DIE ORGANIESE VOEDING VAN DRIE ALGSOORTE VAN DIE BELMONTRIVIER NABY GRAHAMSTAD

deur

D. N. BOSHOFF

Voorgelê ter vervulling van die vereistes vir die graad
DOCTOR SCIENTIAE aan die POTCHEFSTROOMSE UNIVERSITEIT VIR
CHRISTELIKE HOËR ONDERWYS

1970

INHOUDSOPGAWE

		BLADSY
	INLEIDING	1
	OMVANG VAN DIE ONDERSOEK	2
HOOFSTUK 1	MATERIAAL EN METODES	5
	PLANTMATERIAAL	5
	KULTURE	6
	LIGVOORSIENING	8
	LUGVOORSIENING	8
	STERILISASIE VAN VOEDINGSMEDIUM EN APPARAAT	11
	INOKULERING	12
	BEPALINGS	13
HOOFSTUK 2	DIE TOEGANKLIKHEID VAN AMINOSURE EN UREUM AS BRONNE VAN STIKSTOF VIR DIE DIATOOM ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA	15
	INLEIDING	15
	DIE TOEGANKLIKHEID VAN AMINOSURE EN UREUM AS STIKSTOFBRONNE VIR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 1)	16
	DIE INVLOED VAN VERSKILLENDE NITRAAT- EN AMINOSUURSTIKSTOFKONSENTRASIES OP DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 2)	21
HOOFSTUK 3	DIE TOEGANKLIKHEID VAN VERSKEIE ORGANIESE STOWWE AS BRONNE VAN KOOLSTOF EN ENERGIE VIR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA, NITZSCHIA PALEA EN DIE SCENEDESMUS-SPESIE	31
	INLEIDING	31
	DIE TOEGANKLIKHEID VAN AMINOSURE EN UREUM AS BRONNE VAN ENERGIE EN KOOLSTOF VIR DIE DIATOOM ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEFREEKS)	33
	DIE VERMOË VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA OM HETEROTROOF OP AMINOSURE EN UREUM TE GROEI (PROEF NR. 3)	34
	DIE TOEGANKLIKHEID VAN AMINOSURE EN UREUM AS ENIGSTE BRONNE VAN KOOLSTOF VIR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 4)	35

BLADSY

DIE EFFEK VAN AMINOSURE EN UREUM OP DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA ONDER TOESTANDE WAAR LIG 'N BEPERKENDE FAKTOR IS (PROEF NR. 5) 40

DIE TOEGANKLIKHEID VAN SUIKERS AS BRONNE VAN KOOLSTOF EN ENERGIE VIR DIE DIATOOM ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEFREEKS) 44

DIE VERMOË VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA OM HETEROTROOF OP SUIKERS TE GROEI (PROEF NR. 6) 45

DIE TOEGANKLIKHEID VAN SUIKERS AS ENIGSTE BRONNE VAN KOOLSTOF VIR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 7) 46

DIE TOEGANKLIKHEID VAN ORGANIESE STOWWE AS BRONNE VAN KOOLSTOF EN ENERGIE VIR NITZSCHIA PALEA EN DIE SCENEDESMUS-SPESIE (PROEFREEKS) 49

DIE TOEGANKLIKHEID VAN VERSKILLENDE KONSENTRASIES ASETAAT, FENIELALANIEN EN GLUTAMIENSUUR AS ENIGSTE BRONNE VAN KOOLSTOF VIR NITZSCHIA PALEA (PROEF NR. 8) 49

DIE TOEGANKLIKHEID VAN FENIELALANIEN, GLUTAMIENSUUR EN ASETAAT AS ENIGSTE BRONNE VAN ENERGIE VIR NITZSCHIA PALEA (PROEF NR. 9) 55

DIE INVLOED VAN ASETAAT, GLUTAMIENSUUR EN FENIELALANIEN OP DIE SELDELING VAN NITZSCHIA PALEA ONDER TOESTANDE WAAR LIG 'N BEPERKENDE FAKTOR IS (PROEF NR. 10) 57

DIE TOEGANKLIKHEID VAN FENIELALANIEN, GLUTAMIENSUUR, ASETAAT EN GLUKOSE AS ENIGSTE BRONNE VAN KOOLSTOF EN ENERGIE VIR DIE SCENEDESMUS-SPESIE (PROEF NR. 11) 60

SAMEVATTENDE BESPREKING 63

		BLADSY
HOOFSTUK 4	DIE INVLOED VAN AMINOSURE, UREUM EN SUIKERS OP DIE O_2-OPNAME EN CO_2-VRYSTELLING VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA	65
	INLEIDING	65
	DIE INVLOED VAN AMINOSURE EN UREUM OP DIE O_2-OPNAME VAN *ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA* (PROEF NR. 12)	66
	DIE EFFEK VAN AMINOSURE OP DIE O_2-OPNAME VAN DIE DIATOOM OOR 'N PERIODE VAN 24 UUR (PROEF NR. 13)	70
	DIE EFFEK VAN SUIKERS OP DIE O_2-OPNAME VAN *ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA* (PROEF NR. 14)	87
	DIE INVLOED VAN AMINOSURE, UREUM EN SUIKERS OP DIE RESPIRASIEKOËFFISIËNT (RK) EN VRYSTELLING VAN CO_2 DEUR *ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA* (PROEF NR. 15)	93
	DIE DEAMINASIE-AKTIWITEIT VAN *ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA* (PROEF NR. 16)	101
HOOFSTUK 5	DIE ASSIMILASIE EN OKSIDASIE VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA, NITZSCHIA PALEA EN DIE SCENEDESMUS-SPESIE	103
	INLEIDING	103
	DIE OKSIDASIE EN ASSIMILASIE VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE DEUR *ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA* (PROEF NR. 17)	105
	DIE OKSIDASIE EN ASSIMILASIE VAN ASETAAT, GLUTAMIENSUUR, FENIELALANIEN EN GLUKOSE DEUR *NITZSCHIA PALEA* EN DIE *SCENEDESMUS*-SPESIE (PROEF NR. 18)	112
	DIE EFFEK VAN ASETAAT, FENIELALANIEN EN GLUTAMIENSUUR OP DIE VETAGTIGE STOWWE VAN *NITZSCHIA PALEA* (PROEF NR. 19)	123
	SAMEVATTENDE BESPREKING VIR HOOFSTUK 5	126

BLADSY

HOOFSTUK 6 DIE EFFEK VAN OLIGOMISIEN OP DIE RESPIRASIE VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA EN DIE EFFEK VAN ADP OP DIE RESPIRASIE VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA, NITZSCHIA PALEA EN DIE SCENEDESMUS-SPESIE 127

INLEIDING 127

DIE EFFEK VAN OLIGOMISIEN OP DIE GRONDRESPIRASIE EN OKSIDASIE VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 20) 129

DIE EFFEK VAN ADP OP DIE GRONDRESPIRASIE EN OKSIDASIE VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA, NITZSCHIA PALEA EN DIE SCENEDESMUS-SPESIE (PROEF NR. 21) 132

HOOFSTUK 7 DIE INVLOED VAN REMSTOWWE EN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA EN NITZSCHIA PALEA 140

INLEIDING 140

DIE INVLOED VAN REMSTOWWE EN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 22) 141

HOOFSTUK 8 DIE AFSKEIDING VAN ENSIEME DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA EN NITZSCHIA PALEA 151

INLEIDING 151

DIE AFSKEIDING VAN ENSIEME DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 23) 152

DIE AFSKEIDING VAN ENSIEME DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 24) 152

BLADSY

DIE EFFEK VAN FENIELALANIEN OP DIE MOONTLIKE AFSKEIDING VAN ENSIEME DEUR *ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA* (PROEF NR. 25) 155

DIE AFSKEIDING VAN ENSIEME DEUR *ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA* (PROEF NR. 26) 159

DIE AFSKEIDING VAN ENSIEME DEUR *NITZSCHIA PALEA* (PROEF NR. 27) 160

HOOFSTUK 9 DIE EFFEK VAN 'N LANGDURIGE AFWESIGHEID VAN LIG EN DIE GELYKTYDIGE AANWESIGHEID VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE VERMOË VAN NITZSCHIA PALEA EN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA OM TOEGEDIENDE SUBSTRATE TE OKSIDEER 161

INLEIDING 161

DIE EFFEK VAN 'N LANGDURIGE AFWESIGHEID VAN LIG IN DIE AANWESIGHEID VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE VERMOË VAN *NITZSCHIA PALEA* OM TOEGEDIENDE SUBSTRATE TE OKSIDEER (PROEF NR. 28) 162

ALGEMENE BESPREKING EN GEVOLGTREKKING 172

SUMMARY 180

DANKBETUIGINGS 182

AANGEHAALDE LITERATUUR 184

BYLAAG 193

INLEIDING

Dit is 'n welbekende feit dat besoedeling van die natuurlike waterbronne in Suid-Afrika steeds toeneem en dat groot hoeveelhede water vir gebruik hierdeur verlore raak. Afgesien van die ekonomiese aspek van waterbesoedeling is die invloed van besoedeling op die mikroörganismes wat in die water voorkom, ook van belang.

'n Belangrike vorm van besoedeling is rioolwater, en 'n groot hoeveelheid organiese materiaal beland op dié wyse in die water. Dit spreek vanself dat mikroörganismes wat in water wat deur rioolwater besoedel is, voorkom, met 'n groot verskeidenheid organiese stowwe, onder andere aminosure, ureum en suikers, in aanraking sal kom.

'n Kennis van die invloed van stowwe, wat as onsuiwerhede in water voorkom, op die mikroörganismes in die water, is nie net van akademiese belang nie, maar kan ook 'n belangrike praktiese toepassing hê. As gevolg van die invloed van onsuiwerhede sal sekere organismes as aanwysers van besoedeling gebruik kan word. In die tweede plek speel juis die organismes wat in water voorkom, 'n belangrike rol in die suiwering daarvan. So byvoorbeeld kan water van ureum of aminosure gesuiwer word deurdat dié stowwe deur sekere organismes in die water tot ammoniak en CO_2 verwerk word wat die water in die gasvorm kan verlaat of wat deur die organismes geassimileer kan word. Dit spreek vanself dat die nuttigheid van 'n organisme as 'n aanwyser van besoedeling en om water van organiese materiaal te suiwer, ten nouste saamhang met die voedingstofvereistes van die organisme.

'n Groot verskeidenheid alge kan die organiese stowwe wat algemeen in rioolwater voorkom, as voedingstowwe benut. Afgesien van die moontlikheid dat die organiese stowwe as 'n bron van energie en koolstof benut kan word, kan aminosure en ureum ook as 'n bron van stikstof benut word. Wat hulle voeding betref, verskil verskillende alge egter aansienlik van mekaar. So byvoorbeeld het Droop (1955) bevind dat onder die <u>Chrysophyta</u> die spesie <u>Monochrysis lutheri</u> ureum as 'n stikstofbron kan benut, terwyl <u>Prymnesium parvum</u> nie daartoe

in staat/...

in staat is nie. 'n Verdere voorbeeld is die bevinding van Cramer en Myers (1952) dat Euglena gracilis, variëteit bacillaris die vermoë besit om heterotroof op glukose en 'n aantal aminosure te groei, terwyl Euglena gracilis nie op een van genoemde stowwe heterotroof kan groei nie.

Met bogenoemde in gedagte is besluit om die voeding van 'n aantal algspesies wat in Suid-Afrika voorkom, met betrekking tot 'n aantal organiese stowwe te ondersoek asook die invloed van dié stowwe op sekere aspekte van die organismes se fisiologie en biochemie. Die doel hiervan was om 'n beter aanduiding van die nuttigheid van die organismes as aanwysers van besoedeling en om besoedelde water te suiwer, te verkry.

Uit 'n kennis van die ekologie van 'n bepaalde organisme behoort 'n mens reeds 'n goeie aanduiding te kry van bogenoemde eienskappe van die organisme. So byvoorbeeld mag die aanwesigheid van 'n bepaalde organisme in groot hoeveelhede in water wat hewig deur rioolwater besoedel is, daarop dui dat die organisme van die onsuiwerhede as voedingsbron benut. Met die keuse van proefmateriaal is daar van dié oorweging uitgegaan. Die twee diatome Nitzschia palea en Achnanthes pseudohungarica en die groen alg Scenedesmus-spesie wat tydens dié ondersoek gebruik is, was van die Belmontrivier naby Grahamstad op 'n plek waar daar 'n hewige besoedeling van die rivier deur rioolwater is, afkomstig. 'n Mens kan dus verwag dat genoemde organismes in hulle natuurlike omgewing met 'n groot verskeidenheid organiese stowwe, soos byvoorbeeld ureum, aminosure, suikers en ander organiese sure in aanraking kom. Albei bogenoemde diatome is dan ook bekend vir hulle vermoë om in erg besoedelde water te leef, en albei word as stikstofheterotrofe organismes beskou. (Cholnoky-Pfannkuche, 1967).

OMVANG VAN DIE ONDERSOEK

Aanvanklik was die ondersoek hoofsaaklik op die diatoom Achnanthes pseudohungarica toegespits. Voordat die ondersoek egter afgerond kon word, het hierdie organisme heeltemal uit die versamelplek verdwyn en kon nêrens weer opgespoor word nie.

Om hierdie/......

Om hierdie rede en om te toets of die voor die hand liggende interpretasie van die resultate van sommige van die proewe geregverdig is, is sommige proewe ook op twee ander organismis herhaal, naamlik Nitzschia palea en 'n Scenedesmus-spesie. Soos later aangetoon sal word, was hierdie organismes besonder geskik vir dié doel.

Daar is later bevind dat die Scenedesmus-spesie tot heterotrofe groei in staat is, terwyl Nitzschia palea en Achnanthes pseudohungarica ooreenstem deurdat hulle albei nie tot heterotrofe groei in staat is nie. Deur 'n vergelykende ondersoek op die drie organismes uit te voer, was dit moontlik om vas te stel of sekere verskynsels in verband met die respirasie van Achnanthes pseudohungarica enigsins verband hou met die onvermoë van die organisme om heterotroof te groei.

Vooraf is 'n aantal steekproewe uitgevoer om 'n geskikte groeimedium te selekteer. Vervolgens is die volgende met Achnanthes pseudohungarica as proeforganisme ondersoek :

1. Die toeganklikheid van aminosuur- en ureumstikstof vir die diatoom.
2. Die toeganklikheid van aminosure, ureum en suikers as bronne van koolstof en energie vir die diatoom.
3. Die invloed van aminosure, ureum en suikers op die suurstofopname van die diatoom.
4. Die invloed van aminosure, ureum en suikers op die respirasiekoëffisiënt (R.K.)
5. Die deaminasie-aktiwiteit van die diatoom.
6. Die persentasie van die toegevoegde substraat (aminosure en suikers) wat geoksideer word.
7. Die verband tussen die oksidasie van eksogeen toegediende substrate en fosforilasie.
8. Die invloed van verskeie remstowwe op die oksidasie van die endogene en toegediende substrate.
9. Ten slotte is die moontlikheid dat die diatoom ensieme afskei, ondersoek.

Vir vergelykende/...

Vir vergelykende doeleindes is hierdie ondersoek opgevolg deur die volgende met die diatoom Nitzschia palea en 'n Scenedesmus-spesie as proeforganismes te bepaal:

1. Die invloed van verskeie organiese substrate op die suurstofopname deur genoemde organismes.
2. Die toeganklikheid van fenielalanien, glutamiensuur en asetaat as bronne van koolstof en energie vir Nitzschia palea.
3. Die invloed van fenielalanien, glutamiensuur en asetaat op die seldeling van Nitzschia palea onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is.
4. Die toeganklikheid van fenielalanien, glutamiensuur, asetaat en glukose as bronne van koolstof en energie vir die Scenedesmus-spesie.
5. Die assimilasie van klein hoeveelhede van bogenoemde substrate in die afwesigheid van lig deur die organismes.
6. Die invloed van toegediende substrate op die vetagtige stowwe van Nitzschia palea in die donker.
7. Die invloed van ADP op die O_2-opname deur genoemde organismes in die aanwesigheid van eksogeen toegediende substrate.
8. Die invloed van KCN op die O_2-opname deur Nitzschia palea in aanwesigheid van toegediende substrate.
9. Die deaminasie-aktiwiteit van Nitzschia palea.
10. Die moontlikheid dat Nitzschia palea ensieme afskei.
11. Die invloed van uithongering onder verskillende toestande op die oksidasie van toegediende substrate deur Nitzschia palea.

HOOFSTUK I

MATERIAAL EN METODES

PLANTMATERIAAL

Materiaal van die volgende alg-spesies wat oorspronklik van die Belmontrivier naby Grahamstad afkomstig is, is vir die ondersoek gebruik :

Achnanthes pseudohungarica Cholnoky-Pfannkuche.

Nitzschia palea (Kutzing) W. Smith en 'n *Scenedesmus*-spesie. Materiaal van die *Scenedesmus*-spesie is aan verskeie algeloë gestuur vir identifikasie maar kon ongelukkig nie bevredigend geïdentifiseer word nie.

Materiaal van die diatoom *Achnanthes pseudohungarica* is van dr. Kate Cholnoky-Pfannkuche verkry. Om die materiaal van bakterieë te bevry is dit aan die volgende behandeling onderwerp:

'n Klein gedeelte van 'n algkolonie is van 'n agarplaat verwyder en in 'n anorganiese vloeistofmedium, wat streptomisien in 'n konsentrasie van 4 d.p.m. bevat het, oorgedra. Na ongeveer 12 uur is die materiaal afgesentrifugeer en 'n druppel van die anorganiese voedingsmedium, waarin dit gesuspendeer is, is op agar in 'n proefbuis uitgestryk. 'n Hele reeks proefbuise is gebruik en slegs in 'n geringe aantal is met verloop van tyd hier en daar 'n algkolonie waargeneem. Die feit dat daar in sommige proefbuise geen diatoomkolonies waargeneem is nie, moet heelwaarskynlik daaraan toegeskryf word dat die druppel wat in sommige proefbuise uitgestryk is, as gevolg van die groot verdunning van die oplossing geen diatome bevat het nie.

As gevolg van die feit dat werk aan die ondersoek nie dadelik begin is nie, en die tyd daarvoor dus beskikbaar was, is bogenoemde prosedure etlike kere herhaal sonder dat die materiaal vir die aanwesigheid van bakterieë getoets is. Met die aanvang van die werk aan die ondersoek is een kolonie van 'n agarmedium in 'n vloeistofmedium oorgedra en toegelaat om te vermeerder. Hierdie materiaal sou dan ook as moedermateriaal dien vir alle materiaal tydens die ondersoek gebruik. Van die materiaal op dié wyse verkry, is aan 'n deeglike

mikroskopiese/.....

mikroskopiese ondersoek onderwerp en geen bakterieë is waargeneem nie. Soortgelyke ondersoeke is later uitgevoer op materiaal wat in groeimedia, wat afsonderlik met aminosure en suikers verryk is, gekweek is.

Streptomisien word gebruik om die sintese van chlorofil by alge te rem. (Provasoli, Hutner en Pintner, 1951; Aaronson en Scher, 1960). Sover vasgestel kon word, het hierdie behandeling egter geen permanente skadelike invloed op die diatoom gehad nie. Hierdie materiaal het op 'n stadium heeltemal tot niet geraak, maar dit kan nie aan die streptomisienbehandeling toegeskryf word nie.

Reinkulture van die Scenedesmus-spesie en Nitzschia palea is verkry deur herhaalde sub-kultivering van die materiaal in anorganiese vloeistofmediums. Die materiaal is telkens tussen oorplantings met 'n terramisienbevattende voedingsoplossing (200 d.p.m.) gewas, afgesentrifugeer en in 'n suiwer voedingsoplossing gesuspendeer. Van hierdie oplossing is 'n paar druppels in 'n aantal kultuurflesse oorgedra. Telkens is slegs 'n geringe aantal selle oorgedra. Die materiaal van die eerste fles waarby groei waargeneem is, is gebruik as moedermateriaal vir die volgende subkultivering.

Omdat groei by die Scenedesmus-spesie soveel vinniger plaasgevind het, kon 'n hele aantal subkultiverings in 'n betreklik kort tydjie gedoen word. In die geval van Nitzschia palea het dit egter baie langer geduur voordat 'n reinkultuur verkry is. Voordat die materiaal wat op dié wyse verkry is, vir proefwerk gebruik is, is dit aan 'n deeglike mikroskopiese ondersoek onderwerp nadat dit in 'n groeimedium wat met organiese substrate verryk is, gekweek is.

KULTURE

Vir die verskillende proewe is óf 200 cm^3 - óf 300 cm^3 - nounek-erlenmeyerflesse gebruik. Vir die aanvanklike proewe was die flesse van watteproppe voorsien. Dit is egter nie 'n bevredigende metode nie, aangesien dit moeilik is om die watteproppe op so 'n wyse op te sit dat dit genoegsame lugdiffusie toelaat, maar tog verhoed dat die kulture met bakterieë

besmet raak/...

besmet raak.

Die samestelling van die groeimedia was soos volg :

Vir die Makrovoedingstowwe is die kultuurmedium soos deur Cholnoky-Pfannkuche (1967) voorgestel, gebruik. (Tabel 1)

TABEL 1

Makrovoedingstowwe

	g/1 000 cm^3 gedist. H_2O
Ureum	0.06
KNO_3	0.01
$MgSO_4.7H_2O$	0.01
$CaSO_4.2H_2O$	0.01
$FeCl.6H_2O$	0.001
K_2HPO_4	0.01

In die proewe waar aminosure in die groeimedium aanwesig was, is die KNO_3 en ureum weggelaat. Waar 'n suiwer anorganiese voedingsmedium benodig is, is $Ca(NO_3)_2$ en $NaNO_3$ instede van $CaSO_4$ en ureum gebruik. In dié geval is die samestelling só gereguleer dat die stikstofinhoud van die groeimedium nie hoër as 20 d.p.m. was nie.

Die volgende mikrovoedingstowwe is in een oplossing soos volg opgemaak (Thomas, Ranson en Richardson, 1956):

TABEL 2

Mikrovoedingstowwe

	g/1 000 cm^3 gedist. H_2O
H_3BO_3	2.86
$MnCl_2.4H_2O$	1.81
$ZnSO_4.7H_2O$	0.22
$CuSO_4.5H_2O$	0.08
$H_2MoO_4.H_2O$	0.09

By elke/.......

By elke 1 000 cm^3 van die makrovoedingstofoplossing is 1 cm^3 van die mikrovoedingstofoplossing gevoeg. Waar 'n voedingsmedium vir die kweek van diatome benodig is, is 3 mg $Na_2SiO_3.9H_2O$ per 1 000 cm^3 bygevoeg.

Waar 'n agarmedium verlang is, is 'n 2% agaroplossing met dieselfde voedingstofsamestelling, soos hierbo beskryf, gebruik.

In alle gevalle is die pH van die groeimedium op 8.1 met behulp van NaOH en HCl ingestel.

LIGVOORSIENING

Vir beligting is van 40 W buisligte van die dagligtipe gebruik gemaak.

Aangesien die diatome skynbaar gevoelig is vir hoë temperature en daar geen metode was om die temperatuur doeltreffend te beheer anders as om 'n waaier te gebruik of om die flesse in 'n plat bak waardeur water gesirkuleer is, te laat staan nie, is die ligte vir die aanvanklike proewe bokant die flesse gemonteer, soos op die foto aangedui. (Fig. 1 op bladsy 9.)

In 'n later stadium van die ondersoek is 'n aantal konstante temperatuurkamers vir dié doel gebruik asook 'n kultuurtafel of kultuurrak soos op die foto aangedui waar die flesse wel van onder belig is. (Fig. 2 op bladsy 9.) Terwille van eenvormige beligting is slegs die middelste gedeelte van die kultuurrak vir proewe gebruik.

LUGVOORSIENING

Die kulture wat van watteproppe voorsien was, is daagliks geskud om die diffusie van lug in die vloeistofmedium aan te help. Soos reeds genoem, het dié metode dié nadeel dat dit moeilik is om die watteproppe op so 'n wyse op te sit dat dit genoegsame lugdiffusie toelaat, maar verhoed dat die kulture besmet raak.

'n Ander/......

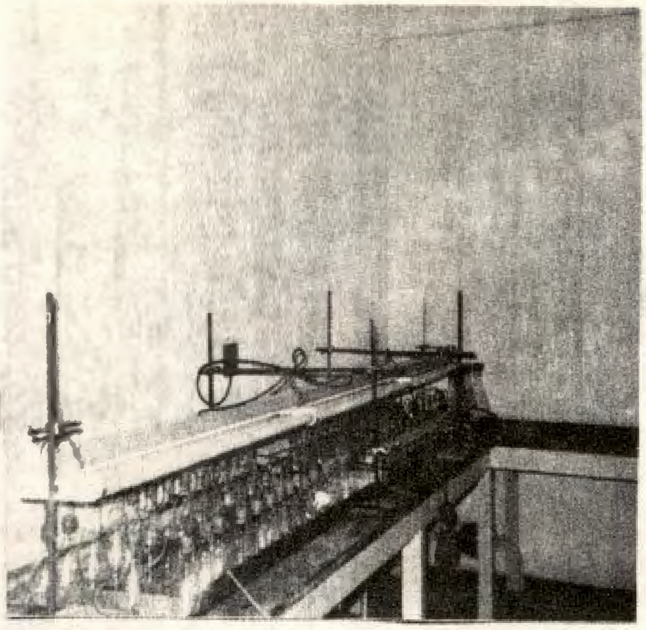


Fig. 1. Kultuurflesse in plat bak waardeur water gesirkuleer word, van bo belig.

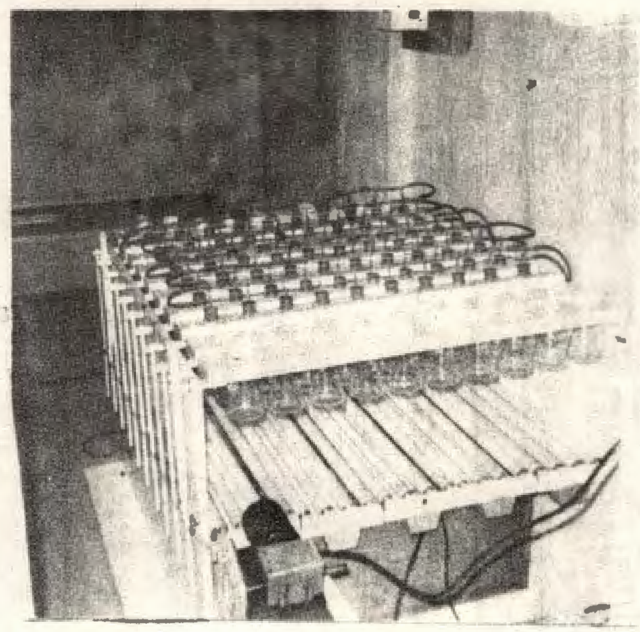


Fig. 2. Kultuurtafel. Die flesse is in rye van tien aan hulle nekke bokant die ligbron vasgeklem. Die plank wat die flesse in posisie gehou het, is op elke punt van 'n as voorsien wat in 'n groef gelê het. Die as op die een punt van die plank is aan 'n bewegende stang verbind. As gevolg van dié beweging is die flesse deur 'n hoek van 45° heen en weer gekantel. Op die kultuurtafel is daar vir 10 rye flesse voorsiening gemaak.

