

1986 069 893 01

197/7



HERDIE EKSEMPLAAR MAG ONDER  
GEEN OMSTANDIGHEDE UIT DIE  
BIBLIOTEEK VERWYDER WORD NIE

U.O.V.S. - BIBLIOTEEK

\*198606989301220000019\*



\*198606989301220000019\*

ULTRASTRUKTUUR EN KONIDIOGENESE IN FUSARIUM CROOKWELLEENSE

ELRITA VENTER

VERHANDELING VOORGELê OM TE VOLDOEN AAN DIE VEREISTES VIR DIE  
GRAAD MAGISTER SCIENTIAE IN DIE FAKULTEIT NATUURWETENSKAPPE,  
DEPARTEMENT PLANTKUNDE AAN DIE UNIVERSITEIT VAN DIE ORANJE-VRY-  
STAAT

WERDIE EKSEMPLAAR MAG ONDER  
GEEN OMSTANDICHEDE UIT DIE  
BIBLIOTEEK VERWYDER WORD NIE

NOVEMBER 1986

STUDIELEIER: P S VAN WYK Ph.D LANDBOU

1987

Universiteit van die Oranje-Vrystaat  
BLOEMFONTEIN

19 MAY 1987

T 589.24 VEN

BIBLIOTEK

## INHOUD

1. Algemene Inleiding	1
2. Ultrastructuur van Hifes, Makrokonidia en Chlamydospore van <u>Fusarium crookwellense</u> .	6
3. Konidiogenese in <u>Fusarium crookwellense</u>	46
4. Kernverdeling en Septasie in Makrokonidia van <u>Fusarium crookwellense</u>	74
5. Opsomming	87
6. Dankbetuigings	90
7. Literatuur	91

## 1. ALGEMENE INLEIDING

Tydens 'n onlangse simposium (Moss & Smith, 1984) van die Britse Mikologiese Vereniging is verskeie leemtes in die kennis aangaande die genus Fusarium uitgewys (Marchant, 1983). Daar is verder op gewys dat as daar byvoorbeeld na basiese informasie aangaande die biologie van sporulasie in Fusarium gesoek word, gevind word dat uit die "large pool of knowledge which in reality is only a shallow puddle" ... inligting selde beskikbaar is (Marchant, 1983). Daar is dus besluit om hierdie ondersoek toe te spits op die basiese kennis aangaande hierdie genus.

As toetsorganisme is op Fusarium crookwellense Burgess, Nelson & Toussoun besluit. Hierdie spesie in die seksie Discolor is baie onlangs eers beskryf (Burgess, Nelson & Toussoun, 1982) en verteenwoordig 'n spesie wat in terme van spoormorfologie tussen F. graminearum Schwabe en F. culmorum (W.G. Smith) Sacc. geplaas kan word. Dit is egter 'n belangrike patoëen van koring in sekere produksieareas en weens sy onlangse beskrywing is niks oor die ultrastruktuur van hierdie organisme bekend nie. Die organisme is tot dusver slegs in die anamorfe stadium waargeneem en vorm twee spoortipes, naamlik die makrokonidium (Fig 1.1) en chlamydo-spore (Fig 1.2B). Mikrokonidia kom nie voor nie en die makrokonidia is gesepteerd, dikwandig en oneweredig geboë met die ventrale oppervlak meer konkaf as die dorsale oppervlak. Die makrokonidia word op vertakte of onvertakte monofialides, wat in sporodokia saam gegroepeer is, gedra (Fig 1.2A).

Alhoewel afwykings in die vorm van die fialied kan voorkom (Fig 1.3A), is die meerderheid egter soos dié deur Burgess et al. (1982) beskryf (Fig 1.3B). Die fialides stel konidia deur 'n enkele konidiogene lokus vry, maar die konidiogene sel kan prolifereer (Fig 1.3B) om konidia op 'n hoër vlak vry te stel.

Die fases soos hier aangedui is in terme van ultrastruktuur (Hoofstuk 2), konidiogenese (Hoofstuk 3) en kernverdeling en septasie in die makrokonidia (Hoofstuk 4) verder ondersoek.

Vir taksonomie en terminologie aangaande konidiogenese, is van die stelsels van Nelson, Toussoun & Marasas (1983), Minter, Kirk & Sutton (1982; 1983) en Minter, Sutton & Brady (1983) gebruik gemaak.

Fig. 1.1 S E M van F. crookwellense

'n Tipiese makrokonidium in hierdie spesie (X 2000). Glutaardialdehyd - Osmiumtetroksied (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering).



Fig. 1.2 S E M van F.crookwellense

- A. Sporodochium met monofialides en makrokonidia in verschillende stadia van ontwikkeling (X 1,200) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering).
- B. Chlamydospoor interkalêr gevorm (X 2,000) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering).

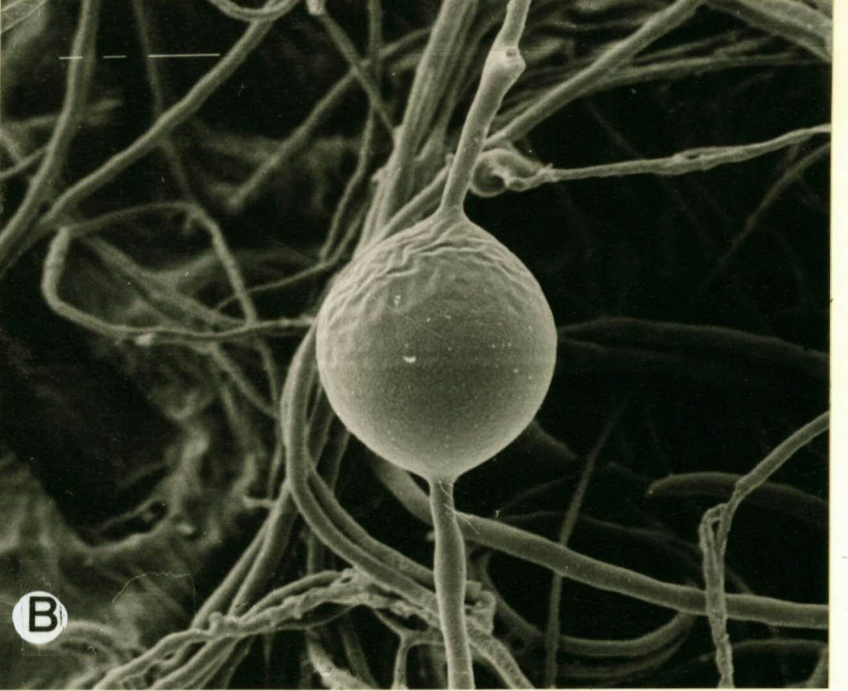


Fig. 1.3 S E M van F. crookwellense

- A. Abnormale vorm van die konidiofoor (X 3,000) (GA-0sO<sub>4</sub> fikse-ring).
  
- B. Konidiofoor na proliferasie en waar konidia op 'n hoër vlak vrygestel word (X 3,000) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering).



## 2. ULTRASTRUKTUUR VAN HIFES, MAKROKONIDIA EN CHLAMYDOSPORE VAN FUSARIUM CROOKWELLEENSE

Die ultrastruktuur van Fusarium spp. het wye aandag geniet (Garcia Acha et al, 1966; Manganot & Reisinger, 1976; Cole & Samson, 1979; Marchant, 1983). In hierdie ondersoeke is verskeie Fusarium spp. ingesluit, onder andere F. culmorum (W.G. Smith) Sacc., *formae speciales* van F. oxysporum Schlecht. emend. Snyder & Hans., en F. sulphureum Schlecht (F. sambucinum Fuckel f.6 Wollen.). Oor die algemeen is daar ooreenstemming tussen resultate wat aangemeld is ten opsigte van sitoplasmiese insluitels.

In teenstelling met algemene ooreenstemming ten opsigte van sitoplasmiese insluitels, wissel die aantal lae van die selwand, soos aangemeld, van twee tot vier lae by verskillende spesies en selfs by dieselfde spesie (Manganot & Reisinger, 1976). Afgesien van inligting oor die sporangiofoorwand by Phycomyces en dié van gisselle is daar meer aandag gegee aan wande binne Fusarium spp. as enige ander fungus genus (Schneider & Wardrop, 1979) en nogtans is die kennis onvolledig.

Fungusselwande bestaan uit 'n mikrofibrillêre laag van chitien en sellulose en hierdie fibrille is ingebed in 'n komplekse matriks van proteïene en koolwaterstof polimere (Hunsley & Burnett, 1970). Daar bestaan egter heelwat onsekerheid oor die aard van die matriks en die mikrofibrillêre laag. In sommige gevalle word dit beskou dat die wande in Fusarium twee lae, naamlik 'n buite elektrondigte en binne elektrondeurlatende laag het. Hierdie model vereis egter heroorweging aangesien Van Eck & Schippers (1976) 'n wandstruktuur met vier lae by konidia en chlamydospore van F. solani (Mart.) Appel & Wollenw. emend. Snyder & Hans. f.sp. cucurbitae Snyder & Hans. waargeneem het.

Proteïenryke bande is in sommige funguswande waargeneem (Hunsley & Burnett, 1970) en Griffiths (1973a) het striasies in wande van F. oxysporum gevind en voorgestel dat baie lae teenwoordig kan

wees. Hierdie waarnemings is gebaseer op dun seksies en swaarmetaal kleurings en behels hoofsaaklik die oriëntasie van die matriks in die wand aangesien die chitien mikrofibrille in die matriks ingebed is en nie so geredelik sigbaar is nie. Daar word aanvaar dat die teenstrydige aanmeldings in die interpretasie van die wandstruktuur te wyte is aan verskillende eksperimentele metodes en verkeerdelike gebruik van bestaande terminologie.

In sommige spesies in die genus Fusarium Link ex Fr. kom dikwandige chlamydospore in die makrokonidia en vegetatiewe hifes voor en vervul hulle oor die algemeen 'n funksie van rustende weerstandbiedende spore eerder as verspreidingsmeganisme (Griffiths, 1973a). Chlamydospore vorm as 'n reaksie op ongunstige toestande soos 'n vermindering van voedingselemente (Hawker, 1957) 'n lae C/N verhouding in die medium (Carlile, 1956; Griffin, 1964), verminderde suurstof (French & Nielson, 1966), oormatige fosfaat konsentrasies (Prasad & Choudhary, 1966) of in die teenwoordigheid van antagonistiese bakterieë in die grond (Venkat Ram, 1952; Ford & Trujilo, 1967; Ford, Gold & Snyder, 1970). Terminale sowel as interkalêre chlamydospore kan in die miselium vorm en hierdie strukture word oor die algemeen beskryf as 'n dikwandige swelsel met 'n lipiedryke sitoplasma. Die dik spoorwand is moontlik 'n meganisme om die struktuur teen lise en verwering in die grond te beskerm.

Daar bestaan konsensus aangaande die sitoplasmiese inhoud en vorming van Fusarium chlamydospore, maar daar word nog baie bespiegel oor die ultrastruktuur van die wand. Chlamydospore word gevorm nadat segmente van die makrokonidium (hife) opswel en gepaardgaande ontwikkeling van groot hoeveelhede ER en mitochondria voorkom. Sekondêre wandmateriaal word tussen die primêre konidiumwand en plasmalemma meergelê. Volwasse chlamydospore ontwikkel vakuole wat meer as 50% van die selinhoud kan beslaan en op hierdie stadium word sekondêre wandneerlegging ook gestaak. By ou chlamydospore sal die oorspronklike konidiumwand gedeeltelik disintegreer en fragmente daarvan is rondom die sekondêre

wand waarneembaar (Campbell & Griffiths, 1974).

In die lig van bogenoemde onversoenbaarheid in die literatuur is F. crookwellense ondersoek ten opsigte van sitoplasmiese insluit-sels asook wande van hifes, makrokonidia en chlamyospore.

## Materiaal en Metodes

Fusarium crookwellense Burgess, Nelson & Toussoun is geïsoleer vanaf geïnfekteerde koringkrone uit die Bethlehem distrik en gevriesdroogde kulture is gedeponeer in die kultuurversameling van die S A Mediese Navorsingsraad as MRC 3852 en op angelier-blaar agar (CLA, Fisher et al., 1982) gekweek en agarskyfies, waarop die verlangde strukture voorgekom het, uitgesny en vir transmissie-elektronmikroskopie (T E M) voorberei.

Agarskyfies is volgens die dubbel-fikseringstegniek (Sabatini et al., 1963) fikseer. Hierdie proses het die volgende behels: Fiksering oornag in 3% glutaardialdehid (GA) in 0,1M fosfaatbuffer (pH 7,0) by 4°C, daarna 'n spoeling met 0,1M buffer en 'n tweede fiksering in 2% osmiumtetroksied ( $OsO_4$ ) vir 2 ure by kamertemperatuur. Die agarskyfies is weer gespoel in 0,1M buffer en vervolgens gedehidreer in die volgende etielalkoholserie:

- 50% alkohol vir 30 min.
- 70% alkohol vir 30 min.
- 95% alkohol vir 30 min.
- 100% alkohol vir 1 uur.
- 100% alkohol vir 1 uur.

Na dehidrering is die agarskyfies in hars ingebed volgens die metode van Spurr (1969). Die impregnering van die suiwer epoksie is oornag onder vakuum gedoen. Die materiaal is na impregnering vir 8 ure by 70°C gepolimeriseer. Sneë van ongeveer 60nm is met behulp van 'n LKB Ultratome III mikrotroom met 'n glasmales gemaak. Sneë is vir 20 min. in 'n versadigde oplossing (ca. 6%) uraniel-asetaat en 10 min. in 'n loodsitraat oplossing (Reynolds, 1963) respektiewelik, gekleur. Gekleurde sneë is met behulp van 'n Phillips EM 300 elektronmikroskoop ondersoek.

Alternatiewelik is van kaliumpermanganaat ( $KMnO_4$ ) fiksering gebruik gemaak (Garcia Acha et al., 1966). Agarskyfies is vir 1 uur in 'n 2% fosfaatgebufferde  $KMnO_4$ -oplossing fikseer, in 'n serie van asetoon gedehidreer en volgens die voorgenoemde metode van Spurr (1969) ingebed.

## Resultate

Sitoplasmiese insluitels.

### Hifes

Die sitoplasma bestaan uit 'n digte homogene matriks, omring deur 'n plasmalemma (Fig. 2.1 A & B) met verskeie selinsluitels en definieerbare organelle. Ribosome kom algemeen en in groot getalle in die hifes voor (Fig. 2.2 A). In sommige ouer hifes is vakuole met membraanagtige en ander insluitels waargeneem (Fig. 2.1B; 2.3 B). Elke sel van die hifes besit ook een of meer kern/e (Hoofstuk 4) wat met 'n dubbel membraan omring is. Porieë is ook soms in die membraan waarneembaar (Fig. 2.4 A). Die nukleoplasma vertoon homogeen en 'n elektrondigte gedeelte, die nukleolus, is waarneembaar (Fig. 2.4 A). Endoplasmiese retikulum (ER) kom algemeen in die sitoplasma voor (Fig. 2.2 A). Wisselende hoeveelhede van strukture wat waarskynlik lipieddruppels is, is in verskeie selle waargeneem (Fig 2.1 A, 2.3 A & B). Hierdie strukture is nie membraan omwonde nie en vertoon lig van kleur, maar is waarskynlik minder elektrondeurlatend as die matriks self. In die omgewing van die septale porie kom sferiese strukture naamlik Woronim liggaampies voor (Fig. 2.5 B) en is duidelik deur 'n dubbel membraan omgewe (Fig. 2.8 A).

Organelle met 'n tipiese mitochondriese struktuur is in sommige selle waargeneem (Fig 2.4 A). Die organelle is sferies, effens verleng en is omring deur 'n dubbel membraan. Die kristae is vanaf die membraan na die sentrale gedeelte van die organel georiënteer.

Miëlienfigure soos in Fig. 2.6 is in enkele van die selle waargeneem

Lomasoomagtige strukture kom tussen die plasmalemma en die selwand voor (Fig. 2.1 A & B; 2.2. B). Vesikels word algemeen in

die sitoplasma aangetref en die inhoud daarvan wissel grootliks (Fig. 2.1 A). Veroudering het waarskynlik die verlies van die meeste van hierdie organelle in die sitoplasma tot gevolg en septa in die hifes bied 'n doeltreffende afsluitingsmeganisme tussen selle (Fig. 2.5 A).

### Makrokonidia

Sitoplasma insluitels van die makrokonidia stem ooreen met dié van die hifes en die volgende strukture en organelle is waargeneem.

Plasmalemma (Fig. 2.9 A; 2.11 A & B), ribosome (Fig. 2.11 A), kerne (Fig. 2.4 B), ER (Fig. 2.8 A), mitochondria (Fig. 2.4 B, 2.9 B), granules wat waarskynlik fosfolipiede of proteïenagtige stoorkomponente bevat (Fig. 2.7 B; 2.9 A), vesikels (Fig. 2.7 B), vakuole (Fig. 2.9 A), miëlienfigure (Fig. 2.6 A & B) en Woronin-liggaampies (Fig. 2.8 A).

Die groottes van die Woronin-liggaampies in vergelyking met die septale poriegrootte is van so 'n aard dat dit 'n effektiewe blokkasie (Fig. 2.8 B) van die porieë kan bewerkstellig. Blykbaar kan hierdie blokkasiefunksie ook deur ander organelle (Fig. 2.8 C) uitgevoer word. Hierdie struktuur vertoon meer elektrondig as Woronin-liggaampies en word deur verskeie membrane omring. Die moontlikheid bestaan egter dat die voorkoms van hierdie struktuur slegs 'n artefak van die fikserings- en kleuringsprosedures is.

### Chlamyospore

Die sitoplasmiese insluitels van die chlamyospore is kenmerkend en verskil van dié van die hifes en makrokonidia.

Lipied insluitels kom in volwasse chlamyospore voor en maak 'n groot gedeelte van die totale insluitels uit (Fig. 2.12 A). Waarskynlik as gevolg van ouderdom wissel die hoeveelheid lipiede

baie ten opsigte van aantal en grootte en is dit by jong ontwikkelende chlamydospore nie so duidelik gedefinieer nie (Fig. 2.12 B & C).

Chlamydospore het 'n goed gedefinieerde kern (Fig. 2.10 B). Die nukleoplasma vertoon 'n koleffek waar elektrondigte en elektrondeurlatende areas onderskei kan word.

Ribosome en ER kom algemeen in die sitoplasma voor (Fig. 2.13, 2.14 B).

Mitochondria kom ook algemeen in jong ontwikkelende chlamydospore voor (Fig. 2.14 A & B). Hierdie mitochondria het meer gewissel in grootte en 'n groot variasie in vorm is waargeneem (Fig. 2.10A). Die rangskikking van kristae was ook nie eenvormig soos by mitochondria in hifes en makrokonidia nie.

'n Samevatting van die sitoplasma insluitels van hifes, makrokonidia en chlamydospore is skematies in Fig. 2.15 voorgestel.

### Fiksering

In hierdie ondersoek is van beide glutaardialdehyd-osmiumtetroksied en kaliumpermanganaat fiksering, afsonderlik gebruik gemaak. Die aanwesigheid van ribosome kon byvoorbeeld met behulp van glutaardialdehyd-osmiumtetroksied- fiksering aangedui word, terwyl kaliumpermanganaat fiksering die strukture nie aandui nie. In teenstelling hiermee was die plasmalemma weer duideliker sigbaar met behulp van laasgenoemde fikseringsprosedure.

### Wandstruktuur

#### Hifes en Makrokonidia

Aangesien die selwande van hifes en makrokonidia eenders vertoon, word die resultate saam aangemeld.

Twee wandlae is by hifes sowel as makrokonidia onderskei. Die buitenste wandlaag vertoon elektrondig en fraaingagtig (Fig. 2.1 A, 2.7 A, 2.11 A). Hierdie laag is duidelik van die meer prominente binnelaag (Fig. 2.1 B, 2.7 A, 2.11 A) gedifferensieer. By ouer hifes verloor die buitewandlaag die fraaingagtige voorkoms en vertoon dit oneweredig. Knopagtige strukture is ook in sommige gevalle waargeneem (Fig. 2.3 A).

Die binneste, hoofgedeelte van die wand vertoon in al die gevalle minder elektrondig as die buitewandlaag (Fig. 2.1 B, 2.7 A, 2.11 A) en word al meer elektrondeurlatend na die binneste gedeelte van die wand. In materiaal wat met behulp van GA en  $OsO_4$  fikseer is (Fig 2,7A), is hierdie verskil in elektrondeurlatenheid van die binnewandlaag meer opvallend as in die geval van  $KMnO_4$  fikseerde materiaal (Fig. 2.11 A).

Die hifes sowel as makrokonidia besit 'n klassieke Deuteromisetetipe septum, naamlik een met 'n enkele sentrale porie (Fig 2.1 B, 2.5 B). Die septum bestaan uit twee eenderse lae wat aaneenlopend is met die binnegedeelte van die binnewandlaag. 'n Driehoekige opening kan tussen die buitewandgedeelte en binnewandgedeelte (wat aaneenlopend met die septum is) regoor die septum waargeneem word (Fig 2.11 A & B). Die twee eenderse lae waaruit die septum bestaan kom deurgaans afsonderlik voor (Fig. 2.11 A) en 'n verdikking kan ook by die gebied waar die septum ontstaan, waargeneem word (Fig 2.11 A).

### Chlamydospore

Die kenmerkende wand van die chlamydospoor (Fig 2.12 A) vertoon 'n onegalige buitegedeelte en 'n dikker binnegedeelte. Met die aanvang van chlamydospoortvorming, vertoon die wand dun en soortgelyk aan dié van ouer hifes (Fig. 2.12 B & C). Instulpings en die onegalige kontakarea tussen die wand en plasmalemma (Fig 2.12 B & C) dui op 'n sekondêre wandbou aktiwiteit. Die nuut neergelegde wandmateriaal vertoon minder elektrondig en meer korreliërig as die

primêre wandlaag (Fig 2.13). By materiaal wat met GA-OsO<sub>4</sub> fikseer is, kan duidelik tussen die primêre en sekondêre wandmateriaal onderskei word (Fig. 2.13). In die geval van KMnO<sub>4</sub> fikseerde materiaal, het die binnegedeelte van die primêre wand 'n gestreepte voorkoms (Fig. 2.14 A) en die sekondêre wandmateriaal vertoon meer korrelrig.

Die ouer wandgedeelte (oorspronklike hife buitewand) verval later en hierdie degenerasie is as 'n afskilferingseffek waarneembaar (Fig. 2.14 A & B). Dit gee dan vermoedelik oorsprong aan die onegaligheid in die buitewand soos by volwasse chlamydospore waargeneem (Fig. 2.12 A). By enkele chlamydospore is verdikte strukture op die buite-oppervlak waargeneem (Fig. 2.12 A).

## Bespreking

### Sitoplasmiese insluitels en selwand

Die insluitels in die sitoplasma soos aangemeld vir F. crookwellense in hierdie ondersoek stem grootliks ooreen met dié soos aangemeld vir ander Fusarium spp. (Garcia Acha et al. 1966; Manganot & Reisinger, 1976; Cole & Samson, 1979; Marchant, 1983).

Direk onder die selwand kan 'n duidelike plasmalemma waargeneem word. In die geval van ouer hifes vertoon die plasmalemma minder instulpings as in die geval van makrokonidia en jong chlamydospore. Die gegolfde voorkoms van die plasmalemma in die geval van jong chlamydospore hou moontlik verband met die aktiwiteit by vorming van sekondêre wandmateriaal.

Lomasome, wat as tipiese kenmerk van fungusselle beskou word (Moore - Landecker, 1972), kom in sommige gevalle tussen die plasmalemma en selwand van hifeselle en jong ontwikkelende konidia voor. Multi-vesikulêre strukture wat geassosieer is met die plasmalemma van alle fungus klasse is eers as "grenslygaampies" ("border bodies") (Girbard, 1958 & 1961) en later as lomasome (Moore & McAlear, 1961; Moore, 1965; Bracker, 1967, Marchant & Robards, 1968) aangemeld. Die funksie van hierdie lomasome is eers voorgestel as 'n bydraende faktor tot wandvorming (Wilsenach & Kessel, 1965; Zachariah & Fitz-James, 1967), maar die primêre funksie daarvan is egter nog onbekend. (Moore - Landecker, 1972). Lomasome is selde in konidia van F.sambucinum var. coeruleum (Stålhammar - Carlemalm, 1976) waargeneem.

Alhoewel fungi gewilde organismes is vir navorsing op die gebied van die membraanfenomeen, vervoer, is die kennis aangaande die membraanstruktuur nog relatief onvolledig (Op den Kamp, 1979) en bied dit 'n wye navorsingsveld (Griffin, 1981) vir die toekoms.

Ribosome kom in hifes, makrokonidia sowel as chlamydospore, vry

in die selle voor en is dus nie met 'n retikulêre sisteem geassosieer nie.

Hierdie verskynsel van vry ribosome in die sitoplasma is by die meeste fungi aangemeld (Bracker, 1967). Die voorkoms van ribosome is slegs waarneembaar by GA-OsO<sub>4</sub> fikseerde materiaal, terwyl die teenwoordigheid daarvan by KMnO<sub>4</sub> fikseerde materiaal nie waargeneem kan word nie, aangesien dit nie met behulp van hierdie tegniek gepreserveer word nie (Bracker, 1967). Ribosome vervul die funksie van proteïensintese en hierdie proteïene is verantwoordelik vir sellulêre funksionering (Bracker, 1967; Griffin, 1981).

Moontlik een van die mees interessante aspekte van fungusselle is vesikels en vakuole, maar relatief min inligting aangaande hierdie strukture is tot dusver bekend (Griffin, 1981). Hierdie twee tipes organelle is dikwels, op grond van voorkoms, moeilik van mekaar onderskeibaar. Vakuole is reeds uit 'n hele aantal fungi geïsoleer (Dürr et al. 1979; Fèvre, 1977, Weis 1973) en hoewel min bekend is aangaande vakuolêre membrane, is baie aandag geskenk aan die inhoud daarvan (Matile, 1978). Die vakuolêre inhoud is baie gespesialiseerd en drie spesifieke funksies daarvan is vir fungi voorgestel, naamlik die storing van stikstof en fosfaat, bewaring en sekresie van hidrolitiese ensieme en sekresie van ekstrasellulêre polisakkarides (Griffin, 1981). Volgens Moore-Landecker (1972) vermeerder en vergroot vakuole in ouerwordende fungusselle. Tydens die huidige ondersoek van ouer hife- en makrokonidiumsele van F. crookwellense is talryke groot vakuole waargeneem. Volgens mikrografieë en aanmeldings van Akai et al. (1969) is heelwat onreëlmatige vakuole, omring deur 'n tonoplast, met elektrondigte granules in die matriks by makrokonidia van F. oxysporum Schlecht. f. sp. cucumerinum Owen waargeneem. Garcia Acha et al. (1966) het ook 'n groter aantal vakuole vir ouer konidia van F. culmorum aangemeld. Tydens die huidige ondersoek was vakuole in chlamydospore minder prominent hoewel beweringe bestaan dat groot hoeveelhede vakuole algemeen by volwasse chlamydospore voorkom (Campbell & Griffiths, 1974).

