137 : 224 - 225.
- STAFFORD, G.A. 1967. Essentials of Plant Physiology: Transpiration and the transpiration stream. Heinemann educational Books, Ltd.
- STRASSBURGER, E. 1965. Textbook of botany: The loss of water by transpiration. Longmans, Green and Co. Ltd., Great Britain.

- STREHLER, B.L. 1967. The nature of cellular age changes. In: Woolhouse, H.W. (Ed.). Aspects of the biology of ageing. Symp. Soc. exp. Biol. University Press, Cambridge.
- SWAIN, T. 1962. Economic importance of flavonoid compounds. Foodstuffs. In: Geiseman, T.A. (Ed.). The chemistry of flavonoid compounds. Pergamon, Oxford.
- SWAIN, T. 1965. The tannins. In: Bonner, J. and J.E. Varner (Ed.). Plant biochemistry. Academic Press, New York and London.
- SWAIN, T. en W.E. HILLIS. 1959. The phenolic constituents of Prunus domestica. I. The quantitative analysis of phenolic compounds. J. Sci. Fd. Agric. 10 : 63-68.
- THOMAS, M., S.L. RANSON en J.A. RICHARDSON. 1973. Plant physiology. Longmans, London.
- TAL, M. en D. IMBER. 1971. Abnormal stomatal behaviour and hormonal imbalance in flacca, a wilted mutant of tomato. III. Hormonal effects on the water status in the plant. Plant Phys. 47 : 849-850.
- TODD, G.W. 1972. Water deficits and enzymatic activity. In: Kozlowski, T.T. (Ed.). Water deficits and plant growth. Plant responses and control of water balance. Academic Press, New York and London.



- VAADIA, Y., F.C. RANEY en R.M. HAGAN. 1961. Plant water deficits and physiological processes. *Ann. Rev. Pl. Phys.* 12 : 265-292.
- VARNER, J.E. 1961. Biochemistry of senescence. *Ann. Rev. Pl. Phys.* 12 : 245-264.
- VENTURA, M.M. 1954. Action of enzymatic inhibitors on transpiration and the behaviour of stomata. II. *Rev. Bras. Biol.* 14 : 153-161.
- VUATEZ, L., H. BRANDERBURGER en EGLI. 1959. Plant phenols. I. Separation of tea leaf polyphenols by cellulose column chromatography. *J. Chromatog.* 2 : 173-187.
- VUATEZ, L. en H. BRANDENBURGER. 1961. Plant phenolics. III. Separation of black fermented and black tea polyphenols by cellulose column chromatography. *J. Chromatog.* 5 : 17-31.
- WAGGONER, P.E., J.L. MONTEITH en G. SZEICZ. 1964. Decreasing transpiration of field plants by chemical closure of stomata. *Nature (Lond.)* 201 : 97-98.
- WAGGONER, P.E. en I. ZELITCH. 1965. Transpiration and the stomata of leaves. *Science* 150 : 1413 p.
- WALKER, J.R.L. 1975. The biology of plant phenolics. Edward Arnold, London.
- WATT, J.M. en M.G. BREYER-BRANDWIJK. 1962. The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa. E. and S Livingstone, Edinburgh.

- WILLIAMS, A.H. 1960. The distribution of phenolic compounds in apple and pear trees. In: Pridham, J.B. (Ed.). Phenolics in plants in health and disease. Pergamon Press, Oxford, London, New York and Paris.
- WILLIAMS, A.H. 1963. Enzyme inhibition by phenolic compounds. In: Pridham, J.B. (Ed.). Enzyme chemistry of phenolic compounds. Pergamon Press, Oxford, London, New York and Paris.
- WOODLEY, J.J. 1967. Relative permeabilities of plastic films to water and carbondioxide. *Plant Phys.* 42 : 641-642.
- WRIGHT, S.T.C. 1969. An increase in the 'Inhibitor-B' content of detached wheat leaves following a period of wilting. *Planta* 86 : 10-20.
- WRIGHT, S.T.C. en R.W.P. HIRON. 1969. (+)-Abscisic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting. *Nature (London)* 224 : 719-720.
- ZELITCH, I. 1961. Biochemical control of stomatal opening in leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 47 : 1423-1433.
- ZELITCH, I. 1963. The control and mechanism of stomatal movement. In: Zelitch, I. (Ed.). Stomata and water relations of plants. Conn. (New Haven). Agric. Expt. Sta. Bul.
- ZELITCH, I. 1965. Environmental and biochemical control of stomatal movement in leaves. *Biol. Rev.* 40 : 463-482.

ZELITCH, I. 1966. Increased rate of net photosynthetic carbon dioxide uptake caused by the inhibition of glycolate oxidase. Plant Phys. 41 : 1623-1631.

ZELITCH, I. en P.E. WAGGONER. 1962. Effect of chemical control of stomata on transpiration and photosynthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 48 : 1101- 1105.

ZENTMEYER, G.A. 1943. Mechanism of action of 8-HQS. Phytopathology. 33 : 1121. (Abstr.).



UNIVERSITY  
OF  
JOHANNESBURG