'n Ander metode wat ook tydens dié ondersoek gebruik is en wat heeltemal bevredigende resultate gegee het, was om die houers van rubberproppe instede van watteproppe te voorsien en die kulture dus in 'n lugdigte afgeslote ruimte te kweek. (Hierna verwys as 'n geslote sisteem.)

Om te verhoed dat daar 'n ophoping van suurstof in die sisteem plaasvind, as gevolg van fotosintese of dat 'n gebrek aan suurstof ontstaan waar 'n oksideerbare eksogene substraat in die groeimedium in die afwesigheid van lig aanwesig was, is die volume van die geslote sisteem genoegsaam vergroot deur die inskakeling van 'n aantal flesse of bottels.

Koolsuurgas is voorsien deur die CO_2-inhoud van die lug in die sisteem op ongeveer 2% te hou. Om die CO_2-inhoud van die geslote sisteem noukeurig te kan beheer, sou dit nodig wees om die CO_2-inhoud van die sisteem gereeld te bepaal om sodoende vas te stel hoeveel CO_2 by die sisteem ingelaat moet word om die konsentrasie op ongeveer 2% te hou. Aangesien daar geen doeltreffende metode hiervoor beskikbaar was nie, is die probleem soos volg opgelos :

'n Fles met 'n gekonsentreerde KOH-oplossing is parallel by die sisteem ingeskakel, en wel op so 'n wyse dat dit van die res van die sisteem afgesluit kan word. Die lug in die sisteem is gereeld deur die fles gesirkuleer om sodoende al die CO_2 uit die sisteem te verwyder. Deur die volume van die sisteem in berekening te bring, kon bepaal word hoeveel CO_2 by die sisteem ingelaat moet word om die konsentrasie CO_2 op 2% te bring.

Die lug is met behulp van 'n peristaltiese pomp deur die sisteem gesirkuleer. In die kulture wat op 'n tafel gestaan het, is die lug ook terselfdertyd met behulp van 'n afleibuis deur die oplossing in die flesse geborrel.

Vir die kulture op die kultuurtafel (kultuurrak) is dit as onnodig beskou om die lug deur die vloeistofmedium te borrel, aangesien dit gedurig in beweging was as gevolg van

die kantelbeweging/....

die kantelbeweging van die flesse en is die lug slegs deur die flesse gesirkuleer. (Fig. 2)

Die geslote sisteem, soos hierbo beskryf, het ook heelwat ander voordele.

1. Die gevaar van besmetting van die kulture met bakterieë word heeltemal uitgeskakel.
2. Die verskaffing van CO_2 aan die flesse kan noukeurig beheer word aangesien bekende hoeveelhede CO_2 by die sisteem ingelaat word.
3. Deur die inskakeling van 'n peristaltiese pomp in die sisteem wat die lug deur die hele sisteem sirkuleer, is die lugvoorsiening aan al die kulture eenders. Die variasie tussen kulture as gevolg van watteproppe wat nie ewe styf pas nie en dus die diffusie van lug verskillend beïnvloed, word hierdeur uitgeskakel.
4. Dit het ook dié verdere voordeel dat die verspreiding van die voedingstofoplossing asook die inokulering van die flesse aansienlik vergemaklik word.

STERILISASIE VAN VOEDINGSMEDIUM EN APPARAAT

Die anorganiese voedingstofoplossing is voor gebruik vir 15 minute onder druk gesteriliseer (42.2 N per m^2). Die organiese stowwe is afsonderlik gesteriliseer en daarna by die voedingstofoplossing gevoeg. Nadat die pH ingestel is, is die voedingstofoplossing in die verskillende kultuurflesse versprei. Met die instel van die pH is sodanig te werk gegaan dat besmetting van die groeimedium uitgeskakel is. Die verspreiding van die voedingstofoplossing in die verskillende flesse is in 'n geslote sisteem gedoen sodat die moontlikheid van besmetting ook hier tot die minimum beperk was.

Al die werk, insluitende die oorplanting van die materiaal, is in twee aangrensende, gesteriliseerde kamers, wat deur middel van 'n skuifdeur met mekaar verbind was, gedoen. Albei kamers is gereeld met 'n ontsmettingsmiddel uitgewas. Alle apparaat wat gebruik is, is vooraf vir 15

minute onder 42.2 N per m^2 druk of in 'n oond gesteriliseer. Apparaat, soos byvoorbeeld die pH-meter, wat nie op dié wyse gesteriliseer kon word nie, is met behulp van 'n ontsmettingsmiddel en ultravioletlig gesteriliseer.

INOKULERING

Vir die inokulering van die voedingsmedium in die afsonderlike flesse is 'n gegradueerde pipet, wat op die beginsel van 'n drupfles werk, gebruik. Die pipet was 0.01 cm^3 noukeurig. Hiermee is 0.5 cm^3 van 'n verdunde algsuspensie in elke fles oorgedra.

In die proewe waar van 'n geslote sisteem gebruik gemaak is, is die voedingsmedium voordat dit in die flesse versprei is, geïnokuleer. Dit het dié groot voordeel dat die materiaal wat as inokulum gebruik word, meer eweredig in al die flesse versprei word as gevolg van die feit dat die inokulum geweldig verdun is in vergelyking met 'n suspensie wat met behulp van 'n drupfles in elke fles oorgedra word. Elke fles was van 'n rubberprop met twee openinge voorsien. Die flesse van 'n bepaalde behandeling was op so 'n wyse deur middel van T-stukke en gomlastiekbuise parallel met mekaar verbind dat die verskillende flesse van mekaar afgesluit kon word. Deur die inskakeling van 'n peristaltiese pomp, 'n pipet en die geïnokuleerde voedingsoplossing was dit moontlik om die flesse wat reeds gesteriliseer is, direk in die kultuurkamer oor te plaas en van die nodige geïnokuleerde voedingstofoplossing te voorsien sonder om die proppe te verwyder. In 'n behandeling met byvoorbeeld vyf herhalings, word nou slegs een houer geïnokuleer instede van vyf. Dit het dié voordeel dat tyd bespaar word, baie minder ruimte in die steriele kamer benodig word en die in- en uitdra van groot getalle flesse in genoemde kamer voorkom word. Dit alles dra daartoe by dat die kanse vir besmetting van die kulture verminder word.

BEPALINGS/.......

BEPALINGS

Groei

Die groei is volgens die opbrengs in droë gewig gemeet. Vir dié doel is 'n balans wat 0.1 mg noukeurig kan weeg, gebruik. In sommige gevalle is 'n aanduiding van die groei deur 'n mikroskopiese ondersoek van die inhoud van die kultuurflesse verkry.

Respirasie

Die respirasie is volgens die direkte metode van Warburg bepaal. (Umbreit *et al.*, 1957.) Geykte een-arm-tipe Warburgflessies en manometers is tydens die ondersoek gebruik.

Die hoeveelheid suurstof opgeneem, is bepaal deur die CO_2 wat terselfdertyd afgegee word, in 'n 10% KOH-oplossing te absorbeer. Die verandering in gasdruk wat op die manometer afgelees word, word dus slegs deur die suurstof wat opgeneem word, veroorsaak. Die volume suurstof opgeneem, is met behulp van die volgende formule bepaal :

$$x\mu\ell O_2 = hKO_2$$

h - hoogteverskil op manometer

KO_2 - suurstofkonstante vir fles en manometer.

Vir die bepaling van die hoeveelheid CO_2 afgegee, is minstens twee flesse per bepaling nodig. In die een fles word die hoeveelheid suurstof opgeneem, soos reeds beskryf, bepaal. In die tweede fles word die 10% KOH-oplossing met water vervang. Die hoeveelheid CO_2 afgegee kan dus met behulp van die volgende formule bereken word :

$$x\mu\ell CO_2 = \frac{h - \frac{x\mu\ell O_2}{KO_2}}{KCO_2}$$

h - verskil tussen die manometerwaarde vir die termobarometer en dié van die tweede fles.

$x\mu\ell O_2$ - /.......

$X\mu l O_2$ - volume suurstof soos bepaal met behulp van die eerste fles.

KO_2 - suurstofkonstante van die tweede fles.

KCO_2 - koolsuurgaskonstante van die tweede fles.

Om die verandering in lugdruk wat tydens die proef mag voorkom, in berekening te kan bring, is 'n fles gebruik waarin die algsuspensie met water vervang is.

Die inhoud van die flessies het uit die volgende bestaan :

2.5 cm^3 voedingstofoplossing
0.5 cm^3 algsuspensie
0.2 cm^3 van 'n 10% KOH-oplossing in die middelste houer.

Alle bepalings is in die donker by 'n temperatuur van 25°C uitgevoer. Die flesse is teen 'n tempo van 120 skommelinge per minuut geskommel.

Deaminasie-aktiwiteit

'n Aanduiding van die deaminasie-aktiwiteit van die diatome op die verskillende aminosure en ureum is soos volg verkry :

Die lug is vooraf van ammoniak gesuiwer, deur dit deur 'n swawelsuuroplossing te borrel, waarna dit gewas is om alle suurdampe te verwyder. Hierna is die lug deur die voedingsoplossing gestuur en daarna vir die aanwesigheid van ammoniak getoets.

Statistiese ontleding van resultate

Alle resultate is statisties, volgens 'n erkende analitiese metode, ontleed. (Anderson en Bancroft, 1952.)

HOOFSTUK 2

DIE TOEGANKLIKHEID VAN AMINOSURE EN UREUM AS BRONNE VAN STIKSTOF VIR DIE DIATOOM ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA

INLEIDING

Dit gebeur dikwels dat alge met aminosure en ureum as ontbindingsprodukte van organiese materiaal in hulle natuurlike omgewing in aanraking kom. Die belangrikheid van hierdie stowwe as bronne van stikstof vir alge is welbekend. Daar is byvoorbeeld bevind dat Chlamydomonas, Chlorella en verskeie ander eensellige alge heeltemal bevredigend met ureum as die enigste stikstofbron groei. (Arnow, Oleson en Williams, 1953; Droop, 1955; Ellner en Steers, 1955; Ghosh en Burris, 1950; Ludwig, 1938; Moyse, 1956; Ryther, 1954; Sager en Granick, 1953; Samejima en Myers, 1958; Tamiya, Hase, Shibata, Mituya, Iwamura, Nihei en Sasa, 1953). Verder is bevind dat ureum ook deur sommige van die Xantophyta as 'n stikstofbron benut kan word, onder andere Tribonema aequale en Monodus subterraneus. (Belcher en Fogg, 1958; Miller en Fogg, 1958.)

Die belangrikheid van ureum vir die Chrysophyta is reeds genoem. (Droop, 1955.)

Vir die Cyanophyta is bevind dat sommige, maar nie almal van dié wat ondersoek is nie, ureum as 'n stikstofbron kan benut. (Allen, 1952; Kratz en Myers, 1955.)

Hoewel ureum deur 'n groot aantal spesies as 'n bron van stikstof benut kan word, is dit egter ook duidelik dat dit nie die geval met alle alge is nie.

Wat die aminosure betref, is bevind dat glisien 'n uiters geskikte bron van stikstof vir 'n hele aantal algsoorte is. (Algeus, 1948 a, b, c; Belcher et al., 1958; Davis et al., 1953.) Die res van die aminosure wissel aansienlik as toeganklike bronne van stikstof. (Algeus, 1949; Arnow et al., 1953; Belcher et al., 1958; Ghosh et al., 1950; Miller et al., 1958.)

DIE TOEGANKLIKHEID VAN AMINOSURE* EN UREUM AS STIKSTOF-BRONNE VIR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 1)

Proeftegnieke

In hierdie proef is 250 cm^3-nounek-erlen-meyerflesse, van watteproppe voorsien, as houers gebruik. Vir die kontrole-reeks is die volledige anorganiese voedingstofoplossing soos reeds beskryf, gebruik. Vir die verskillende aminosuur-behandelings is die nitraatstikstof in die groeimedium telkens deur 'n bepaalde aminosuur of ureum vervang. Die uiteindelike konsentrasie stikstof in die groeimedium was 18.2 mg per 1 000 cm^3. Van elke behandeling is vyf replikate opgestel. Elke fles is van 80 cm^3 voedingstofoplossing voorsien. Die pH, lig- en lugvoorsiening, asook die oorplant van die diatome, was soos reeds beskryf.

Resultate

Groei het in al die flesse voorgekom. Die proef is na 26 dae beëindig. Na ongeveer twee weke was daar reeds duidelik waarneembare verskille tussen die verskillende behandelings. 'n Opvallende eienskap van die kulture was dat die diatome op die bodem en kant van die flesse gegroei het, en nieteenstaande die feit dat hulle gereeld geskud is, het relatief min diatome vry in die oplossing voorgekom. 'n Mikroskopiese ondersoek het aan die lig gebring dat daar 'n geringe persentasie abnormale diatoomvorme aanwesig was. Dit het egter nie voorgekom asof daar enige verskille tussen die nitraatstikstof en die verskillende aminosuur- en ureumbehandelings, wat hierdie verskynsel betref, was nie. Geen bakterieë wat vry in die groeimedium voorkom, kon mikroskopies waargeneem word nie, en tensy daar bakterieë aanwesig was waarvoor die groeitoestande nie geskik was om aktiewe groei toe te laat nie, kan dié kulture as reinkulture beskou word.

Na afloop van die proef is die opbrengs in droë gewig bepaal, asook die pH van elke kultuurmedium. Die gegewens en statistiese verwerking daarvan word in Tabel 3 op bladsy 1 van die bylaag en in Figuur 3 op bladsy 17 aangebied.

Bespreking /.......

* Die aminosure vir hierdie proef asook vir latere proewe

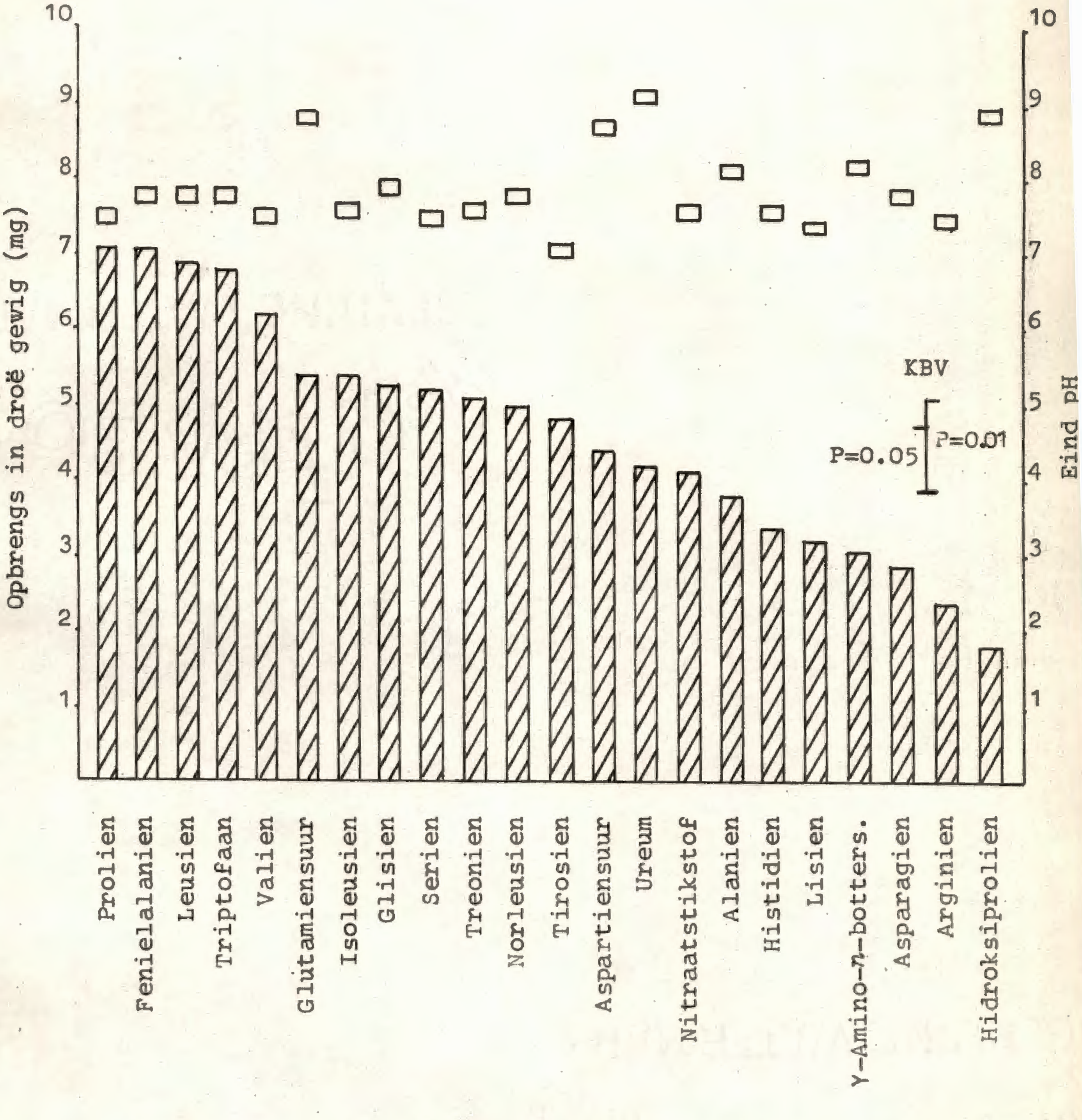


Fig. 3. Die invloed van aminosuur- en ureumstikstof op die opbrengs in droë gewig van Achnanthes pseudohungarica. Die proef het 26 dae geduur.

□ - pH ▨ - mg

<u>Bespreking en gevolgtrekking</u>

Uit die resultate blyk dit dat die aanwesigheid van die volgende aminosure in die groeimedium die opbrengs in droë gewig van die diatoom statisties hoogsbetekenisvol laat toeneem het in vergelyking met die nitraatstikstof-behandeling: fenielalanien, glisien, glutamiensuur, leusien, isoleusien, prolien, triptofaan en valien. Die aanwesigheid van serien en treonien het dit betekenisvol laat toeneem in vergelyking met die nitraatstikstof-behandeling. Tussen die opbrengs in droë gewig in die aanwesigheid van alanien, aspartiensuur, histidien, lisien, tirosien, norleusien en ureum en dié in die aanwesigheid van nitraatstikstof was daar geen beduidende verskil nie. Aangesien die aminosure die enigste bron van stikstof in die groeimedium was, kan daar uit diè resultate afgelei word dat bogenoemde aminosure en ureum as bronne van stikstof deur die diatoom benut kan word.

Die opbrengs in droë gewig van die diatoom was betekenisvol en hoogsbetekenisvol hoër in die aanwesigheid van die nitraatstikstof as in aanwesigheid van γ-amino-*n*-bottersuur, arginien, asparagien en hidroksiprolien. Veral in die geval van hidroksiprolien was die opbrengs besonder laag.

Moontlike verklarings vir die laer opbrengs in droë gewig met laasgenoemde aminosuurbehandelings is die volgende : In die eerste plek is dit moontlik dat die aminosure nie in genoegsame hoeveelhede deur die diatoom opgeneem kan word om normale groei te laat plaasvind nie. In die tweede plek is dit moontlik dat die diatoom wel die aminosure in voldoende hoeveelhede kan opneem, maar nie oor 'n doeltreffende meganisme beskik om die aminosure te deamineer of om die stikstof op een of ander wyse in 'n toeganklike vorm vir die diatoom te verander nie. In die geval van albei moontlikhede sal die lae opbrengs aan 'n stikstoftekort toegeskryf kan word.

'n Verdere/.......

'n Verdere moontlikheid is dat die aminosuurkonsentrasie, soos by dié proef gebruik, reeds sover oor die optimumkonsentrasie was dat daar swakker groei was. Die moontlikheid dat die pH van die groeimedium met verloop van tyd ongunstig geword het vir die groei van die diatoom is heelwaarskynlik nie hier van toepassing nie, aangesien die eind pH's van die verskillende behandelings nie sodanig was dat dit die laer opbrengs in droë gewig kon bewerkstellig het nie. 'n Moontlike uitsondering is egter hidroksiprolien. In die aanwesigheid van hierdie aminosuur was die opbrengs in droë gewig die laagste terwyl die eind-pH 8.9 was. Wat ook in aanmerking geneem moet word waar die invloed van aminosure op die groei van alge bepaal word, is dat die aminosure van die noodsaaklike katione in die voedingstofoplossing kan laat neerslaan en die groei dus op 'n indirekte wyse mag rem. (Hutner, Provasoli, Schatz en Haskins, 1950; Miller _et_ _al_., 1958.)

Alhoewel die opbrengs in droë gewig in die aanwesigheid van sommige aminosure laer was as dié van die nitraatstikstofbehandeling, dui die feit dat groei wel plaasgevind het, daarop dat die diatoom die aminosure tog in 'n mate as bronne van stikstof kan benut. Dit kan egter nie sonder voorbehoud aanvaar word nie; aangesien daar geen kontrole met 'n stikstofvrye groeimedium by dié proef ingesluit was nie.

Uit die resultate kan dus reeds op dié stadium afgelei word dat die diatoom oor die vermoë beskik om die meeste van die aminosure, indien nie almal nie, wat by dié proef ingesluit is, te deamineer of die stikstof op een of ander wyse toeganklik te maak. Hoewel dit heelwaarskynlik die geval is, is dit egter nie moontlik om reeds op dié stadium sonder meer te aanvaar dat die aminosure wel deur die diatoom geabsorbeer word nie. Die moontlikheid is nie uitgesluit dat ensieme deur die diatoom afgeskei word wat die aminosure deamineer en dat slegs die ammoniumioon geabsorbeer word nie. Hier kan na die werk van Miller (1959) verwys word wat bevind het dat _Monodus subterraneus_ 'n glutaminase afskei, wat die hidrolise van die amiedgroep van glutamien kataliseer. Die ammoniak wat op dié wyse vrygestel word, dien dan as 'n stikstofbron, terwyl

die aminostikstof/......

die aminostikstof sowel as die koolstofskelet nie vir die organisme toeganklik is nie.

Dit is ook moontlik dat bakterieë in die groeimedium die organiese stikstof in 'n vorm kon verwerk het wat vir die diatoom toeganklik is. Soos egter reeds genoem, kon geen bakterieë mikroskopies in die groeimedia waargeneem word nie, wat bewys dat indien enige bakterieë aanwesig was, die groeitoestande nie geskik was om aktiewe groei van hierdie organismes te bewerkstellig nie. Die effek van bakterieë onder dié toestande, indien enige, sou dus heelwaarskynlik nie beduidend kon gewees het nie. As verder in aanmerking geneem word dat 'n groot verskeidenheid aminosure vir die proef gebruik is, lyk dit in ieder geval nie moontlik dat bakterieë aanwesig kon gewees het sonder dat hulle in een van die groot verskeidenheid voedingstofoplossings aktief gegroei het nie.

Soos reeds genoem, het 'n hele aantal aminosure die opbrengs in droë gewig van die diatoom betekenisvol en hoogsbetekenisvol laat toeneem in vergelyking met die nitraatstikstofbehandeling. Die verskille tussen die nitraatstikstofbehandeling en sommige van die aminosuurbehandelings, asook tussen die aminosuurbehandelings onderling, kan moontlik soos volg verklaar word :

Alhoewel daar in al die behandelings dieselfde hoeveelheid stikstof in opgeloste vorm in die flesse aanwesig was, is die moontlikheid nie uitgesluit dat die aminosuurstikstof in sommige gevalle 'n meer geskikte stikstofbron as die nitraatstikstof was nie en dat dit vir die verskille in die opbrengs in droë gewig verantwoordelik was. Veral as hier in aanmerking geneem word dat die organisme in water wat hewig deur rioolafloop besoedel is, aangetref word, lyk dit moontlik.

Wat hierdie moontlikheid betref, kan die volgende hier genoem word : Soos reeds aangetoon, word ureum as 'n besonder geskikte bron van stikstof vir 'n groot verskeidenheid alge beskou. Davis et al., (1953) byvoorbeeld, het bevind dat *Chlorella* vinniger groei in die aanwesigheid van ureum as

in die/

in die aanwesigheid van nitraatstikstof. Uit die resultate blyk dit egter dat daar geen betekenisvolle verskil tussen die ureum- en nitraatstikstofbehandelings was nie. Hoewel ureum nie noodwendig 'n besonder geskikte bron van stikstof vir hierdie besondere diatoom hoef te wees nie, dui hierdie bevindings tóg daarop dat die verskille waarskynlik nie deur 'n verskil in die toeganklikheid van die stikstof van die verskillende aminosure veroorsaak is nie.

'n Verdere moontlikheid is dat die diatoom die aminosure as bronne van koolstof benut het. Hoewel daar baie noukeurig daarop gelet is om die watteproppe nie te styf op te sit nie, bestaan daar geen bewyse dat die diffusie van lug deur die watteproppe voldoende was nie en is dit baie moontlik dat daar 'n koolsuurgastekort in die groeimedium kon ontstaan het. Indien die diatome wel die aminosure as bronne van koolstof kan benut, is dit te verstaan dat die nitraatstikstofbehandeling, waar geen organiese koolstof in die groeimedium aanwesig was nie, 'n veel laer opbrengs in droë gewig sou lewer.

'n Verdere moontlikheid is dat die diatoom die aminosure as bronne van energie benut het. Energie kan op verskeie maniere vrygestel word, byvoorbeeld tydens die oksidatiewe deaminasie van die aminosure of deurdat laasgenoemdes direk as 'n substraat vir respirasie gebruik word. Die benutting van die aminosure as bronne van energie sal veral 'n belangrike rol speel onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is. Daar bestaan geen definitiewe bewys dat lig in hierdie proef nie 'n beperkende faktor was nie.