In die geval van F. solani chlamydospore (van Eck, 1976), is enkele vakuole met 'n donker inhoud aangemeld. Geen melding is egter van vakuole in chlamydospore vir F. oxysporum (Stevenson & Becker, 1972 & 1979) gemaak nie.

In fungi, soos in alle eukariote, word die kern deur 'n dubbele kernmembraan omring. Porieë kom algemeen in hierdie membraan voor en hoewel die spesifieke funksie daarvan as taamlik spekulatief beskou word, word dit aanvaar dat dit 'n rol speel by die vervoer van ribonukleoproteïenpartikels en betrokke is by DNA replikasie en chromosoom organisasie (Griffin, 1981). Die aantal porieë wat in die kernmembraan voorkom, word ook geassosieer met die verdelingsiklus waarin die kern verkeer (Gull & Oliver, 1981) en volgens Griffin (1981) kan die aantal porieë tot met die helfte verminder tydens kerndeling. Tydens die huidige ondersoek is groot porieë in kernmembrane van hifes, konidia as well as chlamydospore waargeneem. Groot porieë is ook in konidiumkerne van F. culmorum aangemeld (Garcia Acha et al., 1966). 'n Digte RNA-ryke nukleolus wat ontstaan as gevolg van nukleoplasma differensiasie (Bracker, 1967) kom in die nukleoplasma van hifes sowel as konidia voor, terwyl dit nie in kerne van F. culmorum (Garcia Acha et al. 1966) waargeneem is nie. Nukleoli is ook nie tydens die huidige ondersoek in chlamydospoorkerne waargeneem nie en die voorkoms van die nukleoplasma van chlamydospore verskil van dié van hifes en makrokonidia. Die voorkoms daarvan stem egter ooreen met mikrografieë van die chlamydospoornukleoplasma van F. oxysporum (Stevenson & Becker, 1979). Nukleoli mag moontlik wel aanwesig wees, maar as gevolg van gebrek aan die hoeveelheid snitte of swak kleuringseffek is dit nie waarneembaar nie.

Geen inligting is tot dusver aangaande die chemiese samestelling van fungus kernmembrane beskikbaar nie (Griffin, 1981).

Die definiëring van endoplasmiese retikulum (ER) in fungi is tot dusver nog baie vaag en die omskrywing daarvan is heelwat aangepas om 'n verskeidenheid membraanagtige strukture te kan akkomo-

deer (Bracker, 1967). ER word ook beskryf as die mees pleomor-fiese komponent in fungusselle en hulle vorm en aantal word geassosieer met eksterne omgewingstoestande, ontwikkelingstadium en fisiologiese toestand eerder as filogeneties van aard. ER is gewoonlik meer volop in jong aktiefgroeiende of metaboliserende protoplaste teenwoordig en kan met ander selkomponente assosieer. Tydens die huidige ondersoek is ER in 'n mindere mate in ouer hifes en volwasse konidia waargeneem, terwyl groot hoeveelhede ER in jong ontwikkelende chlamydospore voorkom. Hierdie verskynsel is ook deur Stevenson en Becker (1972) vir F.oxysporum aangemeld. Groot hoeveelhede ER is ook by ontwikkelende chlamydospore van F.culmorum (Campbell & Griffiths; 1974) waargeneem.

'n Aantal ronde of ovaal organelle kom dikwels in die omgewing van die septum en septale porie van ascomisete fungi voor. Hierdie organelle wat aanvanklik deur Woronin in 1866 beskryf is, is algemeen na verwys as "Woronin-liggame" (Buller, 1933). Met die koms van die elektronmikroskoop kon egter onderskei word tussen hierdie organelle wat vroeër na verwys is as Woronin-liggame (Reichle & Alexander, 1965). Verwarring het egter steeds bestaan as gevolg van die wyduiteenlopende terminologie wat aangewend is ter beskrywing van insluitself naby septa. Daar is na hierdie strukture verwys as Woroninagtige liggame (Camp, 1971; Cutler & Erke, 1971), lipiede (Sachs, Nair & Kuntz, 1970) lipiedliggame (Moore & McAlear, 1962; Mitchell & McKeen 1970), lipiedgranules (Zacharuk; 1970), "lipoidal" insluitself (Zacharuk, 1971), liso-some (Wilson, Stiers & Smith, 1970), sferosome (Wilson, Stiers & Smith 1970; McCoy, Girard & Kornfield, 1971), kristal bevattende mikro-liggame (Camp, 1971; Maxwell, Williams & Maxwell, 1972) en granules (Dickson, 1963).

Sferiese elektrondigte strukture met dubbele eenheidsmembrane wat naby die septale porie van hifes sowel as makrokonidia tydens die huidige ondersoek waargeneem is, stem ooreen met beskrywings van Woronin-liggame deur Reichle & Alexander (1965), McKeen (1971), Wergin (1973), Becket Heath & McLaughlin (1974) en Cole &

Samson (1979). Volgens voorgenoemde outeurs is die Woroninliggaam 'n sferiese, digte homogene matriks (0,2 - 0,4 nm) wat omring word deur 'n eenheidsmembraan en is die hoof funksie daarvan die regulering van sitoplasmiese stroming tussen aangrensende selle.

Ander strukture (0,5 - 1µm) wat uit 'n granulêre matriks bestaan en deur 'n eenheidsmembraan omring word, kom ook in hife- en konidium selle voor. Hierdie strukture is moontlike mikroliggame soos deur Wergin (1973) gedefinieer en kom algemeen in plantselle voor (Mollenhauer, Morre & Kelliey 1966; Frederick et al. 1968; Vigil, 1973).

Strukture wat moontlik met Woroninliggame verwar kan word, is die sogenaamde lipied-liggame (sferosome). McKeen (1971) beweer egter dat tussen die twee onderskei kan word aangesien Woroninliggame deur 'n eenheidsmembraan omring word en lipiede nie, asook die feit dat Woroninliggame slegs in die omgewing van die septum voorkom terwyl lipiede oor die hele sitoplasma kan voorkom. Tydens die huidige ondersoek is verskeie moontlike lipied-liggame in hifes, konidia, sowel as chlamydospore selle waargeneem. Die aantal en grootte van die liggame varieer. Hoewel groot hoeveelhede lipiede in chlamydospore van F.oxysporum (Stevenson & Becker, 1972) F.solani, f.sp.cucurbitae (Van Eck & Schippers, 1976), F.culmorum (Campbell & Griffiths, 1974) en F.solani (Van Eck, 1976) aangemeld is, beweer Van Eck (1978) dat die lipied inhoud van chlamydospore direk verbandhou met die lipiedinhoud van die oorspronklike hife of makrokonidium. Lipiede is waargeneem by GA-0sO<sub>4</sub> fikseerde chlamydospore terwyl die teenwoordigheid daarvan ontbreek by KMnO<sub>4</sub>-fikseerde materiaal.

Volgens McKeen (1971) is bevind dat permanganaat fiksering geen preserferende invloed op lipiede het nie en die lipiede kon dus moontlik tydens die dehidreringsproses ekstraheer word.

Na aanleiding van morfologiese (Hawker, 1965) en biochemiese (Niederpruem, 1965; Zalokar, 1965) toetse, blyk dit dat fungus mitochondria die funksionele ekwivalent van dié in plant- en dierselle is. Dit is ook bekend dat die morfologie van mitochondria varieer ten oospigte van die ontwikkelingsstadium, tipe organisme, sowel as omgewingstoestande. Hierdie variasie kan waargeneem word in rangskikking, vorm en aantal kristae sowel as die vorm van die organel self. (Bracker, 1967; Griffin, 1981). Die verskillende groottes vorm en kristae oriëntasie van mitochondria wat tydens hierdie studie in selle waargeneem is, kan dus moontlik aan bogenoemde redes toegeskryf word.

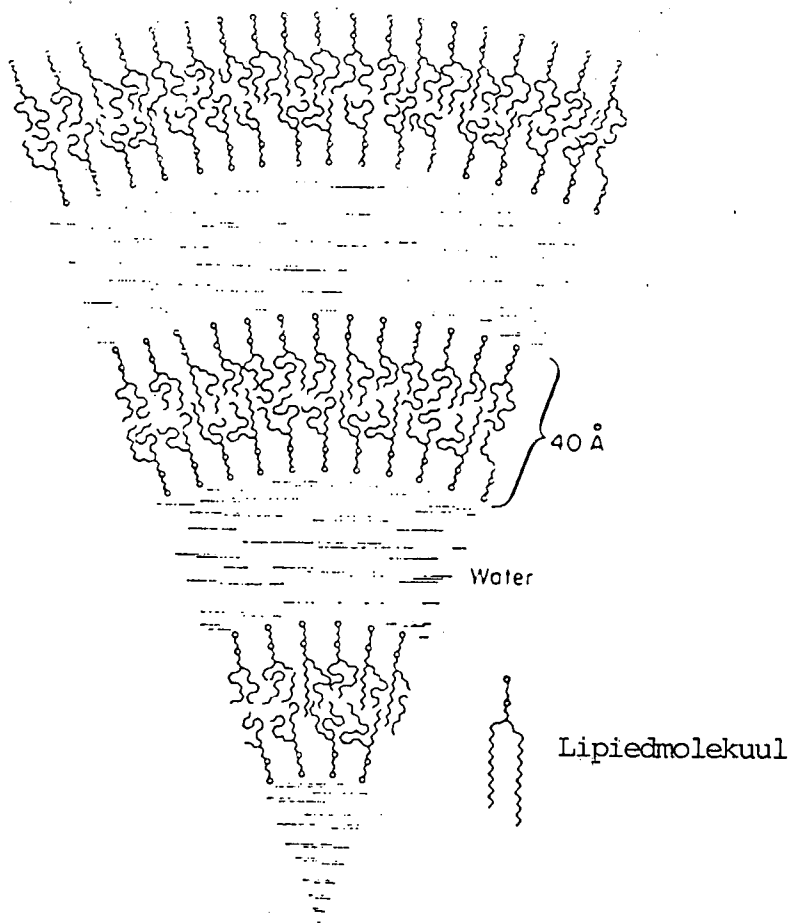
Tydens die huidige ondersoek is bevind dat die vorm en grootte van mitochondria in chlamydospore van F.crookwellense ooglopend van mekaar verskil en dat hierdie verskynsel nie so gereedlik in hifes of makrokonidia voorkom nie. Oor die algemeen kom groter getalle mitochondria in chlamydospore as in hifes of makrokonidia voor.

Groot getalle mitochondria is ook vir chlamydospore van F.oxysporum (Stevenson & Becker, 1972, 1979) en F.culmorum (Campbell & Griffiths, 1974) aangemeld. Hierdie verskynsel kan moontlik veroorsaak word deur veranderde fisiologie (sekondêre wandbou) van die ontwikkelende chlamydospoor.

Tydens die huidige ondersoek is strukture in GA-0sO<sub>4</sub> fikseerde hife- en makrokonidiumsele waargeneem wat ooreenstem met miëlienstrukture wat as volg deur de Robertis Nowinski & Saez, (1970) beskryf is:

Die molekulêre rangskikking van lipiede in water hang af van die temperatuur en die konsentrasie van hierdie komponente. Tydens toestande waar die waterinhoud en temperatuur laag is, kan die lipied molekules kristalliseer en met intermediêre lipiedkonsentrasies kan die molekules op sô 'n wyse met mekaar assosieer dat hulle verskillende verspreidingspatrone in water aanneem. In die

geval van fosfolipiede vorm afwisselende lae van water en lipiedmolekules en hierdie fase staan dan bekend as miëlienstrukture. Die lipiedmolekules in die miëlienstrukture is in bimolekulêre lae, met die nie polêre gedeeltes na mekaar, gerangskik. Dit is bekend dat osmiumtetroksied met die dubbelbindings van onversadigde lipiede reageer en dit word algemeen aanvaar dat die grootste gedeelte van die osmium deur die polêre groepe van die lipiede opgeneem word. Die digte lyne word dan beskou as die polêre gedeeltes van die molekules. Die meegaande skets toon die rangskikking van lipiede in water in 'n miëlienstruktuur. Die wydte van die bimolekulêre lipiedlae is konstant terwyl die waterlae wissel in wydte, afhangende van die graad van hidrasie van die materiaal (uit de Robertis et al., 1970).



Die samestelling van selwande in Fusarium spp. het reeds baie aandag geniet. Uit die literatuur blyk dit dat die aantal lae waaruit die wande van hifes en makrokonidia bestaan, van twee tot vier lae kan wissel. Hierdie variasie in afleidings is byvoorbeeld deur verskillende navorsers ook van dieselfde Fusarium sp. gemaak (Mangenot & Reisinger, 1976).

In F.culmorum word tot die gevolgtrekking gekom dat die hife- en konidiumwande uit twee sekondêre mikrofibrillêre lae, wat geskei word deur 'n primêre nie-fibrillêre laag, bestaan (Marchant, 1966). In F.oxysporum bestaan die hifewand uit 'n enkele mikrofibrillêre laag met 'n granullêre eksterne oppervlak (Griffiths, 1971). In teenstelling met hierdie waarnemings word vier lae vir die hife- en konidiumwande van F. solani aangemeld (Van Eck & Schippers, 1976).

Die samestelling van wande is meestal op sneë wat van ouer strukture gemaak is, beoordeel. Interpretasie van sneë kan egter vergemaklik word indien na die ontwikkeling van nuutgevormde konidia gekyk word (Hoofstuk 3, Fig. 3.13 B). Hier blyk dit dat 'n primêre wandlaag aan die buitekant van die plasmalemma neergelê word. 'n Addisionele fibrillêre laag, moontlik deur die primêre laag afgeskei, word later neergelê (Hoofstuk 3, Fig 3.13 B). Volgens skematiese voorstellings van Campbell & Griffiths (1974) vind primêre wandbou in twee fases plaas. Die eerste fase behels die sekresie van wandmateriaal na die buitekant van die plasmalemma, terwyl die tweede fase van wandbou eers as 'n respons op transkonidiale septumvorming volg. Tydens die huidige ondersoek is bevind dat die totale primêre wand van die konidium reeds gevorm is nog voordat enige septumvorming plaasgevind het. (Hoofstuk 3, Fig. 3.9 A). 'n Klein driehoekige opening, soos aangemeld deur Campbell & Griffiths (1974), kan by die buitepunte van die konidiumseptum waargeneem word. Volgens Mangenot & Reisinger (1976) kan transkonidiale septa op drie verskillende wyses ontwikkel. Aangesien nie genoeg inligting hieromtrent uit die huidige ondersoek bekom kon word nie, is die gevolgtrekking aangaan-

de die septumvorming spekulatief op grond van mikrografieë van ultradun sneë. Dit wil voorkom asof die septum in F.crookwellense op 'n euseptale wyse ontstaan wat impliseer dat die twee lae waaruit die septum bestaan, ontstaan het uit die binnegedeelte van die binnewandlaag. Die twee lae waaruit die septum bestaan is dus van dieselfde aard en oorsprong, maar bly van mekaar geskei. Dieselfde waarneming is ook by F.culmorum gemaak. (Campbell & Griffiths, 1974). Volgens Campbell & Griffiths (1974) ontstaan hierdie "opening" as gevolg van spanning wat in die verouderende konidium voorkom.

'n Verdikking kan by die buitepunte van die twee septumlae waargeneem word. Hierdie verskynsel is algemeen by Fusarium septa waargeneem (Garcia Acha et al., 1966; Campbell & Griffiths, 1974, Schneider & Wardrop 1979, Marchant, 1979). Die meeste hifes en konidia besit 'n septum met 'n enkele sentrale porie. Geen multi-perforeerde septa soos in die geval van hifes van Fusarium spp. deur Reichle & Alexander (1965) bevind, is waargeneem nie. Die funksie van die septum word aanvaar as meganies van aard en dit dien ook as beskermingsmeganisme. Wanneer 'n sel om een of ander rede degenereer, sal die septum die aangrensende sel teen dieselfde lot beskerm. Daar is ook beweer dat bogemelde twee funksies slegs sekondêr van aard is en dat die hoof funksie van septa dié is van differensiasie van hifes of konidia (chlamydospoorvorming) (Gull, 1978).

Mangenot en Reisinger (1976) beweer dat daar drie essensiële selwandlae by Deuteromisetete aangetref word en dat hierdie lae op grond van ultrastrukturele eienskappe onderskei kan word. Daar is 'n buitelaag, 'n middellaag, wat fundamenteel in alle wande is en 'n binnelaag wat slegs by sommige wandstrukture voorkom. Tydens die huidige ondersoek is bevind dat die hife- en konidiumwande van F. crookwellense slegs uit twee lae bestaan.

Die buitewandlaag vertoon elektrondig en dit kom voor asof dit uit fibrille of "stafies" met 'n reëlmatige rangskikking bestaan.

Soortgelyke waarnemings is deur Hess, Sassen & Remsen, (1968), Hess & Stocks, (1969), Ghiorse & Edwards (1973) en Cole & Ramirez-Mitchell (1974) gemaak. Hierdie verskynsel is veral by jonger konidium- en hifebuitewande waargeneem terwyl ouer hifes 'n amorfe en oneweredige buitewandstruktuur vertoon. Volgens Cole (1973) sal die ontwikkelingstadium die spesifieke oriëntasie van die buitewandlaag bepaal.

'n Binnewandlaag, wat by sommige strukture uit twee sones bestaan, kan op mikrografieë waargeneem word. Met  $\text{GA-OsO}_4$  fikseerde materiaal vertoon die buiteseone van die primêre binnewandlaag meer elektrondig as die binnesone van dieselfde laag. By  $\text{KMnO}_4$  fikseerde wandmateriaal kan in sommige gevalle waargeneem word dat die aard van die twee sones identies is en kan die binnewandlaag as een laag met twee sones beskou word.

Die jong primêre ontwikkelende binnewandstruktuur vertoon aanvanklik homogeen (Hoofstuk 3, Fig. 3.8 A), maar vertoon later meer elektrondig aan die buiteseone gedeelte en minder elektrondig aan die binnesone gedeelte. Hierdie verandering is waarskynlik toe te skryf aan sekondêre neerlegging van proteïene en lipiede in die wandmateriaal. Neerlegging van sulke materiaal in die buiteseone van die binnewandlaag is reeds deur verskeie navorsers aangetoon (Horikoshi & Iida, 1964; Bartnicki Garcia & Reyes, 1964; Rizza & Kornfield, 1969; Fisher, Holloway & Richmond, 1972; Laborda et al., 1974).

Met die dubbel fikseringstegniek van glutaardialdehid en osmium-tetroksied het die fiksering 'n oksiderende sowel as reduserende effek op die weefsel. Dit kan dan tot gevolg hê dat proteïenagtige of lipiedagtige komponente in die buiteseone van die binnewandlaag goed gepreserfeer is en nie soos in die geval van  $\text{KMnO}_4$  fiksering, wat onvoldoende is vir die preservering van proteïene en lipiede, moontlik met dehidrering uit die weefsel geekstraheer kon word nie. Die binnewand vertoon in die geval van  $\text{KMnO}_4$  fikseerde materiaal dus homogeen. Die binnewandlaag stem waar-

skynlik ooreen met die binnelaag deur Mangenot en Reisinger (1976) aangemeld waar ook 'n "gelaagdheid" in hierdie laag waargeneem is.

Die hife- en konidiumwande van F.crookwellense bestaan dus uit twee lae, naamlik 'n buite elektrondige laag en 'n binnewandlaag wat soms skyn uit twee sones te bestaan. Soortgelyke gevolgtrekkings is vir wande van F.sulphureum (Schneider et al., 1977) en F.oxysporum f.sp. cucumerinum (Akai, Fukutomi & Kobayash, 1969) gemaak. Gevolgtrekkings wat dui op meer as twee lae in die Fusarium wandstruktuur mag moontlik dui op foutiewe afleidings as gevolg van fikserings- en kleuringsartefakte.

Daar word algemeen aanvaar dat die die dik wand van Fusarium chlamydospore 'n meganisme is wat weerstand bied teen litiese faktore wat in grond teenwoordig is en word ook geassosieer met retensie en kiemkragtigheid tydens toestande van uitdroging (Griffiths, 1973a). In 1928 het Bennett (aangehaal deur Alexander, 1965) die endokonidiese chlamydospore van F.avenaceum (Fries) Sacc. as dubbelwandig beskryf en dieselfde mening oor ander Fusarium spp. is met behulp van ultradun sneë bevestig (Alexander, 1965). Stevenson & Becker (1972 & 1979) het later beweer dat die chlamydosporewand van F.oxysporum uit 'n dik elektrondeurlatende binnelaag en 'n dun elektrondigte buitelaag, wat oorsprong aan 'n fibrillose laag gee, bestaan.

Tydens die huidige ondersoek blyk dit dat twee prosesse gelyktydig tydens chlamydospore ontwikkeling in die wand plaasvind. Eerstens is daar 'n toename in dikte van die wand as gevolg van wandneerlegging tussen die plasmalemma en oorspronklike primêre wand. Hierdie verskynsel kan aan 'n aktiewe plasmalemma waargeneem word. Hierteenoor is daar 'n verlies aan wandmateriaal as gevolg van verval wat as afskilfering waarneembaar is. Wandbou geskied egter teen 'n hoër tempo as wandverval aangesien die netto produk 'n verdikte wand is.

Die volwasse chlamydospoorwand van F.crookwellense bestaan uit twee wandlae, naamlik 'n eksterne elektrondigte afskilferende laag en 'n dikker interne laag wat gedeeltelik uit die primêre wandlaag en gedeeltelik uit nuwe sekondêre wandmateriaal bestaan.

Die fibrillose materiaal wat op die buite-wandoppervlak aangetref word, is karakteristiek aan Fusarium chlamydospore. Daar bestaan verskil in menings aangaande die oorsprong (aard) van hierdie materiaal en Stevenson & Becker (1972) het onder andere beweer dat die voorkoms van die materiaal 'n resultaat is van ensieme, deur differensiërende chlamydospoorselle afgeskei, wat in staat is om mikrofibrillêre materiaal van die matriks van die oorspronklike selwand vry te stel. Die moontlikheid bestaan ook dat lise van die buite-wandoppervlak as gevolg van bakterieteenwoordigheid in die grond kan plaasvind, maar die oorwoë mening is dat die degenerasie die gevolg is van 'n outolitiese proses (Van Eck, 1976). Laasgenoemde is moontlik ook van toepassing op chlamydospore van F.crookwellense aangesien al die kulture in die huidige ondersoek in vitro gekweek is en geen grondbakterieë 'n rol kon speel nie.

Die meeste chlamydospore in die huidige ondersoek, vertoon glad hoewel by enkeles tog knopagtige strukture op die oppervlak voorkom. Wollenweber & Reinking (1935) het beweer dat chlamydospore van F. solahi glad of onegalig kan wees. Alexander (1964) en Old & Schippers (1973) het ook chlamydospoorwande wat knopagtig vertoon, waargeneem. Alhoewel die chemiese aard en samestelling van hierdie vratagtige lag onbekend is, word aangeneem dat dit gestimuleer word deur 'n mikrobiologiese agent aangesien hierdie laag nie in 'n skudkultuur vorm nie (Alexander, 1964), maar wel in steriele grondekstrakte (Van Eck & Schippers 1976). Soortgelyke vratagtige wande in kultuur is egter in verskeie Fusarium spp. waargeneem (Nelson et al., 1983).

Stevenson & Becker (1972, 1979) het beweer dat die chlamydospoorwand van F.oxysporum uit 'n primêre elektrondigte wandlaag en twee

nuutgevormde elektrondeurlatende lae bestaan. Griffiths (1973b) beweer dat die twee lae, deur Stevenson & Becker (1972 & 1979) beskryf, in der waarheid 'n enkel laag is. Bogenoemde outeure het geen kennis gedra van die strukturele komponente soos byvoorbeeld verkry met vriesetsing nie, en afleidings is gemaak op grond van transmissie elektronmikroskoopmikrografieë. Griffiths (1973b) het voorgestel dat na hierdie "lae" verwys word as sones en nie lae nie.

Dit wil egter voorkom asof die buitenste een van die twee lae (Stevenson & Becker, 1972, 1979) of sones (Griffiths, 1973b) nog deel is van die primêre konidium(hife)wandlaag. Die nuwe sekondêre wandmateriaal wat met chlamydospoorvorming neergelê word, is waarskynlik van dieselfde aard as die binnewandlaag van die oorspronklike konidium(hife)wand en met volwassewording van die chlamydospoor kan nie meer tussen hierdie twee neergelegde wandmateriale onderskei word nie. By jonger chlamydospore kan wel 'n skeiding tussen die ouer en nuwe wandmateriaal waargeneem word.

By  $\text{KMnO}_4$  fikseerde materiaal vertoon die buite gedeelte van die binnewandlaag 'n gestreepte effek terwyl by glutaardialdehyd-osmiumtetroksied fikseerde materiaal is die binnewandlaag as twee duidelike sones waarneembaar. Hierdie effek kan moontlik toegeskryf word aan die feit dat die binneste ligte gedeelte op 'n later stadium as die primêre wandgedeelte neergelê is. Voorstelle in hierdie verband is ook deur Griffiths (1973b) gemaak. Nog 'n verklaring vir die voorkoms van die binnewandlaag is die teenwoordigheid van osmofiliese materiaal in die binnewandgedeelte (Alexander, 1965; Chenuda, 1972) wat veroorsaak dat die laag in verskillende elektrondigte sones ( $\text{GA-OsO}_4$  fiksering) onderverdeel word. Die gebruik van die term "sones" word aanvaar, soos deur Griffiths (1973b) voorgestel, aangesien nie van lae melding gemaak kan word tensy onomwonde vasgestel is dat mikrofibrille in verskillende lae en op verskillende wyses georiënteer is nie.