DIE INVLOED VAN VERSKILLENDE NITRAAT- EN AMINOSUURSTIKSTOF-KONSENTRASIES OP DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 2)

Inleiding

In die hieropvolgende proewe is die diatoom by verskillende nitraatstikstof- sowel as by verskillende aminosuurstikstof-konsentrasies gekweek. Die doel hiervan was in die eerste plek om vas te stel of aminosure 'n meer toeganklike bron van

stikstof as/......

stikstof as nitraatstikstof vir die diatoom is. Verder is gehoop om te bepaal wat die maksimum aminosuurstikstofkonsentrasie is waarby die diatome gekweek kon word sonder dat die aminosure 'n remmende uitwerking op die groei van die diatoom sou hê. Aangesien die diatome in die algemeen baie gevoelig vir stikstofkonsentrasies hoër as 20 d.p.m. is, is hierdie inligting as van groot belang beskou, veral met die oog op die verdere proewe in verband met die moontlike heterotrofe voeding van die diatoom en die mate waarin die aminosure en ureum as 'n bron van koolstof benut kan word. Die aminosuurkonsentrasie, soos in die vorige proef gebruik, was baie laag en sou bogenoemde proewe aansienlik bemoeilik. Uit die resultate sou daar waarskynlik ook reeds 'n goeie aanduiding verkry kan word van die mate waarin die verskillende aminosure en ureum óf as 'n bron van koolstof, óf as 'n bron van energie benut kan word.

Proeftegnieke

As gevolg van die beperkte ruimte en apparaat was dit nie moontlik om die proef as 'n geheel te doen nie. Die invloed van die verskillende aminosure en ureum op die opbrengs in droë gewig van die diatoom sou dus nie met mekaar vergelyk kon word nie, maar slegs die invloed van die verskillende konsentrasies van 'n bepaalde aminosuur sou met mekaar vergelyk kon word. Die verskillende behandelings (verskillende konsentrasies) van 'n bepaalde aminosuur of ureum is telkens as 'n afsonderlike proef gedoen. Hoewel 'n vergelyking van die verskillende aminosure op die groei van die diatoom met mekaar van veel waarde sou wees, is dit nie as noodsaaklik beskou nie, aangesien daar reeds in die vorige proef 'n vergelykende ondersoek van die verskillende aminosure gemaak is.

Al die proewe vir die verskillende aminosure, ureum en nitraatstikstof was eenders en wel met die volgende stikstofkonsentrasies :

Behandeling	Stikstofkonsentrasie (mg N/1 000 cm^3)
1	18.2
2	28.7
3	39.2
4	49.7
5	60.2

In al die/......

In al die behandelings is die volledige anorganiese voedingsmedium, met die weglating van nitraatstikstof, gebruik. Van elke behandeling is vyf replikate opgestel. As houers is 300 cm^3-flesse, van watteproppe voorsien, gebruik. Elke fles is van 80 cm^3 voedingsoplossing voorsien. Die res van die proefprosedure was soos reeds beskryf. Vir elke proef is die stikstofbron telkens gevarieer en dieselfde stowwe as vir die vorige proef is by dié proefreeks ingesluit.

Resultate

Die resultate en statistiese verwerking daarvan word in Tabel 4 op bladsye 2 en 3 van die bylaag en Figuur 4 op bladsy 24-26 aangebied.

Bespreking en gevolgtrekking

Aangesien die moederkulture, wat vir die verskillende proewe gebruik is, van mekaar verskil het wat hulle fisiologiese toestand betref, sal 'n vergelyking van die resultate van die verskillende proewe nie baie betroubaar wees nie. Uit die resultate is dit nietemin duidelik dat die aanwesigheid van verskillende aminosure in die groeimedium die opbrengs in droë gewig verskillend beïnvloed het.

Vir die meeste aminosure was die hoër konsentrasies so ver oor die optimum dat daar swakker of haas geen groei was nie. Hidroksiprolien het 'n uiters geringe bevorderende effek op die groei van die diatoom gehad en 'n aminosuurstikstofkonsentrasie van 28.7 d.p.m. was vir die aminosuur waarskynlik reeds hoër as die optimumkonsentrasie.

Die volgende aminosure het by die volgende aminosuurstikstofkonsentrasies swakker groei van die diatoom, in vergelyking met die vorige, laer konsentrasie, wat getoets is, bewerkstellig :

39.2 d.p.m. aspartiensuur

49.7 d.p.m. alanien
γ-amino-*n*-bottersuur
arginien
norleusien
lisien

60.2 d.p.m./.......

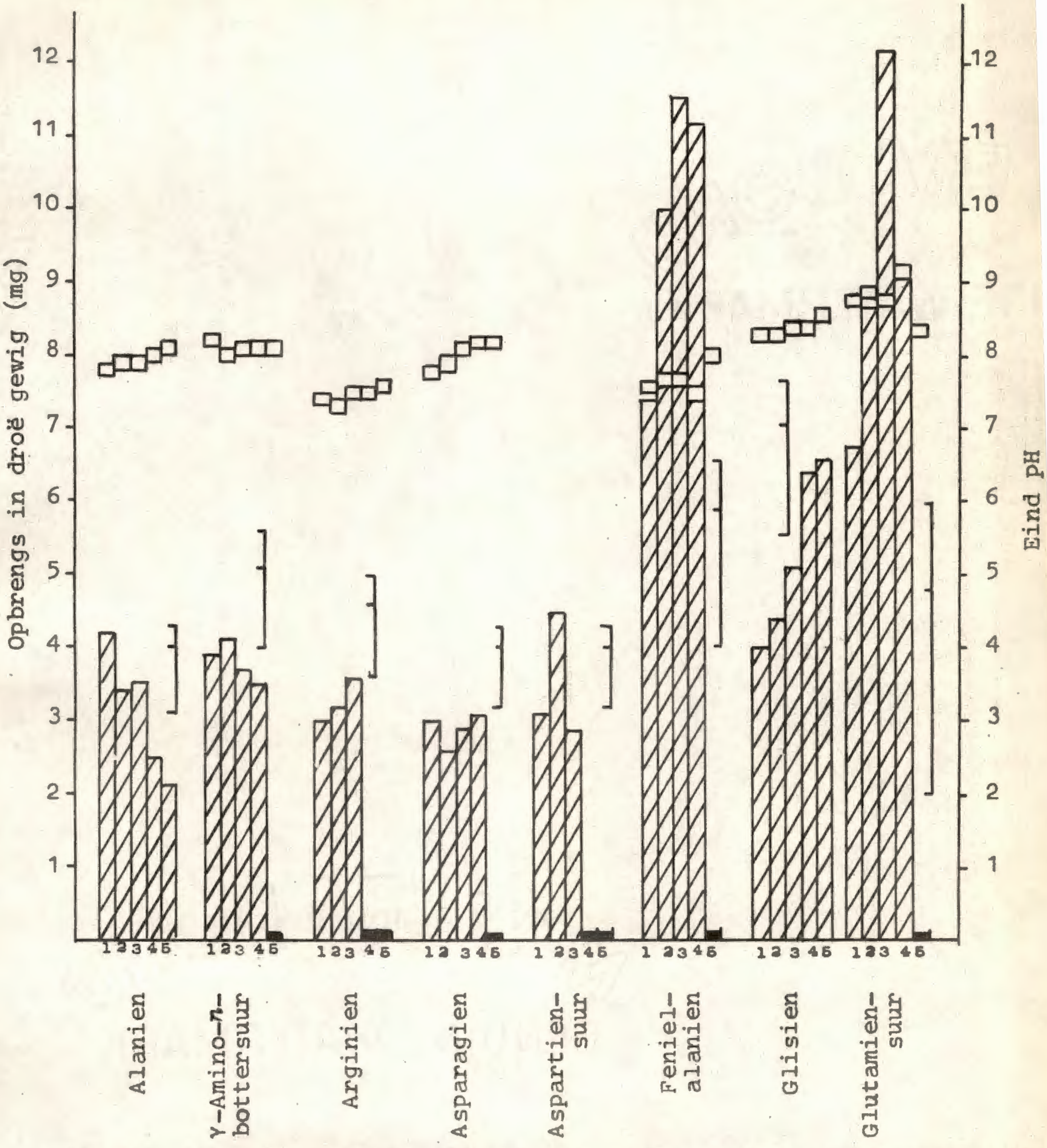


Fig. 4. Die invloed van verskillende aminosuurstikstofkonsentrasies op die opbrengs in droë gewig van <u>Achnanthes pseudohungarica</u>.

□ Eind pH

mg/28 dae

Groei wel waargeneem

Groei twyfelagtig

KBV

P=0.01

P=0.05

1. 18.2 mg N/1 000 cm^3
2. 28.7 mg N/1 000 cm^3
3. 39.2 mg N/1 000 cm^3
4. 49.7 mg N/1 000 cm^3
5. 60.2 mg N/1 000 cm^3

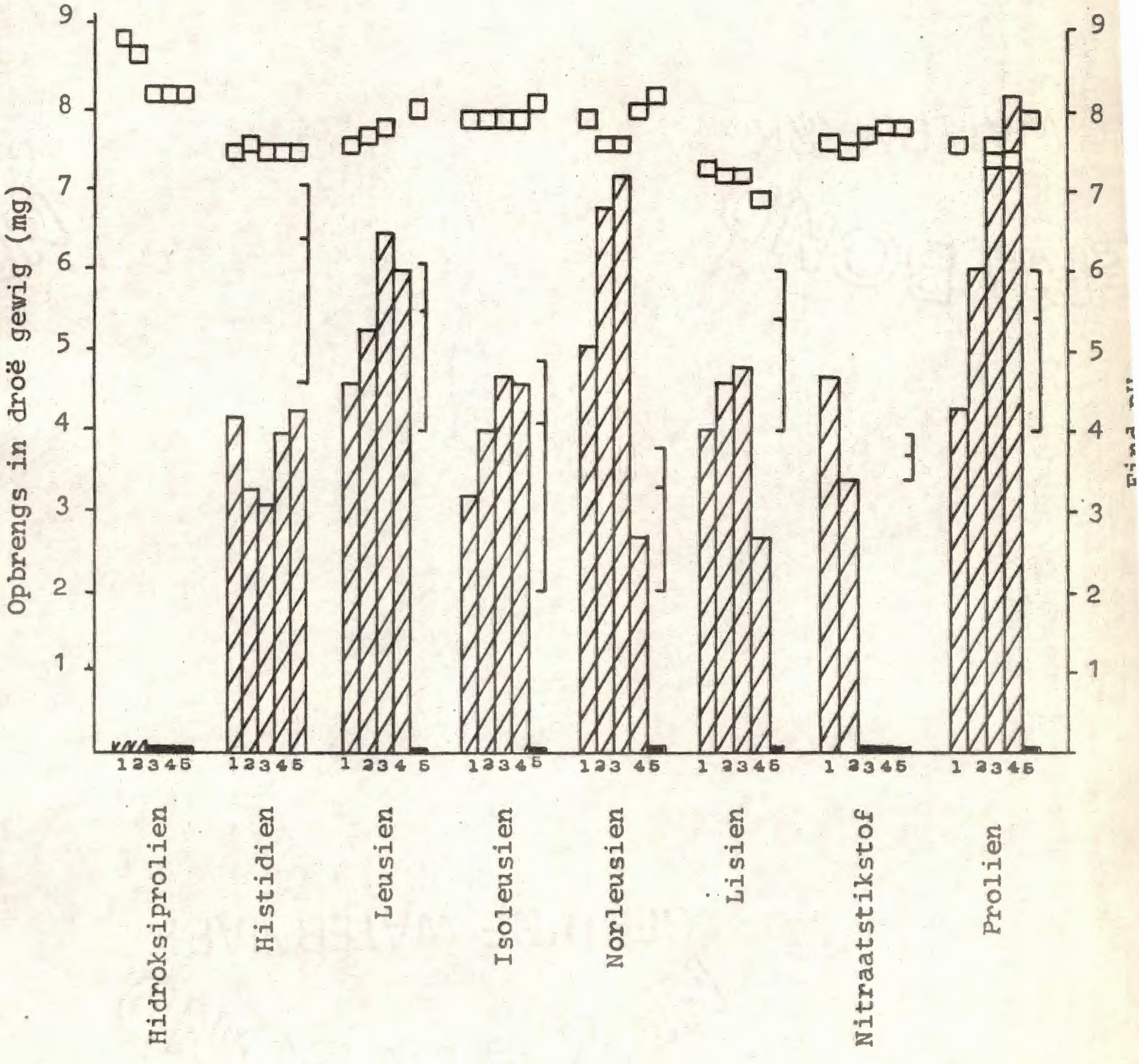


Fig. 4 (Vervolg)

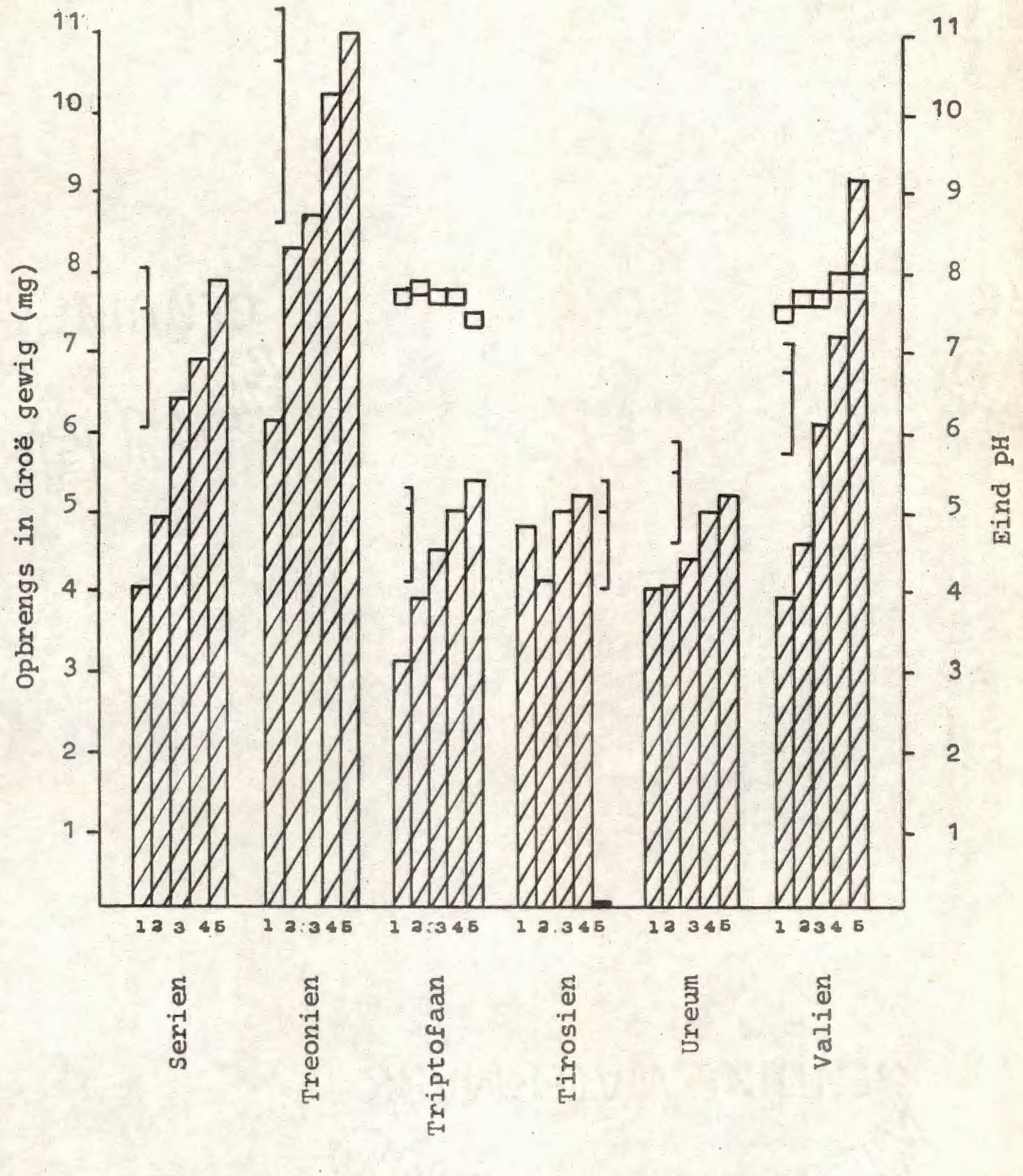


Fig. 4 (Vervolg)

60.2 d.p.m. asparagien
fenielalanien
glutamiensuur
leusien
isoleusien
prolien
tirosien

Ureum en die volgende aminosure het by 'n stikstofkonsentrasie van 60.2 d.p.m. in die groeimedium blykbaar nog geen afname in die groei van die diatoom bewerkstellig nie :

glisien
histidien
serien
treonien
triptofaan
valien

In die vorige proef is bevind dat die opbrengs in droë gewig in die aanwesigheid van γ-amino-*n*-bottersuur, arginien en asparagien as die enigste stikstofbron in die groeimedium betekenisvol en hoogsbetekenisvol laer was as dié van die nitraatstikstofbehandeling. Aangesien hierdie aminosure blykbaar eers by 'n aminosuurstikstofkonsentrasie van 49.7 d.p.m. die optimumkonsentrasie oorskry het, wil dit voorkom asof die laer opbrengs, in vergelyking met nitraatstikstof, soos in die vorige proef waargeneem, daaraan toegeskryf moet word dat die aminosure minder toeganklike bronne van stikstof as nitraatstikstof is.

In die geval van glisien, glutamiensuur, histidien, prolien, serien, treonien, ureum en valien is baie duidelik waargeneem dat die meeste groei aanvanklik by die laer konsentrasies voorgekom het en dat meer aktiewe groei eers na verloop van tyd by die hoër konsentrasies plaasgevind het. In die geval van ureum is bevind dat groei by al die behandelings aanvanklik baie stadig was.

'n Moontlike/......

ʼn Moontlike verklaring vir hierdie waarnemings is dat die hoër aminosuurkonsentrasies aanvanklik ongunstig vir die groei van die diatoom was, maar dat die diatoom hom met verloop van tyd by dié ongunstige toestande aangepas het. Veral in die geval van ureum lyk dit baie moontlik, aangesien daar na ʼn geruime tyd ʼn skielike toename in groei by al die behandelings was. Hier wil dit egter voorkom asof die diatoom hom by al die verskillende ureumkonsentrasies moes aanpas.

Dit is egter ook moontlik dat die diatoom hom nie werklik by die ongunstige konsentrasies aanpas nie, maar dat die konsentrasie van ʼn bepaalde aminosuur geleidelik afneem as gevolg van die metaboliese aktiwiteite van die diatoom. Onder dié toestande sal die kultuurmedium dus geleidelik meer gunstig word vir die groei van die diatoom. Indien dit wel die geval sou wees, sou die aanwesigheid van ander mikroörganismes (bakterieë) wat deur hul aktiwiteite die aminosuurkonsentrasie kan verlaag en dus meer gunstige toestande vir die diatoom skep, baie belangrik wees en sou dit die betroubaarheid van bogenoemde resultate sterk in gedrang bring. In dié verband kan net genoem word dat ʼn verteenwoordigende getal van die kulture mikroskopies ondersoek is en geen bakterieë wat vry in die kultuurmedium voorkom, waargeneem is nie, wat daarop dui dat daar óf hoegenaamd geen bakterieë aanwesig was óf in elk geval geen bakterieë wat aktief onder dié toestande kon groei nie. Indien bakterieë dus aanwesig sou wees, is dit onwaarskynlik dat hulle onder diè toestande enige noemenswaardige invloed op die groei van die diatoom kon gehad het.

Uit die resultate blyk dit dat die swakker groei van die diatoom, wat by die hoër konsentrasies waargeneem is, nie in alle gevalle dieselfde patroon gevolg het nie. In sommige van die proewe is vasgestel dat die groei geleidelik afneem met toename in konsentrasie van die aminosure. ʼn Goeie voorbeeld hiervan is alanien. By ʼn hele aantal proewe is egter bevind dat die groei na die optimumkonsentrasie skerp afneem. ʼn Goeie voorbeeld hiervan is fenielalanien. By ʼn konsentrasie van 49.7 d.p.m. N was die opbrengs in droë

gewig in /.......

gewig in aanwesigheid van fenielalanien 11 mg, terwyl daar by 'n konsentrasie van 60.2 d.p.m. N haas geen groei was nie.

Uit die gegewens is dit nie moontlik om te bepaal of die afname in groei by die hoër konsentrasies toegeskryf moet word aan 'n direkte toksiese werking op die diatoom self en of dit die gevolg is van 'n ongunstige effek op die groeimedium, byvoorbeeld deurdat die aminosuur sekere katione, wat vir groei benodig word, laat neerslaan het nie.

Uit die pH-gegewens kan daar nie veel afleidings gemaak word nie. In die algemeen was die eind-pH nie baie verskillend van die aanvanklike pH nie. 'n Moontlike verklaring hiervoor is dat die opbrengs in droë gewig per fles baie laag was in vergelyking met die volume van die voedingsoplossing. In die meeste gevalle is die pH effens verlaag, terwyl die eind-pH in aanwesigheid van glutamiensuur, glisien en hidroksiprolien hoër was as die aanvangs-pH. In sommige gevalle is bevind dat die eind-pH, waar die opbrengs in droë gewig die hoogste was, minder van die aanvangs-pH verskil het as by die konsentrasies waar daar 'n laer opbrengs in droë gewig was. Hierdie resultate is in teenstelling met wat verwag is, naamlik, dat meer aktiewe groei met groter veranderinge in pH gepaard sal gaan as die gevalle waar die groei minder aktief is. 'n Moontlike verklaring vir hierdie gevalle kan wees dat 'n vinnige verskuiwing van die pH plaasgevind het wat die groei nadelig beïnvloed het.

Ureum, fenielalanien, glisien, glutamiensuur, leusien, norleusien, prolien, serien, treonien, triptofaan en valien het met die verhoging van die konsentrasie in die groeimedium die opbrengs in droë gewig betekenisvol en hoogsbetekenisvol laat toeneem. Die res van die aminosure, asook nitraatstikstof, het met die verhoging in die konsentrasie daarvan in die groeimedium, geen betekenisvolle toename van die opbrengs in droë gewig bewerkstellig nie.

By 'n nitraatstikstofkonsentrasie van 28.7 d.p.m. was die opbrengs in droë gewig reeds hoogsbetekenisvol laer as by 'n

konsentrasie/.......

konsentrasie van 18.2 d.p.m. Hierdie verlaging van die opbrengs in droë gewig kon moontlik veroorsaak word deur die verhoogde nitraatinhoud van die groeimedium. Dit kan egter ook deur die verhoging in konsentrasie van die ander ione wat saam met nitraat toegevoeg word, byvoorbeeld kalsium en kalium, veroorsaak word. As gevolg hiervan kan hierdie resultate nie as 'n finale bewys dien dat die verhoogde groei in die aanwesigheid van sommige van die aminosure nie daaraan toegeskryf kan word dat die aminosuurstikstof in sommige gevalle meer toeganklik was vir die diatoom as die nitraatstikstof nie. Sommige van die aminosure wat blykbaar as bronne van stikstof deur die diatoom benut kan word, het met die verhoging van die konsentrasie daarvan in die groeimedium geen betekenisvolle toename in die opbrengs in droë gewig bewerkstellig nie. As die verhoogde opbrengs in droë gewig as gevolg van die verhoogde aminosuurinhoud van die groeimedium vir sommige van die aminosure aan 'n beter stikstofversorging toegeskryf kan word, sou 'n mens verwag dat al die aminosure wat deur die diatoom as bronne van stikstof benut kan word, die opbrengs in droë gewig sal laat toeneem, met die toename in die konsentrasie daarvan in die groeimedium. Die feit dat dit nie die geval was nie, dui dus daarop dat die stikstof onder dié toestande heelwaarskynlik in geeneen van die behandelings 'n beperkende faktor was nie.

Daar bestaan op hierdie stadium dus rede om te vermoed dat die verhoogde produksie in aanwesigheid van sekere aminosure moontlik daaraan toegeskryf moet word dat hierdie aminosure benewens stikstofvoorsiening ook as bronne van koolstof en/of energie kan dien.

HOOFSTUK 3

DIE TOEGANKLIKHEID VAN VERSKEIE ORGANIESE STOWWE AS BRONNE VAN KOOLSTOF EN ENERGIE VIR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA, NITZSCHIA PALEA EN DIE SCENEDESMUS-SPESIE

INLEIDING

Wat die heterotrofe groei van alge betref is daar oorvloedige getuienis dat enige tussenproduk van enige belangrike biochemiese proses nie noodwendig fotosintese kan vervang nie. Enkele voorbeelde om hierdie verskynsel te illustreer, word in Tabel 5 aangebied.

TABEL 5

Die vermoë van 'n aantal Chlorella-spesies, 'n Scenedesmus-spesie en Prototheca zopfii, om heterotroof op 'n aantal suikers te groei :

Suikers	1 Chlorella vulgaris	2 Chlorella pyrenoidosa	2 Chlorella ellipsoidea	2 Scenedesmus-spesie	3 Prototheca zopfii
Glukose	+	+	+	+	+
Fruktose	+	?	?	+	+
Galaktose	+	+	+	+	+
Mannose	O	O	O	+	+
Laktose	+	O	O	+	O
Maltose	O	?	?	+	O
Sukrose	O	O	O	O	O
Sellobiose	+	O	O	O	

1. Neish, (1951)
2. Samejima et al., (1958)
3. Barker, (1935)

Al vyf/......

Al vyf spesies kan heterotroof op glukose en galaktose groei, terwyl slegs die Scenedesmus-spesie en Chlorella vulgaris heterotroof op disakkariede kan groei. Hier kan ook gemeld word dat Finkle et al., (1950) bevind het dat 'n sekere variëteit van Chlorella vulgaris nie heterotroof op glukose kan groei nie.

Belcher et al., (1958) het bevind dat Tribonema aequale heterotroof op glukose en sukrose kan groei, terwyl Tribonema minus net op glukose heterotroof kan groei.

Wat diatome betref, het Lewin et al., (1960) bevind dat van die 44 diatoom-isolate wat getoets is, slegs 26 in die aanwesigheid van glukose in die donker gegroei het. Geeneen van die isolate kon heterotroof op galaktose groei nie.

Uit die voorafgaande is dit duidelik dat alge, wat hulle voeding betref, wissel van volkome outotrofe organismes tot organismes wat heterotroof op 'n groot verskeidenheid organiese stowwe kan groei.

In die hieropvolgende proewe is die vermoë van Achnanthes pseudohungarica, Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie om heterotroof op 'n aantal organiese substrate te groei, bepaal. Soos reeds genoem, was die ondersoek aanvanklik op die diatoom Achnanthes pseudohungarica toegespits. Om die betroubaarheid van die afleidings wat uit die resultate van sommige proewe gemaak is, te kan bepaal, was dit egter nodig om sekere proewe met ander proeforganismes te herhaal. Om 'n vergelykende ondersoek te kan maak sou die organismes wat vir dié doel gebruik word, egter bepaalde eienskappe moet hê veral met betrekking tot hulle voeding op organiese stowwe. Soos later aangetoon sal word, was die diatoom Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie besonder geskik vir dié doel.

Die vermoë/......

Die vermoë van alge om organiese stowwe as bronne van energie en koolstof te benut, kan bepaal word deur die organismes onder toestande te kweek waar fotosintese nie kan plaasvind nie, soos byvoorbeeld in die afwesigheid van lig of koolsuurgas. In die afwesigheid van lig kan klaarblyklik 'n goeie aanduiding verkry word van die vermoë van 'n organisme om 'n bepaalde stof as 'n bron van energie te benut.

Deur die organisme in die aanwesigheid van 'n bepaalde organiese stof, byvoorbeeld 'n aminosuur of ureum, in afwesigheid van CO_2 te kweek, kan 'n goeie aanduiding verkry word van die toeganklikheid van die koolstof van die verbindings vir die organisme. Aangesien CO_2 deur respirasie uit die betrokke verbindings vrygestel word en fotosintese dus wel onder dié toestande kan plaasvind, is dit nie moontlik om hieruit enige afleidings te maak van die toeganklikheid van dié stowwe as bronne van energie vir die organisme nie of van die vermoë van die organisme om fotosintese met chemosintese aan te vul nie.

DIE TOEGANKLIKHEID VAN AMINOSURE EN UREUM AS BRONNE VAN ENERGIE EN KOOLSTOF VIR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEFREEKS)

INLEIDING

Die feit dat die aanwesigheid van aminosure in die groeimedium die opbrengs in droë gewig van *Achnanthes pseudohungarica* in vergelyking met 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing laat toeneem het, dui, soos reeds genoem, daarop dat die diatoom die stowwe as bronne van koolstof en/of energie mag benut. In die hieropvolgende proewe word hierdie moontlikhede ondersoek.

DIE VERMOË VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA OM HETEROTROOF OP AMINOSURE EN UREUM TE GROEI (PROEF NR. 3)

Proeftegnieke

Vir die doel van die proef was dit nodig om die diatoom in die aanwesigheid van 'n bepaalde aminosuur of ureum in die groeimedium in die algehele afwesigheid van lig te kweek. Die volledige anorganiese voedingsoplossing, soos reeds beskryf, is gebruik, behalwe dat die nitraatstikstof telkens deur 'n bepaalde aminosuur vervang is. Van elke aminosuur is drie flesse onder normale ligtoestande en drie flesse in die donker gehou. Die hoeveelheid van 'n bepaalde aminosuur wat by die groeimedium gevoeg is, was verskillend vir die verskillende aminosure en vir 'n bepaalde aminosuur, was dit die konsentrasie wat in die vorige proefreeks die hoogste opbrengs in droë gewig bewerkstellig het. Met die uitsondering van hidroksiprolien wat weggelaat is, is dieselfde stowwe as vir die vorige proef by dié proef ingesluit. As kontrole is kulture in drie flesse met 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing in die donker gehou terwyl drie flesse onder normale ligtoestande gehou is. Die flesse was van watteproppe voorsien. Die pH- en ligvoorsiening was soos reeds beskryf.

Resultate en bespreking

Die proef is na 33 dae beëindig. As gevolg van die feit dat daar in die geval van die diatome wat in die donker gekweek is, geen waarneembare groei was nie, is die inhoud van die flesse slegs mikroskopies ondersoek. Daar kon dus slegs vasgestel word of groei enigsins in die donker plaasgevind het of nie.

Die diatome wat onder normale ligtoestande gekweek is, het normaal gegroei. Uit die mikroskopiese ondersoek het dit verder baie duidelik geblyk dat die diatoom nie oor die vermoë beskik om heterotroof op aminosure en ureum te groei nie.

DIE TOEGANKLIKHEID/......

DIE TOEGANKLIKHEID VAN AMINOSURE EN UREUM AS ENIGSTE BRONNE VAN KOOLSTOF VIR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 4)

Proeftegnieke

In die proef is die diatoom in die aanwesigheid van die verskillende aminosure en ureum in die groeimedium en in die gelyktydige afwesigheid van CO_2 onder normale ligtoestande gekweek.

Net soos in die vorige proef is die volledige anorganiese voedingsmedium gebruik, behalwe dat die nitraatstikstof telkens in die aanwesigheid van 'n bepaalde aminosuur of ureum weggelaat is.

As houers is 300 cm^3-erlenmeyerflesse gebruik. Elke erlenmeyerfles is van 'n rubberprop met twee openinge daarin, voorsien. Deur die een opening het 'n afleibuis gegaan waarmee lug deur die groeimedium geborrel is om deur die tweede opening te ontsnap. Vir elke behandeling is vyf replikate opgestel. Die flesse van 'n bepaalde behandeling is deur middel van T-stukke parallel met mekaar verbind. Die lug is van CO_2 bevry deur dit deur 'n gekonsentreerde oplossing KOH te borrel.

Aanvanklik was die deurborreling van lug baie heftig sodat soveel moontlik van die CO_2 wat in die groeimedium opgelos was, daaruit verwyder kon word. Daarna het die lugdeurborreling meer langsaam geskied.

In 'n steekproef wat vooraf uitgevoer is, is bevind dat indien die heftige deurborreling van lug tydens die volle duur van die proef voortduur, 'n uiters lae opbrengs verkry word.

Elke fles is van 200 cm^3 voedingsoplossing voorsien. Die groter hoeveelheid voedingsoplossing per fles kon in die

proef gebruik/.....

proef gebruik word, aangesien lug (suurstof) hier nie 'n beperkende faktor sou wees nie. Die ligvoorsiening en pH was soos reeds beskryf.

Die volgende stowwe (behandelings) is by dié proef ingesluit :

fenielalanien	prolien
glutamiensuur	serien
leusien	treonien
isoleusien	triptofaan
norleusien	valien
	ureum

As kontrole is nitraatstikstof instede van aminosuurstikstof gebruik. Die konsentrasie nitraatstikstof in die groeimedium was 18.2 d.p.m., terwyl die aminosuurstikstof vir die verskillende behandelings 28.3 d.p.m. was. Die laer stikstofkonsentrasie in die kontrolebehandeling is noodsaaklik geag na aanleiding van die bevinding dat nitraatstikstof by 'n konsentrasie van 28.3 d.p.m. reeds die optimumkonsentrasie vir die groei van die diatoom oorskry.

Resultate

In die kontrolemedium waar daar geen organiese stof in die groeimedium aanwesig was nie, was daar geen waarneembare tekens van groei nie. Daar was duidelik waarneembare verskille tussen die verskillende behandelings.

Die proef is na 34 dae beëindig. Vir die aminosuurbehandelings is die opbrengs in droë gewig bepaal, terwyl die inhoud van die flesse van die ureum- en nitraatstikstofbehandelings slegs mikroskopies ondersoek is. Die resultate en die statistiese verwerking daarvan word in Tabel 6 op bladsy 4 van die bylaag en in Figuur 5 op bladsy 37 aangebied.

Bespreking en/.......

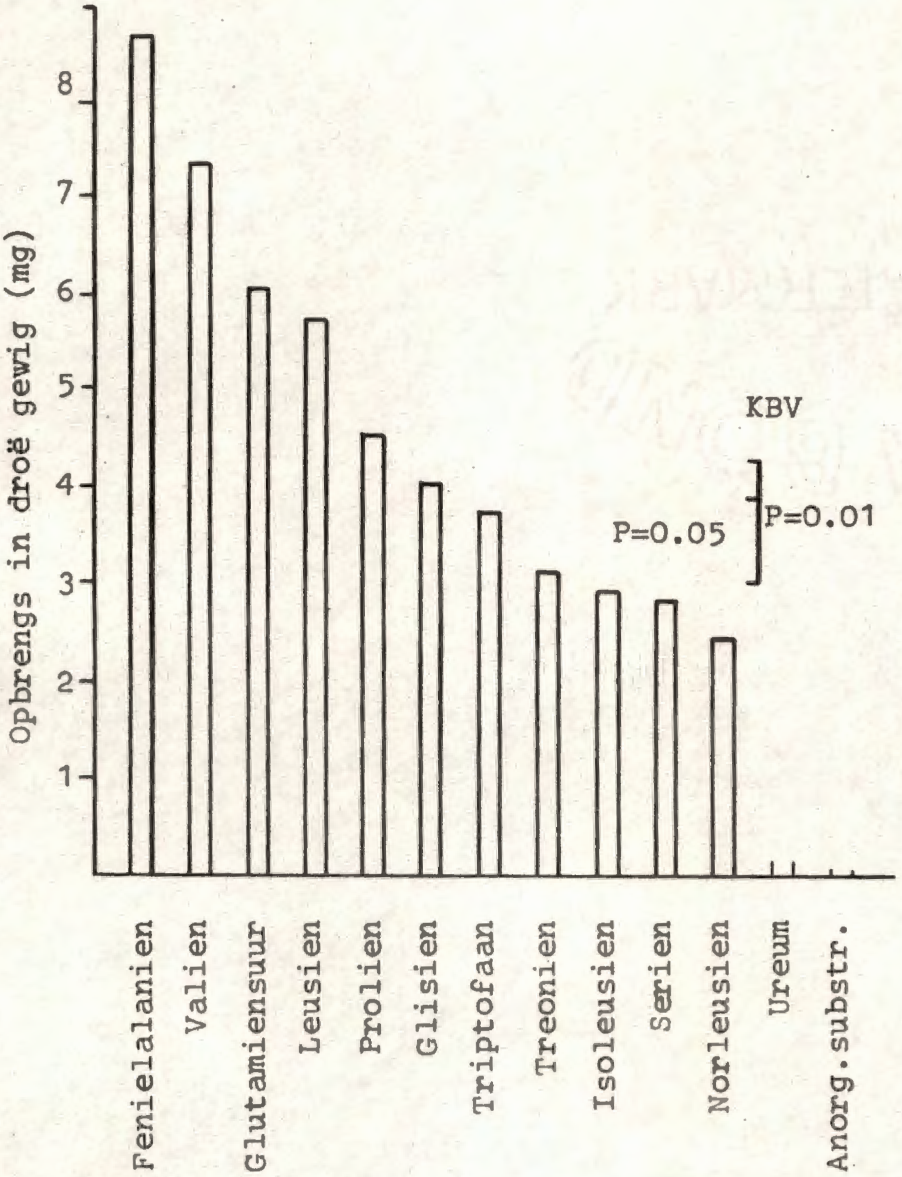


Fig. 5. Die toeganklikheid van aminosuur- en ureumkoolstof vir *Achnanthes pseudohungarica* soos gemeet aan die opbrengs in droë gewig. Die proef het 34 dae geduur.

Bespreking en gevolgtrekking

Die feit dat die groei in die geval van die kontrolebehandeling uiters gering was, en moontlike tekens daarvan slegs mikroskopies waargeneem kon word, bewys dat die verwydering van CO_2 doeltreffend was.

Uit die resultate blyk dit dat al die aminosure waarvoor daar getoets is, die groei van die diatoom in die afwesigheid van CO_2 kon laat plaasvind. Uit dié gegewens kan dus afgelei word dat die koolstof van al die stowwe waarvoor daar getoets is, vir die diatoom toeganklik is. Hoewel daar in die geval van ureum geen droë gewigsbepaling gedoen is nie, het 'n mikroskopiese ondersoek van die groeimedium aan die lig gebring dat groei wel plaasgevind het.

Dit blyk verder uit die resultate dat die opbrengs in droë gewig in die aanwesigheid van die verskillende aminosure hoogsbetekenisvol van mekaar verskil het. 'n Moontlike verklaring vir hierdie verskille is die feit dat die hoeveelheid koolstof per fles vir die verskillende behandelings verskil het as gevolg van die verskil in molekulêre gewig van die verskillende aminosure en ureum. Uit die opbrengs in droë gewig, asook deur die opbrengs in droë gewig uit te druk as 'n persentasie van die hoeveelheid koolstof per fles toegevoeg, is dit egter duidelik dat die verskille tussen die verskillende behandelings nie net toegeskryf kan word aan die feit dat die koolstofinhoud per fles vir die verskillende behandelings verskil het nie.

So byvoorbeeld was die opbrengs in droë gewig in die aanwesigheid van glisien hoogsbetekenisvol hoër as dié in die aanwesigheid van onderskeidelik isoleusien, norleusien, treonien en serien wat al vier 'n aansienlik hoër molekulêre gewig as glisien het. 'n Verdere voorbeeld is die opbrengs in droë gewig in die aanwesigheid van valien, wat hoogsbetekenis-

vol hoër/.......

vol hoër was as dié in die aanwesigheid van 'n hele aantal aminosure met hoër molekulêre gewigte as valien.

Deur die opbrengs in droë gewig uit te druk as 'n persentasie van die hoeveelheid koolstof (mg) per fles toegedien, blyk dit dat 'n hoër persentasie van byvoorbeeld die fenielalanienkoolstof geassimileer is as van die norleusien- en isoleusienkoolstof terwyl albei aminosure 'n laer molekulêre gewig as fenielalanien het.

Uit die opbrengs in droë gewig blyk dit ook dat in alle gevalle slegs 'n baie lae persentasie van die toegevoegde koolstof geassimileer is. Die algemene opvatting (Myers, 1962) is dat daar uit 0.5 mg koolstof ongeveer 1 mg plantmateriaal vervaardig kan word. Op dié basis bereken, kon die hoogste opbrengs in droë gewig (fenielalanienbehandeling, 8.68 mg droë stof) verkry word, al sou slegs 1 koolstofatoom per aminosuurmolekuul gebruik word.

Uit dié resultate is dit dus duidelik dat die aminosure en ureum aansienlik van mekaar verskil wat hulle toeganklikheid as bronne van koolstof vir die diatoom betref.

Die aminosure en ureum kan op twee moontlike maniere deur die diatoom as bron van koolstof benut word. In die eerste plek kan die verskillende aminosure en ureum direk geassimileer word in die sintese van selmateriaal. Tweedens kan die verskillende organiese verbindings eers tot CO_2 geoksideer word wat dan fotosinteties geassimileer word. Indien daar 'n direkte assimilasie van die organiese verbindings sou plaasvind, kan verwag word dat albei prosesse hierby betrokke sal wees. Uit die beskikbare gegewens is dit egter moeilik om enige afleidings in dié verband te maak.

Die feit dat nie een van die stowwe heterotrofe groei by die diatoom kan bewerkstellig nie, tesame met die bevinding van die steekproef wat vooraf uitgevoer is, naamlik dat indien daar voortdurend 'n heftige deurborreling van lug is, 'n besonder

lae opbrengs/.......

lae opbrengs verkry word, dui daarop dat die assimilasie van koolstof blykbaar fotosinteties geskied het. 'n Moontlike verklaring vir die resultate van genoemde steekproef sou dan wees dat die vrygestelde CO_2 so vinnig deur die lugstroom tydens 'n heftige deurborreling verwyder word dat dit moeilik fotosinteties geassimileer kan word.

As daar in aanmerking geneem word dat die fotosintetiese assimilasie van koolstof soveel vinniger plaasvind as die vrystelling van CO_2 deur respirasie, sal dit vir die diatoom, indien assimilasie slegs fotosinteties geskied het, nodig wees om die substrate teen 'n besonder hoë tempo te oksideer ten einde genoegsame hoeveelhede CO_2 beskikbaar te stel vir sodanige assimilasie.

DIE EFFEK VAN AMINOSURE EN UREUM OP DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA ONDER TOESTANDE WAAR LIG 'N BEPERKENDE FAKTOR IS (PROEF NR. 5)

Inleiding

Die onvermoë van 'n organisme om heterotroof op 'n organiese verbinding te groei, kan deur verskeie faktore veroorsaak word. Onder andere kan dit gebeur dat 'n organisme 'n sekere stof as 'n bron van energie kan benut, maar dat aktiewe groei van die organisme slegs in die aanwesigheid van lig kan plaasvind deurdat óf 'n produk van fotosintese óf een of ander fotochemiese reaksie vir groei 'n vereiste is. (Lewin, 1954; Kandler, 1954; Finkle *et al.*, 1950; Killam *et al.*, 1956.)

Killam *et al.*, (1956) het byvoorbeeld bevind dat die Emersonvariëteit van *Chlorella vulgaris* baie stadig in die donker in die aanwesigheid van glukose groei. Indien die organisme egter aan katalitiese hoeveelhede lig wat geen groei in afwesigheid van glukose bewerkstellig nie, blootgestel word, is daar 'n drie- na viervoudige toename in die groeitempo.

In die lig/......

In die lig van bogenoemde kan daar dus nie uit die bevinding dat <u>Achnanthes pseudohungarica</u> nie heterotroof op organiese substrate kan groei nie afgelei word dat die stowwe nie deur die organisme geassimileer word nie. Daarenteen kan daar nie uit die bevinding dat sekere organiese stowwe vir die organisme in die lig as enigste bronne van koolstof toeganklik is afgelei word dat diè stowwe direk as selmateriaal geassimileer word nie. Soos reeds genoem, kan die stowwe ook geassimileer word deur eers na CO_2 geoksideer te word wat dan fotosinteties vasgelê word.

In hierdie proef word die moontlikheid dat die diatoom fotosintese, in die aanwesigheid van aminosure, met chemosintese kan aanvul, ondersoek.

<u>Proeftegnieke</u>

Vir die doel van die proef sou dit nodig wees om die diatoom onder toestande te kweek waar lig 'n beperkende faktor is, maar waar groei in 'n suiwer anorganiese voedingsmedium nogtans kan plaasvind.

Aangesien energie in die kulture wat onder sulke toestande gekweek word, die beperkende faktor sal wees, behoort organiese stowwe, wat in die groeimedium aanwesig is, indien hulle direk as selmateriaal deur die organisme geassimileer kan word, beslis 'n toename in die opbrengs in droë gewig te bewerkstellig in vergelyking met 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing waar daar geen bykomstige bronne van energie aanwesig is nie.

Dit behoort dus uit hierdie resultate moontlik te wees om vas te stel of die verpligte outotrofe voeding van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> daardeur veroorsaak word dat óf een of ander fotochemiese reaksie 'n vereiste vir aktiewe groei van die organisme is, óf dat die organisme die organiese

stowwe/......

stowwe nie in genoegsame hoeveelhede direk as selmateriaal kan benut nie.

Vooraf is 'n steekproef uitgevoer waarin die diatoom in 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing onder verskillende ligtoestande gekweek is om die ligvoorsiening sodanig te kan reguleer dat lig 'n beperkende faktor sou wees.

Vir kontroledoeleindes is die volledige anorganiese voedingsoplossing gebruik. Vir die verskillende behandelings is die nitraatstikstof telkens deur 'n bepaalde organiese verbinding vervang. Dieselfde aminosure as in die vorige proef asook ureum is by dié proef ingesluit. Van elke behandeling is vyf replikate opgestel.

As houers is 300 cm^3-erlenmeyerflesse, van watteproppe voorsien, gebruik. Elke fles is van 80 cm^3 voedingsoplossing voorsien. Die pH- en lugvoorsiening was soos reeds beskryf. Om na afloop van die proef seker te kan wees dat lig wel 'n beperkende faktor was, is vyf flesse met 'n anorganiese voedingsoplossing onder normale ligtoestande gehou.

Resultate

Groei was baie stadig en geen duidelik waarneembare verskille tussen die verskillende behandelings is ooit waargeneem nie.

Die proef is na 35 dae beëindig. Na afloop van die proef is die opbrengs in droë gewig bepaal. Die resultate en die statistiese verwerking daarvan word in Tabelle 7 en 8 op bladsye 5 en 6 van die bylaag en in Figure 6 en 7 op bladsy 43 aangebied.

Bespreking en gevolgtrekking

Die opbrengs in droë gewig van die diatome wat in 'n

suiwer anorganiese/...

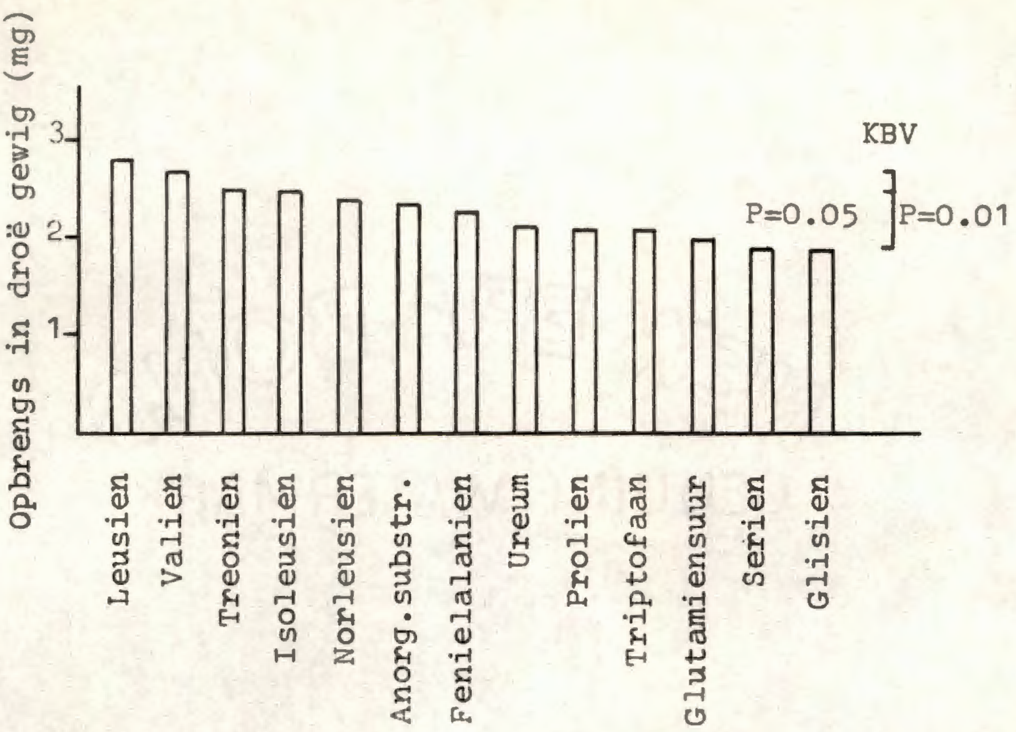


Fig. 6. Die invloed van aminosure en ureum op die opbrengs in droë gewig van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is. Die proef het 45 dae geduur.

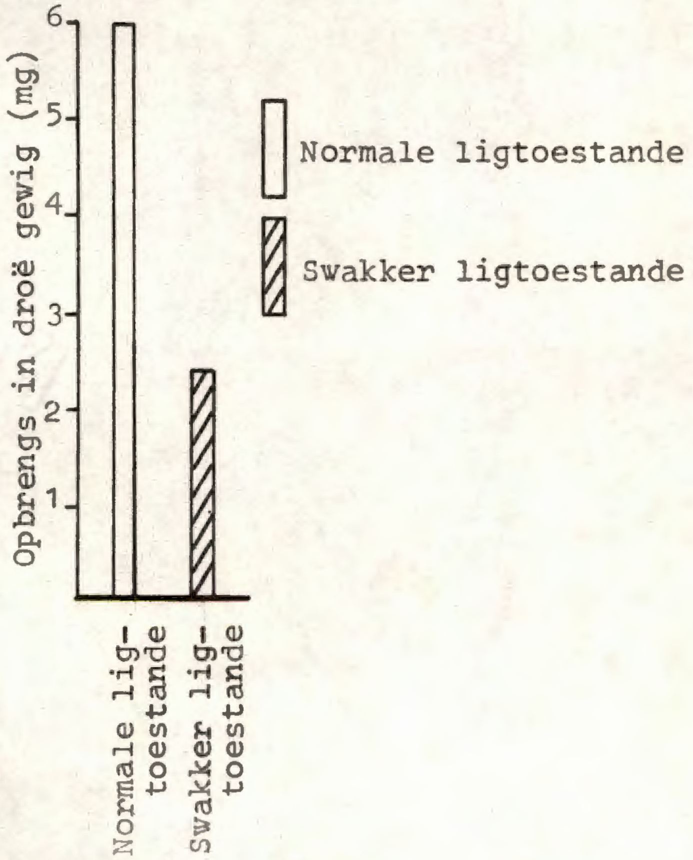


Fig. 7. Die invloed van swakker ligtoestande op die opbrengs in droë gewig van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> in 'n anorganiese voedingsoplossing. Die proef het 45 dae geduur.

suiwer anorganiese voedingsoplossing en onder normale ligtoestande gekweek is, was hoogsbetekenisvol hoër as dié wat onder die swakker ligtoestande gekweek is. Dit kan dus met sekerheid aanvaar word dat lig in laasgenoemde geval wel 'n beperkende faktor was.

Uit die resultate blyk dit verder dat die opbrengs in droë gewig vir geeneen van die behandelings betekenisvol van die van die kontrolereeks verskil het nie. Aangesien lig dié beperkende faktor was, dui hierdie resultate daarop dat die diatoom fotosintese nie met chemosintese kan aanvul indien die aminosure, waarvoor getoets is, aangebied word nie. Dit wil dus voorkom asof daar geen noemenswaardige assimilasie van die organiese stowwe deur die diatoom plaasvind nie en dat dit waarskynlik die rede vir die verpligte outotrofe voeding van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> is.

Uit die resultate blyk dit verder dat die opbrengs in droë gewig in die aanwesigheid van sommige van die aminosure, hoewel dit in geeneen van die gevalle betekenisvol van dié van die kontrolebehandeling verskil het nie, tóg betekenisvol en hoogsbetekenisvol van mekaar verskil het. Geen verklaring kan vir hierdie verskille gegee word nie.

DIE TOEGANKLIKHEID VAN SUIKERS AS BRONNE VAN KOOLSTOF EN ENERGIE VIR DIE DIATOOM ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEFREEKS)

INLEIDING

Die belangrikheid van suikers as bronne van koolstof en energie vir 'n groot verskeidenheid alge is welbekend. Veral glukose is in hierdie verband baie belangrik en is dikwels ook die enigste stof wat deur sommige alge vir heterotrofe groei gebruik kan word. Die onvermoë van <u>Achnanthes pseudohungarica</u>

om heterotroof/......

om heterotroof op aminosure en ureum te groei, is reeds bekend. Dit kan egter verwag word dat 'n organisme wat van fotosintese afhanklik is, beter daarvoor ingerig sal wees om alle nodige selbestanddele uit suikers, wat normaalweg die produkte van fotosintese is, te vervaardig as uit aminosure.