Met die interpretering van resultate tydens hierdie ondersoek

word aanvaar dat die chlamydospoorwand van F. crookwellense uit twee lae bestaan. Die eerste laag verteenwoordig die buitenste laag van die primêre wandlaag. Dit wil sê die fibrillose of fibrillêre laag wat op die eksterne oppervlak van die oorspronklike konidium(hife)wand voorkom. Hierdie laag vertoon in die meeste gevalle by meer volwasse chlamydospore 'n effek van disintegrasië. Dit wil voorkom asof hierdie effek by dieselfde laag in ouer hifes voorkom. Hierdie afskilfering of disintegrasië van die eksterne gedeelte van chlamydospoorwande word as tipies van Fusarium spp. beskou.

Die tweede laag vertoon verskillend met verskillende fikseringstegnieke. Met  $\text{GA-OsO}_4$  fiksering kan twee sones onderskei word, naamlik 'n buitenste donker sone en 'n ligter sone aan die binnekant. By  $\text{KMnO}_4$  fikseerde materiaal vertoon die buite gedeelte effens gestreep, maar geen definitiewe differensiasie kan tussen twee sones waargeneem word nie.

Die algemene samestelling van hife-, konidium- en chlamydospoorwande is skematies saamgevat in Fig. 2.16 en 2.17.

Fig. 2.1 T E M van F. crookwellense

- A. Snit deur 'n hife toon die plasmalemma (  ),  
 vakuool (  ), lomasoom (  ) en  
 lipieddruppels (  )  
 (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X20,000).
- B. Snit deur 'n hife toon die plasmalemma (  ),  
 vakuool (  ), lomasoom (  )  
 en 'n meer elektrondigte afskilferende buitelaag  
 (  ) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X20,000).

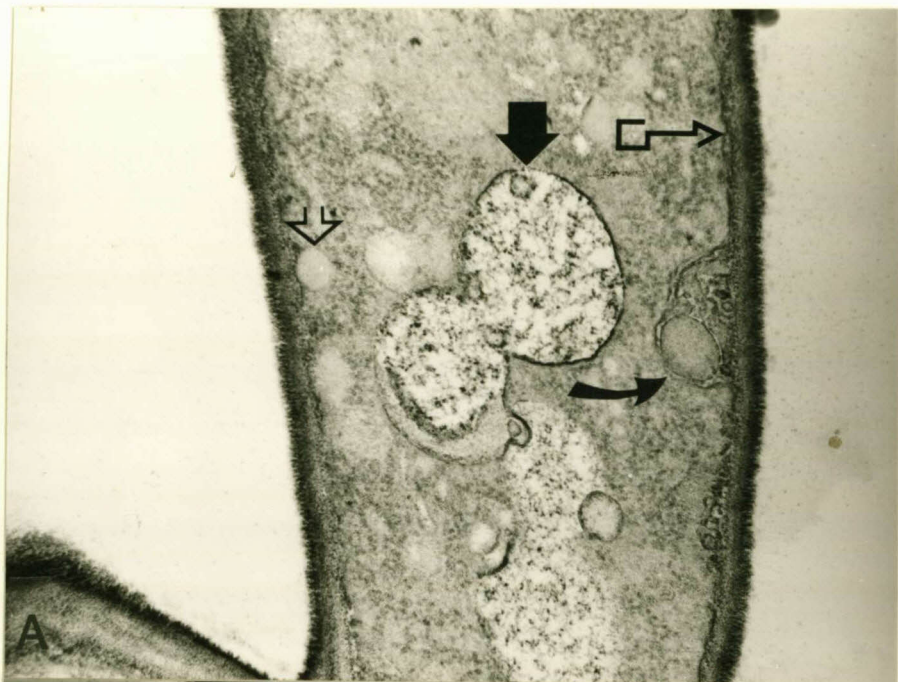
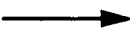





Fig. 2.2 T E M van F. crookwellense

- A. Snit van hife toon ER (  ) en ribosome (  ) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X20,000).
- B. Snit van hife toon lomasoom (  ) en verandering in voorkoms van die fraaiingagtige() buitelaag (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X30,000).

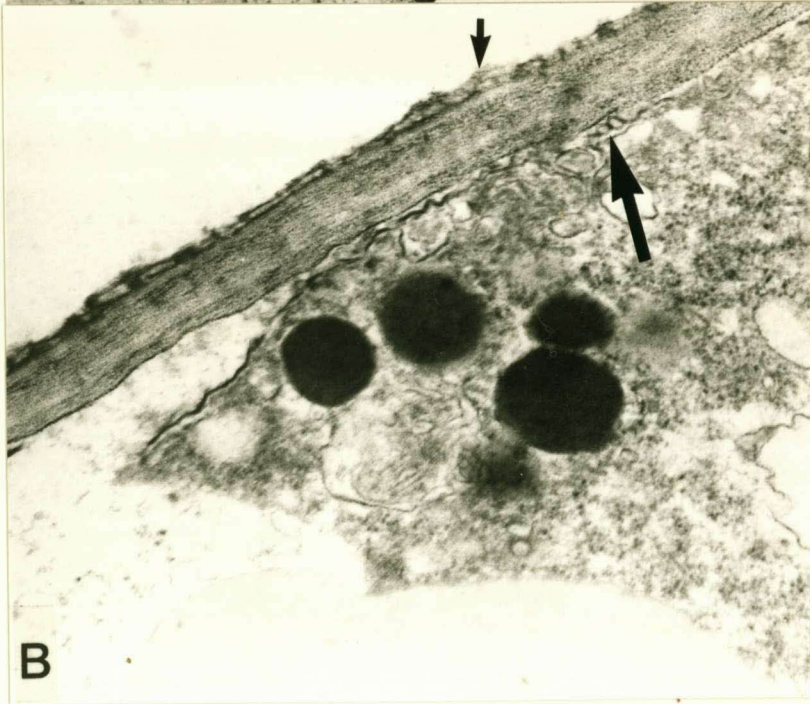





Fig. 2.3 T E M van F.crookwellense

- A. Snit van hife toon lipieddruppels (  )  
(GA-0s0<sub>4</sub> fiksering; X20,000).
- B. Snit van hife toon lipieddruppel (  ),  
vakuool (  ) en knopagtige structure op  
buitewand (GA-0s0<sub>4</sub> fiksering; X10,000).

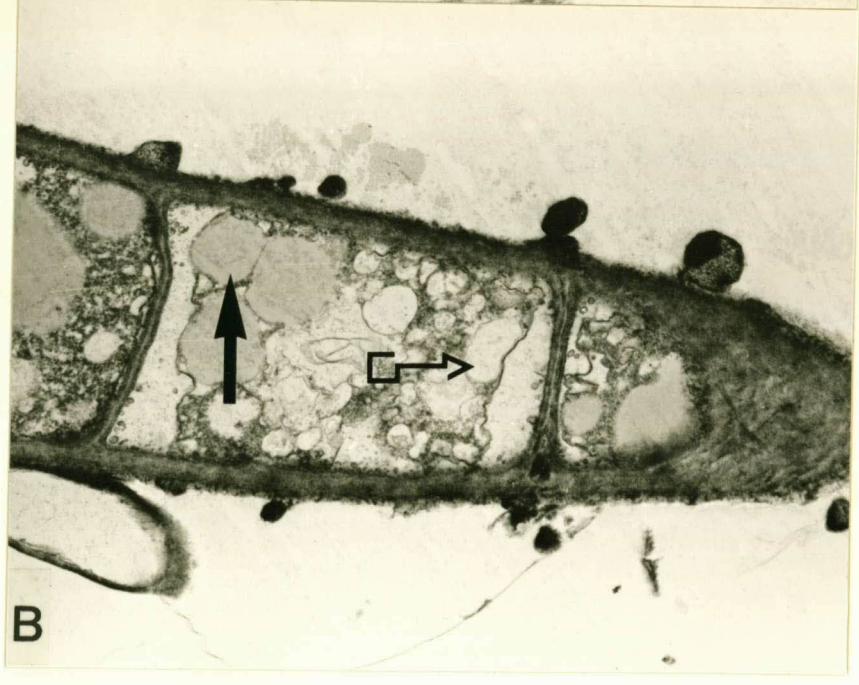








Fig. 2.4 T E M van F. crookwellense

- A. Snit van hife toon mitochondrion (  ),  
 porie in kernmembraan (  ) en nukleolus   
 (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X18,000).
- B. Snit van konidium toon porie in kernmembraan  
 (  ) en nukleolus (   )  
 (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X20,000).

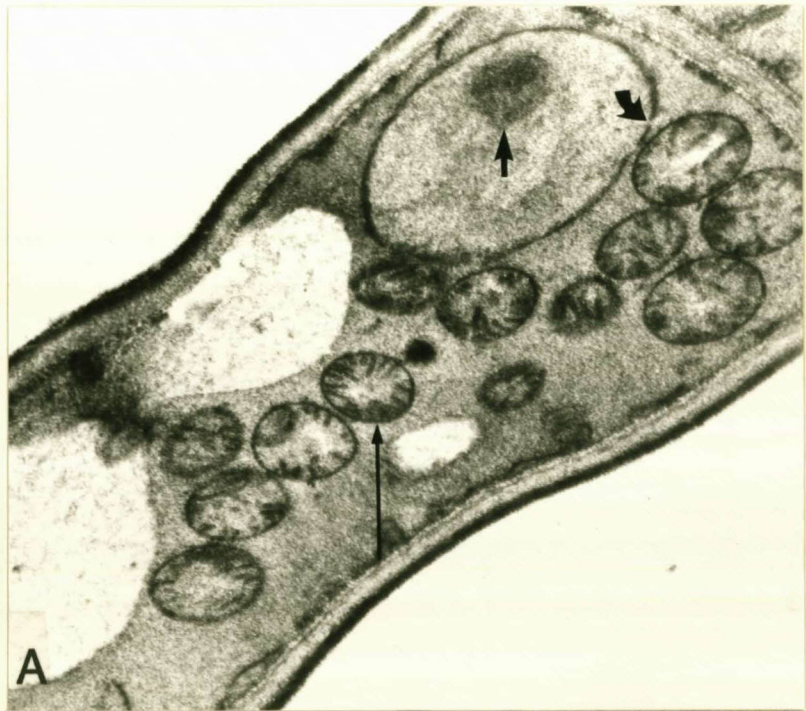




Fig. 2.5 T E M van F. crookwellense

- A. Snit van konidiofoor illustreer suksesvolle afgrensing deur middel van 'n septum om 'n verouderde leë sel (  ) van aktiewe sel (  ) te skei.  
(GA-0s0<sub>4</sub> fiksering; X9,000).
- B. Snit deur septum van hife toon Woronin-liggaam  
(GA-0s0<sub>4</sub> fiksering; X20,000).

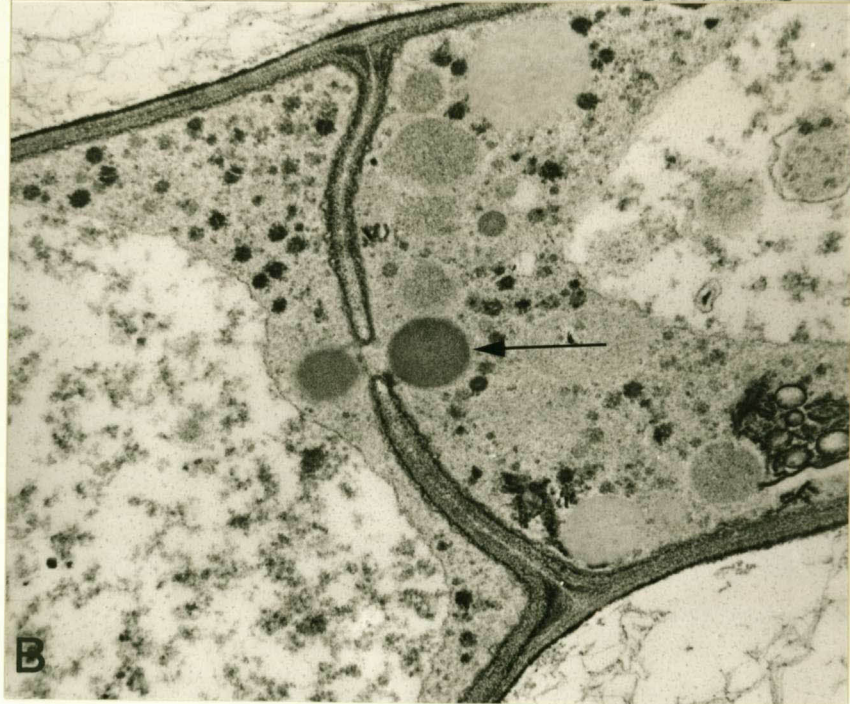


Fig. 2.6 T E M van F. crookwellense

- A. Snit van makrokonidium toon miëlienstructuur (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X30,000).
- B. Snit van makrokonidium toon miëlienstructuur (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X30,000).

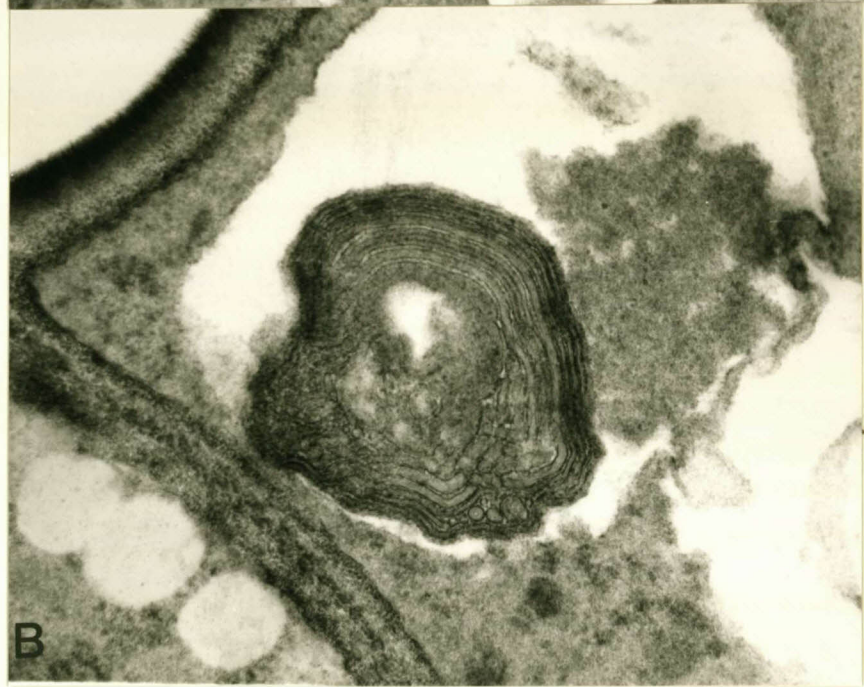







Fig. 2.7 T E M van F. crookwellense

- A. Snit van makrokonidium toon fraaiingagtige buitelaag (  ), elektrondigte buiteseone van binnelaag (  ) en die minder elektrondigte binnesone van binnewandlaag(  ) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X30,000).
- B. Snit van makrokonidium toon membraanomgewe vesikels (  ) en lipiedkomponente(  ) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X10,000).

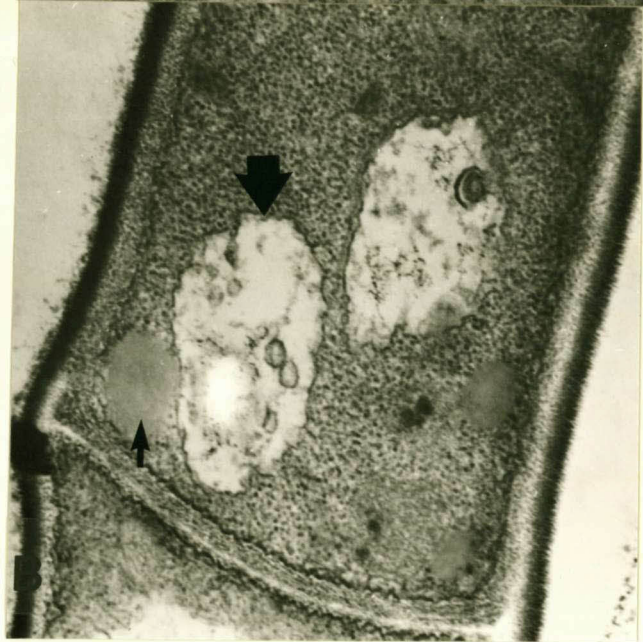
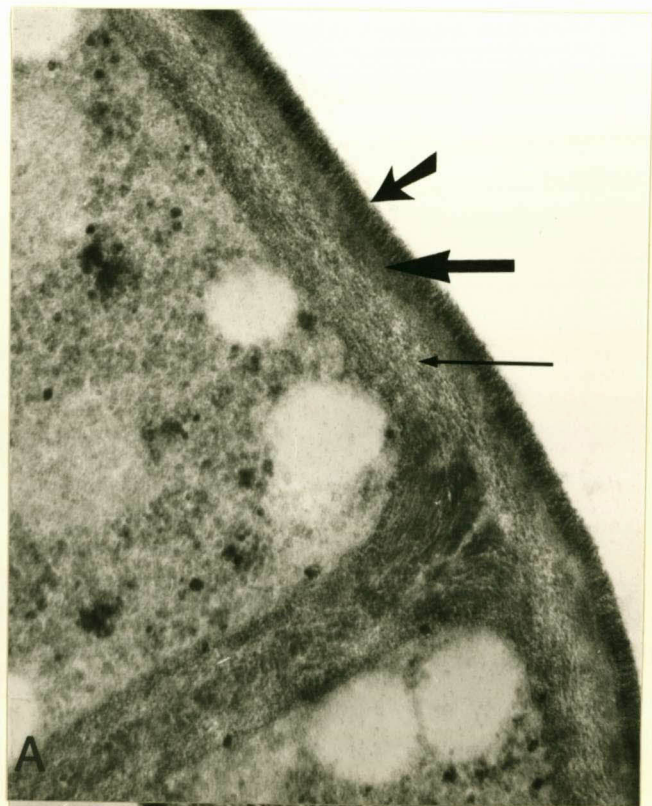



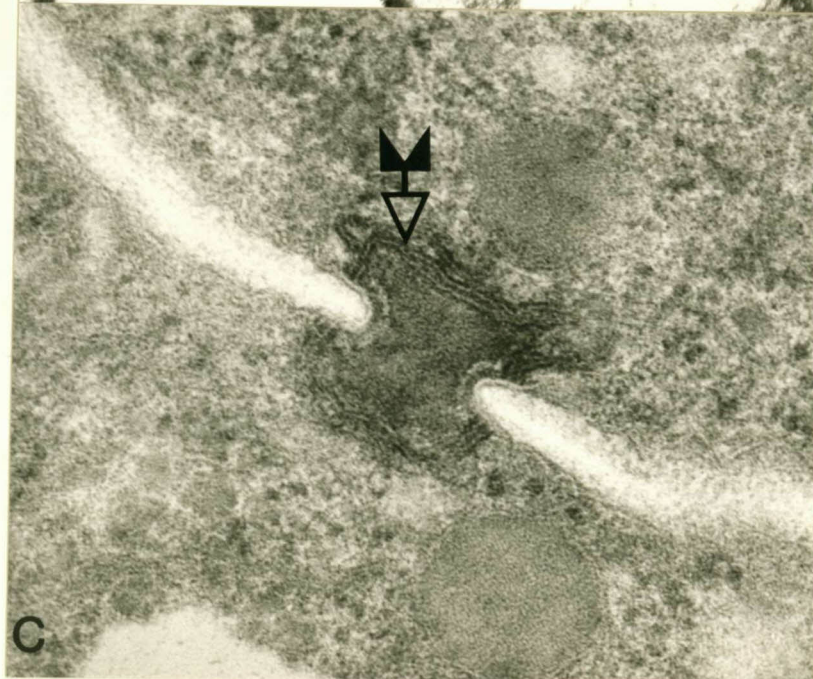
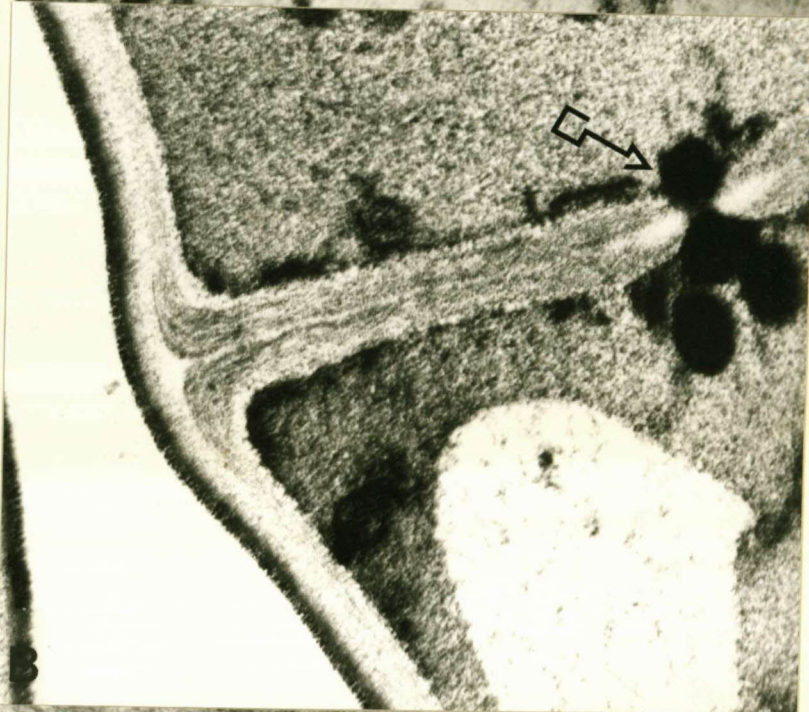
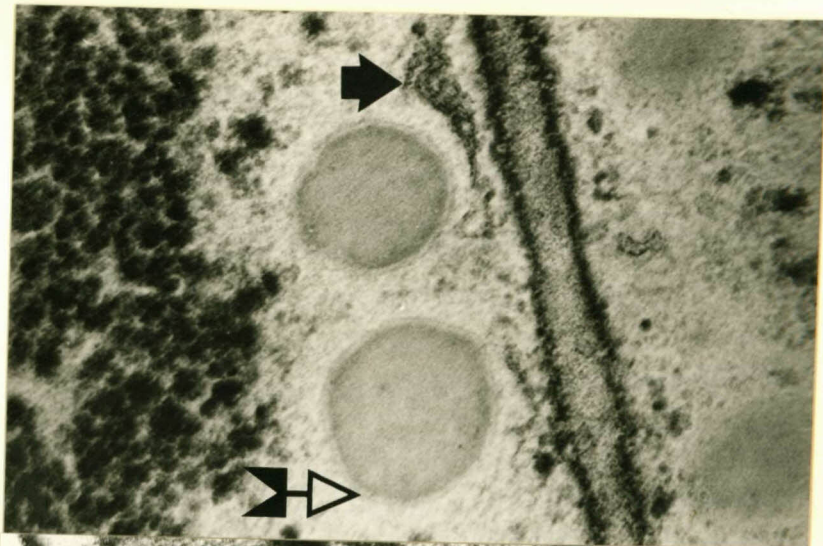






Fig.2.8 T E M van F.crookwellense

- A. Snit van makrokonidium toon Woronin-liggaam met 'n dubbel membraan ( (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X40,000).
- B. Snit van makrokonidium toon blokkasie van die septale porie ( (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X30,000).
- C. Snit van makrokonidium toon blokkasie van septale porie deur 'n onbekende struktuur ( (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X40,000).



C

Fig.2.9. T E M van F.crookwellense

- A. Snit van makrokonidium toon plasmalemma  
(  ), vakuool (  ) en lipied-  
druppels (  ) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X15,000).
- B. Snit van makrokonidium toon 'n mitochondrion  
(  ) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X30,000).

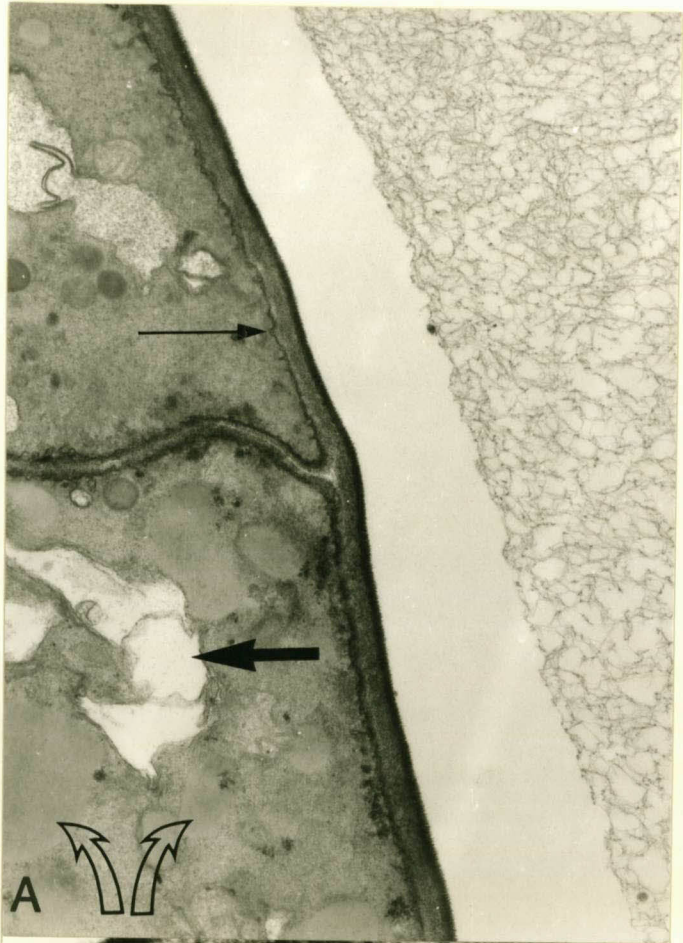





Fig.2.10 T E M van F.crookwellense

- A. Snit van chlamydospoor toon variatie in vorm van mitochondria (  ) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X30,000).
- B. Snit van chlamydospoor toon koleffek in nukleoplasma (  ) en porie in kernmembraan (  ) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X30,000).