In die hieropvolgende proewe is die vermoë van die diatoom om sewe suikers as bronne van koolstof en energie te benut, ondersoek.

DIE VERMOË VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA OM HETEROTROOF OP SUIKERS TE GROEI (PROEF NR. 6)

Proeftegnieke

Vir die doel van die proef was dit nodig om die diatoom in die aanwesigheid van 'n bepaalde suiker in die groeimedium in die algehele afwesigheid van lig te kweek. Hierdie proef het ooreengestem met proef nr. 3, behalwe dat suikers instede van aminosure gebruik is en dat stikstof as nitraat toegedien is. Die volgende suikers is by dié proef ingesluit :

fruktose	maltose
galaktose	sukrose
glukose	xilose
laktose	

Die hoeveelheid van die verskillende suikers wat bygevoeg is, was sodanig dat die koolstofinhoud per fles 19.3 mg was. Die proef is na 30 dae beëindig.

Resultate en Bespreking

Na afloop van die proef is die inhoud van die verskillende flesse mikroskopies ondersoek. Geen droë gewigsbepalings is gemaak nie.

Die diatome/.......

Die diatome wat onder normale ligtoestande gekweek is, het normaal gegroei. By die flesse wat in die donker gehou is, is geen groei waargeneem nie. Uit die resultate is dit dus duidelik dat die diatoom net soos in die geval van die aminosure nie heterotroof op bogenoemde suikers kan groei nie.

DIE TOEGANKLIKHEID VAN SUIKERS AS ENIGSTE BRONNE VAN KOOLSTOF VIR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 7)

Proeftegnieke

Vir die doel van die proef is die diatoom in die lig in die aanwesigheid van die verskillende suikers in die groeimedium, maar in die algehele afwesigheid van koolsuurgas, gekweek. Hierdie proef stem ooreen met proef nr. 4 op bladsy 35, behalwe dat suikers instede van aminosure gebruik is. Dieselfde suikers as in die vorige proef is by dié proef ingesluit. Die hoeveelheid suiker per fles toegevoeg was sodanig dat die koolstofinhoud 48.4 mg koolstof per fles was. Die proef is na 38 dae beëindig.

Resultate

In die kontrolemedium, waar geen organiese stof aanwesig was nie, is geen groei waargeneem nie. In die aanwesigheid van sukrose was die groei skaars waarneembaar, terwyl groei in die geval van die laktosebehandeling slegs mikroskopies waarneembaar was. By die res van die suikers is duidelike groei waargeneem.

Vir die kontrole en laktosebehandeling is die inhoud van die flesse slegs mikroskopies ondersoek. Vir die res van die behandelings is die opbrengs in droë gewig bepaal. Die resultate en die statistiese verwerking daarvan word in Tabel 9 op bladsy 6 van die bylaag en in Figuur 8 op bladsy 47 aangebied.

Bespreking/......

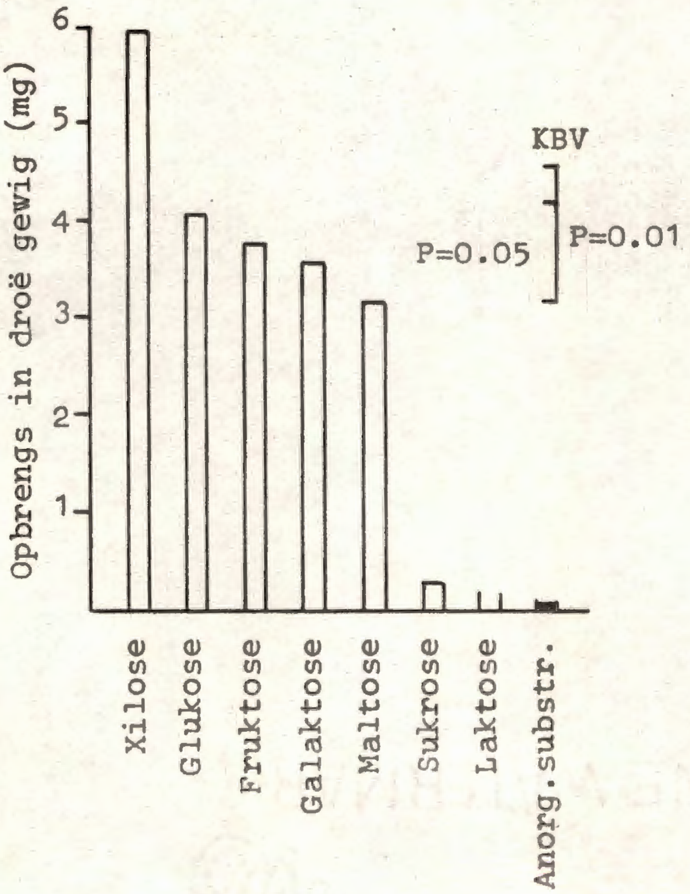


Fig. 8. Die toeganklikheid van suikers as enigste bronne van koolstof vir Achnanthes pseudohungarica soos gemeet aan die opbrengs in droë gewig. Die proef het 38 dae geduur.

Bespreking en Gevolgtrekking

Die feit dat enige moontlike tekens van groei in die kontrolereeks slegs mikroskopies waargeneem kon word, bewys dat die verwydering van koolsuurgas doeltreffend was.
Uit die resultate blyk dit dat al die suikers waarvoor daar getoets is, die groei van die diatoom in die afwesigheid van koolsuurgas en aanwesigheid van lig kon laat plaasvind.

Die opbrengs in droë gewig vir die verskillende behandelings verskil betekenisvol en hoogsbetekenisvol van mekaar. Die opbrengs in droë gewig wissel vanaf 5.98 mg (xilosebehandeling) tot 0.28 mg (sukrosebehandeling) en die laktosebehandeling waar groei slegs mikroskopies waarneembaar was.

Aangesien die hoeveelheid koolstof per fles dieselfde was vir die verskillende behandelings is dit uit hierdie resultate duidelik dat die toeganklikheid van die verskillende suikers as bronne van koolstof vir die diatoom aansienlik van mekaar verskil.

Op die basis bereken dat ongeveer 1 mg droë stof uit 0.5 mg C geproduseer word, is dit duidelik dat in alle gevalle slegs 'n baie lae persentasie van die beskikbare koolstof geassimileer is.

Uit die beskikbare gegewens is dit nie moontlik om te bepaal of die substrate direk as selmateriaal geassimileer is en of hulle eers tot CO_2 geoksideer is wat dan fotosinteties vasgelê is nie. Die feit dat nie een van die stowwe heterotrofe groei by die organisme kon bewerkstellig nie, dui egter op 'n fotosintetiese assimilasie. Soos reeds genoem, sal dit vir die organisme egter nodig wees om die suikers teen 'n redelik hoë tempo te kan oksideer indien assimilasie slegs fotosinteties geskied het.

DIE TOEGANKLIKHEID VAN ORGANIESE STOWWE AS BRONNE VAN KOOLSTOF EN ENERGIE VIR NITZSCHIA PALEA EN DIE SCENEDESMUS-SPESIE
(PROEFREEKS)

In die hieropvolgende proewe is die toeganklikheid van fenielalanien, glutamiensuur, glukose en asetaat as bronne van koolstof en energie vir Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie bepaal. Nitzschia palea is, soos vantevore reeds aangetoon, daarvoor bekend om in rioolbesoedelde water te floreer. Scenedesmus-spesies weer is algemeen bekend vir hulle vermoë om op 'n verskeidenheid organiese substrate heterotroof te groei.

Vooraf is 'n steekproef uitgevoer waarin die invloed van die aanwesigheid van asetaat, glutamiensuur, fenielalanien en glukose in die groeimedium op die O_2-opname van Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie bepaal is. Die aanwesigheid van genoemde substrate in die groeimedium het die O_2-opname van die Scenedesmus-spesie laat toeneem, terwyl slegs asetaat, glutamiensuur en fenielalanien die O_2-opname van Nitzschia palea laat toeneem het. Aangesien die aanwesigheid van glukose in die groeimedium min of geen effek op die O_2-opname van Nitzschia palea gehad het nie, is glukose vir die verdere proewe met Nitzschia palea weggelaat.

DIE TOEGANKLIKHEID VAN VERSKILLENDE KONSENTRASIES ASETAAT, FENIELALANIEN EN GLUTAMIENSUUR AS ENIGSTE BRONNE VAN KOOLSTOF VIR NITZSCHIA PALEA
(PROEF NR. 8)

Proeftegnieke

Die vermoë van Nitzschia palea om die verskillende substrate as enigste bronne van koolstof te benut, is in drie afsonderlike proewe bepaal. Vir dié proewe is van die sogenaamde geslote sisteem gebruik gemaak. Elkeen van die

proewe/.......

proewe is soos volg opgestel :

Behandeling

Anorganiese substraat (geen C in sisteem) - Kontrole
Anorganiese substraat + 15 mg C per fles
Anorganiese substraat + 22.5 mg C per fles
Anorganiese substraat + 30 mg C per fles
Anorganiese substraat (CO_2-inhoud van lug in sisteem ongeveer 2%)

Van elke behandeling is 5 replikate opgestel. As houers is 300 cm^3-flesse gebruik. Elke fles is van 100 cm^3 voedingsoplossing voorsien. Die anorganiese voedingsmedium en pH was soos reeds beskryf.

Direk na die inokulering van die flesse is die lug in elke sisteem deur 'n gekonsentreerde KOH-oplossing gesirkuleer om sodoende al die CO_2 uit die sisteem te verwyder. Hierna is die KOH-oplossing van die geslote sisteem afgesluit. Waar nodig, is die CO_2-inhoud van die sisteem op ongeveer 2% gebring. In die behandelings waar aminosure in die voedingsmedium aanwesig was, is geen anorganiese stikstof by die groeimedium gevoeg nie.

Die behandelings vir al drie proewe was dieselfde, behalwe dat daar telkens 'n ander substraat gebruik is. Die proewe is telkens na 28 dae beëindig.

Resultate

In die geval van die kontrolebehandeling is geen groei waargeneem nie en is die inhoud van die flesse slegs mikroskopies ondersoek. Vir die res van die behandelings is die opbrengs in droë gewig bepaal. Die resultate en die statistiese verwerking daarvan word in Tabel 10 op bladsy 7 van die bylaag en in Figure 9 - 11 op bladsye 51 - 53 aangebied.

Bespreking/......

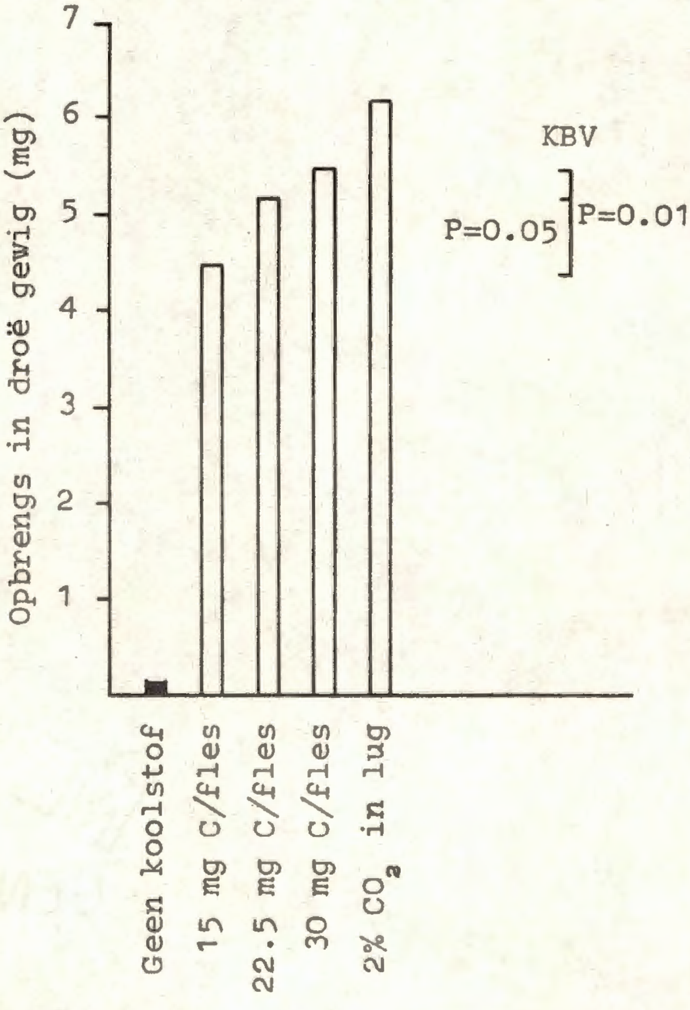


Fig. 9. Die toeganklikheid van asetaatkoolstof vir Nitzschia palea, soos gemeet aan die opbrengs in droë gewig. Die proef het 28 dae geduur.

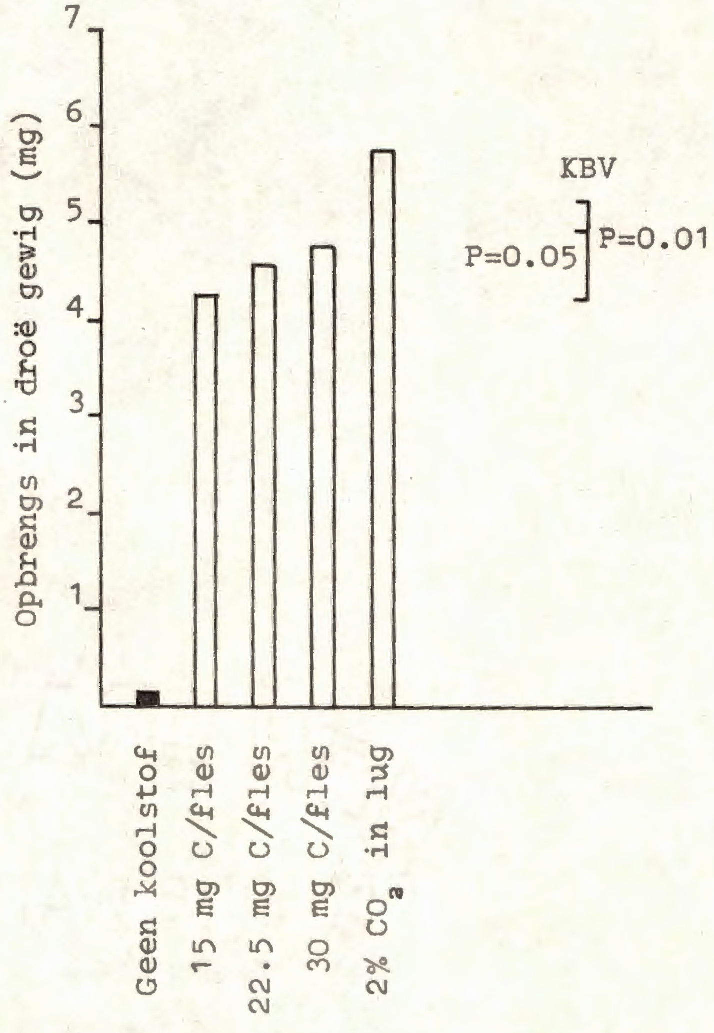


Fig. 10. Die toeganklikheid van fenielalanienkoolstof vir Nitszhia palea soos gemeet aan die opbrengs in droë gewig. Die proef het 28 dae geduur.

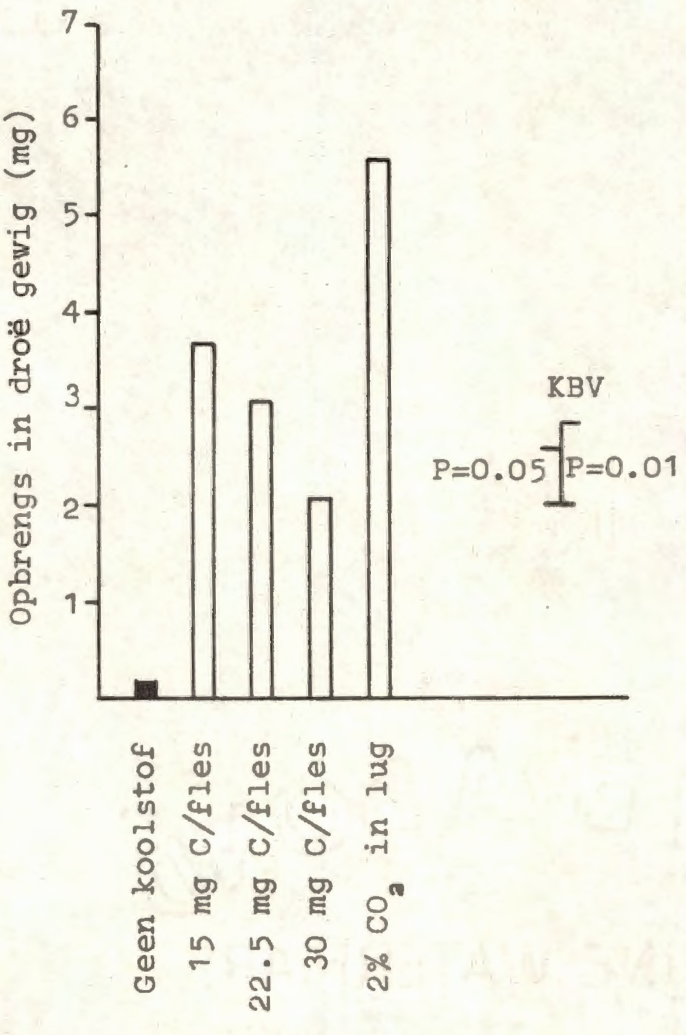


Fig. 11. Die toeganklikheid van glutamiensuurkoolstof vir Nitszhia palea soos gemeet aan die opbrengs in droë gewig. Die proef het 28 dae geduur.

Bespreking en Gevolgtrekking

In die geval van die kontrole is geen groei waargeneem nie, wat bewys dat die verwydering van CO_2 doeltreffend was. Groei is by al die ander behandelings waargeneem. Uit die resultate blyk dit dat al drie die organiese stowwe waarvoor getoets is, vir die diatoom as 'n enigste koolstofbron toeganklik is.

Uit die resultate blyk dit verder dat die opbrengs in droë gewig in die aanwesigheid van 15 mg asetaatkoolstof per fles betekenisvol laer was as in die aanwesigheid van 30 mg asetaatkoolstof per fles en hoogsbetekenisvol laer as die 2% CO_2-behandeling. In die geval van fenielalanien was daar geen betekenisvolle verskil tussen enige van die fenielalanien behandelings nie. Die opbrengs in droë gewig in aanwesigheid van fenielalanien was egter telkens hoogsbetekenisvol laer as in aanwesigheid van CO_2. In die geval van glutamiensuur was daar 'n afname in die opbrengs in droë gewig met die toename van die glutamiensuurinhoud van die groeimedium. Die opbrengs in droë gewig in die aanwesigheid van 30 mg glutamiensuurkoolstof per fles was hoogsbetekenisvol laer as vir die ander behandelings. Die opbrengs in droë gewig was vir die 2% CO_2 behandeling hoogsbetekenisvol hoër as vir die ander behandelings.

Vir al drie proewe was die opbrengs in droë gewig in die geval van die 2% CO_2-behandeling die hoogste.

Die effek van verskillende konsentrasies van die toegediende substrate was baie kleiner as wat verwag is. In die fenielalanienproef, byvoorbeeld, was daar geen beduidende verskil tussen enige van die behandelings nie. 'n Moontlike verklaring vir hierdie waarnemings is die volgende :

Vir hierdie proewe is daar, soos reeds genoem, van 'n geslote sisteem gebruik gemaak waaruit die CO_2 slegs met die aanvang van die proef verwyder is. Gevolglik was al die

koolstof/.......

koolstof wat in die vorm van organiese koolstof toegedien is, vir die organisme beskikbaar. As in aanmerking geneem word dat ongeveer 1 mg droë stof uit 0.5 mg C geproduseer kan word, en daar by die laagste konsentrasie (15 mg C per fles) 'n droë stof produksie van 30 mg dus moontlik was, terwyl die hoogste opbrengs in aanwesigheid van 'n organiese substraat 5.5 mg was, blyk dit dat slegs 'n baie lae persentasie van die koolstof per fles benut is. Aangesien koolstof selfs by die laagste konsentrasies dus nie 'n beperkende faktor kon gewees het nie, is dit te verstane waarom die effek van verskillende konsentrasies so gering was.

Waar aminosure by die groeimedium gevoeg is, is enige ander vorm van stikstof weggelaat. Dit kan uit die resultate dus afgelei word dat fenielalanien en glutamiensuur toeganklike stikstofbronne vir die diatoom is.

DIE TOEGANKLIKHEID VAN FENIELALANIEN, GLUTAMIENSUUR EN ASETAAT AS ENIGSTE BRONNE VAN ENERGIE VIR NITZSCHIA PALEA (PROEF NR. 9)

Inleiding

Dit is reeds aangetoon dat die aanwesigheid van asetaat, fenielalanien en glutamiensuur in die groeimedium die O_2-opname deur *Nitzschia palea* laat toeneem en dat al drie substrate deur die organisme as 'n enigste bron van koolstof benut kan word. In dié proef is die toeganklikheid van genoemde substrate as 'n enigste bron van energie vir die diatoom bepaal. Na aanleiding van die bevinding, onder andere, van Killam *et al.*, (1956) dat katalitiese hoeveelhede lig die vermoë van *Chlorella vulgaris* om glukose as 'n enigste bron van energie te benut, kan laat toeneem, is die effek van katalitiese hoeveelhede lig op die vermoë van *Nitzschia palea* om heterotroof te groei, ook by hierdie proef ingesluit.

Proeftegnieke

Die proef is soos volg opgestel :

Anorg. substr. + Org. Substr. Afwesigheid van lig
30 minute lig per dag
24 uur lig per dag

Die volgende substrate is by dié proef ingesluit: asetaat, fenielalanien en glutamiensuur. As kontrole-behandeling is geen organiese koolstof toegedien nie, terwyl die CO_2-konsentrasie van die sisteem op ongeveer 2% gehou is.

In die geval van die aminosure is geen anorganiese stikstof toegedien nie. Die res van die voedingsmedium was soos reeds beskryf. Elke fles is van 120 cm^3 voedingsoplossing voorsien. Die hoeveelheid van die organiese substrate toegedien, was sodanig dat die koolstof inhoud per fles 27 mg was. Van elke behandeling was daar 5 replikate. Die proef is na 32 dae beëindig.

Resultate

Vir die behandelings afwesigheid van lig en 30 minute lig per dag is na 32 dae nog geen groei waargeneem nie. Vir dié behandelings is die inhoud van die flesse na afloop van die proef slegs mikroskopies ondersoek. Vir die kulture wat onder normale ligtoestande gehou is, is 'n droë gewigsbepaling gemaak. Die resultate en die statistiese verwerking daarvan word in Tabel 11 op bladsy 8 van die bylaag aangebied.

Bespreking en Gevolgtrekking

Uit die resultate blyk dit dat Nitzschia palea nie een van die substrate waarvoor getoets is, as 'n enigste bron van energie kan benut nie en dat katalitiese hoeveelhede lig geen invloed op dié vermoë het nie.

DIE INVLOED/......

DIE INVLOED VAN ASETAAT, GLUTAMIENSUUR EN FENIELALANIEN OP DIE SELDELING VAN NITZSCHIA PALEA ONDER TOESTANDE WAAR LIG 'N BEPERKENDE FAKTOR IS (PROEF NR. 10)

Inleiding

Die bevinding dat asetaat, fenielalanien en glutamiensuur vir *Nitzschia palea* in die lig as enigste bronne van koolstof toeganklik is, dui daarop dat die organisme die stowwe tog op een of ander wyse assimileer. Die feit dat die organisme nie heterotroof op die stowwe kan groei nie en dat katalitiese hoeveelhede lig geen effek hierop het nie, dui egter daarop dat daar geen direkte assimilasie van die stowwe as selmateriaal plaasvind nie. Dit wil dus voorkom asof die organisme die stowwe in aanwesigheid van lig assimileer deurdat die organiese substrate eers tot CO_2 geoksideer word wat dan fotosinteties vasgelê word.

Die moontlikheid is egter nie uitgesluit dat die katalitiese hoeveelheid lig (30 minute per dag) soos vir die vorige proef nie voldoende was om 'n moontlike fotochemiese reaksie wat vir groei 'n vereiste is, te bewerkstellig en dat 'n direkte assimilasie van die organiese stowwe wel plaasvind nie. In hierdie proef word die moontlikheid ondersoek deur die invloed van organiese stowwe op die seldeling van *Nitzschia palea* onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is, maar waar groei in 'n anorganiese voedingsoplossing nogtans kan plaasvind, te bepaal.

Om toestande te bewerkstellig waar lig 'n beperkende faktor sal wees, word die ligintensiteit sodanig verlaag dat die groei, in 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing, onder dié toestande aansienlik laer sal wees as onder normale ligtoestande. Aangesien energie in die kulture wat onder sulke toestande gekweek word, die beperkende faktor sal wees, behoort

die aanwesigheid/.......

die aanwesigheid van organiese substrate in die groeimedium, indien hulle deur die organisme direk as selmateriaal geassimileer kan word, 'n bevorderende effek op die groei van die organisme te hê. Uit gegewens op dié wyse ingewin, behoort 'n mens dus 'n goeie aanduiding te kry of 'n organisme fotosintese met chemosintese kan aanvul.

Proeftegnieke

Die proef is soos volg opgestel :

Anorg. voedingsmedium	Onder toestande
Anorg. voedingsmedium + asetaat	waar lig 'n
Anorg. voedingsmedium + glutamiensuur	beperkende faktor
Anorg. voedingsmedium + fenielalanien	is, gehou.
Anorg. voedingsmedium	Normale ligtoestande.

Die voedingsmedium was dieselfde as vir vorige proewe. Van elke behandeling is 5 replikate opgestel. As houers is proefbuise met 5 cm^3 van 'n bepaalde voedingsoplossing gebruik. Die proefbuise, wat almal identies en van watteproppe voorsien was, is skuins onder die ligte geplaas.

Op die stadium toe die proef uitgevoer is, was daar geen reinkultuurmateriaal van hierdie organisme beskikbaar nie. As gevolg hiervan is die aantal selle per cm^3 na afloop van die proef as 'n maatstaf vir groei gebruik. Die proef is na 16 dae beëindig.