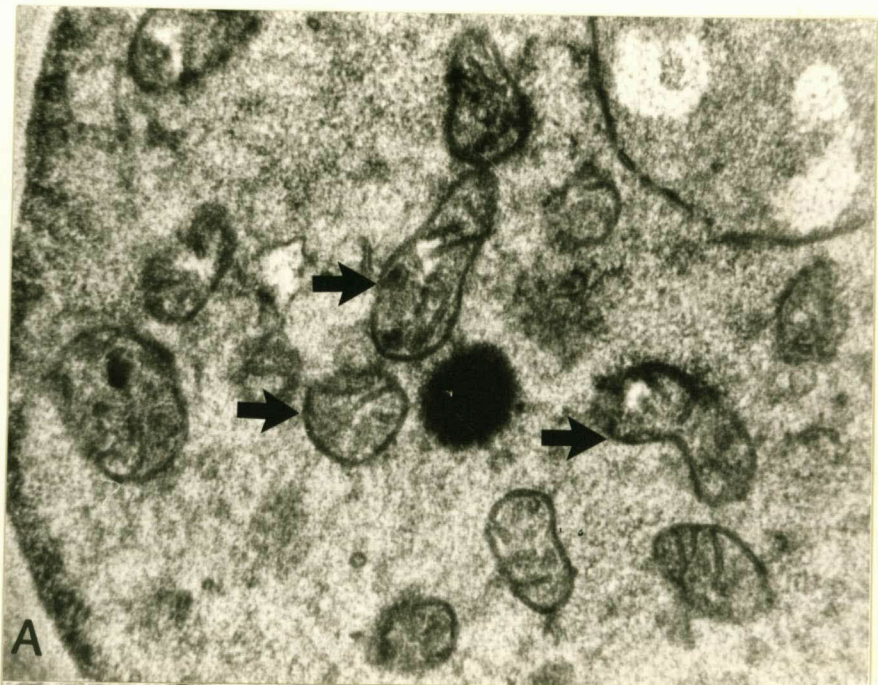








Fig.2.11 T E M van F.crookwellense

- A. Snit van makrokonidium toon plasmalemma (  ), ribosome (  ), driehoekige opening by septumbuitepunt (  ), twee afsonderlike septumlae (  ) en buite- en binnesone van die binnewandlaag wat eenders vertoon (  ) (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X30,000).
- B. Snit van makrokonidium toon die plasmalemma (  ) (KMnO<sub>4</sub> fiksering; X20,000).

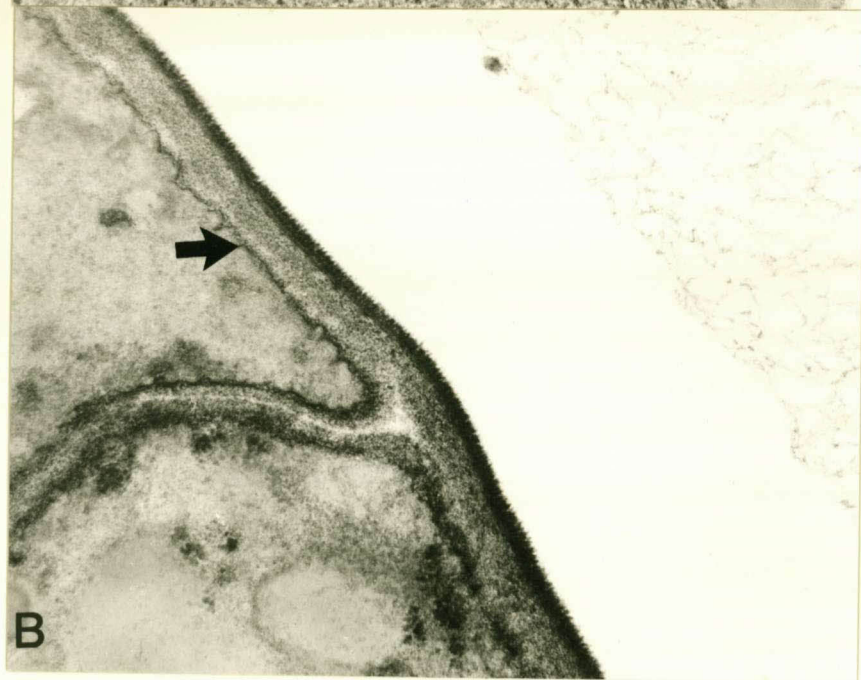
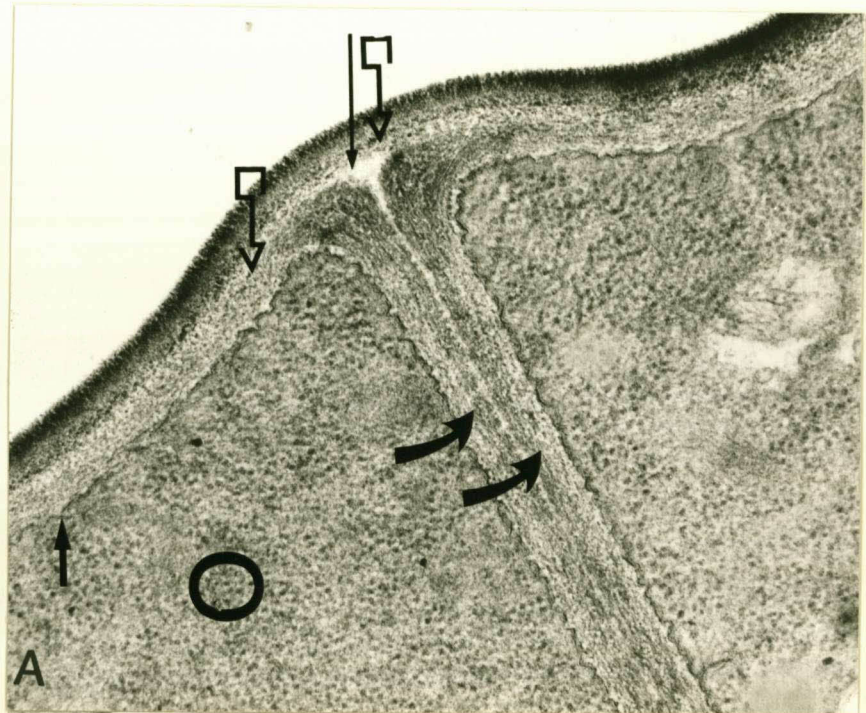







Fig.2.12 T E M van F.crookwellense

- A. Snit van chlamydospoor toon onegalige wandoppervlak (  ), lipiedinsluitel (  ) en homogene wand (  ) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X7,000).
- B. Snit van chlamydospoor toon instulpings van plasmalemma as gevolg van selwand neerlegging (  ) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X7,000).
- C. Snit van chlamydospoor toon instulpings van plasmalemma as gevolg van selwand neerlegging (  ) (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X20,000).

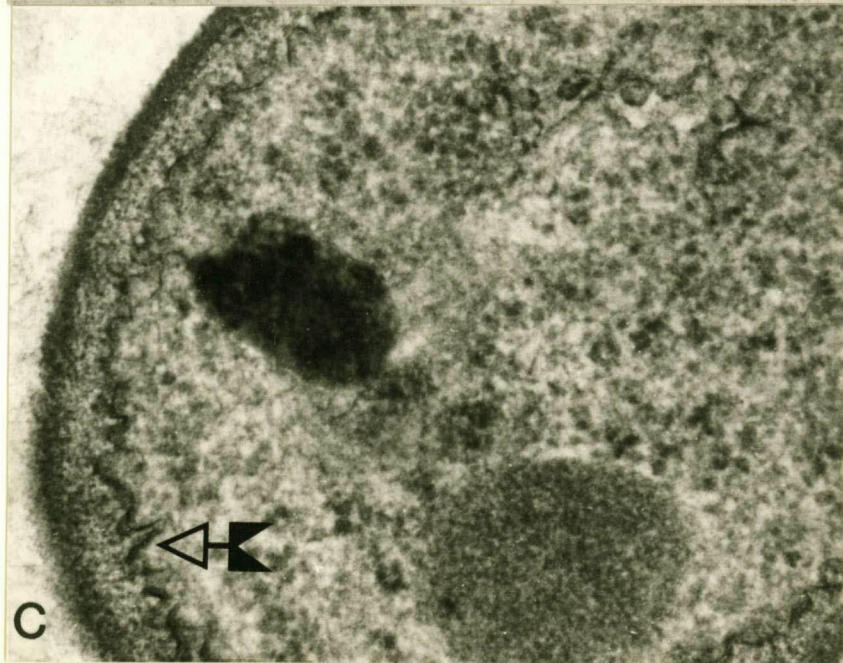
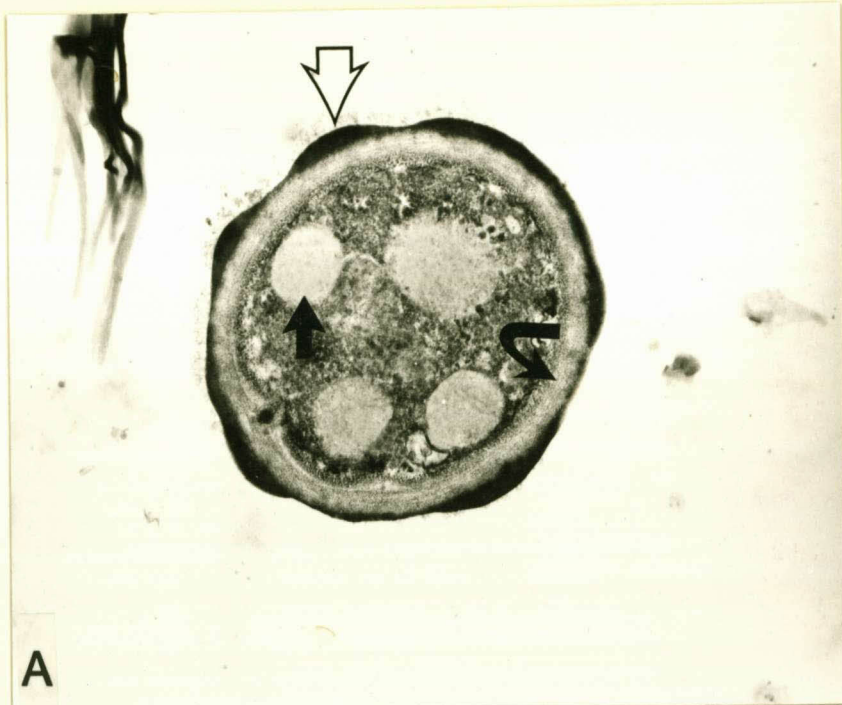


Fig.2.13 T E M van F.crookwellense










- A. Snit van chlamydospoor toon ribosome (  ),  
disintegrasie van buitewandlaag (  ),  
binneste ligter gedeelte van die binnewandlaag—  
en buitenste elektrondigte sone van binnewandlaag  
(  ) (GA-0s0<sub>4</sub> fiksering X20,000).



Fig.2.14 T E M van F. crookwellense

- A. Snit van chlamydospoor toon afskilfering van die buitewand (  ), verskil in elektrondeurlatendheid van die sones van binnewand (  ) en mitochondrion (  ) (KMnO<sub>4</sub> fiksering; X30,000).
- B. Snit van chlamydospoor toon afskilfering van die buitewand (  ), "abnormale" vorm van mitochondrion (  ) en ER (  ) (KMnO<sub>4</sub> fiksering; X15,000).

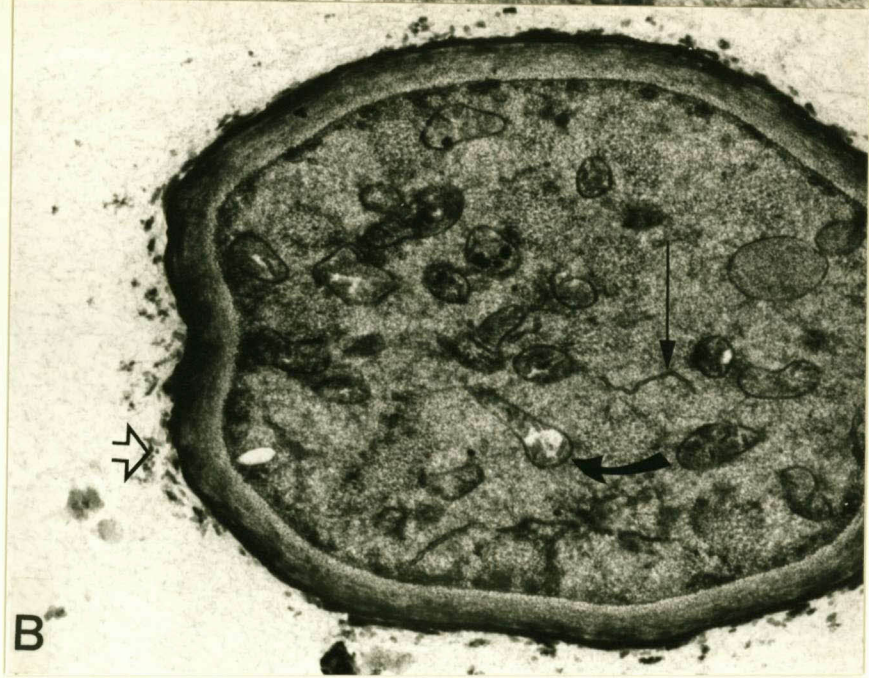
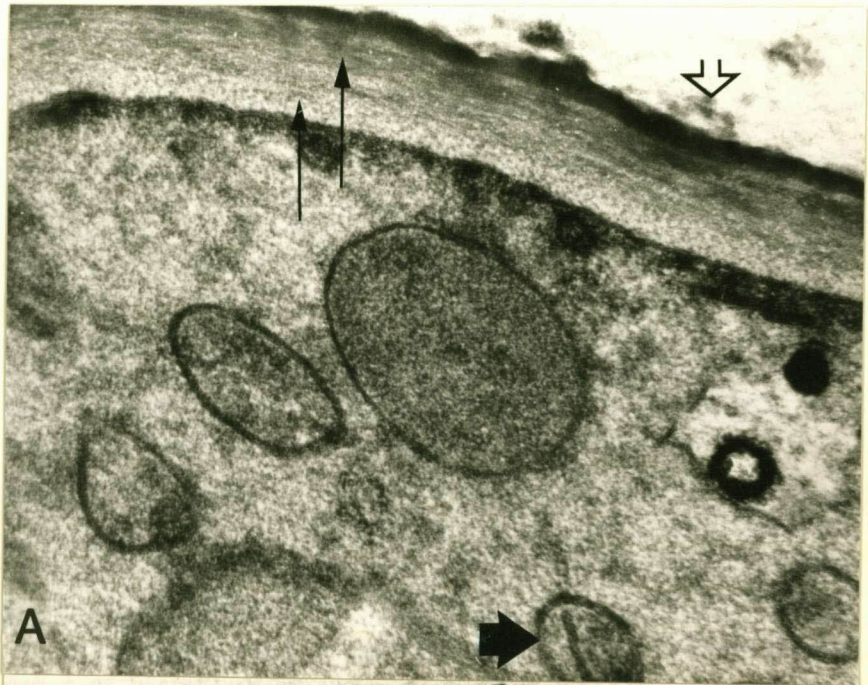


Fig.2.15 Skematiese voorstelling van sitoplasma-insluitels in F.crookwellense

- A. 1. Woronin-liggaam, 2. lomasoom, 3. septale porie, 4. nukleolus, 5. nukleoplasma, 6. mitochondrion. 7. granule, 8. vakuool, 9. miëlien-figuur, 10. lipieddruppel, 11. ribosome, 12. ER, 13. kernmembraan met porieë, 14. blokkasie van spetale porie.

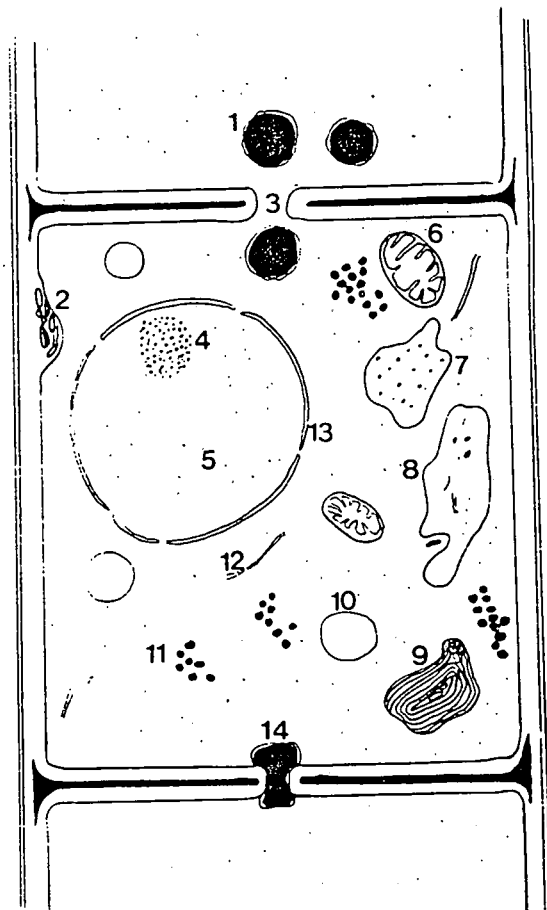










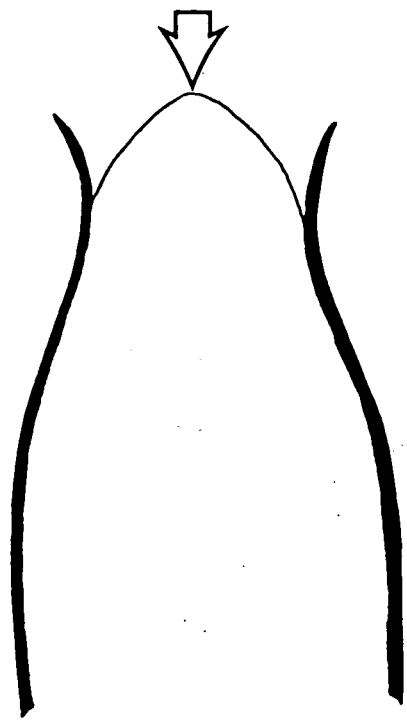
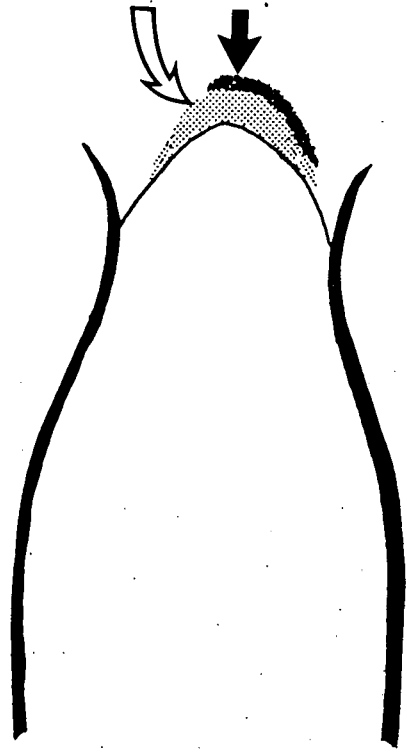


Fig.2.16 Skematiese voorstelling van die ontwikkeling van die makrokonidiumwandstruktuur by F. crookwellense

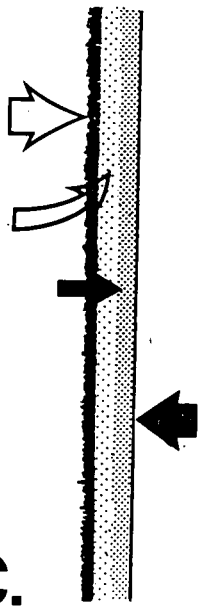
- A. Uitstulping van plasmalemma by ontwikkeling van nuwe konidium uit konidiofoor (  ).
- B. Neerlegging van primêre wandmateriaal (  binnewandlaag) na die buitekant van die plasmalemma en ontstaan van buite fibrillêre laag (  ).
- C. Elektrondigte buitewandlaag (  ), donker buitesone van binnewandlaag (  ) as gevolg van proteïen en lipied impregnering, ligte buitesone van binnewandlaag (  ) en plasmalemma (  ).
- D. Septum bestaande uit twee lae (  ), driehoekige opening by septumbuitepunt (  ) en verdikking by septumpunt (  ).



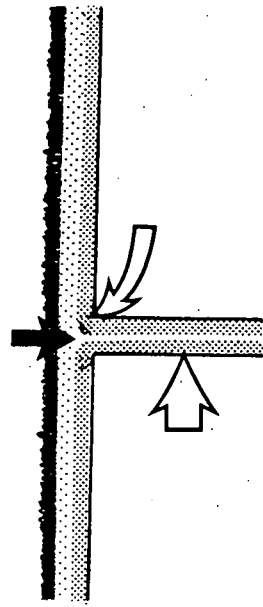
A.



B.



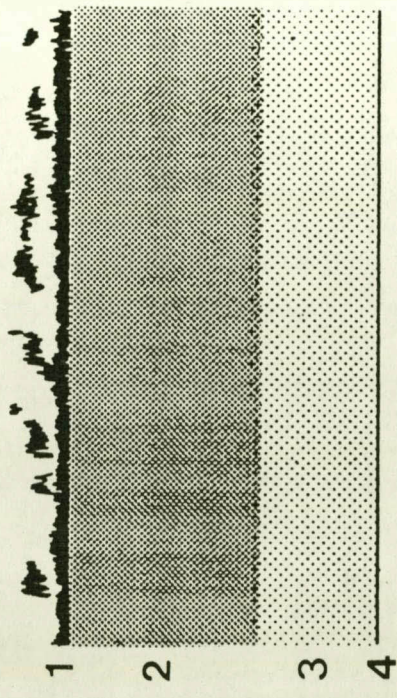
C.



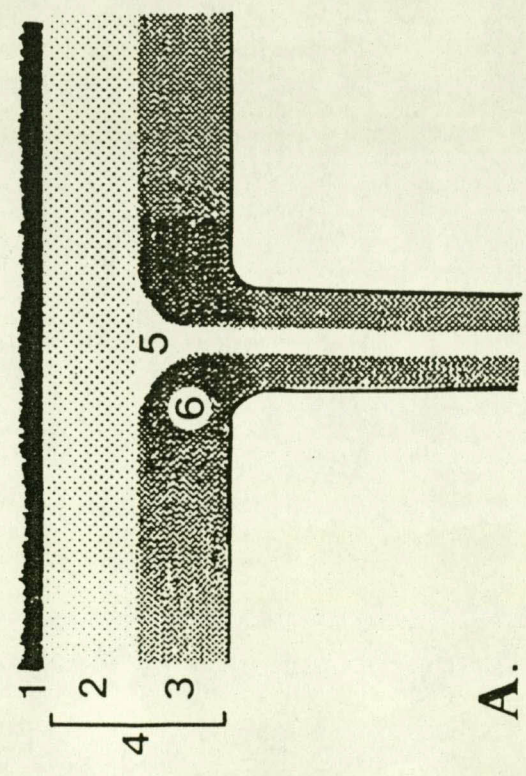
D.

Fig. 2.17 Skematiese voorstelling van die vergelyking tussen die wandstruktuur van die hife (konidium) en chlamydospoor van F.crookwellense

- A. Hife(konidium)wand: elektrondigte fibrillêre buitewandlaag (1), binnewandlaag (4), buiteseone van binnewandlaag (2), binnesone van binnewandlaag (3), driehoekige opening by septumpunt (5), verdikking by septumpunt (6).
- B. Chlamydospoorwand: disintegrerende elektrondigte buitewandlaag (1), oorspronklike (primêre) hife(konidium)wand (2), nuwe sekondêre wandmateriaal (3) en plasmalemma (4)



B.



A.

### 3. KONIDIOGENESE IN FUSARIUM CROOKWELLEENSE

Die wyse waarop konidiogene selle en konidia gevorm word, word nou algemeen deur mikoloë aanvaar as 'n basis vir die klassifikasie van die Deuteromisetete. Alhoewel hierdie eienskappe vroeg reeds na waarde geskat is (Vuillemin, 1910, 1911; Mason, 1933, 1937), het dit eers beslag gekry met die monumentale werk van Hughes (1953). Die hifomisetete is in agt seksies ingedeel op grond van die tipe konidiogene sel asook die wyse waarop konidia gevorm word. Hierdie stelsel, asook verdere navorsing van ander wetenskaplikes, het finaal weggedoen met die klassieke benadering van Saccardo (1886) waar vorm, septasie en pigmentasie van konidia as primêre kriteria vir die klassifikasie van hierdie groep fungi gebruik is.

Sedert Hughes (1953) se klassifikasie, is variasies op hierdie tema voorgestel en nuwe sienings oor sekere aspekte is geformuleer (Kendrick, 1971; Ellis, 1971; 1976; Cook 1974; Cole & Samson, 1979; Sutton, 1980). Uit hierdie nuwe benadering het 'n nuwe terminologie ontwikkel wat na verskeie kritiese evaluasies (Kendrick, 1971; Subramanian, 1972; Cole & Samson, 1979) steeds nie konsekwent gegeld het nie. Die eerste Kananaskis konferensie (Kendrick, 1971) het sommige van hierdie probleme uitgewys.

In opvolging hiervan het Minter, Kick & Sutton (1982; 1983) daarop gewys dat meer duidelikheid verkry kan word aangaande die proses van konidiogenese as daar na verskillende fases binne hierdie proses gekyk word. Die proses van konidiogenese is byvoorbeeld in vier fases naamlik proliferasie, wandbou, afgrensing en vrystelling opgedeel. 'n Vyfde fase, regenerasie, is verder geïnkorporeer om die proses waartydens 'n konidiogenesiel, waar konidiumproduksie gestaak het, 'n nuwe konidiogenesiel vorm wat konidiumproduksie hervat, in te sluit.

In die lig van hierdie nuwe terminologie is die proses van konidiumproduksie by Fusarium crookwellense Burgess, Nelson & Tous-

sou n. ondersoek en is dit vergelyk met die huidige beskikbare kennis aangaande hierdie onderwerp.

## Materiaal en Metodes

### Transmissie-elektronmikroskopie:

Fusarium crookwellense (MRC 3852) wat uit nekrotiese koringkrone geïsoleer is, is vir die ondersoek gebruik. Wateragarplate met angelierblare (Fisher et al., 1982) is met 'n konidiumsuspensie geïnokuleer en geïnkubeer by 25°C onder 'n kombinasie van wit fluoresserende en kortgolf ultraviolet lig (12h fotoperiode). Kolonies is na 48 uur, met 5 uur intervalle, ondersoek vir die voorkoms van sporodokia op die kante van die angelierblaarstukkes. Blaarstukkes (2 x 2mm) met sporodokia is verwyder en fikseer in 3% glutaardialdehid (GA) in 0,1M fosfaatbuffer (pH 7.00) vir 24 uur by 4°C. Die materiaal is vervolgens hanteer soos beskryf in Hoofstuk 2.