Die resultate en die statistiese verwerking daarvan word in Tabel 12 op bladsy 8 van die bylaag en in Figuur 12 op bladsy 59 aangebied.

Bespreking en Gevolgtrekking

In die geval van die algselle wat onder normale ligtoestande in 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing gekweek

is/......

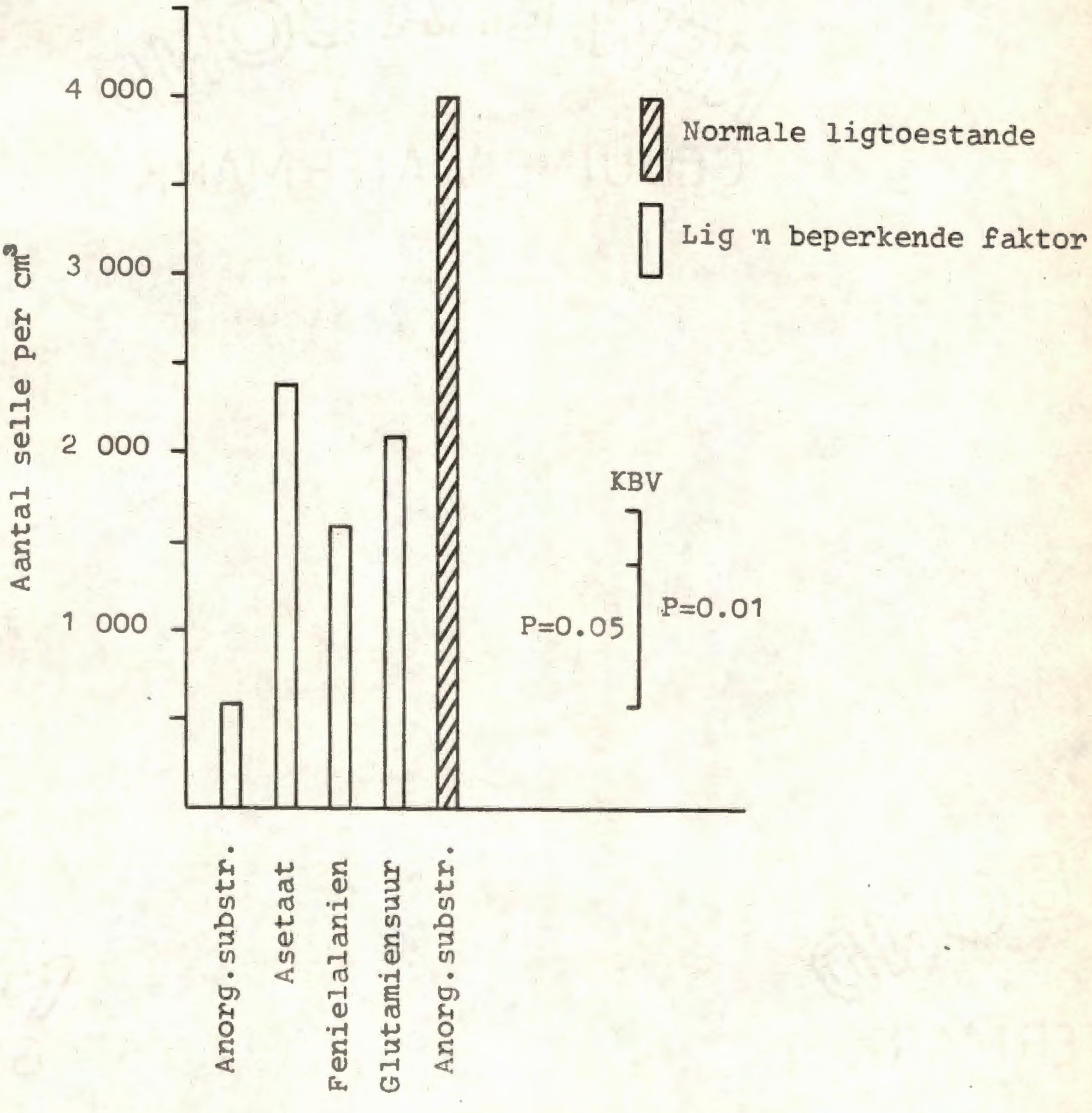


Fig. 12. Die effek van asetaat, fenielalanien en glutamiensuur op die groei van Nitzschia palea onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is, soos gemeet aan die aantal selle per cm³. Die proef het 16 dae geduur.

is, was die aantal selle per cm^3 na afloop van die proef hoogsbetekenisvol hoër as vir al die ander behandelings wat bewys dat lig in hierdie gevalle 'n beperkende faktor was.

Uit die resultate blyk dit verder dat die aanwesigheid van die toegediende substrate die aantal selle per cm^3 betekenisvol en hoogsbetekenisvol laat toeneem het in vergelyking met die suiwer anorganiese voedingsmedium wat ook onder die swakker ligtoestande gehou is.

Aangesien energie by dié kulture die beperkende faktor was, kan daar uit die resultate dus afgelei word dat al drie die toegediende substrate onder sekere toestande wel deur die organisme as 'n aanvullende bron van energie benut kan word. Die toeganklikheid van die verskillende substrate as bronne van energie vir die diatoom het egter betekenisvol van mekaar verskil en die beste groei is in die aanwesigheid van asetaat waargeneem.

Uit die resultate kan daar moontlik afgelei word dat die seldeling van <u>Nitzschia palea</u> van een of ander fotochemiese reaksie afhanklik is wat nie deur slegs 30 minute lig per dag bewerkstellig kan word nie. In die tweede plek is dit moontlik dat donkergroei van die organisme wel kan plaasvind maar dat assimilasie van die organiese substrate waarvoor getoets is, nie vinnig genoeg kan plaasvind om waarneembare heteretrofe groei te bewerkstellig nie, en 'n waarneembare effek slegs verkry word onder toestande waar chemosintese fotosintese aanvul.

<u>DIE TOEGANKLIKHEID VAN FENIELALANIEN, GLUTAMIENSUUR, ASETAAT EN GLUKOSE AS ENIGSTE BRONNE VAN KOOLSTOF EN ENERGIE VIR DIE SCENEDESMUS-SPESIE (PROEF NR. 11)</u>

/ .....

DIE TOEGANKLIKHEID VAN FENIELALANIEN, GLUTAMIENSUUR, ASETAAT EN GLUKOSE AS ENIGSTE BRONNE VAN KOOLSTOF EN ENERGIE VIR DIE SCENEDESMUS-SPESIE (PROEF NR. 11)

Inleiding

Die toeganklikheid van bogenoemde stowwe as bronne van koolstof en energie vir die *Scenedesmus*-spesie is in dié proef bepaal. Aangesien *Scenedesmus*-spesies daarvoor bekend is om heterotroof te groei en die toestande dieselfde was as vir vorige proewe is gehoop om uit dié resultate 'n aanduiding te kry of waarneembare heterotrofe groei onder dié toestande wel moontlik is. In dié verband kan genoem word dat die konsentrasie van die toegediende substrate in die groeimedium aansienlik laer was as dié wat algemeen gebruik word om heterotrofe groei te ondersoek.

Proeftegnieke

Hierdie proef stem ooreen met proef nr. 9 op bladsy 55 behalwe dat 'n *Scenedesmus*-spesie instede van *Nitzschia palea* as proeforganisme gebruik is en dat glukose as toegediende substraat ook by dié proef ingesluit is. Die proef is na 28 dae beëindig.

Resultate

Groei is by al die behandelings waargeneem, behalwe vir die kontrolebehandelings in afwesigheid van lig en by 30 minute lig per dag. Die resultate en statistiese verwerking daarvan word in Tabel 13 op bladsy 9 van die bylaag en in Figuur 13 op bladsy 62 aangebied.

Bespreking en Gevolgtrekking

Uit die resultate blyk dit dat katalitiese hoeveelhede lig geen betekenisvolle effek het op die toeganklikheid van

die verskillende/......

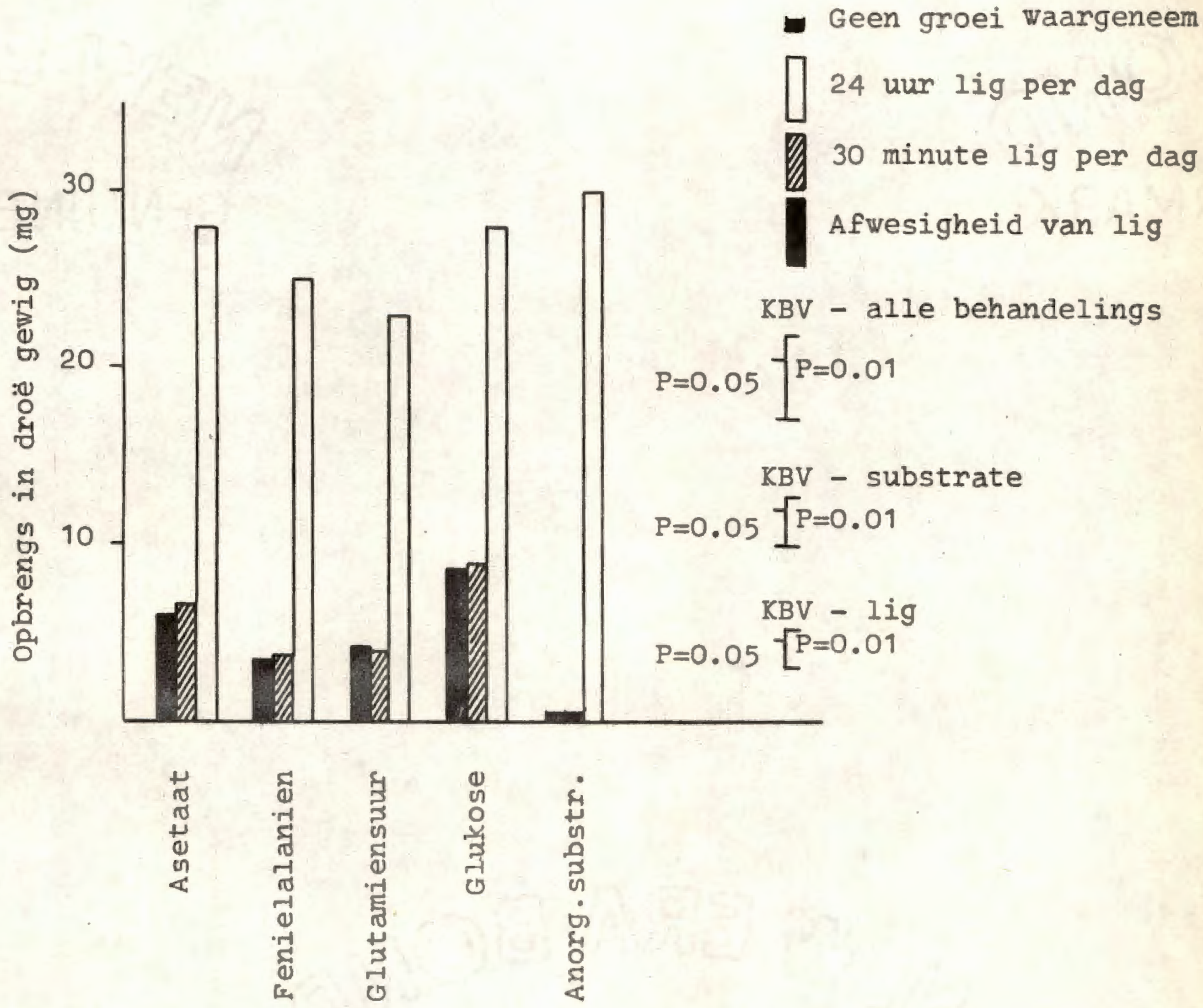


Fig. 13. Die toeganklikheid van asetaat, glutamiensuur, fenielalalien en glukose as enigste bronne van energie en koolstof vir die Scenedesmus-spesie soos gemeet aan die opbrengs in droë gewig. Die proef het 28 dae geduur.

die verskillende substrate as enigste bronne van energie vir die Scenedesmus-spesie nie. Dit blyk verder dat die verskillende substrate betekenisvol en hoogsbetekenisvol verskil wat hulle toeganklikheid as enigste bronne van energie vir die organisme betref. Glukose en asetaat is baie meer toeganklik vir die organisme as wat die geval met die twee aminosure is. Die toeganklikheid van die verskillende substrate as bronne van koolstof vir die organisme verskil ook betekenisvol en hoogsbetekenisvol van mekaar. Nie een van die organiese substrate was 'n meer geskikte bron van koolstof as CO_2 nie.

Daar kan net gemeld word dat die algselle wat in afwesigheid van lig gekweek is, 'n groen kleur behou het. Die belangrikste van diè resultate is egter dat heterotrofe groei onder diè toestande wel kon plaasvind, en dít beklemtoon die onvermoë van Nitzschia palea en Achnanthes pseudohungarica om heterotroof te groei.

SAMEVATTENDE BESPREKING

Uit die voorafgaande blyk dit dat Achnanthes pseudohungarica 'n hele aantal organiese substrate as enigste koolstofbronne kan benut. Nie een van die stowwe kon egter heterotrofe groei by die organisme bewerkstellig nie of onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is fotosintese met chemosintese aanvul nie.

Vir Nitzschia palea is bevind dat nie een van die organiese stowwe waarvoor getoets is, heterotrofe groei by die organisme kan bewerkstellig nie hoewel diè organisme hierdie stowwe kan aanwend om fotosintese met chemosintese aan te vul. Dit blyk verder dat 'n verskeidenheid organiese substrate heterotrofe groei by die Scenedesmus-spesie kan bewerkstellig.
Na aanleiding van bogenoemde kan daar met sekerheid aanvaar word dat Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie die toegediende substrate waarvoor getoets is, direk as selmateriaal kan assimileer. Daar bestaan egter geen sekerheid oor die

wyse/.......

wyse waarop *Achnanthes pseudohungarica* die toegediende substrate assimileer nie. Dit kan verder ook met sekerheid aanvaar word dat die oksidasie van toegediende substrate deur die *Scenedesmus*-spesie doeltreffend met die sintese van ATP gekoppel is.

Omdat *Nitzschia palea* in 'n groot mate met *Achnanthes pseudohungarica* ooreenstem (onvermoë om heterotroof te groei) terwyl die *Scenedesmus*-spesie tot heterotrofe groei in staat is, is hierdie twee organismes besonder geskik om die betroubaarheid van die proefwerk met *Achnanthes pseudohungarica* te kontroleer. Deur 'n vergelykende ondersoek op die drie organismes uit te voer, behoort dit moontlik te wees om te kan vasstel of sekere verskynsels in verband met die respirasie en oksidasie van toegediende substrate deur *Achnanthes pseudohungarica* enigsins verband hou met die feit dat die organisme nie tot heterotrofe groei in staat is nie.

HOOFSTUK 4

DIE INVLOED VAN AMINOSURE, UREUM EN SUIKERS OP DIE SUURSTOFOPNAME EN KOOLSUURGASVRYSTELLING VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA

INLEIDING

Getuienis wat met die vorige proewe ingewin is, dui daarop dat *Achnanthes pseudohungarica* nie op aminosure, suikers en ureum heterotroof kan groei nie. Die organisme kan blykbaar ook nie onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is, fotosintese met chemosintese aanvul indien dié stowwe aangebied word nie. 'n Hele aantal aminosure, suikers en tot 'n mindere mate ureum is egter vir die diatoom as enigste bronne van koolstof toeganklik. Dit is dus duidelik dat die organisme hierdie stowwe op een of ander wyse assimileer. Die vraag ontstaan nou of die diatoom hierdie stowwe direk as selmateriaal kan assimileer en of die stowwe eers tot CO_2 geoksideer word wat dan fotosinteties vasgelê word. 'n Mens sou verwag dat indien toegediende substrate deur 'n organisme geoksideer kan word, die organisme ook daartoe in staat sal wees om dié substrate direk te assimileer. Verskeie organismes is egter bekend wat 'n organiese stof kan oksideer sonder om die energie wat tydens die oksidasie van die stof vrygestel word, doeltreffend te kan benut soos blyk uit die gegewens wat in Tabel 14 verstrek word.

TABEL 14
Voorbeelde van organismes wat 'n toegediende substraat kan oksideer sonder om dit as 'n bron van energie te benut.

Organisme	Substraat
Chlamydomonas dysosmos	Asetaat (Lewin, 1954)
Navicula peliculosa	Laktaat (Lewin, 1953)
Monodus-spesie	Asetaat (Miller *et al.*, 1958)
Chlamydomonas eugametos	Tussenprodukte van Krebs-siklus (Wetherell, 1958)
Chlamydomonas moewusii	Verskeie organiese sure. (Lewin, 1950)

In die/........

In die hieropvolgende proewe is die oksidasie van verskeie organiese substrate deur die diatoom ondersoek. Die doel hiervan was onder andere om vas te stel of die organisme die substrate kan oksideer en indien wel of hierdie oksidasie sodanig is dat genoegsame hoeveelhede CO_2 vrygestel kan word om 'n uitsluitlik fotosintetiese assimilasie van die substrate te bewerkstellig.

DIE INVLOED VAN AMINOSURE EN UREUM OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 12)

Proeftegnieke

Die suurstofopname is in die donker by 'n temperatuur van 25°C met behulp van die Warburgapparaat bepaal. Die ontwerp van die apparaat was sodanig dat daar slegs 14 flessies vir 'n bepaling gebruik kon word. Met elke bepaling is die invloed van slegs twee aminosure op die suurstofopname van die diatoom bepaal.

Die 14 beskikbare flessies vir elke bepaling is soos volg gebruik :

Termobarometer	- 2 flessies
Anorg. substr. + aminosuur nr. 1	- 4 flessies
Anorg. substr. + aminosuur nr. 2	- 4 flessies
Anorg. substr. (kontrole)	- 4 flessies.

Vir elke bepaling was die diatoommateriaal wat in die verskillende flessies gebruik is, van dieselfde diatoomsuspensie afkomstig wat verseker het dat die hoeveelheid diatoommateriaal dieselfde was vir al die flessies. Vir die verskillende bepalings is telkens 'n vars diatoomsuspensie gebruik, sodat die hoeveelheid diatoommateriaal van die een bepaling na die volgende verskil het. Om die invloed van die verskillende aminosure op die suurstofopname statisties

met mekaar/......

met mekaar te kan vergelyk, is al die waardes só verwerk dat die kontrolewaardes vir al die bepalings dieselfde waarde gehad het. ($10 \mu l O_2$) Op dié wyse is verskille wat kon ontstaan het as gevolg van die feit dat die diatoomsuspensie vir een bepaling miskien meer gekonsentreerd was as vir die volgende bepaling uitgeskakel.

Die voedingsoplossing wat in die flesse gebruik is, was dieselfde as wat vir die groeiproewe gebruik is, behalwe dat dit met die helfte verdun is. 'n Verdere verskil was dat die nitraatstikstof in die aanwesigheid van die aminosure nie weggelaat is nie. Die hoeveelheid van 'n bepaalde aminosuur was 6.2 μ mol per Warburgflessie. Net soos vir die groeiproewe is die pH van die voedingsoplossing op 8.1 ingestel. Die diatome is vir 12 uur in die Warburgflessies gehou, waarna die O_2-opname oor 'n periode van 2 uur bepaal is.

Resultate

'n Opsomming van die resultate en die statistiese verwerking daarvan word in Tabel 15 op bladsy 10 van die bylaag en in Figuur 14 op bladsy 68 aangebied.

Soos reeds genoem, is al die waardes só verwerk dat die kontrolewaardes van al die verskillende bepalings 'n gemiddelde waarde van $10 \mu l O_2$ gehad het. Die waardes vir die verskillende bepalings is teenoor twee van die kontrolewaardes getoets, naamlik die een met die kleinste afwyking tussen die verskillende replikate en die een met die grootste afwyking tussen die verskillende replikate. Die verskil tussen die twee berekenings was egter baie gering en daar is geen verskil tussen die afleidings wat in die twee gevalle gemaak kan word nie. Die resultate, soos in Tabel 15 aangegee, is dié waar die kontrole met die grootste graad van afwyking tussen die verskillende replikate gebruik is.

Bespreking en/.........

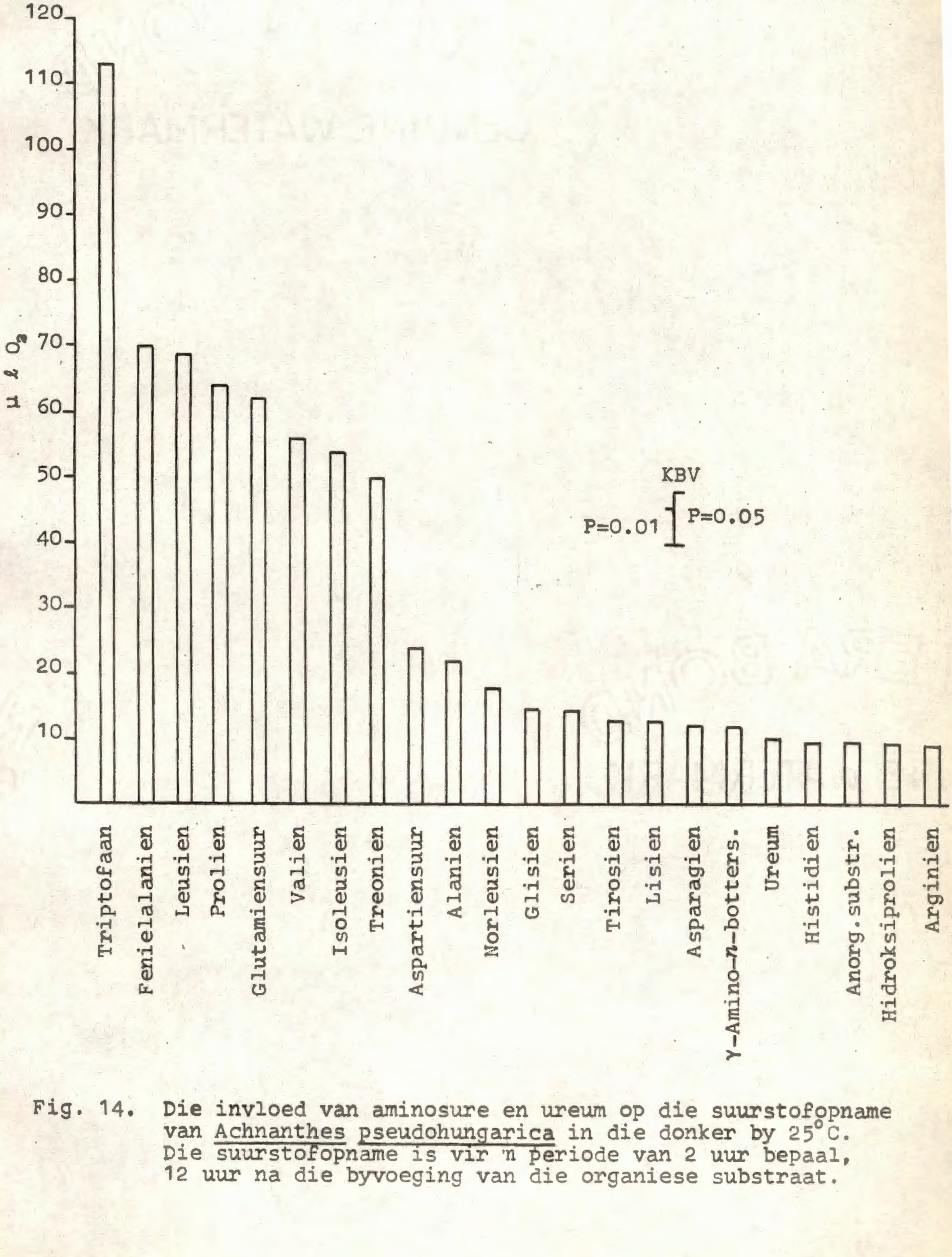


Fig. 14. Die invloed van aminosure en ureum op die suurstofopname van Achnanthes pseudohungarica in die donker by 25°C. Die suurstofopname is vir 'n periode van 2 uur bepaal, 12 uur na die byvoeging van die organiese substraat.

Bespreking en Gevolgtrekking

Uit die resultate blyk dit dat die O_2-opname in die aanwesigheid van alanien, aspartiensuur, fenielalanien, glutamiensuur, leusien, isoleusien, norleusien, prolien, treonien, triptofaan en valien hoogbetekenisvol hoër was as in die geval van die kontrole. Die O_2-opname in die aanwesigheid van die res van die aminosure en ureum het nie betekenisvol van dié van die kontrole verskil nie.

Die toename in die O_2-opname as gevolg van die aanwesigheid van die verskillende aminosure in die kultuurmedium het gewissel van 'n 1.5-voudige tot 'n 11.3-voudige toename. Normaalweg is die toename in die O_2-opname as gevolg van 'n toegediende oksideerbare substraat, byvoorbeeld glukose, minder as drievoudig in die geval van organismes wat onder normale toestande gekweek is, terwyl dié van organismes wat vooraf uitgehonger is, deur hulle vir 'n tyd in die donker te hou, minstens 8-voudig is. (Gibbs, 1962.) Die toename in die O_2-opname in die aanwesigheid van sommige van die aminosure kan dus as buitengewoon hoog beskou word. Hierdie resultate kan moontlik daarop dui dat die toestande waaronder die diatome gekweek is, nie baie geskik was vir die groei van die diatoom nie en daar gevolglik nie baie reserwevoedsel opgegaar is nie. In die geval van aminosure bestaan daar ook nog die moontlikheid van 'n oksidatiewe deaminasie wat vir die O_2-opname of vir 'n gedeelte daarvan verantwoordelik kan wees, wat nie die geval met 'n stof soos glukose sou wees nie.

'n Verdere moontlikheid is dat die oksidasie van die toegediende substrate onafhanklik van dié van die endogene substraat plaasgevind het.

Uit die resultate blyk dit verder dat die verhoogde O_2-opname as gevolg van die aanwesigheid van sekere aminosure

met enkele/.......

met enkele uitsonderings ooreenstem met die vermoë van die diatoom om hierdie stowwe as enigste bronne van koolstof te benut.

Serien en glisien kan blykbaar deur die diatoom as 'n bron van koolstof benut word. Hoewel albei 'n toename in die O_2-opname bewerkstellig het, was hierdie toename nie betekenisvol hoër as die kontrole nie. Die aanwesigheid van ureum in die voedingsoplossing het, soos reeds genoem, geen beduidende effek op die O_2-opname deur die diatoom gehad nie, terwyl dit in 'n beperkte mate as 'n bron van koolstof vir die diatoom toeganklik is.