### Skandeerelektronmikroskopie:

'n Dubbel fikseringstegniek is gebruik (Sabatini et al., 1963). Die agarblokkies is in 1,5% (GA) in 0,01M fosfaatbuffer (pH 7,0) vir 15 min. by kamertemperatuur fikseer. Na die glutaardialdehidfiksering is die agarblokkies met 0,01M fosfaatbuffer gespoel. Vervolgens is die agarblokkies vir twee ure in 2% osmium-tetroksied ( $OsO_4$ ) by kamertemperatuur fikseer en daarna weer gespoel in fosfaatbuffer. Die agarblokkies is hierna in die volgende asetoonserie gedehidreer:

- 40% asetoon vir 10 min.
- 60% asetoon vir 10 min.
- 90% asetoon vir 10 min.
- 100% asetoon vir 15 min.
- 100% asetoon vir 15 min.

Na dehidrering is die agarblokkies gedroog in die Polaron E3000 kritiese-punt-droër waar vloeibare CO<sub>2</sub> vir die droogproses gebruik is. Nadat die agarblokkies gedroog en op die voorwerphouers geplak is met 'n epoksi-kleefmiddel, is dit deur middel van 'n Polaron E5000 verstuiwingsapparaat ("Sputter Coater") met goud-paladium bedek. Die voorwerpe is hierna met behulp van die ISI 100 SEM by 'n hoogspanning van 5kV ondersoek.

## Resultate en Bespreking

Tydens hierdie ondersoek is twee wyses waarvolgens die eerste konidium geproduseer kan word, waargeneem. In die eerste geval is 'n septum in die konidiogenseel, weg van die apeks af, neergelê (Fig 3.1A & 3.16A). Hierdie gedeelte van die konidium het waarskynlik deur middel van verspreide wandbou ("diffuse wall-building", Minter, Kirk & Sutton, 1983) ontwikkel. Breuke in die buite sellae ontstaan net bokant die posisie waar die septum neergelê is (Fig 3.1A). Op hierdie stadium is die aanhegting van die jong ontwikkelende konidium nie baie stewig nie en kan dit met versteuring vrygestel word om 'n abnormale konidium te gee (Fig 3.1B & 3.16C). Verdere ontwikkeling van onversteurde konidia vind plaas deur apikale wandbou (Fig 3.16D). As gevolg van die verdere ontwikkeling van die konidium skei die buitelaë van die ou konidiogene sel op die posisie van die breuk en dit gee oorsprong aan die 'n kollaret. Voordat apikale wandbou egter plaasgevind het, is geen kollaret waarneembaar nie (Fig 3.2).

'n Tweede tipe van ontwikkeling is in die vroeë stadium van ontwikkeling van die eerste konidium waargeneem. In dié geval is geen afsnydingseptum in die konidiogene sel neergelê nie (Fig 3.3A & B; 3.17A & B). Konidiumontwikkeling is in hierdie geval voorafgegaan deur disintegrasie van die apikale wandarea van die konidiogene sel (Fig 3.4A & B). Ook in hierdie geval het 'n kollaret ontstaan (Fig 3.3A & B), maar die morfologie van hierdie kollaret (Fig 3.5B) verskil van dié wat volgens die vorige proses (Fig. 3.5A) ontstaan het. Dié verskille kan ook in die skandeerelektronmikroskoop foto's hiervan waargeneem word (Fig 3.6A & B). Beide tipes van ontwikkeling van die eerste konidium sal/kan tot gevolg hê dat selwandoorblyfsels op die ontwikkelende konidiumapeks aanwesig is. Die hoeveelheid materiaal wat betrokke is kan egter verskil (Fig 3.7A, B & C).

Alhoewel die eerste fase van ontwikkeling van die eerste konidium drasties verskil by die twee tipes wat aangemeld is, vind vergro-

ting en verdere groei van die eerste konidium in beide gevalle deur middel van apikale wandbou plaas. Verhoogde wandbou aktiwiteit is dan ook hoofsaaklik in die apikale sone van die jong konidia waargeneem (Fig 3.8A) en eers met volgroeiing van die konidium is aktiwiteit na die basis van die nuwe konidium verplaas (Fig 3.8B).

Twee tipes van konidiumproduksie is in die literatuur aangemeld. 'n Geheel thalliese (Fig. 3.18) wyse van ontwikkeling van die eerste konidium, waar dit geheel binne die bestaande konidiogensele wand ontwikkel het, is gevind by makrokonidia van F. decemcellulare Brick (Subramanian, 1971) en F. culmorum (W.G. Smith) Sacc. (Marchant, 1975). Hierdie afleidings is gemaak vanaf resultate verkry deur middel van ligmikroskopiese studies (in die eerste geval) en transmissie-elektronmikroskopiese studies in laasgenoemde geval. Hierdie wyse van konidium ontwikkeling van die eerste konidium is verder gesteun deur resultate verkry deur immuno-fluoresensie studies op F. oxysporum Schlecht f.sp. cubense (E.F. Smith) Snyder (Goos & Summers, 1964). Aangesien beweer is dat die hoë mate van fluoresensie op die apeks van die eerste konidium op agtergeblewe selwandresidue dui, is die ontwikkeling as soortgelyk aan dié soos gerapporteer by F. decemcellulare en F. culmorum beskou.

In teenstelling hiermee is 'n geheel enteroblastiese (Fig 3.17) wyse van ontwikkeling waargeneem in die produksie van die eerste konidium in F. sulphureum Schlecht (Schneider & Seaman, 1982). Hierdie waarnemings is op resultate gebaseer wat met behulp van transmissie-elektronmikroskopiese ondersoeke verkry is.

Een van die wyses wat in die huidige ondersoek vir die produksie van die eerste konidium waargeneem is, is soortgelyk aan dié wat vir F. sulphureum aangemeld is (Fig 3.17, Schneider & Seaman, 1982). Die ander wyse verteenwoordig 'n intermediêre tipe tussen die geheel thalliese en geheel enteroblastiese. Dit wil dus voorkom asof die eerste konidium in Fusarium spp. op een van drie wyses kan ontwikkel, naamlik geheel thallies, gedeeltelik thal-

lies-gedeeltelik enteroblasties en geheel enteroblasties. Hierdie variasie in ontwikkelingswyse kan moontlik toegeskryf word aan 'n verandering in toestande waaronder die organisme gekweek is.

Ongeag die wyse waarop die eerste konidium geproduseer word, is die produksie van die tweede en daaropvolgende konidia blykbaar dieselfde (Fig 3.8 & 3.9) in al die gevalle wat gerapporteer is. Na vrystelling van die eerste konidium prolifereer die konidiogene lokus enteroblasties, alhoewel baie min, tot 'n vlak effens hoër as dié waar produksie van die vorige konidium begin het. Na die proliferasie is beide die binne en buite wand van die proliferasie betrokke in die vorming van die konidium - dus holoblasties. Aangesien proliferasie nie as 'n faset van konidiumproduksie erken is nie, word daar in die literatuur verwys na 'n enteroblastiese wyse van konidium produksie vir hierdie tipe van ontwikkeling. Proliferasie is dus enteroblasties, maar ontogenie is holoblasties.

Wandbou aktiwiteit wat die proliferasie opvolg, is hoofsaaklik in die apikale gebied van die jong konidium gelokaliseer (Fig 3.8A). Beperkte wandbou aktiwiteit is egter ook in die konidium sywand areas waarneembaar (Fig 3.8A). Eers na spoorafgrensing blyk dit dat die aktiwiteit na die gebied van proliferasie, aan die basis van die jong konidium verskuif het (Fig 3.8B).

Apikale wandbou duur voort totdat die volle lengte van die konidium bereik is (Fig 3.9A & B). Tesame met die verskyning van wandbou aktiwiteit net bokant die proliferasie gebied (Fig 3.8B, 3.10A & B), is ook die eerste tekens van konidiumafgrensing waarneembaar (Fig 3.10A). As gevolg hiervan blyk dit dat 'n binnewand van die pasgevormde konidium gevorm is (Fig 3.7B). Die buitewand word nou gevorm na die binnekant van die konidiogene sel (Fig 3.11A) en is die enigste punt van kontak dié met die nuutgeïnisieerde konidium (Fig 3.11B & 3.12A). Hierdie vashegtingsarea kan by die volwasse konidium waargeneem word (Fig 3.12B). Die vier fases van konidiumproduksie, naamlik proliferasie, wandbou, afgrensing en vrystelling, word dan weer herhaal in

die produksie van die volgende konidium.

Herhaalde proliferasie wat die produksie van elke konidium voorafgaan lei tot 'n verdikking in die nek van die konidiogene sel (Fig 3.13A) en staan bekend as die perikliniese verdikking. Die selwand oriëntasie tydens hierdie proliferasie word in Fig. 3.13B geïllustreer.

Konidiogene selle kan later regeneereer en prolifereer om oorsprong te gee aan 'n nuwe konidiogene sel met 'n konidiogene lokus op 'n vlak hoër as dié waar spoorvorming aanvanklik plaasgevind het (Fig 3.14). In sulke gevalle is die perikliniese verdikking baie uitgebreid en is 'n septum neergelê in die nek van die ou konidiogene sel (Fig 3.15A & B).

Konidiogenese in Fusarium spp. soos gevind in hierdie ondersoek, asook dié in die literatuur vermeld, kan dus opgesom word soos in die skematiese voorstellings in Fig 3.16, 3.17, 3.18 & 3.19 uitgebeeld.



Twee tipes ontwikkeling waarvolgens die eerste konidium gevorm kan word, is in die huidige ondersoek aangemeld. Dit versoen die teenstrydige resultate wat in die literatuur aangemeld is en dui op 'n kontinuum van ontwikkeling vir die eerste konidium vanaf 'n geheel thalliese tot 'n geheel enteroblastiese. Binne hierdie kontinuum word die oënskynlike teenstrydige aanmeldings duidelik geakkomodeer.

Beide tipes van eerste konidium ontwikkeling wat aangemeld is, lei tot die aanwesigheid van oorblyfsels vanaf die apeks van die konidiogene sel op die apeks van die eerste konidium. Die immunfluoressensie-studies soos deur Goos & Summers (1964) aangemeld, onderskei dus nie noodwendig tussen die tipes van ontwikkeling soos aanvanklik vermoed is nie. Dit dui slegs op die aanwesigheid van apeks reste op die eerste konidium. Alhoewel die hoeveelheid reste mag verskil en soms baie min is, sal dit in

beide gevalle van eerste konidium ontwikkeling steeds 'n positiewe reaksie ten opsigte van fluoressensie toon.

Ten spyte van verskeie pogings tydens die huidige ondersoek kon daar nie in geslaag word om die wyse van produksie van die eerste konidium te manipuleer nie. Daar word egter vermoed dat kwekingstoestande waarskynlik bepaal op watter wyse die eerste konidium geproduseer word. Volgens Marchant (1983) is 'n foutiewe interpretasie van foto's eerder as kwekingstoestande vir die teenstrydighede verantwoordelik. Foutiewe interpretasie tydens die huidige ondersoek is egter onwaarskynlik en daar word derhalwe volstaan met die afleiding dat variasie kan voorkom en heelwaarskynlik afhang van kwekingstoestande.

Fig. 3.1 T E M van F.crookwellense

- A. Afgrensingsones (  ) van die buitewand na die eerste fase van produksie van die eerste konidium. Die delikate aanhegtingsarea (  ) is ook duidelik sigbaar. (Glutaardialdehyd-osmiumtetraoksied (GA-OsO<sub>4</sub>) fiksering; X20,000).
- B. Versteurde jong, abnormale kónidium wat die eerste (thalliese) fase van ontwikkeling verteenwoordig. (GA-OsO<sub>4</sub>) fiksering; X7,000).

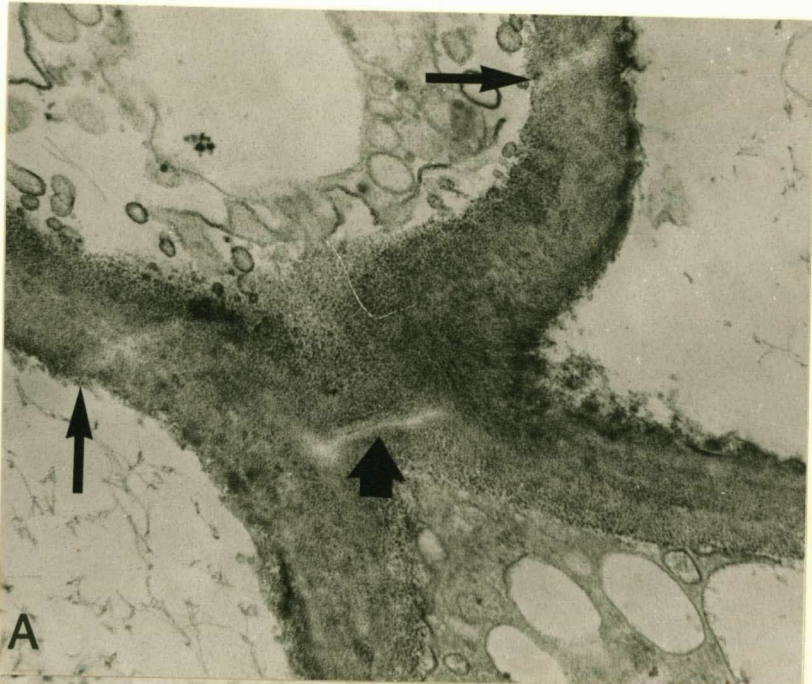


Fig. 3.2 S E M van F.crookwellense

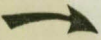

Jong ontwikkelende konidium op 'n konidiofoor waar geen breuk in die buitewand plaasgevind het nie. Geen kollaret is op hierdie stadium waarneembaar nie (  ) (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X3,000).



Fig. 3.3 T E M van F.crookwellense

- A. Snit deur vertakte monofialides met 'n eerste konidium (  ) wat enteroblasties ontwikkel. (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X4,000).
- B. Vergroting van die eerste konidium. (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X18,000).

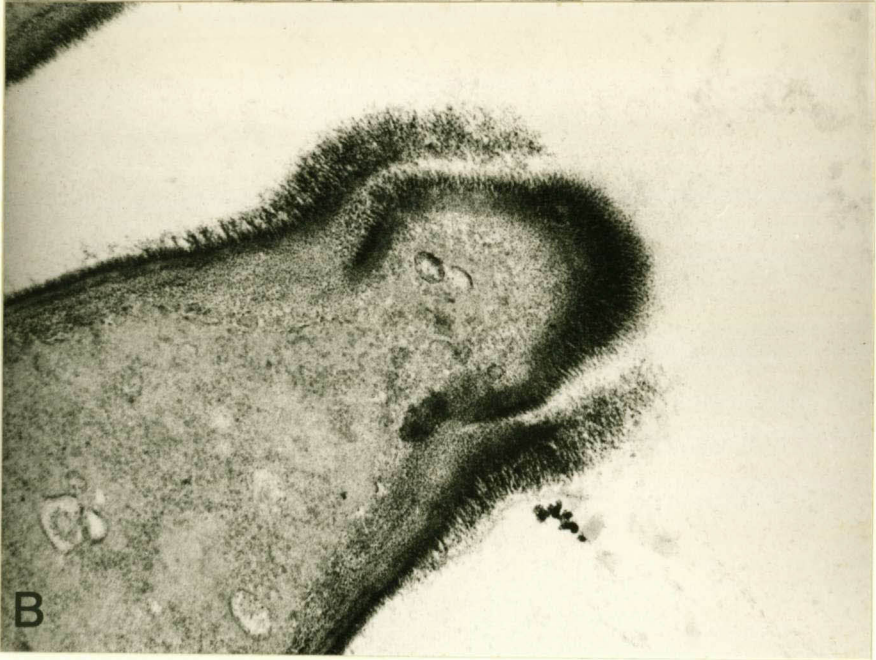




Fig. 3.4 S E M van F.crookwellense

A, B. Disintegrasië van die apikale area ( → )  
van die konidiofoor wat enteroblastiese ontwik-  
keling van die eerste konidium voorafgaan. (GA-  
OsO<sub>4</sub> fiksering; X5,000).



Fig. 3.5 T E M van F.crookwellense

- A. Snit deur die apikale area van die konidiofoor met 'n jong ontwikkelende konidium. Die kollaret het ontstaan as gevolg van afgrensing in die buite-wand. (  ) Sien ook figuur 3.1A. (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X15,000).
- B. Snit deur apikale area van die konidiofoor met 'n jong ontwikkelende konidium. Die kollaret het ontstaan as gevolg van disintegrasie van die apeks van die konidiofoor (  ). (GA-0sO<sub>4</sub> fikse-ring; X15,000).

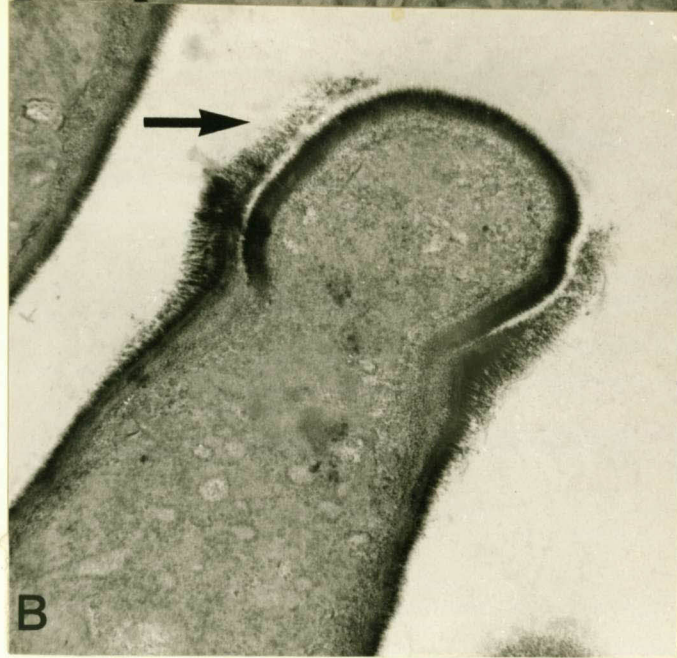


Fig. 3.6 S E M van F.crookwellense



- A. Stewige kollarete (  ) wat vermoedelik deur afgrensing van die konidiofoor buitewand ontstaan het. (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X3,000).
- B. Soepel kollarete (  ) wat vermoedelik as gevolg van disintegrasië van die apeks van die konidiofoor ontstaan het. (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X8,000).



Fig. 3.7 T E M van F.crookwellense

A, B & C Snitte deur jong ontwikkelende eerste konidia. Apeks reste van disintegrasië is aanwesig op die konidiumapeks. (GA-OsO<sub>4</sub> fikseering; X10,000).

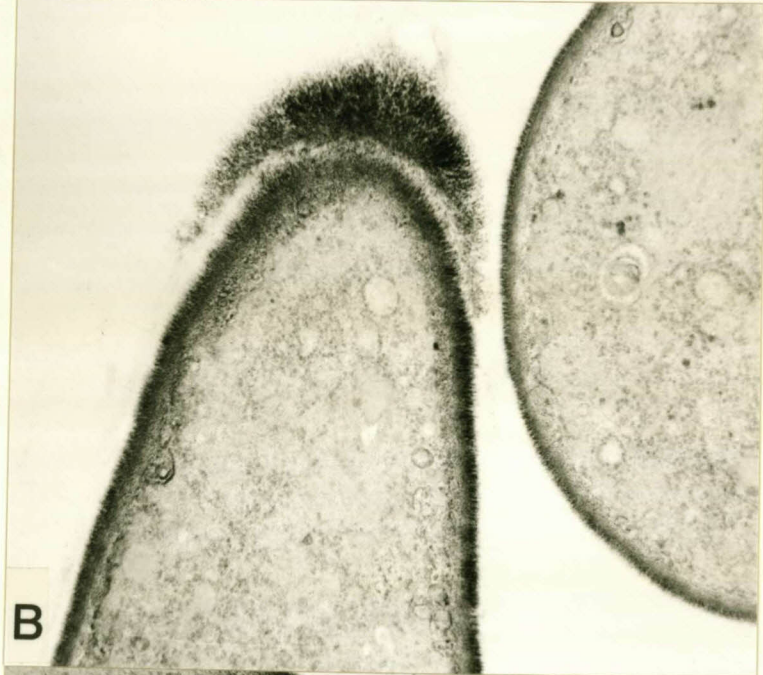





Fig. 3.8 T E M van F.crookwellense

- A. Snit van jong ontwikkelende konidium toon die gekonsentreerde wandbou aktiwiteit in die apikale area (  ) met laer aktiwiteit langs die sywande (  ) (GA-0s0<sub>4</sub> fiksering; X15,000).
- B. Snit deur konidium - konidiofoor apeks area toon verhoogde wandbou aktiwiteit in die basis van die jong konidium (  ). Hierdie aktiwiteit is tesame met die aanvang van afgrensing waarneembaar. (GA-0s0<sub>4</sub> fiksering; X12,000).

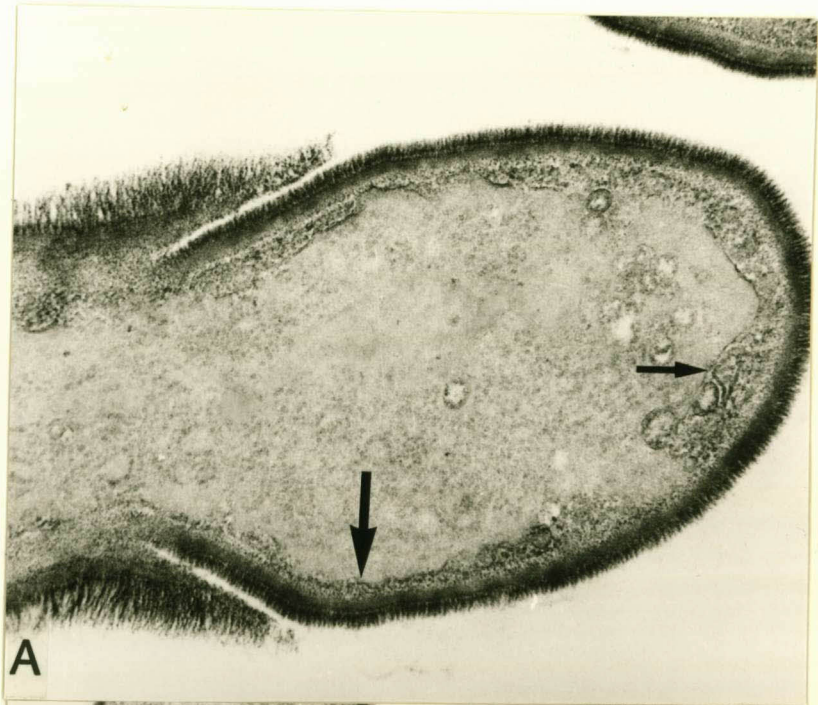


Fig. 3.9 T E M van F.crookwellense

- A. Snit deur 'n jong ontwikkelende konidium toon die afwesigheid van 'n afgrensingsstruktuur (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X12,000).
- B. Snit deur 'n voltooide konidium toon die afwesigheid van 'n afgrensingsstruktuur in 'n laat stadium van ontwikkeling. (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X10,000).

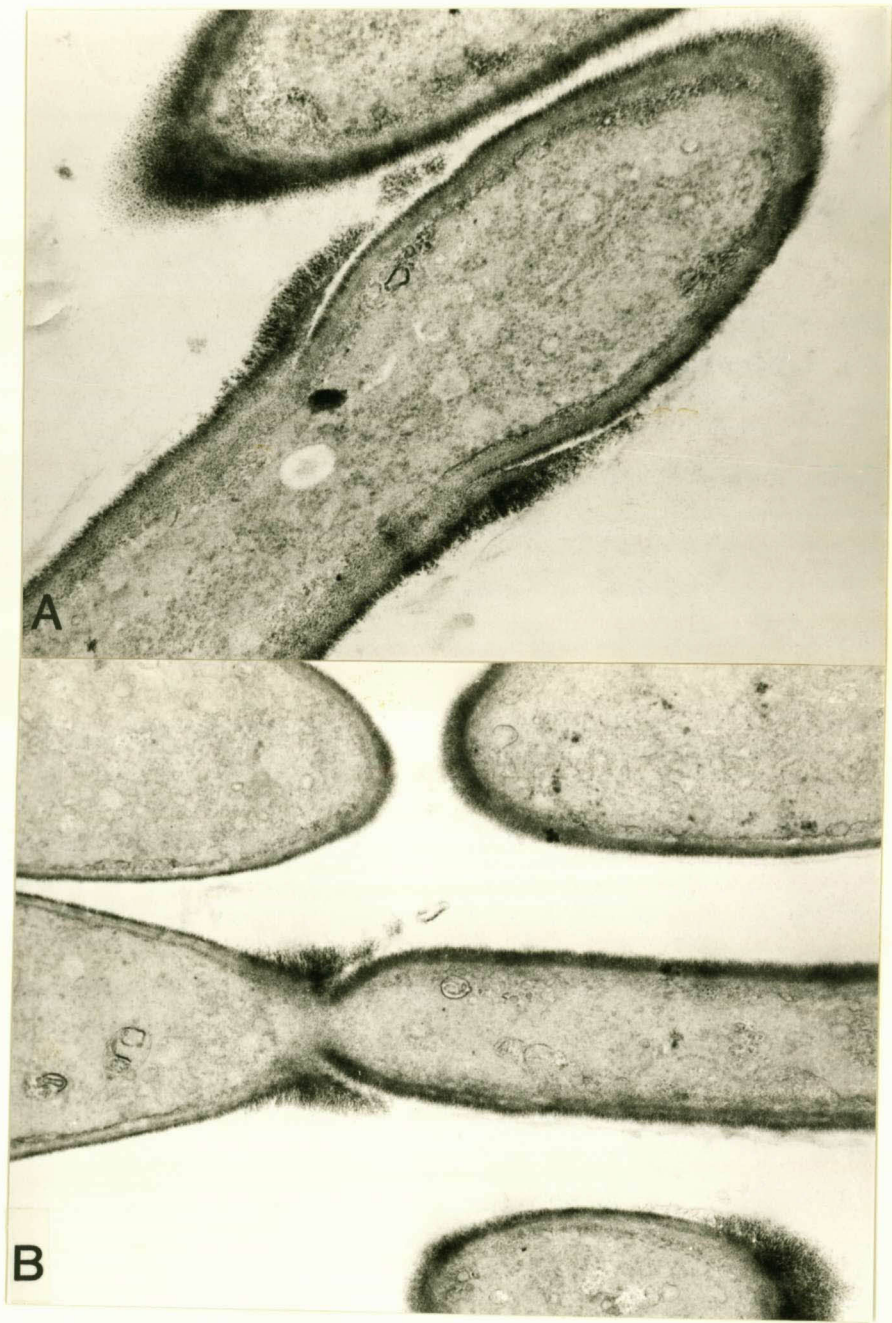


Fig. 3.10 T E M van F.crookwellense

- A. Snit deur die basis van konidium:apeks van die konidiofoor, toon die aanvang in vorming van die afgrensingstruktuur. (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X12,000).
- B. Snit deur die basis van die konidium:apeks van die konidiofoor, toon 'n voortsetting van die vorming van die afgrensingstruktuur. (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X18,000).



Fig. 3.11 T E M van F.crookwellense

- A. Snitdeur die basis van die konidium:apeks van die konidiofoor, toon die voltooide afgrensingstruktuur. (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X15,000).
  
- B. Snitdeur die basis van konidium:apeks van die konidiofoor, toon die jong prolifererende apeks wat die nuwe konidium sal wees. (GA-0sO<sub>4</sub> fiksering; X8,000).

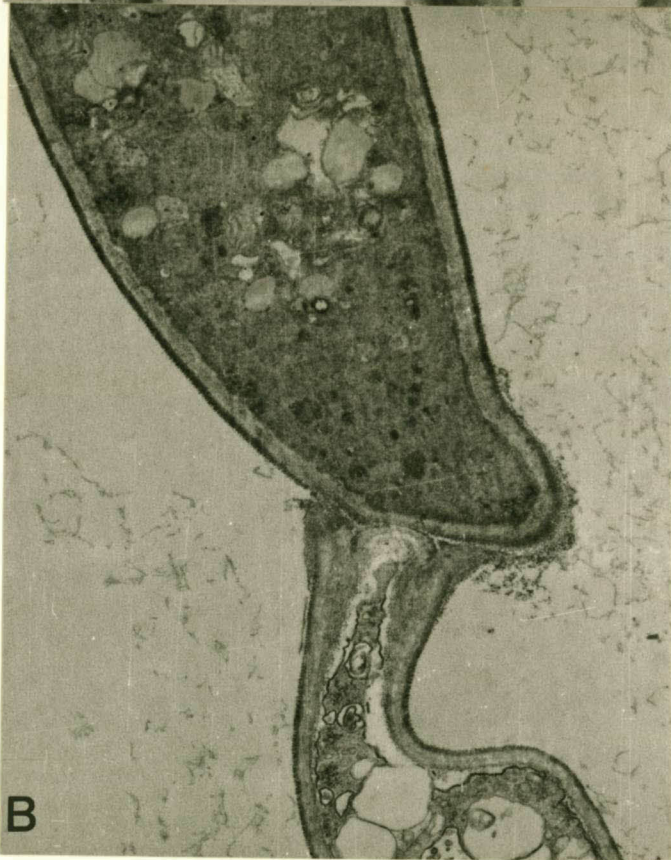
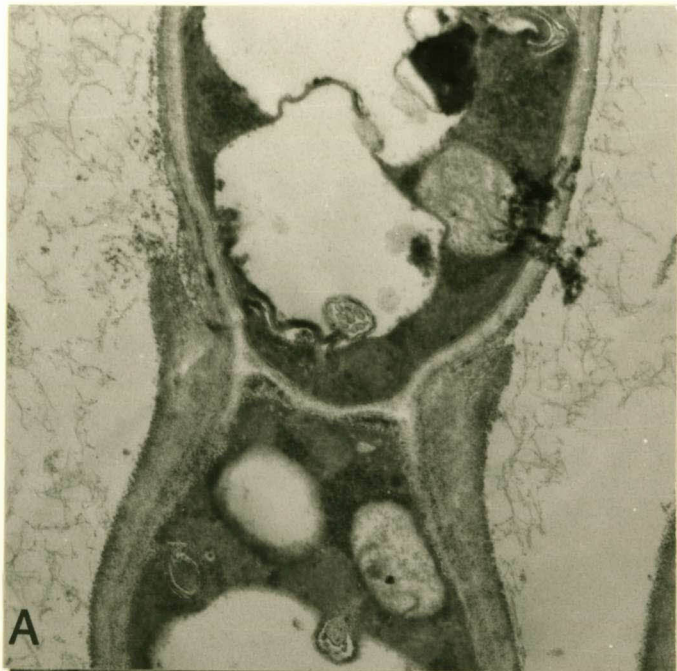




Fig. 3.12 T E M van F.crookwellense

- A. Snit deur die basis van die konidium:apeks vandie konidiofoor, toon die finale aanhegtingsarea van die voltooide konidium (  ) GA-0sO<sub>4</sub> fikse-ring; X15,000).
- B. Snit deur die basis van die konidium toon die ligter area van aanhegting aan die nuwe konidium. (  ) (Ga-0sO<sub>4</sub> fiksering; X4,000).

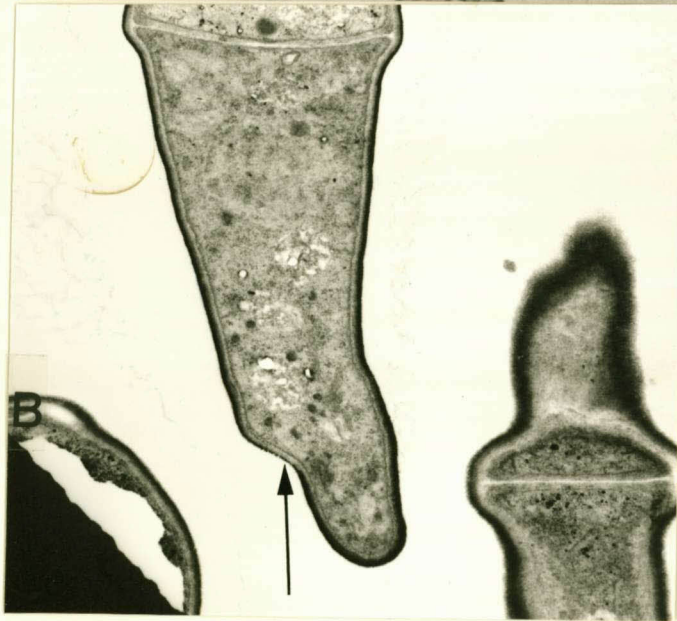
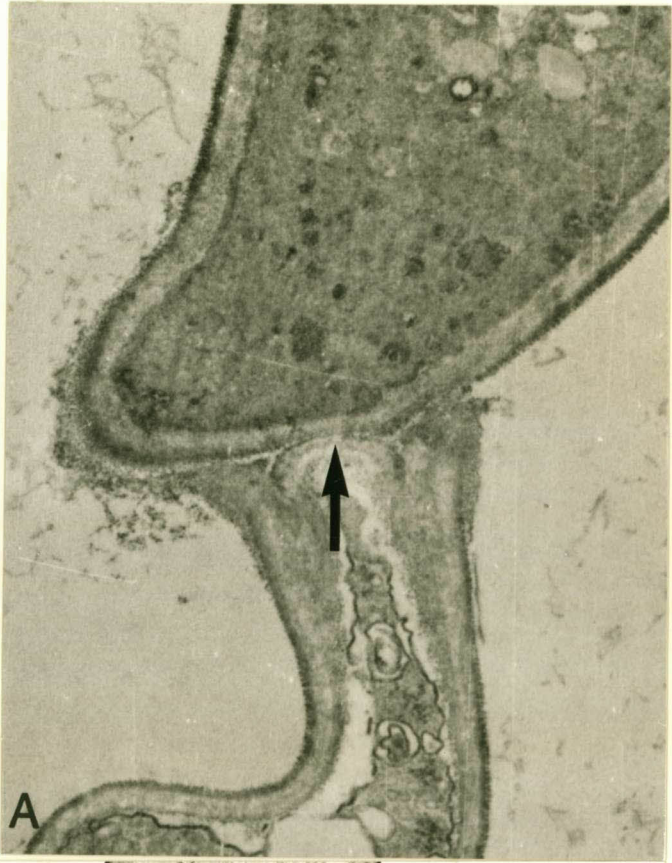


Fig. 3.13 T E M van F.crookwellense

- A. Snit deur die apeks van die konidiofoor toon die voltooide stadium van proliferasie. (GA-0s0<sub>4</sub> fiksering; X15,000).
- B. Snit deur die apeks van die konidiofoor toon die aanvang van proliferasie met 'n plasmalemma aaneenlopend met dié van die konidiofoor. (GA-0s0<sub>4</sub> fiksering; X15,000).

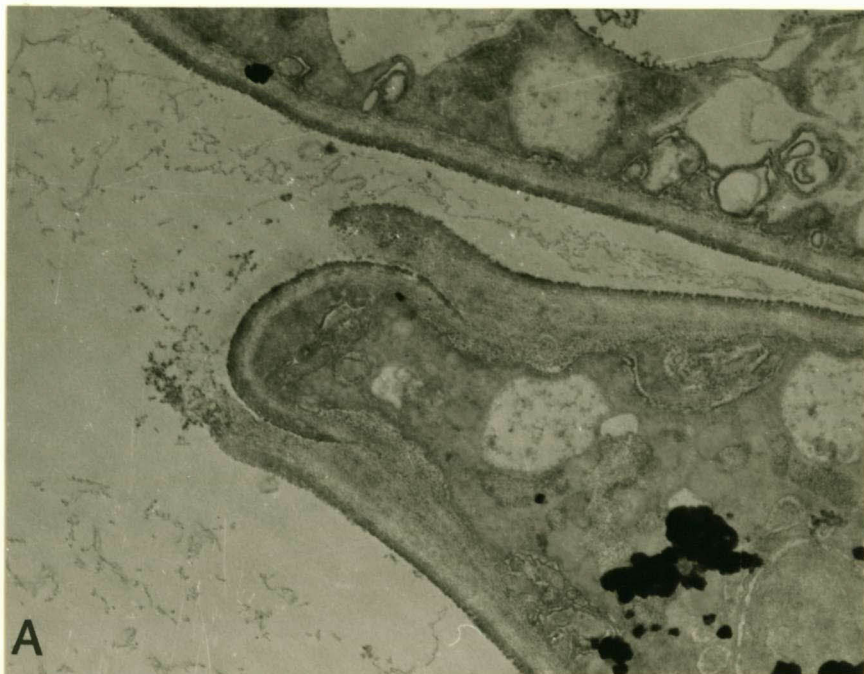


Fig. 3.14 S E M van F.crookwellense

Proliferasie van konidiogeneselle om konidia op 'n hoër vlak vry te stel. (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X2,000).



Fig. 3.15 T E M van F.crookwellense

- A, B. Snit deur konidiofoorapeks toon 'n proliferasie met die vroeë vorming van 'n afgrensingseptum. Perikliniese verdikking is op hierdie stadium baie uitgebreid. (GA-OsO<sub>4</sub> fiksering; X15,000).

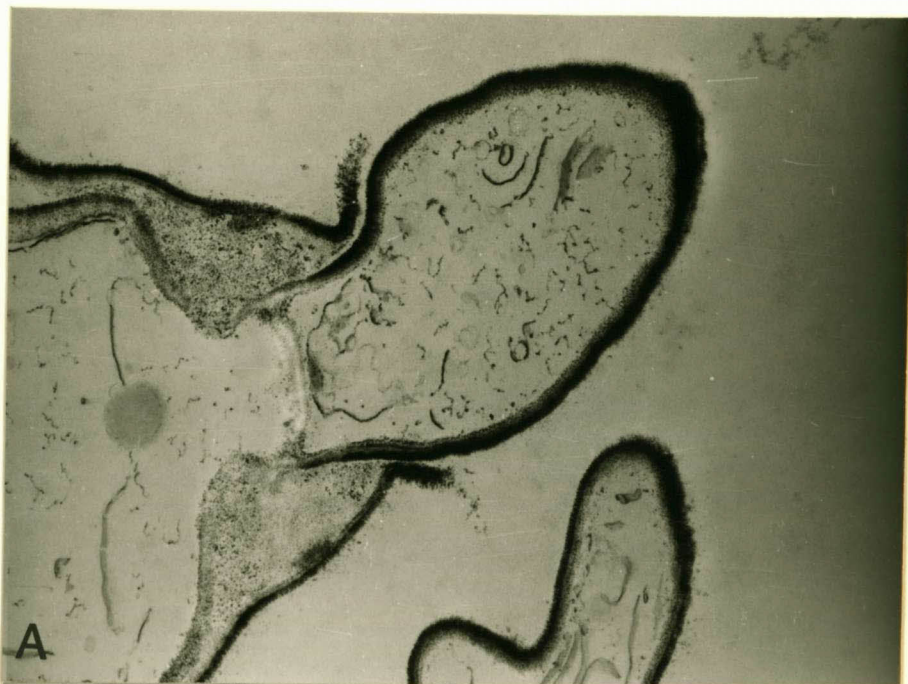


Fig. 3.16 Skematiese voorstelling van konidiogenese soos aange-  
toon in F.crookwellense tydens die huidige ondersoek.

- A. Septum is neergelê weg van die apeks.
- B. Kollaret ontwikkel as gevolg van afgrensing in die buitelaag van die konidiofoorse selwand.
- C. Abnormale konidium kan vrygestel word indien dit versteur word.
- D. Normale produksie van die eerste konidium en ontstaan van die tweede konidium.

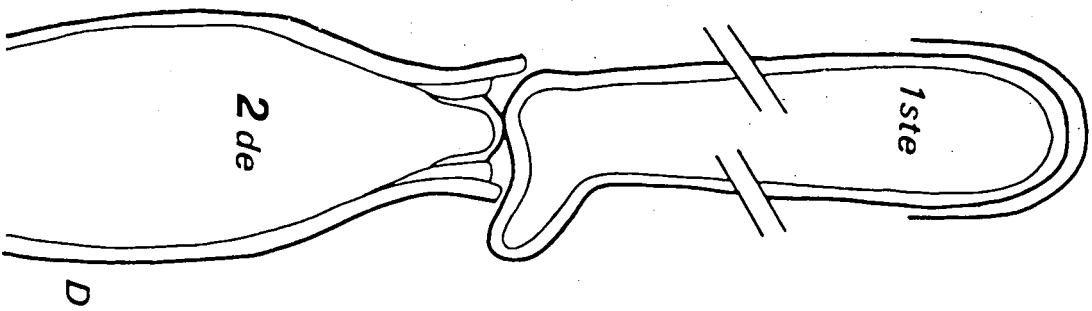
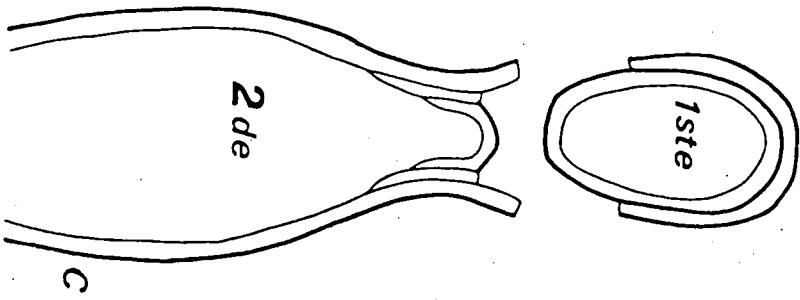
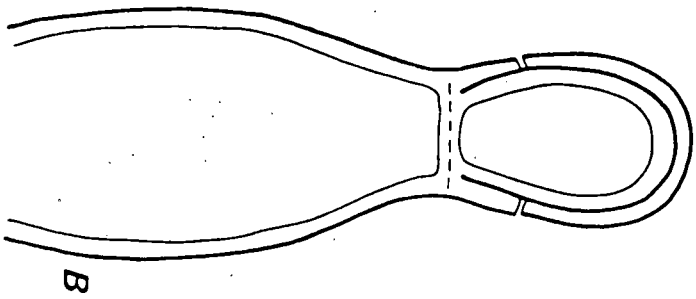
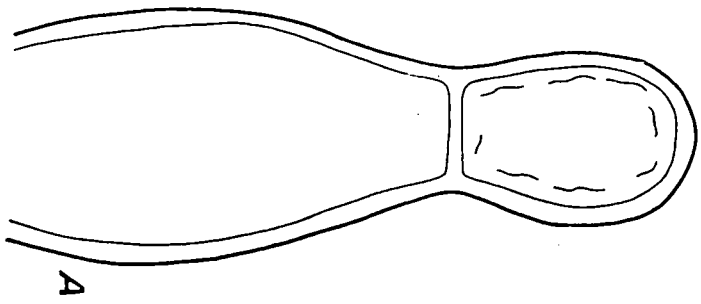


Fig. 3.17 Skematiese voorstelling van die alternatiewe wyse van produksie van die eerste konidium in F.crookwellense soos aangetoon in die huidige ondersoek en ook vir F.sulphureum deur Schneider & Seaman (1982a).

- A. Geen septum word weg van die konidiofoor apeks af neergelê nie.
- B. Disintegrasie van die konidiofoorapeks kom voor.
- C. Kollaret het ook ontstaan, maar as gevolg van 'n ander proses as dié aangetoon in Fig. 3.17 Enteroblastiese ontwikkeling van die eerste konidium.
- D. Finale fase in die produksie van die eerste konidium identies aan dié soos beskryf in Fig. 3.16.

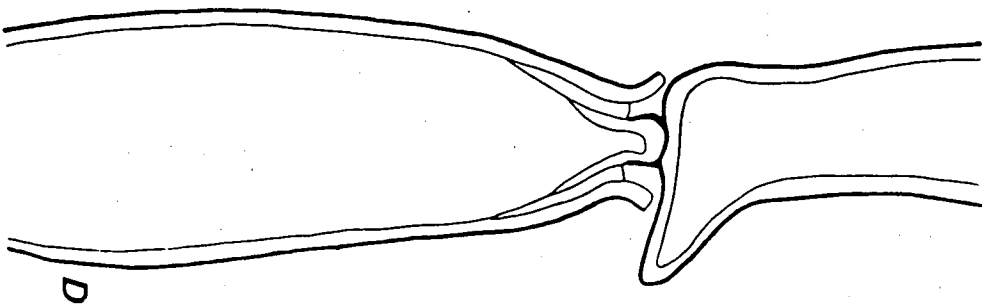
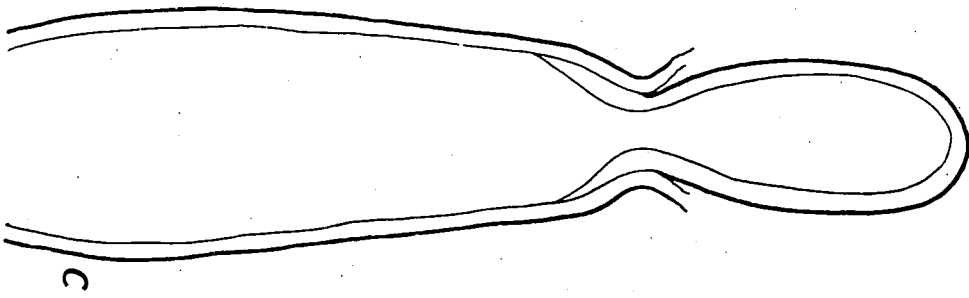
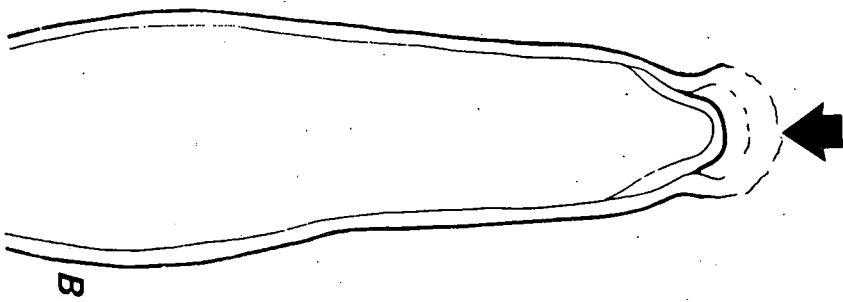
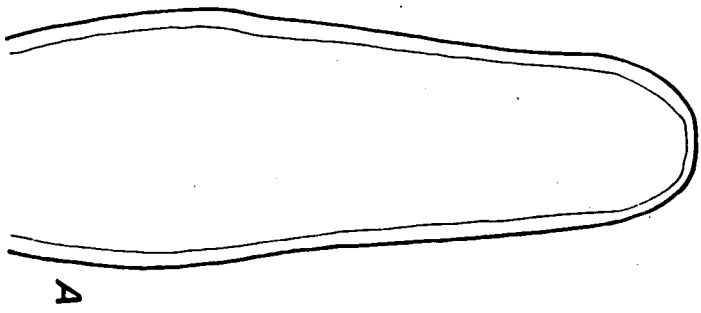


Fig. 3.18 Skematiese voorstelling van die produksie van die eerste konidium in F.culmorum soos aangetoon deur Marchant (1975) en F.decemcellulare, Subramanian (1971).

A. 'n Septum is ver van die konidiofoor apeks af, neergelê.

B. Verspreide wandbou ("Diffuse wall building") gee oorsprong aan die eerste konidium op 'n geheel thaliese wyse.

C & D Alternatiewe wyses waarop die kollaret by F.culmorum en F.decemcellulare gevorm kan word.

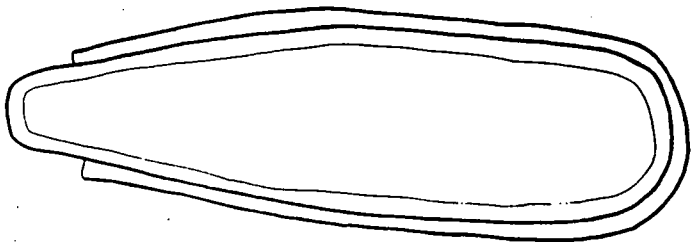
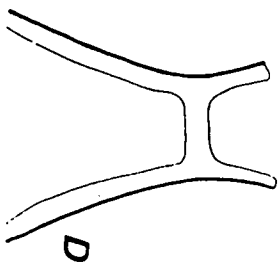
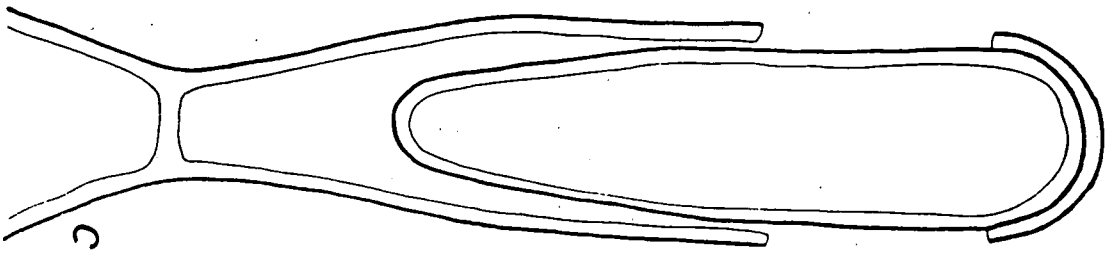
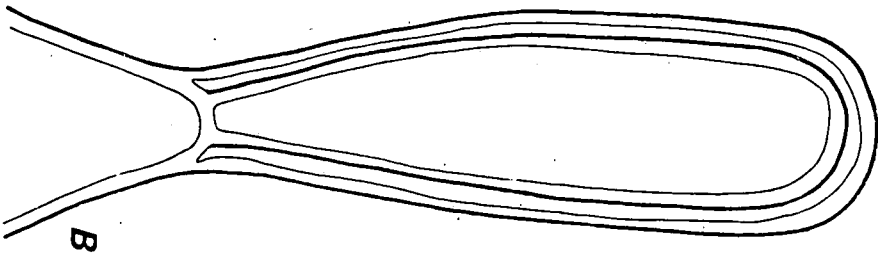
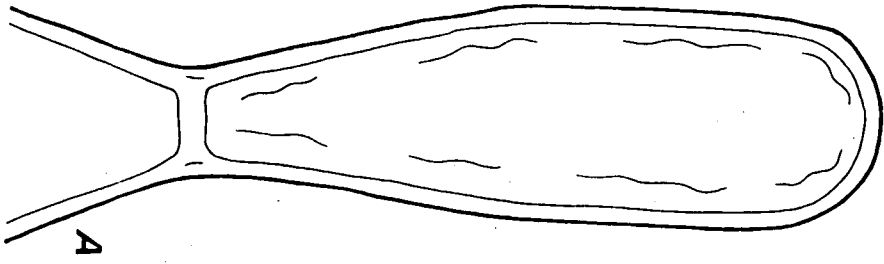
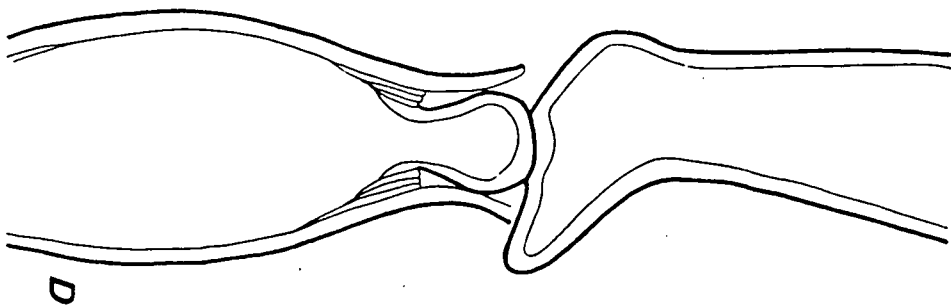
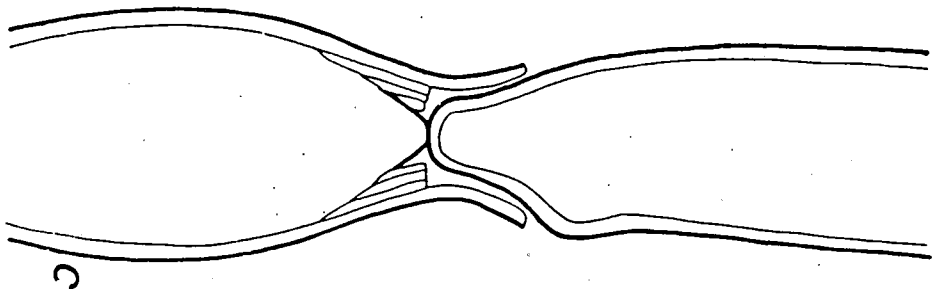
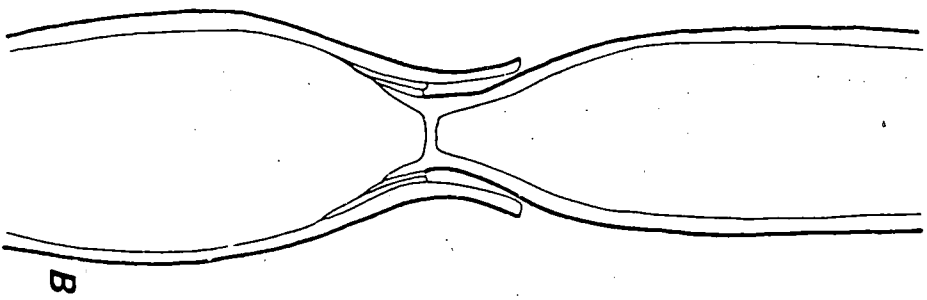
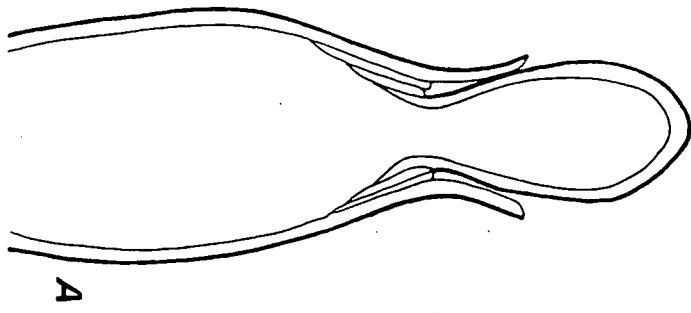


Fig. 3.19 Skematiese voorstelling van die produksie van die derde makrokonidium in F.crookwellense

- A. Na die vrystelling van die tweede konidium is proliferasie opgevolg deur apikale wandbou.
- B. Nadat die konidium ten volle ontwikkel het, word dit afgesnoer.
- C & D. Die konidium skei van die konidiofoor en behou verbinding met die nuutgevormde konidium na proliferasie.