Die aanwesigheid van alanien in die voedingsoplossing het die O_2-opname van die diatoom hoogsbetekenisvol laat toeneem in vergelyking met 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing. Die aanwesigheid van hierdie aminosuur in die groeimedium het egter geen betekenisvolle invloed op die opbrengs in droë gewig van die diatoom gehad nie.

Die res van die aminosure wat geen betekenisvolle effek op die O_2-opname van die diatoom gehad het nie, het ook geen betekenisvolle invloed op die opbrengs in droë gewig van die diatoom gehad nie.

DIE EFFEK VAN AMINOSURE OP DIE O_2-OPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA OOR 'N PERIODE VAN 24 UUR (PROEF NR. 13)

Proeftegnieke

Met hierdie proef is die invloed van die verskillende aminosure op die O_2-opname oor 'n periode van 24 uur bepaal. Die rede waarom hierdie proef nie met die vorige gekombineer is nie, was om die aminosure wat geen betekenisvolle invloed op die O_2-opname van die diatoom het nie in hierdie proef uit te skakel.

Hierdie proef/.......

Hierdie proef stem ooreen met die vorige behalwe dat die effek van die aminosure oor 'n periode van 24 uur bepaal is en slegs die aminosure waarvan die aanwesigheid in die voedingsoplossing die O_2-opname van die diatoom laat toeneem het, soos uit die resultate van die vorige proef blyk, by hierdie proef ingesluit is.

Die hoeveelheid O_2 opgeneem is 6-uurliks oor 'n periode van 24 uur op die volgende tye na die aanvang van die proef bepaal : 6 uur, 12 uur, 18 uur, 24 uur.

Die resultate en die statistiese verwerking daarvan word in Tabel 16 op bladsye 11 en 12 van die bylaag en in Figure 15 - 21 op bladsye 72 - 78 aangebied.

Bespreking en Gevolgtrekking

Behalwe vir een uitsondering het die grondrespirasie betekenisvol en hoogsbetekenisvol oor 'n periode van 24 uur afgeneem. Oor die algemeen was die afname die vinnigste in die eerste 12 na 18 uur waarna die waardes geneig was om meer konstant te wees. Hierdie gegewens dui op die aanwesigheid van maklik oksideerbare reserwemateriaal wat binne die periode uitgeput raak. Hierdie resultate is in ooreenstemming met dié van Cramer *et al.*, (1949) wat bevind het dat die respirasie van *Chlorella pyrenoidosa* in die eerste 24 uur afneem waarna dit vir etlike dae 'n min of meer konstante waarde het. Die geval waar die afname in die O_2-opname nie betekenisvol was nie, dui daarop dat die fisiologiese toestand van die materiaal vir die verskillende bepalings blykbaar in 'n meer of mindere mate verskil het.

Die invloed van die toegediende aminosure op die O_2-opname van die diatoom kan soos volg saamgevat word :

Na die volgende/.......

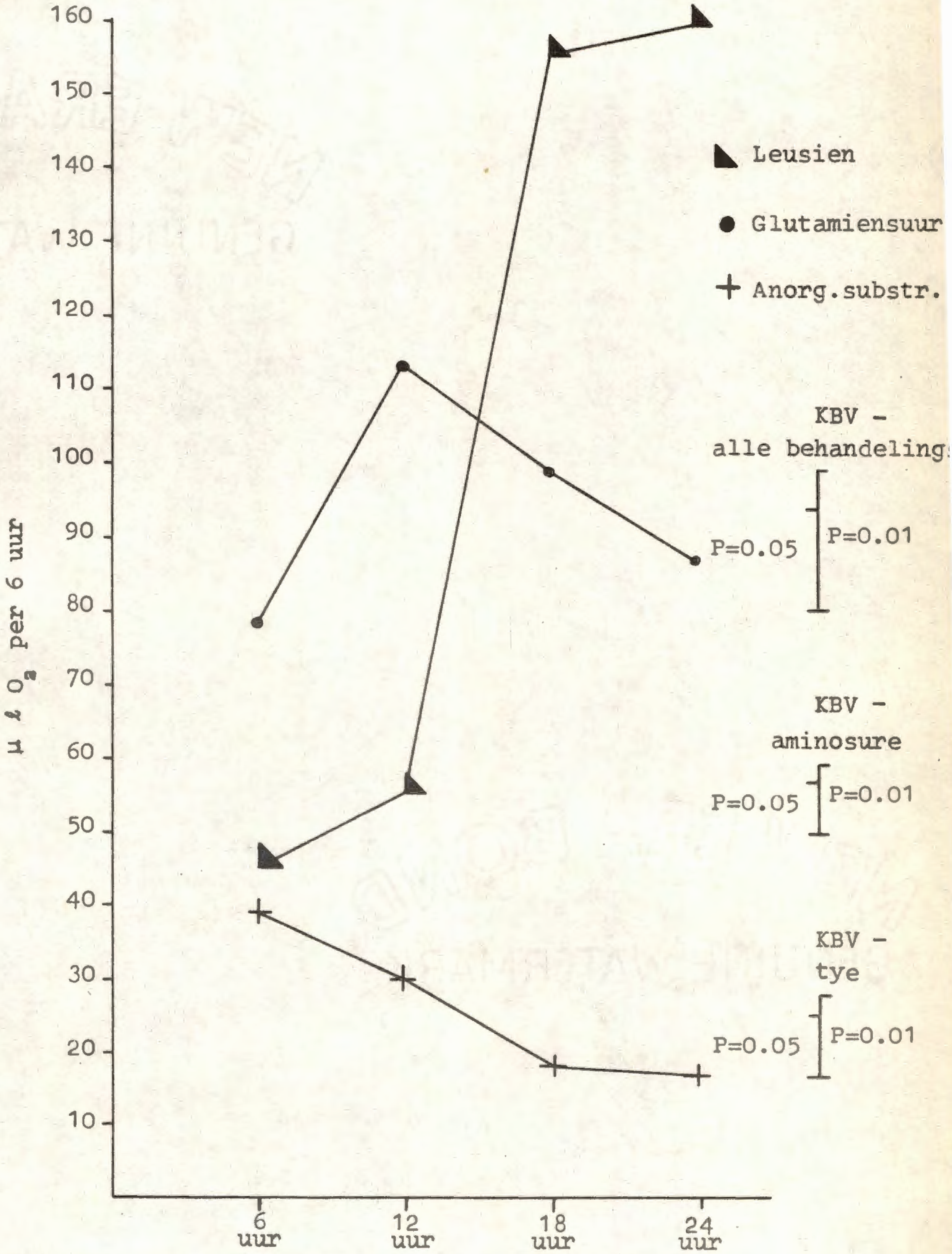


Fig. 15. Die invloed van aminosure op die suurstofopname van Achnanthes pseudohungarica in die donker by 25°C.

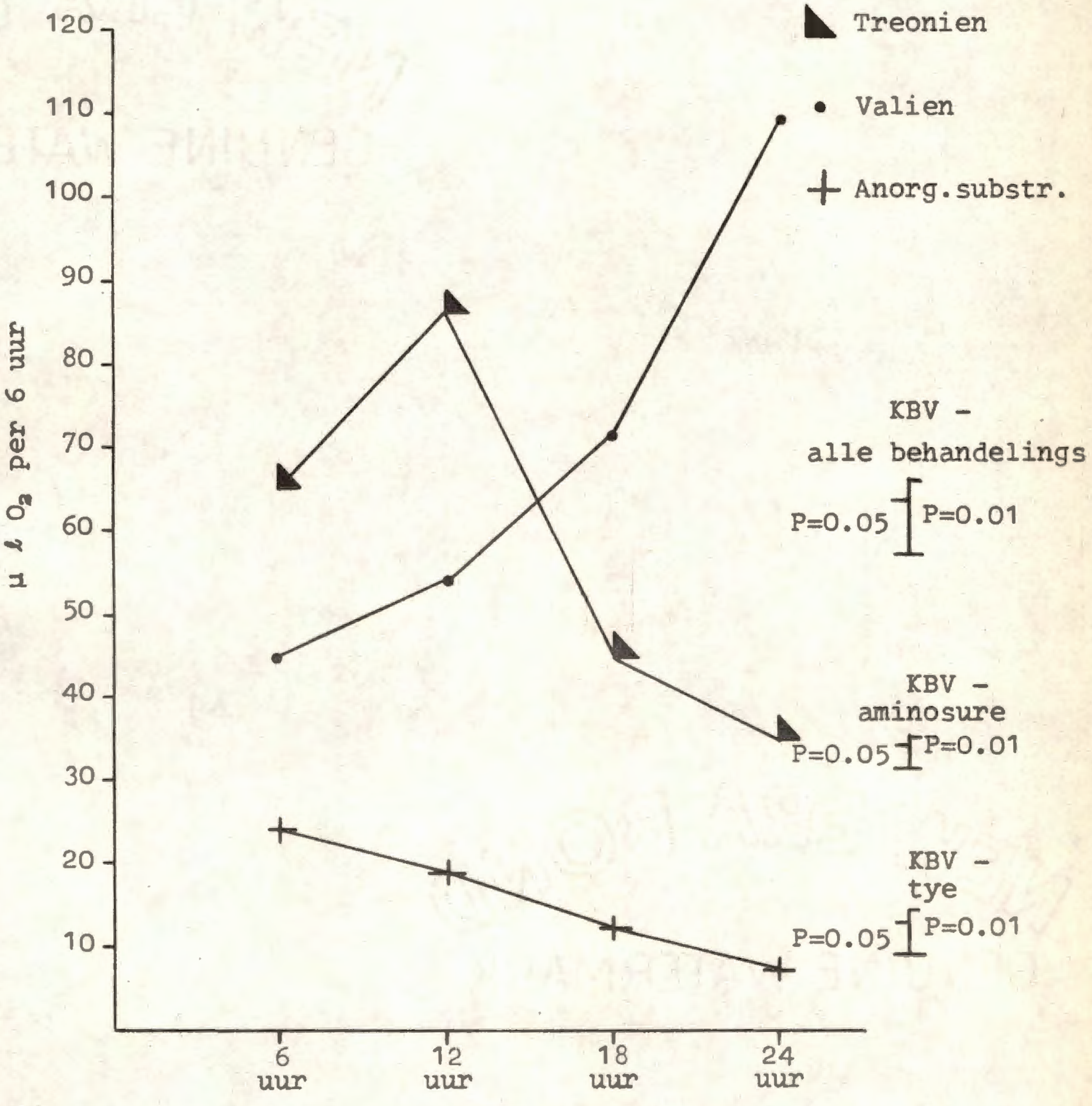


Fig. 16. Die invloed van aminosure op die suurstofopname van Achnanthes pseudohungarica in die donker by 25°C.

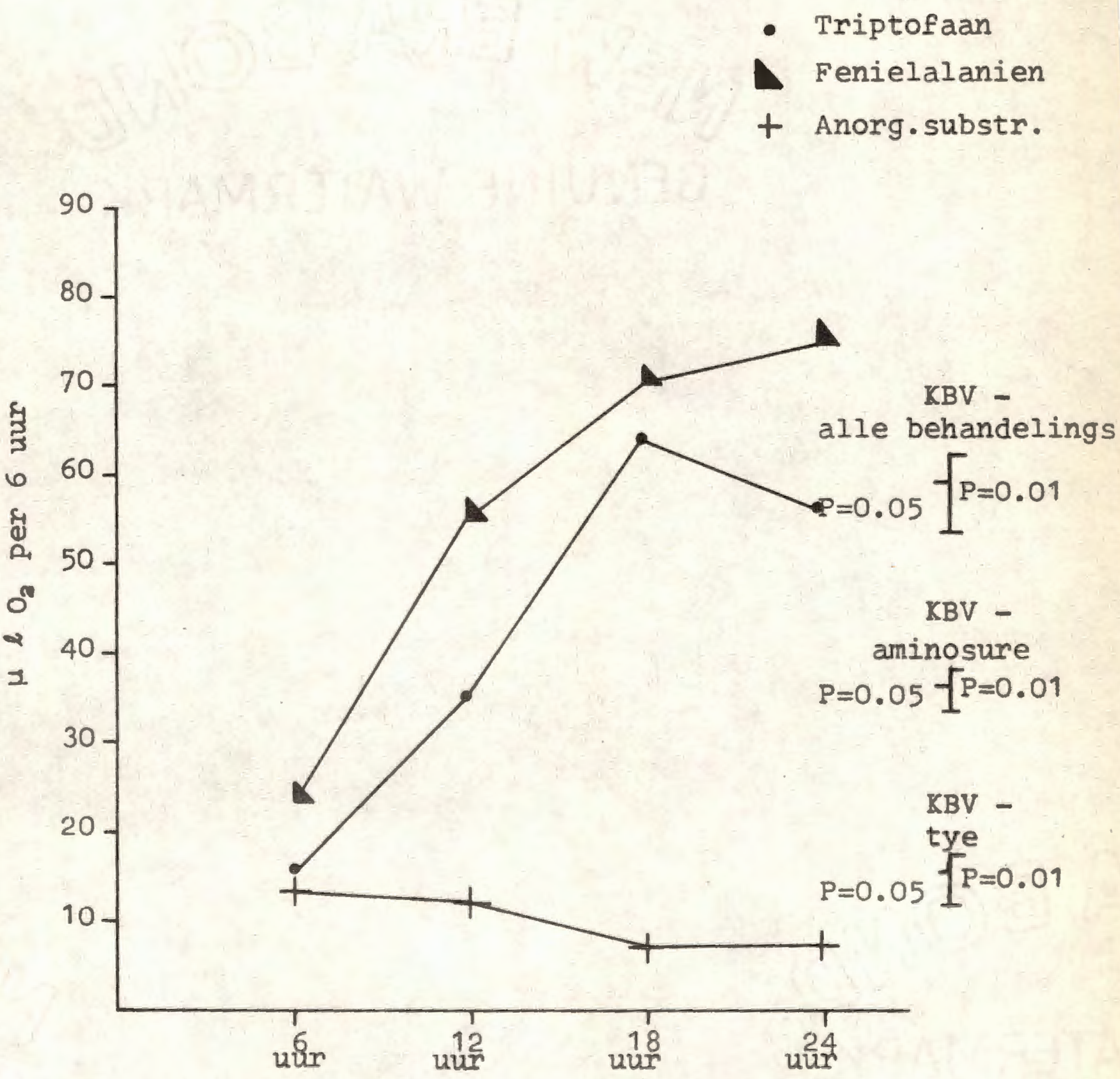


Fig. 17. Die invloed van aminosure op die suurstofopname van Achnanthes pseudohungarica in die donker by 25°C.

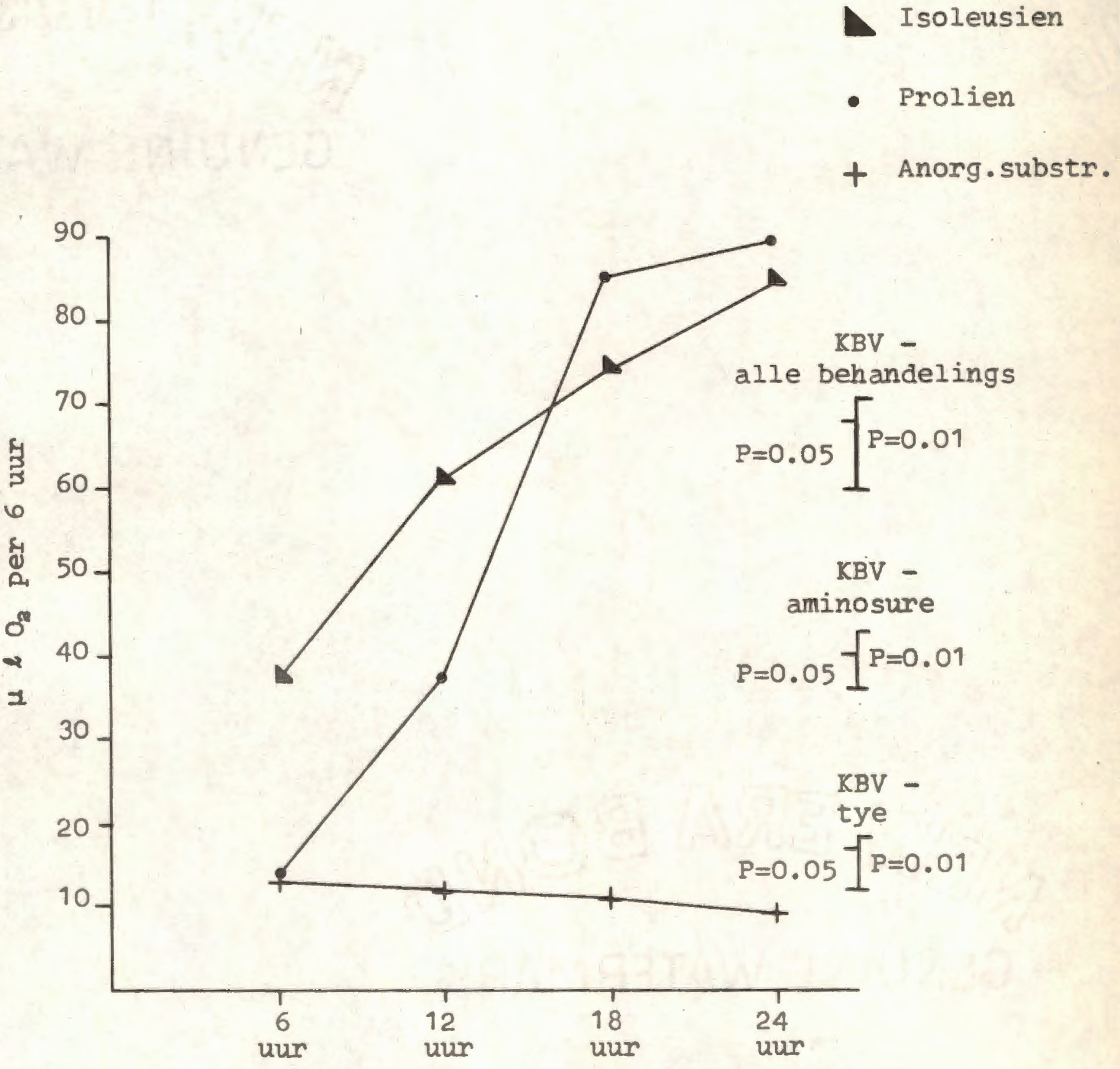


Fig. 18. Die invloed van aminosure op die suurstofopname van Achnanthes pseudohungarica in die donker by 25°C.

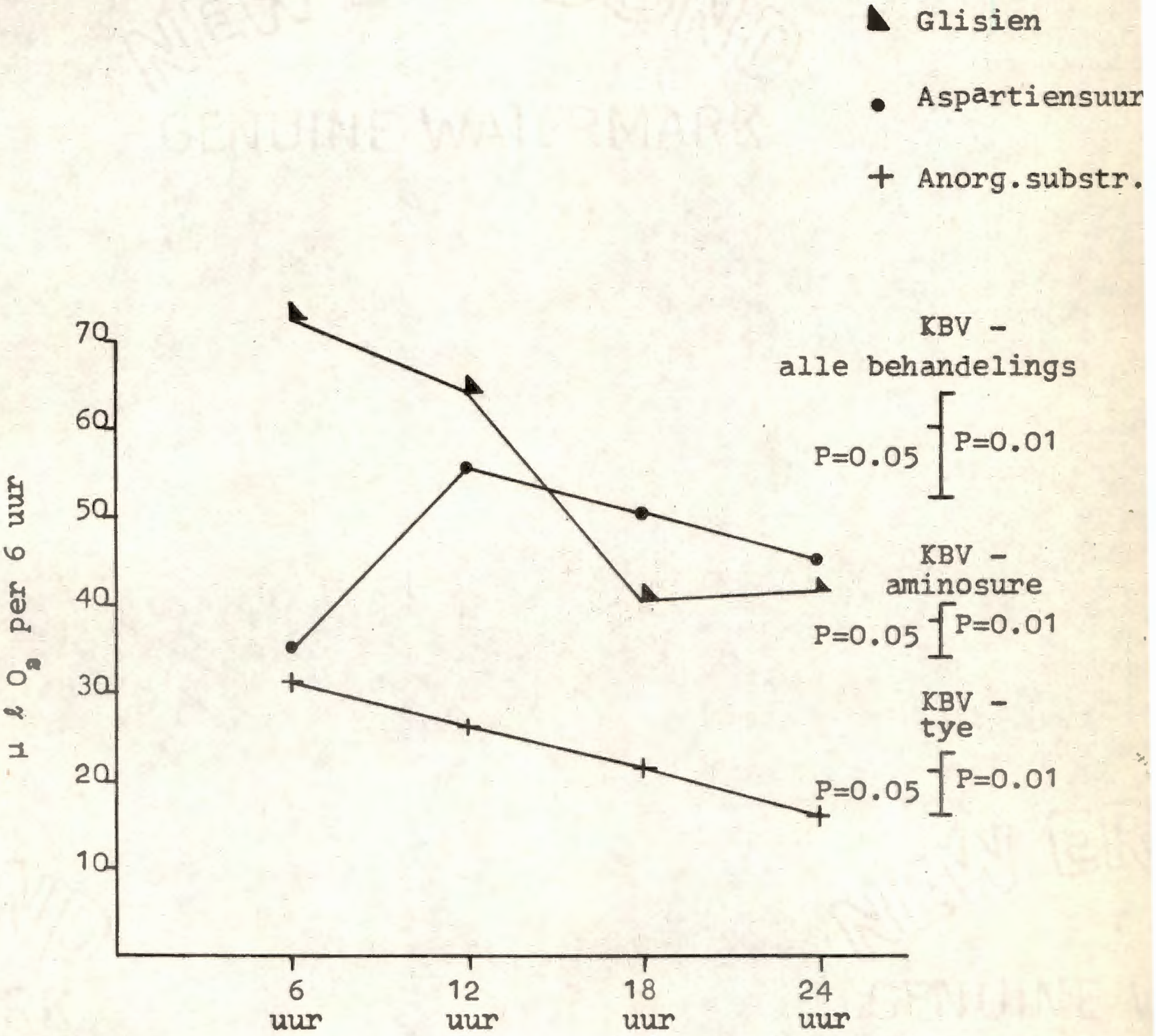


Fig. 19. Die invloed van aminosure op die suurstofopname van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> in die donker by 25°C.

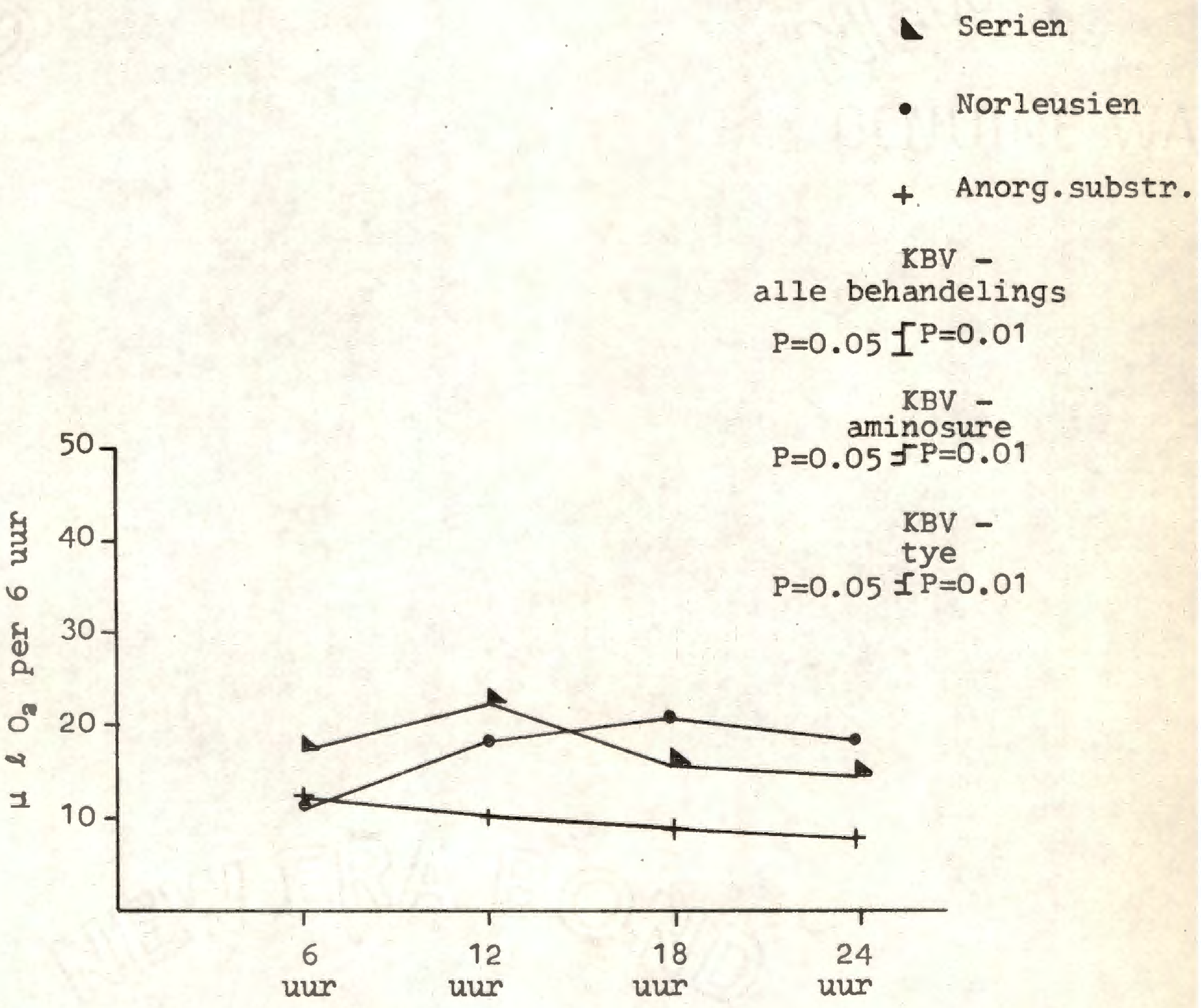


Fig. 20. Die invloed van aminosure op die suurstofopname van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> in die donker by 25°C.