#### 4. KERNVERDELING EN SEPTASIE IN MAKROKONIDIA VAN FUSARIUM CROOKWELLEENSE

Sitologie binne die genus Fusarium het baie aandag geniet (Hirsch, Snyder & Hansen, 1949; Buxton, 1954, 1960; Garcia Acha et al., 1966; Aist & Wilson, 1968; Punithalingham, 1972 & 1975). In hierdie ondersoek is verskeie Fusarium spp. ingesluit, naamlik F.avenaceum (Fr.) Sacc., F.culmorum (W.G. Smith) Sacc., F. decemcellulare Brick, F. equiseti (Corda) Sacc., F.graminearum Schwabe, F.moniliforme Sheldon, F.oxysporum Schlecht, emend. Snyder & Hans. en F.solani (Mart.) Appel & Wollenw. emend. Snyder & Hans.

Die omvang van hierdie ondersoek het aspekte soos die aantal kerne per sel in die hifes, mikro- en makrokonidia en chlamydo-spore asook kerndeling en die aantal chromosome by die onderskeie spesies ingesluit.

Slegs 'n enkele verwysing is na die voorkoms van die kerne en neerlegging van septa in makrokonidia gemaak (Punithalingham, 1975) en hierdie proses is as volg beskryf: "the nucleus within the conidial primordium underwent further repeated divisions and subsequently septa were laid down, separating the linearly arranged nuclei". Die afleiding wat hieruit gemaak is, is dat verdelings van die kern plaasvind, dat kerne liniêr gerangskik word en dat die septa gelyktydig neergelê word.

Dit word ook algemeen aanvaar dat aangesien 'n enkele kern die makrokonidium tydens ontwikkeling binnebeweeg, die genetiese samestelling van die nuwe ontwikkelende kolonie, vanaf 'n enkele makrokonidium, dieselfde sal wees ongeag watter sel van die makrokonidium oorsprong gee aan hierdie nuwe kolonie (W.F.O. Marasas, persoonlike mededeling).

Hierdie ondersoek is uitgevoer om die aanwesigheid van kerne binne die onderskeie strukture van F.crookwellense te ondersoek. Aandag is veral gegee aan die opeenvolging van kernverdelings en

die daaropvolgende neerlegging van septa binne die makrokonidia van hierdie Fursarium sp.

## Materiaal en Metodes

### I. Septumtellings

Tien isolate van F.crookwellense is vir ongeveer 15 dae op water-agarplate met angelierblare (Fisher et al, 1982) by 25°C onder 'n kombinasie van wit fluoresserende en kortgolf ultraviolet lig (12h fotoperiode) geïnkubeer. 'n Spoorsuspensie is vanaf volwasse sporodokia in 'n 1% gelatienoplossing gemaak. Die aantal septa per konidium is met behulp van 'n gekykte voorwerpglasie en ligmikroskoop getel. Septa van driehonderd spore per isolaat is getel en die aantal septa per konidium is in persentasie in tabelvorm weergegee.

### II. Kernkleurings

Isolate van F.crookwellense is vir ongeveer 8 dae op selofaan stroke op wateragarplate by 25°C in die donker geïnkubeer. Die selofaanstroke is van die agarplate verwyder en in 3:1 Etanol-Asynsuur oplossing oornag fikseer. Die stroke is daarna met behulp van Mayers-albumien op voorwerpglasies, vir ongeveer 12 uur gemonteer, waarna die selofaan verwyder is. Die voorwerpglasies, met swammateriaal daarop is lugdroog gemaak en herfikseer in metanol vir 10 min. Die preparaat is hierna vir 5 min. in May-Grünwald-kleurstof en direk daarna vir 10 min. in Giemsa-kleurstof gekleur. 'n 0,066M Sörenson fosfaatbuffer is hierna gebruik om die preparaat herhaaldelik mee te spoel. (Dacie & Lewis, 1970; Hall & Malia, 1984). Preparate is hierna met behulp van 'n ligmikroskoop ondersoek.

## RESULTATE

### Voorkoms van kerne in hifes en chlamydospore

Hifes in F.crookwellense is een-, twee- of meerkernig (Fig. 4.1A). Chlamydospore is meestal eenkernig (Fig 4.1B).

### Septasie in makrokondidia

Konidium ontwikkeling deur middel van apikale wandbou (Hoofstuk 3) duur voort totdat die volle lengte van die jong konidium bereik is (Fig. 4.2A). In die finale stadium het die jong konidium die vorm van die spesifieke spesie asook 'n kenmerkende voetsel (Fig. 4.2B). In hierdie stadium is egter geen septum in die jong konidium aanwesig nie. Die eerste of primêre septum, wat die jong konidium ongeveer halveer, word dan neergelê (Fig. 4.2C). Vervolgens word twee sekondêre septa, wat die apikale- en basisselle afgrens, neergelê (Fig. 4.2D, 4.2E). Hierna word 'n finale stel septa, tersiêre septa, neergelê om 'n makrokonidium met vyf septa en ses selle te gee (Fig. 4.2F).

### Aantal septa per makrokonidium

Die aantal konidia met vier, vyf en meer septa binne tien isolate van F.crookwellense is in Tabel 1 voorgestel. Hieruit blyk dit dat daar normaalweg vyf septa binne die makrokonidia van F. crookwellense gevorm word.

### Kernverdeling in makrokonidia

Jong ontwikkelende konidia is sonder kerne totdat die konidium die finale grootte bereik het (Fig. 4.3A). Op hierdie stadium verdeel die kern in die konidiofoor en een van die dogterkerne beweeg in die nuutgevormde konidium (Fig. 4.3B), waarskynlik kort voordat afgrensing van die konidium plaasvind. Die konidium is nou volledig ontwikkel ten opsigte van die grootte, vorm en

aanwesigheid van die voetsel. Dit het egter slegs een kern en geen septa kom voor nie.

Septumneerlegging kan nou op een van twee wyses plaasvind. Aangesien die meeste makrokonidia een kern per sel en meestal vyf septa het, sal die proses betrokke by "normale" konidia eerste aangemeld word. Die kern binne die konidium begin verdeel (Fig. 4.3C) en nadat die verdeling voltooi is (Fig. 4.3 D & E), word 'n septum neergelê wat die konidium verdeel (Fig. 4.3F), die primêre septum. Gesinchroniseerde verdeling van die kerne in die langsliggende selle vind nou plaas en na hierdie verdeling word septa neergelê (Fig. 4.3I) sodat die apikale- en basisselle afgegrens is en elk een kern bevat, die sekondêre septa. Hierna volg 'n tweede gesinchroniseerde verdeling en septa word neergelê wat beide van hierdie langsliggende selle verdeel, die tersiêre septa. Volgens hierdie proses het die volwasse makrokonidium dus vyf septa en elke sel bevat een kern (Fig. 4.3J).

Alternatiewelik is gevind dat, nadat die kern die konidium binne beweeg het en voordat kernverdeling plaasgevind het, septa neergelê word wat die apikale en basisselle afgrens (Fig. 4.3K).

Twee gesinchroniseerde verdelings van die kern vind nou plaas en met neerlegging van septa ontstaan 'n makrokonidium met vyf septa, maar die apikale en basisselle bevat geen kerne nie. Gesinchroniseerde verdeling van kerne kan ook tot gevolg hê dat een van die twee septa langs die primêre septum nie neergelê word nie en 'n tweekernige sel ontstaan (Fig. 4.3L). 'n Tweekernige sel in Fusarium spp., wat normaalweg vyf septa het, sal dus in 'n makrokonidium met vier septa voorkom en in een van die selle langs die primêre septum geleë wees. Ook in konidia met ses septa (Fig. 4.3L) sal die tweekernige sel langs die primêre septum geleë wees.

Die proses van kerndeling en septumneerlegging is skematies in Fig'e. 4.4 en 4.5 voorgestel. In Fig. 4.4 word die "normale"

proses van kernverdeling, wat oorsprong gee aan 'n sessellige konidium, waarvan elke sel een kern het, voorgestel. In Fig. 4.6 word die proses van kernverdeling, wat oorsprong gee aan kernlose apikale- en basisselle, uitgebeeld. Hier word ook die alternatiewe aangedui van waar tweekernige selle in 'n makrokonidium met vier septa verwag kan word.

### Bespreking

Oor die algemeen het die selle van die makrokonidia van F.crookwellense een kern. Hierdie waarneming is in ooreenstemming met waarnemings op makrokonidia van ander Fusarium spp. (Shaw, 1953; Buxton, 1954; Punithalingham, 1975).

Afwykings in die normale proses van septumneerlegging wat volg op kernverdeling kan lei tot tweekernige selle binne makrokonidia. Soortgelyke tweekernige selle is aangetoon in makrokonidia van F.culmorum (Garcia Acha et al., 1966) en F.oxysporum f.sp.cucumerinum (Akai et al., 1969).

Die neerlegging van septa wat die apikale- en basisselle van makrokonidia afgrens voordat die eerste kern, wat die jong konidium binnebeweeg het, verdeel het, gee oorsprong aan 'n vierkernige makrokonidium. Hierdie proses was waarskynlik verantwoordelik vir die waarnemings wat gemaak is by sommige konidia van F.culmorum (Garcia Acha et al., 1966).

Met die uitsondering van ongepubliseerde resultate (Marasas, 1969) verteenwoordig hierdie hoofstuk die eerste verwysing van die proses van kernverdeling en septumneerlegging in Fusarium makrokonidia. Die bevinding dat konidia homokarioties is, is ook van praktiese waarde aangesien enkel-konidium kulture in die kweking van Fusarium isolate algemene praktyk is. Dié afsonderlike kerne is 'n produk van mitose van 'n enkel kern wat oorspronklik die jong ontwikkelende konidium binne beweeg het.

Tabel I: Aantal konidia van tien isolate van F.crookwellense wat onderskeidelik 3, 4, 5 en 6 septa per konidium het.

Isolaat no.	Aantal konidia (%)*			
	3	4	5	6
216	1,1	23,0	76,6	
212		13,0	78,6	8,3
085	1,3	11,6	81,3	5,3
090		7,6	89,3	2,6
088	0,3	4,0	91,3	4,3
219	0,3	3,6	94,0	2,0
221	0,3	10,3	89,0	0,3
220		8,6	90,3	1,0
134	0,3	8,3	88,3	3,0
084		6,3	91,6	2,0

\* Elke waarde verteenwoordig 'n persentasie van 300 konidia.

Fig. 4.1 Ligmikroskoopfotografie van F.crookwellense (X1,000)

A. Hifes toon een- , twee- en driekernige selle.

B. Eenkernige chlamydospore.



Fig. 4.2 Ligmikroskoopfoto van F.crookwellense (X1,000)

- A. Jong ontwikkelende makrokonidia op fialides.
- B. Jong makrokonidium sonder septa.
- C. Makrokonidium waar die primêre septum begin ontwikkel.
- D. Makrokonidium met die reeds ontwikkelde primêre septum en sekondêre septa begin ontwikkel.
- E. Makrokonidium met primêre en sekondêre septa reeds ontwikkel.
- F. Ontwikkeling van tersiêre septa en konidia met normale vyf septa en "abnormale" vier septa.

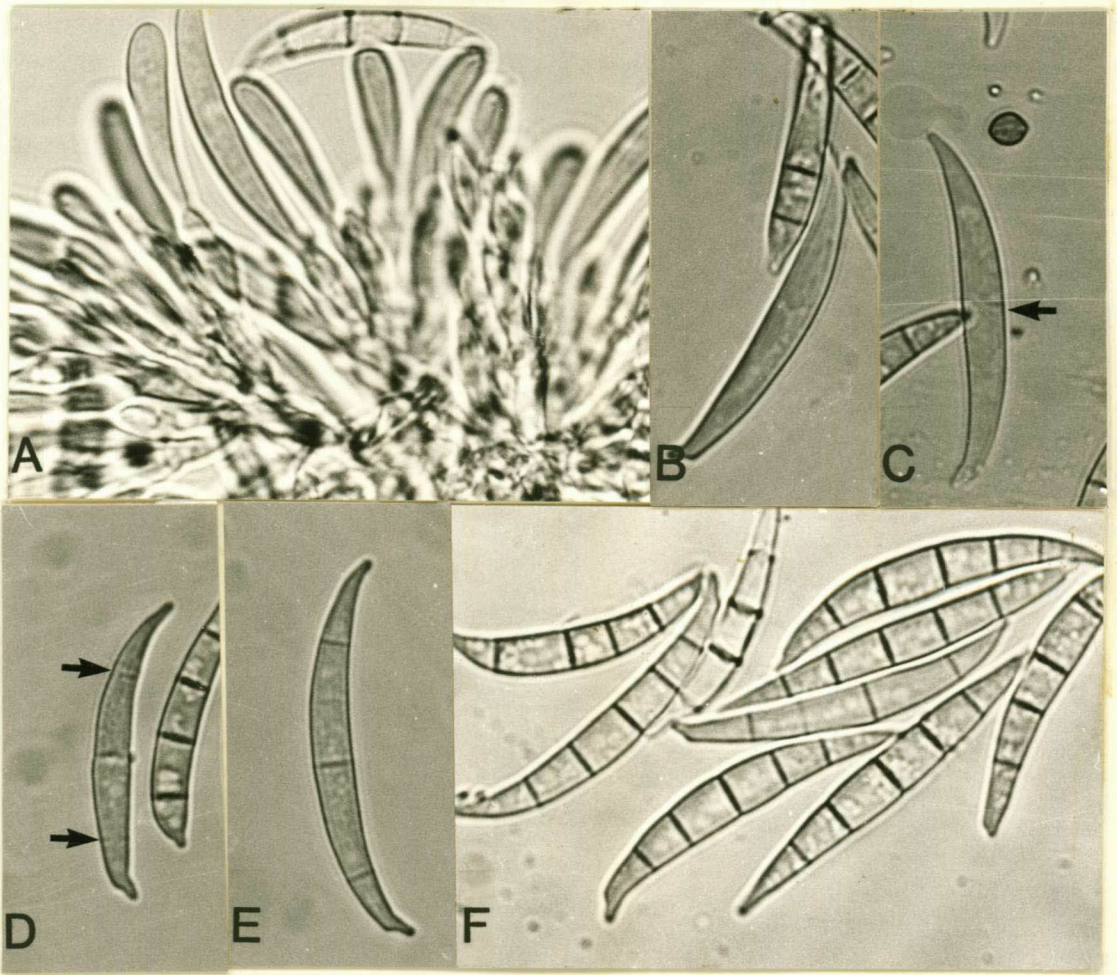


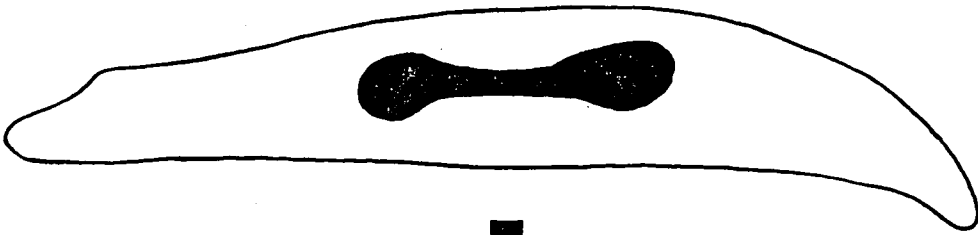
Fig. 4.3 Ligmikroskoopfotografie van F.crookwellense (X1,000)

- A. Jong konidia sonder kerne.
- B. Konidium, ongesepsteerd met een kern.
- C. Kern begin verdeel.
- D. Eerste verdeling van kern voltooi.
- E. Kerne afgerond na eerste verdeling, maar geen septum is neergelê nie.
- F. Primêre septum is neergelê.
- G. Gesinchroniseerde verdeling van kerne vind plaas.
- H. Vier kerne in makrokonidium aanwesig.
- I. Sekondêre septa, wat die apikale- en basisselle e met 'n enkel kern afgrens, is neergelê
- J. Tersiere septa is neergelê en die ses selle het e een kern.
- K. Apikale- en basisselle is afgegrens deur sep voordat eerste kernverdeling voltooi is.
- L. Tweekernige sel in makrokonidium wat langs d primêre septum geleë is.

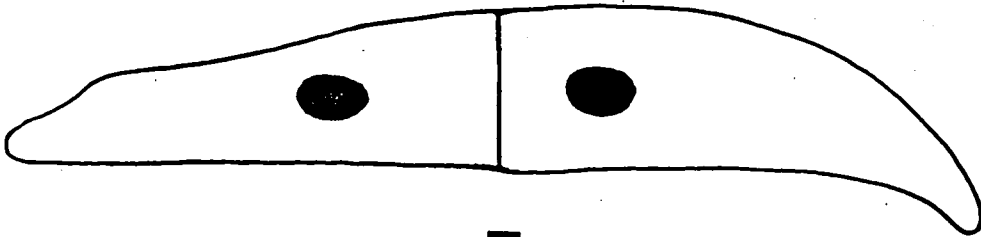
Fig. 4.4 Skematiese voorstelling van die normale proses van kernverdeling en septumneerlegging.

- A. Verdeling van die eerste kern.
- B. Neerlegging van die primêre septum na die eerste kernverdeling.
- C. Die eerste gesinchroniseerde verdeling van die kern.
- D. Sekondêre septa is neergelê.
- E. Die tweede gesinchroniseerde verdeling.
- F. Tersiere septa is neergelê.

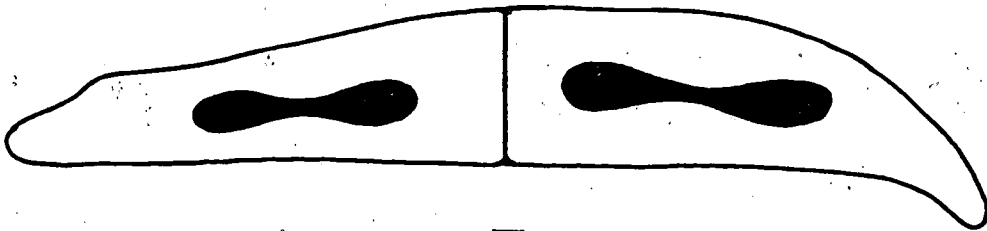
A.



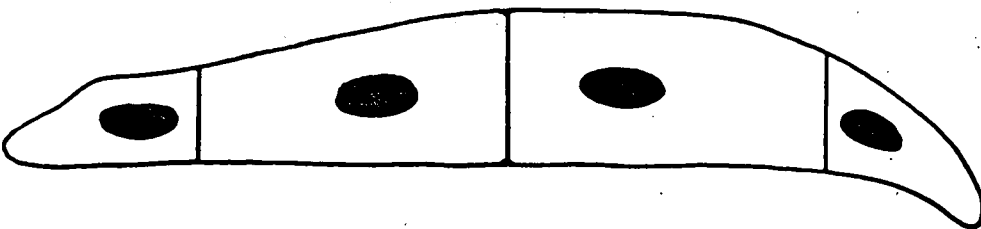
B.



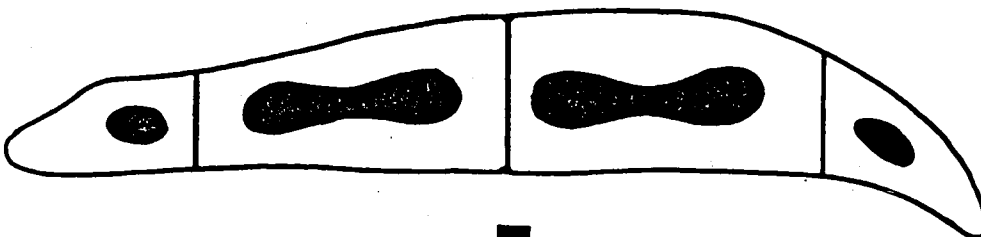
C.



D.



E.



F.

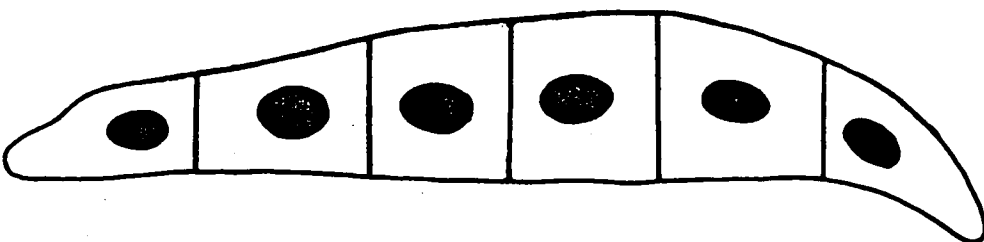
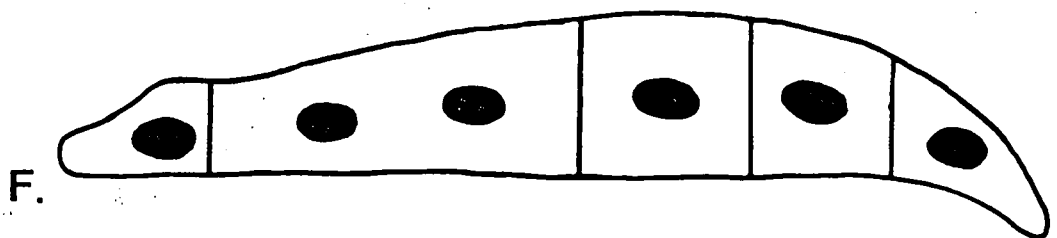
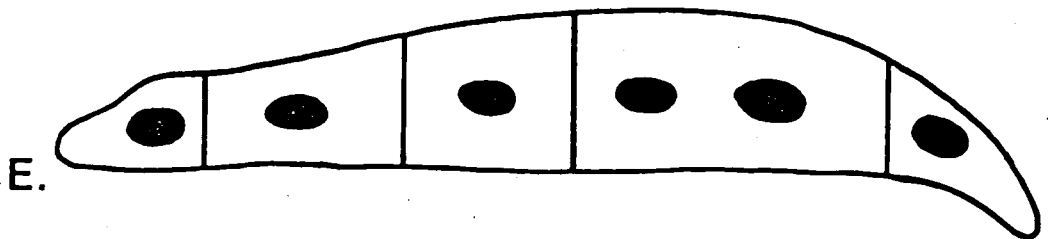
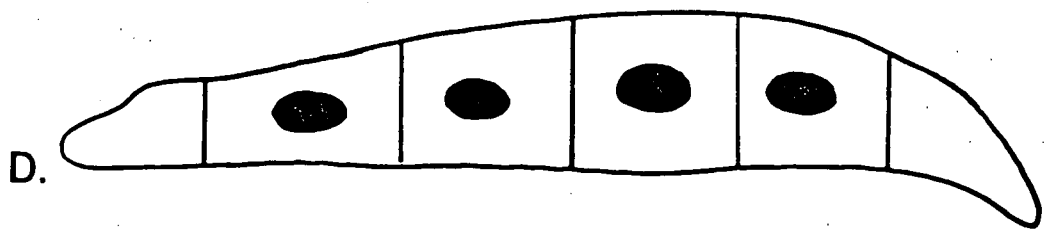
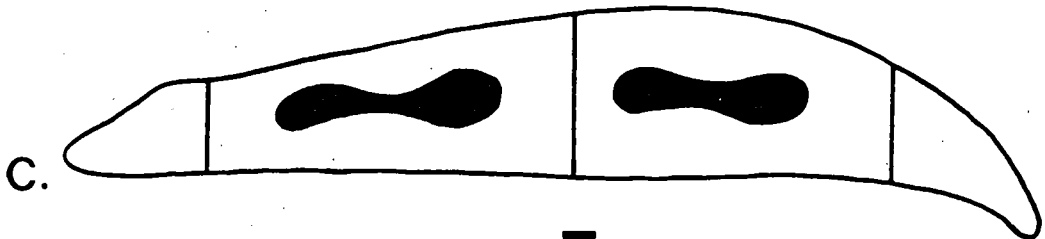
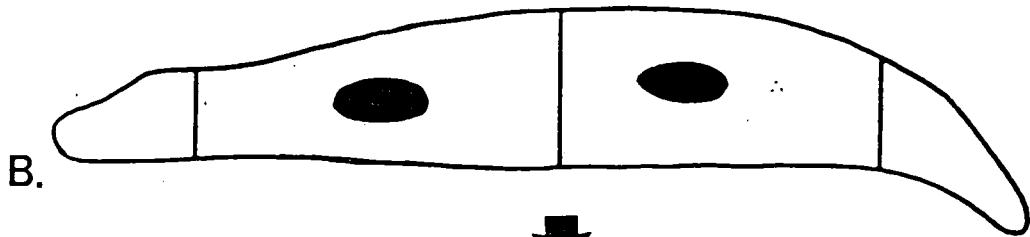
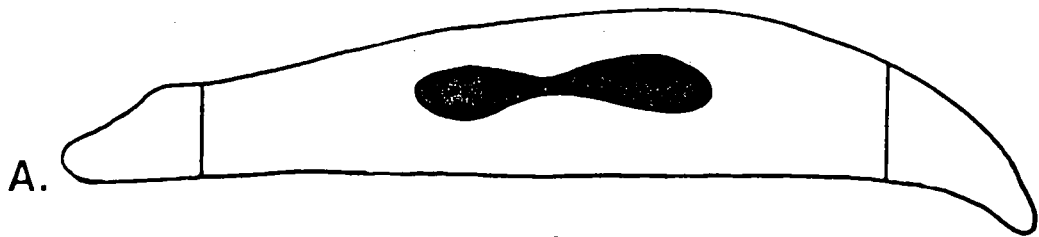


Fig. 4.5 Skematiese voorstelling van die "afwykende" proses van kernverdeling en septumneerlegging.

- A. Apikale- en basisselle is afgegrens voordat die eerste kernverdeling voltooi is.
- B. Eerste verdeling van die kern is voltooi en 'n verdelingseptum neergelê.
- C. Gesinchroniseerde verdeling van die kern.
- D. Tersiêre septa is neergelê.
- E & F. Konidia met twee kerne waar tersiêre septa nie neergelê is nie.



## 5. OPSOMMING

Die ultrastruktuur, sporulasie en sitologie van Fusarium spp. het wye aandag geniet, maar sekere basiese inligting hieromtrent is nie beskikbaar nie.. Tydens die huidige bestudering van die toetsorganisme, Fusarium crookwellense is bevind dat daar oor die algemeen ooreenstemming is tussen die huidige resultate en resultate wat aangemeld is ten opsigte van sitoplasmiese insluitings. Verskille in hife-, konidium- en chlamydosporwandinterpretasie het egter voorgekom en daar is bevind dat die hifewand soortgelyk aan die makrokonidiumwand is. Laasgenoemde wande bestaan uit twee lae, naamlik 'n fibrillêre of fraaiingagtige buitewandlaag en 'n binnewandlaag wat in sommige gevalle as twee sones waarneembaar is. Die verskynsel van sones in die binnewandlaag kan toegeskryf word aan proteïen of lipied impregnering in die wand saam met die effek van fiksering- en kleuringstegnieke.

Die dikker chlamydosporwand bestaan basies ook net uit twee lae, naamlik 'n buite disintegrerende elektrondigte laag wat die oorspronklik buitewandlaag van die hife (konidium) verteenwoordig en 'n binnewandlaag wat, aan die buitekant die oorspronklike hife (konidium) binnewandlaag en, aan die binnekant die nuwe sekondêre wandmateriaal bevat. Verskille in elektrondigtheid in hierdie lae kan moontlik toegeskryf word aan die onderbrekingsperiode in die neerlegging van wandmateriaal en teenwoordigheid van osmofiliese materiaal in 'n gedeelte van die wand.

Die wyse waarop konidiogeneselle en konidia gevorm word, word algemeen deur mikoloë as die basis van die klassifikasie van Deuteromisetes aanvaar. Tydens die huidige ondersoek is twee wyses waarvolgens die eerste konidium geproduseer kan word, waargeneem. In die eerste geval is 'n septum in die konidiogenesel, weg van die apeks af, neergelê. Breuke ontstaan in die buitewandlaag net bokant die posisie waar die septum neergelê is en as gevolg van verdere ontwikkeling van die konidium, skei die buitewandlaag van die ou konidiogenesel op die posisie van die breuk

en gee dit oorsprong aan 'n kollaret.

Tydens die tweede tipe ontwikkeling is geen afsnydingseptum in die konidiogenesel neergelê nie en konidiumontwikkeling is voorafgegaan deur disintegrasie van die apikale wandarea van die konidiogenesel. 'n Kollaret het ook in laasgenoemde geval ontstaan, maar die morfologie daarvan verskil van dié van die kollaret soos vir die eerste tipe ontwikkeling vermeld. Beide tipes ontwikkeling van die eerste konidium sal/kan tot gevolg hê dat selwandoorblyfsels op die ontwikkelende konidium aanwesig is, alhoewel die hoeveelheid materiaal wat betrokke is, kan verskil.

Hierdie twee tipes van eerste konidium ontwikkeling versoen die teenstrydige resultate wat in die literatuur aangemeld is en dui op 'n kontinuum van ontwikkeling vir die eerste konidium vanaf 'n geheel thalliese tot 'n geheel enteroblastiese wyse. Alle konidia wat na die eerste konidium gevorm word, in beide tipes van eerste konidiumontwikkeling, word holoblasties gevorm. Waar uitgebreide perikliniese verdikking in die konidiofoornek voorkom, kan konidiogeneselle regenerereer en prolifereer om 'n nuwe konidiogenesel wat konidia op 'n hoër vlak produseer, te vorm.

Sitologie binne die genus Fusarium het hoofsaaklik aandag op die gebied van aantal kerne per sel, kerndeling en aantal chromosome by die onderskeie spesies geniet en slegs 'n enkele verwysing is na die voorkoms van kerne en neerlegging van septa in makrokonidia gemaak.

Jong ontwikkelende konidia is sonder kerne totdat die konidium die finale grootte bereik het. Op hierdie stadium beweeg 'n dogterkern uit die konidiofoor in die konidium in en konidiumafgrensing vind waarskynlik net hierna plaas. Kerndeling vind in die konidium plaas en 'n septum (primêre septum) word in die middel van die konidium tussen die twee dogterkerne neergelê. Gesinchroniseerde verdeling van die twee dogterkerne vind dan plaas en septa (sekondêre septa) word neergelê om die apikale en

basisselle af te grens. Hierna volg 'n tweede gesinchroniseerde kernverdeling en septa (tersiêre septa) word neergelê om beide hierdie langsliggende selle te verdeel. Volgens hierdie proses het die "normale", volwasse makrokonidium dus vyf septa en elke sel bevat een kern.

Alternatiewelik is gevind dat, nadat die kern die konidium binnebeweeg het, voordat kernverdeling plaasgevind het, septa neergelê word wat die kernlose apikale- en basisselle afgrens. Volgens hierdie wyse van kerndeling en septasie ontstaan 'n konidium met ses selle, maar vier kerne. Gesinchroniseerde kerndeling kan ook tot gevolg hê dat een van die twee septa langs die primêre septum nie neergelê word nie en 'n tweekernige sel sal dus in 'n makrokonidium met vier of ses septa in een van die selposisies langs die primêre septum geleë wees.

Septumneerlegging in makrokonidia geskied dus volgens 'n definitiewe patroon en word normaalweg deur kernverdelings voorafgegaan.

6. DANKBETUIGINGS

My opregte dank en waardering aan:

Dr.P.S. van Wyk onder wie se gewaardeerde leiding hierdie ondersoek uitgevoer is.

Proff. G.D. Pauer en S.W. Baard van die Departement Plantpatologie vir hulle belangstelling.

Mnr. P.W.J. van Wyk vir sy geduld en hulp met die elektronmikroskopiese ondersoeke.

Mev. Alta Hattingh vir haar moeite tydens die tik van die verhandeling.

My Skepper, aan wie alle dank en eer toekom

My man, Johan, en ouers vir hulle belangstelling en aanmoediging.

7. LITERATUUR

Aist, J.R. & Wilson, C.L. (1968). Interpretation of nuclear division figures in vegetative hyphae of fungi. Phytopathology 58, 876-877.

Akai, S., Fukutomi, M. & Kobayashi, N. (1969). Fine structure of conidia of Fusarium oxysporum f. cucumerinum. Annals of the Phytopathological Society of Japan 35, 351-353.

Alexander, J.V. (1964). A study of the ultrastructure in the development and germination of chlamydo-spores of Fusarium. Ph.D. Dissertation. University of California, Berkeley. Aangehaal deur Van Eck (1976).

Alexander, J.V. (1965). A study of the ultrastructure in the development and germination of chlamydo-spores of Fusarium. Dissertation Abstracts 26, 606-607. Aangehaal deur Stevenson & Becker (1979).

Bartnicki Garcia, S. & Reyes, E. (1964). Chemistry of spore wall differentiation in Mucor rouxii. Archives of Biochemistry and Biophysics 108, 125-133.

Becket, A., Heath, I.B. & McLaughlin, D.J. (1974). An atlas of fungal ultrastructure. Longman Group Limited, London.

Bracker, C.E. (1967). Ultrastructure of fungi. Annual Review of Phytopathology 5, 343-374.

Buller, A.H.R. (1933). Researches on fungi 5. Longmans, Green & Co. Ltd., London.

Burgess, L.W., Nelson, P.E. & Toussoun, T.A. (1982). Characterization, geographic distribution and ecology of Fusarium crookwellense sp. nov.. Transactions of the British Mycological Society 79, 497-505.

Buxton, E.W. (1954). Heterokaryosis and variability in Fusarium oxysporum f. gladioli (Snyder & Hansen). Journal of General Microbiology 10, 71-84.

Buxton, E.W. (1960). Heterokaryosis, saltation and adaptation. III, Heterokaryosis as a factor in variability. Plantpathology 2, 365-380.

Camp, R.R. (1971). A fine structure study on the host-parasite interactions of three fungal diseases. Ph.D. University of Wisc., Wisconsin. Aangehaal deur Wergin (1973).

Campbell, W.P. & Griffiths, D.A. (1974). Development of endoconidial chlamydospores in Fusarium culmorum. Transactions of the British Mycological Society 63, 221-228.

Carlile, M.J. (1956). A study of the factors influencing non-genetic variation in a strain of Fusarium oxysporum. Journal of General Microbiology 14, 643-654.

Chenuda, M.S. (1972). Lipid and phospholipid composition of non-pigmented and pigmented hyphal cell walls of strains of Blakeslea trispora. Journal of General and Applied Microbiology 18, 155-163.

Cole, G.T. (1973). Correlation between rodlet orientation and conidiogenesis in Hyphomycetes. Canadian Journal of Botany 51, 2413-2422.

Cole, G.T. & Ramirez-Mitchell, R. (1974). Comparative scanning electron microscopy. In: Scanning Electron Microscopy, Part II. Proceedings of the workshop on Scanning Electron Microscopy, Chicago, 367-374.

Cole, G.T. & Samson, R.A. (1979). Patterns of development in conidial fungi. Pitman Publishing Ltd., London.

Cook, B.E. (1974). The development of conidiophores and conidia in the imperfect fungus Oedocephalum roseum. New Phytology 73, 115-130.

Cutler, J.E. & Erke, K.H. (1971). Ultrastructural characteristics of Coccidioides immitis, a morphological variant of Cryptococcus neoformans and Podosypha ravenelii. Journal of Bacteriology 105, 438-444.

Dacie, J.V. & Lewis, S.M. (1970). Practical hematology: 4th Edition. Churchill, London.

De Robertis, E.D.P., Nowinski, W.W. & Saez, F.A. (1970). Cell Biology 5th Edition. W.B. Saunders Company, London.

Dickson, M.R. (1963). A study of fine structure of the spores of Pithomyces chartarum. New Zealand Journal of Botany 1, 381.

Dürr, M., Urech, K., Boller, T., Wiemken, J., Schwencke, J. & Nagy, M. (1979). Sequestration of arginine by polyphosphate in vakuoles of yeast Saccharomyces cerevisiae. Archives of Microbiology 121, 169-175.

Ellis, M.B. (1971). Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.

Ellis, M.B. (1976). More dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Agricultural Bureaux. Cambrian News Ltd. Aberystwyth.

Févre, M. (1977). Subcellular localization of glucanase and cellulase in Saprolegnia monoica, Pringsheim. Journal of General Microbiology 103, 287-295.

Fisher, D.J., Holloway, P.J. & Richmond, D.V. (1972). Fatty acid and hydrocarbon constituents of the surface and wall lipids of some fungal spores. Journal of General Microbiology 72, 71-78.

Fisher, N.L., Burgess, L.W., Toussoun, T.A. & Nelson, P.E. (1982). Carnation leaves used as a substrate and for the preservation of cultures of Fusarium species. Phytopathology 72, 151-153.

Ford, E.J. & Trujillo, E.E. (1967). Bacterial stimulation of chlamydospore production in Fusarium solani f.sp. phaseoli. Phytopathology 57, 811.

Ford, E.J., Gold, A.H. & Snyder, W.C. (1970). Induction of chlamydospore formation in Fusarium solani by soil bacteria. Phytopathology 60, 479-484.

Frederick, S.E., Newcomb, E.H., Vigil, E.L. & Wergin, W.P. (1968). Fine structural characterization of plant microbodies. Planta 81, 229-252.

French, E.R. & Nielson, L.W. (1966). Production of macroconidia of Fusarium oxysporum f. batatas and their conversion to chlamydospores. Phytopathology 56, 1322-1323.

Garcia Acha, I., Aguirre, M.J.R., Uruburu, F. & Villanueva, J.R. (1966). The fine structure of the Fusarium culmorum conidium. Transactions of the British Mycological Society 49, 695-702.

Ghiorse, W.C. & Edwards, M.R. (1973). Ultrastructure of Aspergillus fumigatus conidia development and maturation. Protoplasma 76, 49-59.

Girbard, M. (1958). Über die substruktur von Polystictus versicolor. Archives of Microbiology 28, 255-269.

Girbard, M. (1961). Licht- und elektronenmikroskopische untersuchungen von Polystictus versicolor 2. In: Die Feinstruktur von Grundplasma und Mitochondrien. Archives of Microbiology 39, 351-359.

Goos, R.D. & Summers, D.F. (1964). Use of fluorescent antibody techniques in observations on the morphogenesis of fungi. Mycologia 56, 701-707.

Griffin, D.H. (1981). Fungal Physiology. John Wiley & Sons Inc.

Griffin, G.J. (1964). Influence of carbon and nutrition on chlamydospore formation by Fusarium solani f. radicumicola. Phytopathology 54, 894.

Griffiths, D.A. (1971). Hyphal structure in Fusarium oxysporum (Schlecht.) revealed by freeze-etching. Archives of Microbiology 79, 93-101.

Griffiths, D.A. (1973a). Fine structure of chlamydospore germination in Fusarium oxysporum. Transactions of the British Mycological Society 61, 7-12.

Griffiths, D.A. (1973b). Fine structure of the chlamydospore wall in Fusarium oxysporum. Transactions of the British Mycological Society 61, 1 - 6.

Gull, K. (1978). Form and function of septa in filamentous fungi. In: The Filamentous Fungi, 3. (J.E. Smith & D.R. Berry eds.) 78-93. Wiley, New York.

Gull, K. & Oliver, J. (1981). The fungal nucleus. Cambridge University Press. British Mycological Society Symposium no. 5.

Hall, R. & Malia R.G. (1984). Medical Laboratory Heamatology. Butterworth, Durban.

Hawker, L.E. (1957). The physiology of reproduction in fungi. Cambridge University Press. London.

Hawker, L.E. (1965). Fine structure of fungi as revealed by electron microscopy. Biological Review 40, 52-92.

Hess, W.M., Sassen, M.M.A. & Remsen, C.C. (1968). Surface characteristics of Penicillium conidia. Mycologia 60, 290-303.

Hess, W.M. & Stocks, D.L. (1969). Surface characteristics of Aspergillus conidia. Mycologia 61, 560-571.

Hirsch, H.E., Snyder, W.C. & Hansen, H.N. (1949). Chromosome numbers in Hypocreaceae. Mycologia 41, 411-415.

Horikoshi, K. & Iida, S. (1964). Studies of the spore coats of fungi I. Isolation and composition of the spore coats of Aspergillus oryzae. Biochemistry and Biophysics Acta 83, 197-203.

Hughes, S.J. (1953). Conidiophores, conidia and classification. Canadian Journal of Botany 31, 577-659.

Hunsley, D. & Burnett, J.H. (1970). The ultrastructural architecture of the walls of some hyphal fungi. Journal of General Microbiology 62, 203-218.

Kendrick, B. (1971). Taxonomy of Fungi Imperfecti. Toronto University Press.

Laborda, F.I., Garcia Acha, I., Uruburu, F. & Villanueva, J.R. (1974). Structure of the conidial wall of Fusarium culmorum. Transactions of the British Mycological Society 62, 557-566.

Mangenot, F. & Reisinger, O. (1976). Form and function of conidia as related to their development. In: The fungal spore (Weber, D.J. & Hess, W.M. eds.) John Wiley & Sons Inc. U.S.A.

Marchant, R. (1966). Wall structure and spore germination in Fusarium culmorum. Annals of Botany 30, 821-829.

Marasas, W.F.O. 1969. Moldy Corn: Nutritive value, toxicity and mycoflora with special reference to Fusarium tinctum (Corda) Snyder & Hansen. Ph.D. thesis, University of Wisconsin.

Marchant, R. (1975). An ultrastructural study of "phialospore" formation in Fusarium culmorum grown in continuous culture. Canadian Journal of Botany 53, 1978-1987.

Marchant, R. (1979). Wall growth during spore differentiation and germination. In: Fungal walls and hyphal growth. (J.H. Burnett & A.P.J. Trinci eds.). Cambridge University Press. London.

Marchant, R. (1983). The ultrastructure and physiology of sporulation in Fusarium. In: The applied mycology of Fusarium (M.O. Moss & J.E. Smith eds). Cambridge University Press. London.

Marchant, R. & Robards, A.W. (1968). Membrane systems associated with the plasmalemma of plant cells. Annals of Botany 32, 457-471.

Mason, E.W. (1933). Annotated account of fungi received at the Imperial Mycological Institute. Commonwealth Mycological Institute, Kew., England. aangehaal deur Marchant (1975).

Mason, E.W. (1937). Annotated account of fungi received at the Imperial Mycological Institute. aangehaal deur Cole & Samson (1979).

Matile, P. (1978). Biochemistry and function of vacuoles. Annual Review of Plant Physiology 29, 193-213.

Maxwell, D.P., Williams, P.H. & Maxwell, M.D. (1972). Studies on the possible relationships of microbodies and multivesicular bodies to oxalate, endopolygalacturonase and cellulase (cx) production by Sclerotinia sclerotiorum. Canadian Journal of Botany 50, 1743-1748.

McCoy, E.C., Girard, A.E. & Kornfield, J.M. (1971). Fine structure of resting and germinating Penicillium chrysogenum conidiospores. Protoplasma 73, 443-456.

McKeen, W.E. (1971). Woronin bodies in Erysiphe graminis. DC'. Canadian Journal of Microbiology 17, 1557-1560.

Minter, D.W., Kirk, P.M. & Sutton, B.C. (1982). Holoblastic phialides. Transactions of the British Mycological Society 79, 75-93.

Minter, D.W., Sutton, B.C. & Brady, B.L. (1983). What are phialides anyway? Transactions of the British Mycological Society 81, 109-120.

Minter, D.W., Kirk, P.M. & Sutton, B.C. (1983). Thallic phialides. Transactions of the British Mycological Society 80, 39-66.

Mitchell, N.L. & McKeen, W.E. (1970). Light and electron microscope studies on the conidium and germ tube of Sphaerotheca macularis. Canadian Journal of Microbiology 16, 273-280.

Mollenhauer, H.H., Morr e, J.D. & Kelley, A.G. (1966). The widespread occurrence of plant cytosomes resembling animal microbodies. Protoplasma 62, 44-52.

Moore, R.T. (1965). The ultrastructure of fungal cells. In: The Fungi (G.C. Ainsworth & A.S. Sussman eds.). New York Academic Press.

Moore, R.T. & McAlear, J.H. (1961). Fine structure of mycota no. 5: Lomasomes, previously uncharacterized hyphal structures. Mycologia 53, 194-200.

Moore, R.T. & McAlear, J.H. (1962). Fine structure of mycota no. 7: Observations on septa of Ascomycetes and Basidiomycetes. American Journal of Botany 49, 86-100.

Moore-Landecker, E. (1972). Fundamentals of the fungi. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, New York.

Moss, M.O. & Smith, J.E. (1984). The applied mycology of Fusarium. British Mycological Society Symposium no. 7. Press syndicate of the University of Cambridge, New York.

Nelson, P.E., Toussoun, T.A. & Marasas, W.F.O. (1983). Fusarium Species: An illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press.

Niederpreum, D.J. (1965). Carbohydrate metabolism. In The Fungi I. (Ainsworth, G.C. & Sussman, A.S. eds.) Academic Press, New York.

Old, K.M. & Schippers, B. (1973). Electron microscopical studies of chlamydospores of Fusarium solani f. cucurbitae formed in natural soil. Soil Biology and Biochemistry 5, 613-620.

Op den Kamp, J.A.F. (1979). Lipid asymmetry in membranes. Annual Reviews of Biochemistry 48, 47-71.

Prasad, M. & Choudhary, S.K. (1966). Studies on the effect of different phosphorus concentrations on the production of chlamydospores, microconidia and macroconidia in the culture of Fusarium udum (Butler). Bulletin of the Proceedings of the National Academy of Science, India.

Punithalingam, E. (1972). Cytology of Fusarium culmorum. Transactions of the British Mycological Society 58, 225-230.

Punithalingam, E. (1975). Cytology of some Fusarium species. Nova Hedwigia 26, 275-304.

Reichle, R.E. & Alexander, J.V. (1965). Multiperforate septations, Woronin bodies and septal plugs in Fusarium. Journal of Cell Biology 24, 489-496.

Reynolds, E.S. (1963). The use of leadcitrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. Journal of Cell Biology 17, 208-212.

Rizza, U. & Kornfield, J.M. (1969). Components of conidial and hyphal walls of Penicillium chrysogenum. Journal of General Microbiology 58, 307-315.

Sabatini, D.D., Bensch, K., Barnett, R.J. (1963). The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. Journal of Cell Biology 17, 19-58.

Saccardo, P.A. (1886). Hyphomyceteae. Sylloge Fungorum 4, 1-807 aangehaal deur Cole & Samson (1979).

Sachs, J.B., Nair, V.M.G. & Kuntz, J.E. (1970). Penetration and degradation of cell walls in oaks infected with Ceratocystis fagacearum. Phytopathology 60, 1399.

Schneider, E.F. & Seaman, W.L. (1982). Ontogeny of conidia in Fusarium sulphureum. Transactions of the British Mycological Society 79, 283-290.

Schneider, E.F. & Wardrop, A.B. (1979). Ultrastructural studies on the cell walls in Fusarium sulphureum. Canadian Journal of Microbiology 25, 75-85.

Schneider, E.F., Barron, L.R., Wood, P.J. & Siddiqui, I.R. (1977). Cell walls of Fusarium sulphureum II: Chemical composition of the conidial and chlamyospore walls. Canadian Journal of Microbiology 23, 763-769.

Shaw, D.E. (1953). Cytology of Septoria and Selenophoma spores. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales 78, 122-230.

Spurr, A.R. (1969). A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. Journal of Ultrastructural Research 26, 31-43.

Stålhammer-Carlemalm, M. (1976). An electron microscope study of spore germination in Fusarium sambucinum var. coeruleum. Transactions of the British Mycological Society 67, 83-90.

Stevenson, I.L. & Becker, S.A.W.E. (1972). The fine structure and development of chlamydozoospores of Fusarium oxysporum. Canadian Journal of Microbiology 18, 997-1002.

Stevenson, I.L. & Becker, S.A.W.E. (1979). The fine structure of mature and germinating chlamydozoospores of Fusarium oxysporum. Canadian Journal of Microbiology 25, 808-817.

Subramanian, C.V. (1971). The phialide. In: Taxonomy of fungi Imperfecti (B. Kendrick ed.). Toronto University Press. p. 92-115.

Subramanian, C.V. (1972). Conidium ontogeny. Current Science 41, 619-624.

Sutton, B.C. (1980). The Coelomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.

Van Eck, W.H. (1976). Ultrastructure of forming and dormant chlamyospores of Fusarium solani in soil. Canadian Journal of Microbiology 24, 1634-1642.

Van Eck, W.H. (1978). Lipid body content and persistence of chlamyospores of Fusarium solani in soil. Canadian Journal of Microbiology 24, 65-69.

Van Eck, W.H. & Schippers, B. (1976). Ultrastructure of developing chlamyospores of Fusarium solani f. cucurbitae in vitro. Soil Biology and Biochemistry 8, 1-6.

Venkat Ram, C.S. (1952). Soil bacteria and chlamyospore formation in Fusarium solani. Nature: London 170, 889.

Vigil, E.L. (1973). Structure and function of plant microbodies. Sub-cellular Biochemistry 2, 237-285.

Vuillemin, P. (1910). Les conidiosporés. Bull. Soc. Sci., Nancy 2, 109-172. aangehaal deur Cole & Samson (1979).

Vuillemin, P. (1911). Les aleuriospore's. Bull. Soc. Sc. Nancy 3, 151-175. aangehaal deur Cole & Samson (1979).

Weis, R.L. (1973). Intracellular localization of ornithine and arginine pools in Neurospora. Journal of Biological Biochemistry 248, 5409-5413.

- Wergin, W.P. (1973). Development of Woronin bodies from microbodies in Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici. Protoplasma 76, 249-260.
- Wilsenach, R. & Kessel, M. (1965). The role of lomasomes in wall formation in Penicillium vermiculatum. Journal of General Microbiology 40, 401-404.
- Wilson, C.L., Stiers, D.L. & Smith, G.G. (1970). Fungal lysosomes or spherosomes. Phytopathology 60, 216-227.
- Wollenweber, H.W. & Reinking, O.A. (1935). Die Fusarien. Paul Parey, Berlin. aangehaal deur Burgess et al. (1982).
- Zachariah, K. & Fitz-James, P.C. (1967). The structure of phialides in Penicillium claviforme. Canadian Journal of Microbiology 13, 249-256.
- Zacharuk, R.Y. (1970). Fine structure of the fungus Metarrhizium anisopliae infecting three species of larval Elateridae (Coleoptera) I. Dormant and germinating conidia. Journal of Invertebrate Pathology 15, 63-80.
- Zacharuk, R.Y. (1971). Fine structure of the fungus Metarrhizium anisopliae infecting three species of larval Elateridae (Coleoptera) IV. Development within the host. Canadian Journal of Microbiology 17, 525-529.
- Zalokar, M. (1965). Integration of cellular metabolism. In: Fungi, Vol. I (G.C. Ainsworth & A.S. Sussman eds.). Academic Press. London. 377-426.