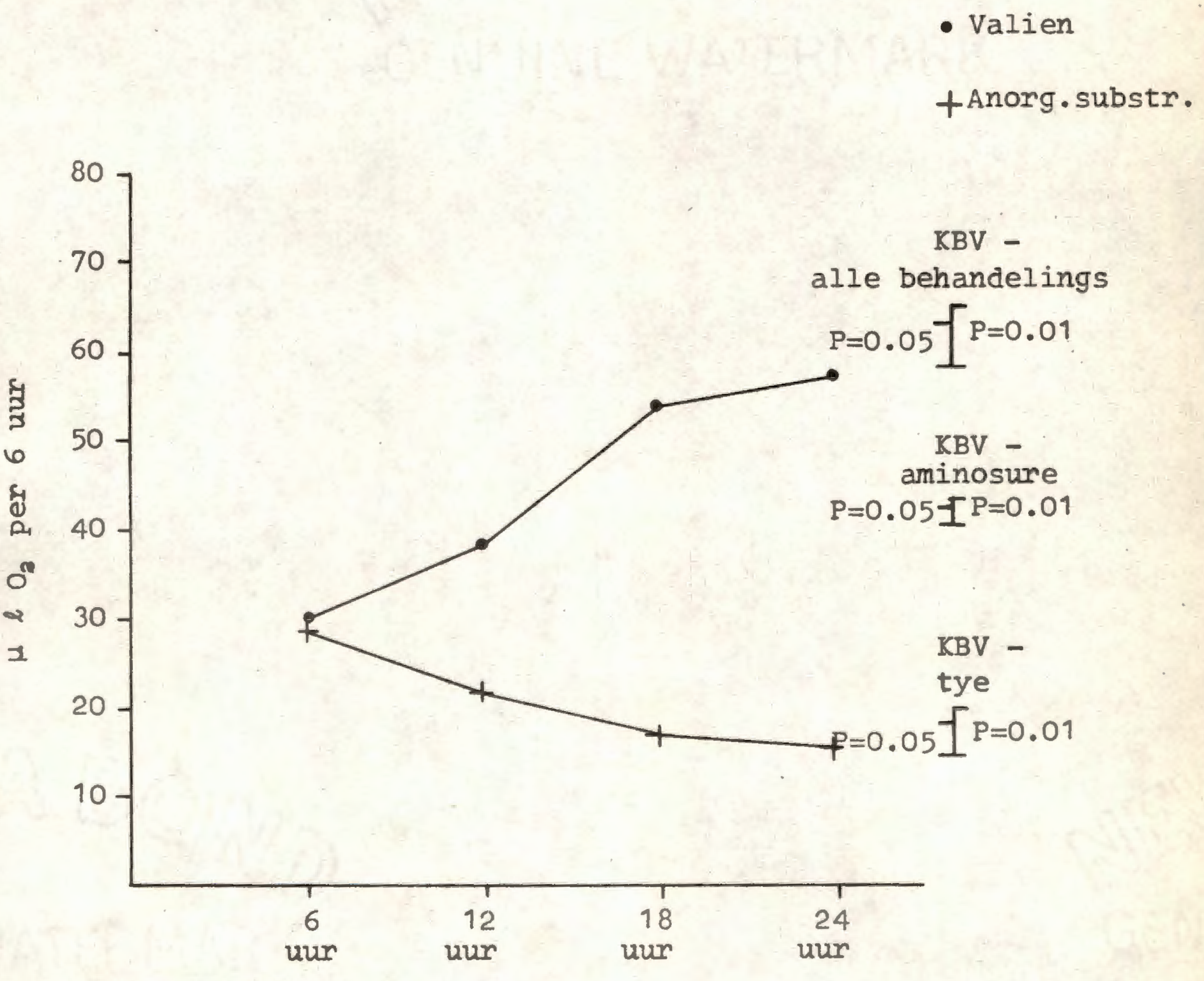


Fig. 21. Die invloed van alanien op die suurstofopname van Achnanthes pseudohungarica in die donker by 25°C.

Na die volgende tye is in die aanwesigheid van die volgende aminosure beduidende positiewe effekte op die O_2-opname van die diatoomkulture waargeneem :

Na 6 uur : glisien, fenielalanien, glutamiensuur, isoleusien, serien, treonien en valien.

Na 12 uur : alanien, aspartiensuur, triptofaan, leusien, prolien en norleusien.

Die verskillende aminosure het na die volgende tye 'n maksimaal bevorderende effek op die O_2-opname gehad :

Na 6 uur : glisien.

Na 12 uur : aspartiensuur, glutamiensuur, serien en treonien.

Na 18 uur : alanien, triptofaan, leusien, prolien en norleusien.

Na 24 uur : fenielalanien, isoleusien en valien.

As die molekulêre gewig as 'n maatstaf vir die molekulêre grootte gebruik word, blyk dit uit die gegewens van Tabel 17 dat daar geen korrelasie is tussen molekulêre grootte en die tyd voordat die aminosuur 'n maksimale effek op die O_2-opname het nie.

TABEL 17/.........

TABEL 17

'n Vergelyking van die tyd waarna aminosure 'n maksimaal bevorderende effek op die O_2-opname van Achnanthes pseudohungarica het met die molekulêre grootte van die aminosure

Aminosure (in volgorde van molekulêre grootte)	Tyd waarna aminosuur 'n maksimaal bevorderende effek op die O_2-opname het.			
	6 uur	12 uur	18 uur	24 uur
Triptofaan			x	
Fenielalanien				x
Glutamiensuur		x		
Asspartiensuur		x		
Norleusien			x	
Isoleusien				x
Leusien			x	
Treonien		x		
Valien				x
Prolien			x	
Serien		x		
Alanien			x	
Glisien	x			

Ongelukkig is die gegewens oor die vetoplosbaarheid van aminosure nie voldoende sodat 'n vergelyking van die tyd voordat die aminosure 'n maksimale effek op die O_2-opname het en die vetoplosbaarheid van die aminosure gemaak kan word nie.

Na die /......

Na die volgende tye het die invloed van die volgende aminosure op die O_2-opname betekenisvol of hoogsbetekenisvol afgeneem :

Na 18 uur : treonien

Na 24 uur : aspartiensuur, triptofaan, glutamiensuur, norleusien en serien.

Diė afname kan moontlik daaraan toegeskryf word dat toestande in die kultuurmedium ongunstig begin raak het vir die oksidasie van 'n betrokke aminosuur of dat die aminosure slegs gedeeltelik metaboliseerbaar is. In al die gevalle dui die toename in die O_2-opname as gevolg van die aanwesigheid van die aminosure daarop dat daar heelwaarskynlik meer as net 'n oksidatiewe deaminasie van die aminosure plaasgevind het. (Vir die oksidatiewe deaminasie van 6.2 μ mol aminosuur word 69.44 $\mu\ell O_2$ benodig. Die O_2-opname wat aan die oksidasie van die toegediende substrate toegeskryf kan word, was in al die gevalle na 24 uur reeds meer as 69.44 $\mu\ell O_2$.)

In proef nr. 4 is bevind dat sekere aminosure in the die lig as enigste bronne van koolstof vir die diatoom toeganklik is. Uit die beskikbare gegewens kon egter nie bepaal word of die aminosure direk geassimileer word en of hulle eers tot CO_2 geoksideer word wat dan fotosinteties geassimileer word nie. Die aanduidings was dat die assimilasie fotosinteties geskied het. Indien dit wel die geval sou wees, is dit vanselfsprekend dat die assimilasie van die substrate sal afhang van die tempo waarteen hierdie stowwe deur die organisme tot CO_2 geoksideer word.

Verder moet daar in aanmerking geneem word dat die proses van fotosintese respirasie veelvoudig oorskry. So byvoorbeeld het Steemann Nielsen <u>et al</u>., (1959) deur

van die/......

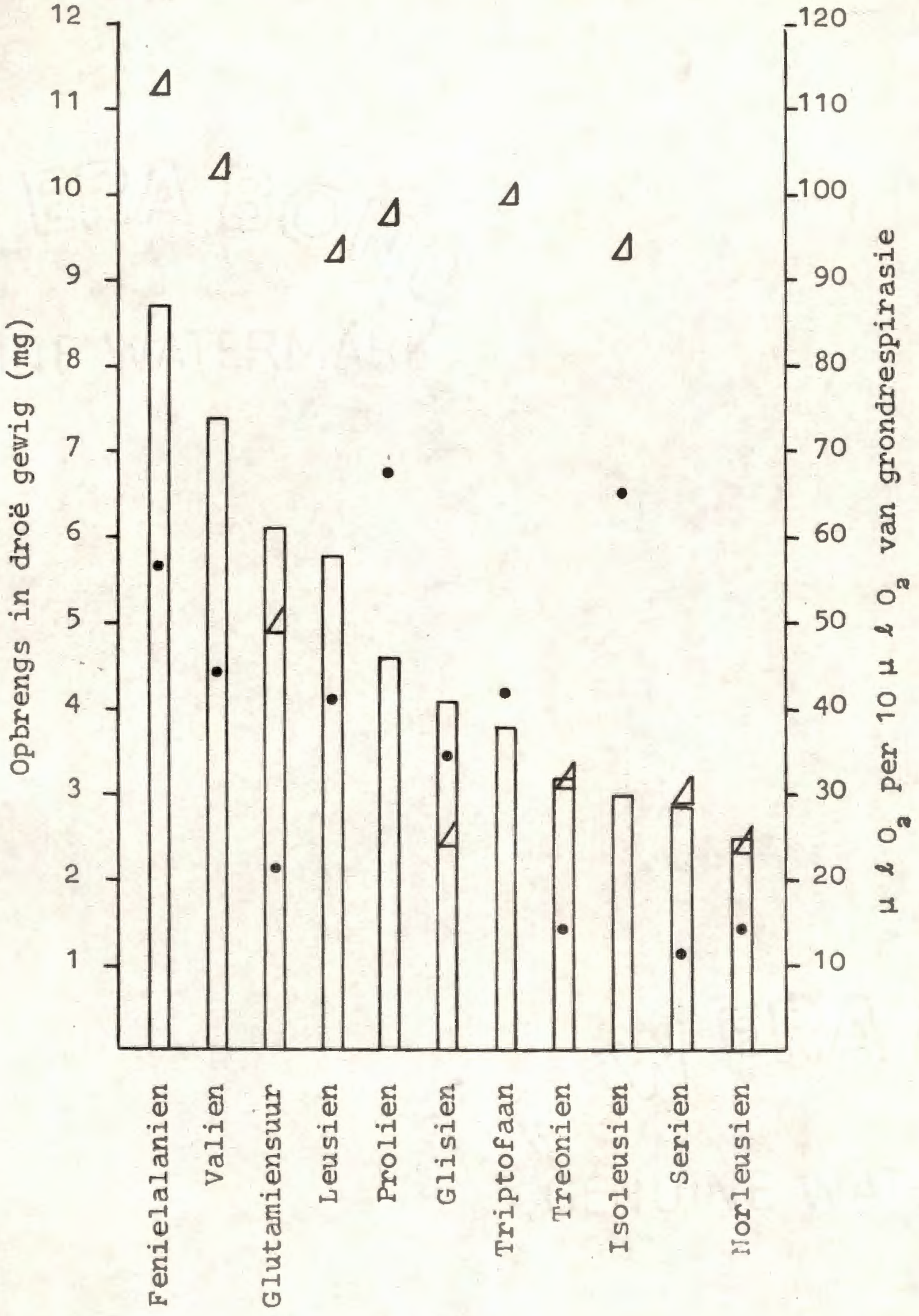
van die C^{14}-metode gebruik te maak, bevind dat fotosintese respirasie in natuurlike plantplanktonbevolkings 10 - 16 maal in omvang oorskry. Dit is dus duidelik dat vir aktiewe groei om in afwesigheid van CO_2, maar in die aanwesigheid van 'n organiese substraat plaas te vind, indien die substraat slegs fotosinteties geassimileer word, dit nodig sal wees dat die tempo waarteen hierdie substraat tot CO_2 geoksideer word, die normale respirasie veelvoudig sal moet oorskry. Uit die resultate van hierdie proef kan hier moontlik 'n aanduiding van verkry word.

'n Aanduiding van die tempo waarteen 'n bepaalde aminosuur tot CO_2 geoksideer word, kan verkry word deur die effek van die aminosuur op die O_2-opname van die diatoom, te bepaal.

Dit kan aanvaar word dat die invloed van 'n bepaalde aminosuur op die O_2-opname na 24 uur beter sal ooreenstem met die invloed van die aminosuur oor 'n lang periode (byvoorbeeld duur van 'n groeiproef) as na 6 uur.

In Figuur 22 op bladsy 83 word die resultate van proef nr. 4 (invloed van aminosure op die opbrengs in droë gewig in afwesigheid van CO_2) vergelyk met die tempo waarteen die verskillende aminosure na 24 uur tot CO_2 geoksideer word soos gemeet aan die invloed van die verskillende aminosure op die O_2-opname deur die diatoom.

Die waardes vir die O_2-opname vir 'n bepaalde aminosuur is verkry deur die waarde vir die O_2-opname na 24 uur as 'n faktor van die kontrolewaarde na 24 uur te bereken.



Figuur 22.

▯ Die opbrengs in droë gewig van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> in die lig in aanwesigheid van verskillende aminosure en in die gelyktydige afwesigheid van CO_2.

• Die invloed van aminosure op die O_2-opname (μℓO_2) van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> na 24 uur per 10 μ ℓ O_2 van die grondrespirasie na 6 uur.

Δ Die invloed van aminosure op die O_2-opname (μℓO_2) van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> na 24 uur per 10 μ ℓ O_2 van die grondrespirasie na 24 uur.

Van die figuur kan afgelei word dat die toeganklikheid van die aminosure as enigste bronne van koolstof vir die diatoom nie in al die gevalle ooreenstem met die effek van die aminosure op die O_2-opname deur die diatoom nie. So byvoorbeeld het glutamiensuur 'n hoogsbetekenisvol hoër opbrengs in die droë gewig van die diatoom in afwesigheid van CO_2 bewerkstellig as byvoorbeeld triptofaan en isoleusien. Die O_2-opname in aanwesigheid van glutamiensuur het egter slegs 4.9-voudig toegeneem in vergelyking met 'n 10.14- en 'n 9.29-voudige toename in aanwesigheid van triptofaan en isoleusien.

Te oordeel aan die invloed van die aminosure op die O_2-opname blyk dit dat 'n hele aantal van die aminosure teen 'n sodanige tempo tot CO_2 geoksideer word dat 'n aansienlike hoeveelheid fotosintese en dus stofproduksie in aanwesigheid van die aminosure en in afwesigheid van CO_2 moontlik sal wees. So byvoorbeeld was die toename in die O_2-opname in aanwesigheid van fenielalanien, triptofaan en leusien 13.5-, 10.1- en 9.2-voudig.

Dit blyk dus uit die resultate dat 'n hele aantal van die aminosure die groei van die organisme in die afwesigheid van CO_2 sal kan laat plaasvind, al sou die assimilasie daarvan slegs fotosinteties geskied nadat die aminosure tot CO_2 geoksideer is. Dit blyk egter ook uit die resultate dat hierdie verskynsel nie op al die aminosure van toepassing is nie. As die onbrengs in droë gewig in aanwesigheid van byvoorbeeld glutamiensuur, vergelyk word met die opbrengs in droë gewig in aanwesigheid van sekere van die ander aminosure asook die invloed van glutamiensuur op die O_2-opname vergelyk word met dié van ander aminosure, wil dit voorkom asof daar in die geval van eersgenoemde aminosuur nie net 'n fotosintetiese assimilasie kon gewees het nie, maar dat daar moontlik ook 'n direkte assimilasie moes plaasgevind het.

Indien die/.......

Indien die O_2-opname na 24 uur met die grondrespirasie na 24 uur vergelyk word, wil dit voorkom asof die aminosure in die algemeen die O_2-opname deur die diatoom aansienlik laat toeneem het. Wat hier egter in aanmerking geneem moet word, is dat die grondrespirasie na 24 uur in die algemeen aansienlik laer was as die grondrespirasie na 6 uur. Daar is verder geen bewys dat die aminosure na 24 uur dieselfde effek op die O_2-opname in verhouding tot die ooreenstemmende grondrespirasie sou gehad het indien daar nie 'n afname van die grondrespirasie was nie. Na aanleiding hiervan word die invloed van die aminosure op die O_2-opname na 24 uur ook met die grondrespirasie na 6 uur vergelyk. (Fig. 22 op bladsy 83.)

Dit blyk uit dié resultate dat die invloed van die aminosure op die O_2-opname op dié basis bereken, aansienlik laer is. Dit wil verder voorkom asof die effek van die aminosure op die O_2-opname nou beter ooreenstem met die toeganklikheid van die aminosure as enigste bronne van koolstof vir die diatoom. Uitsonderings is egter prolien, isoleusien en glutamiensuur.

Die aanwesigheid van prolien en isoleusien in die kultuurmedium het die O_2-opname na 24 uur in verhouding tot die kontrolewaarde na 6 uur tussen 6- en 7-voudig laat toeneem. Die opbrengs in droë gewig in aanwesigheid van die aminosure maar in afwesigheid van CO_2 was egter laer as in die aanwesigheid van aminosure wat die O_2-opname nie tot dieselfde mate laat toeneem het nie. 'n Moontlike verklaring vir dié resultate is die volgende : Uit die resultate blyk dit dat hoewel die grondrespirasie vir die betrokke bepaling tydens die 24-uur periode afgeneem het, hierdie afname egter nie statisties betekenisvol was nie. Hierdie resultate dui dus daarop dat die materiaal vir die bepaling gebruik, waarskynlik nie so ryk aan

reserwestowwe/......

reserwestowwe was as die materiaal wat vir die ander bepalings gebruik is nie. Indien dit die geval sou wees, sou dit noodwendig daartoe lei dat die O_2-opname in die aanwesigheid van die aminosure veel hoër sal wees in verhouding tot die kontrolewaarde na 6 uur as in die geval van algselle wat genoegsame hoeveelhede reserwestowwe bevat.

Alhoewel die effek van die aminosure op die O_2-opname na 24 uur laer is in verhouding tot die kontrolewaarde na 6 uur, as in verhouding tot die kontrolewaarde na 24 uur, blyk dit uit die resultate dat 'n hele aantal van die aminosure nogtans teen so 'n tempo na CO_2 geoksideer word dat redelik aktiewe groei sal kan plaasvind al sou die assimilasie fotosinteties geskied (byvoorbeeld fenielalanien het 'n 6.5-, valien 'n 4.5- en leusien 'n 6.7-voudige toename van die O_2-opname gegee). In die gevalle van treonien, serien en norleusien was die effek van die aminosure op die O_2-opname na 24 uur in verhouding tot die kontrolewaarde na 6 uur egter so gering dat dit baie onwaarskynlik is dat groei in afwesigheid van CO_2 sou kon plaasvind sonder dat daar ook 'n direkte assimilasie van dié aminosure was. Die moontlikheid is natuurlik nie uitgesluit dat die betrokke aminosure die O_2-opname oor 'n langer periode as 24 uur anders sal beïnvloed en dat die O_2-opname miskien wel sodanig sal toeneem dat genoegsame hoeveelhede CO_2 vir fotosintese beskikbaar gestel sal word nie.

'n Beswaar wat teen bogenoemde interpretasie van die resultate ingebring kan word, is dat die invloed van die aminosure op die O_2-opname nie noodwendig as 'n maatstaf vir die tempo waarteen die verskillende aminosure tot CO_2 geoksideer word, gebruik kan word nie. So byvoorbeeld kan daar 'n oksidatiewe deaminasie plaasvind waartydens O_2 opgeneem word, maar daar nie 'n ooreenstemmende hoeveelheid CO_2 afgegee word nie. In proewe hierna gedoen, het dit dan ook geblyk dat 'n oksidatiewe deaminasie aanvanklik die oorheersende reaksie is. Soos egter reeds aangetoon, moes

daar na/.......

daar na 24 uur in alle gevalle reeds meer as net 'n oksidatiewe deaminasie van die aminosure plaasgevind het.

DIE EFFEK VAN SUIKERS OP DIE O_2-OPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA
(PROEF NR. 14)

Proeftegnieke

Die proef is net soos die vorige uitgevoer, behalwe dat suikers instede van aminosure gebruik is. Die volgende suikers is by hierdie proef ingesluit :

fruktose	maltose
glukose	sukrose
galaktose	xilose
laktose	

Die hoeveelheid van 'n bepaalde suiker was 6.2 µ mol per fles. Die resultate en die statistiese verwerking daarvan word in Tabel 18 op bladsy 13 van die bylaag en in Figure 23 - 26 op bladsye 88 - 89 aangebied.

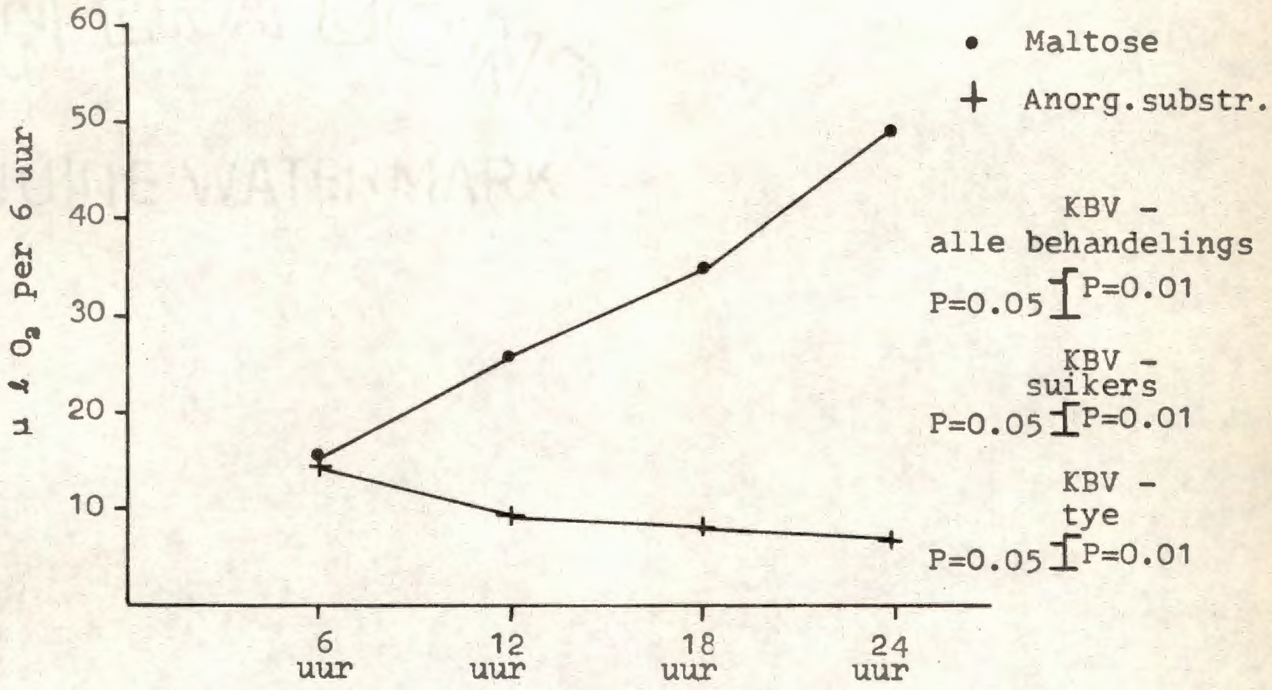
Bespreking en Gevolgtrekking

In al die gevalle het die grondrespirasie betekenisvol en hoogsbetekenisvol tydens die 24-uur periode afgeneem wat, soos reeds genoem, daarop dui dat die algselle nie te arm aan reserwemateriaal kon gewees het nie.

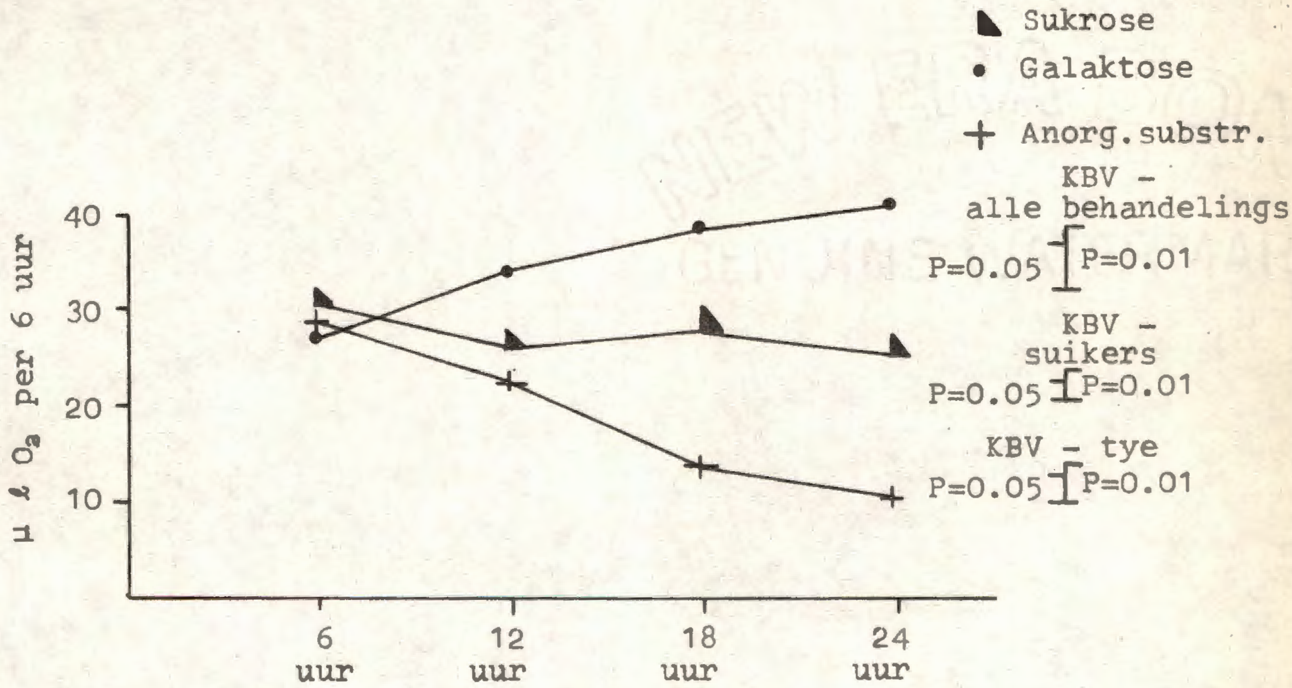
Die volgende suikers het die O_2-opname na 24 uur betekenisvol laat toeneem in vergelyking met die kontrolewaarde na 6 uur : maltose, fruktose, glukose, galaktose en xilose. Maltose het, in vergelyking met die ander suikers, die O_2-opname besonder baie laat toeneem.

Hoewel sukrose en laktose 'n betekenisvol of hoogsbetekenisvol bevorderende effek op die O_2-opname na 24 uur in

vergelyking/.....

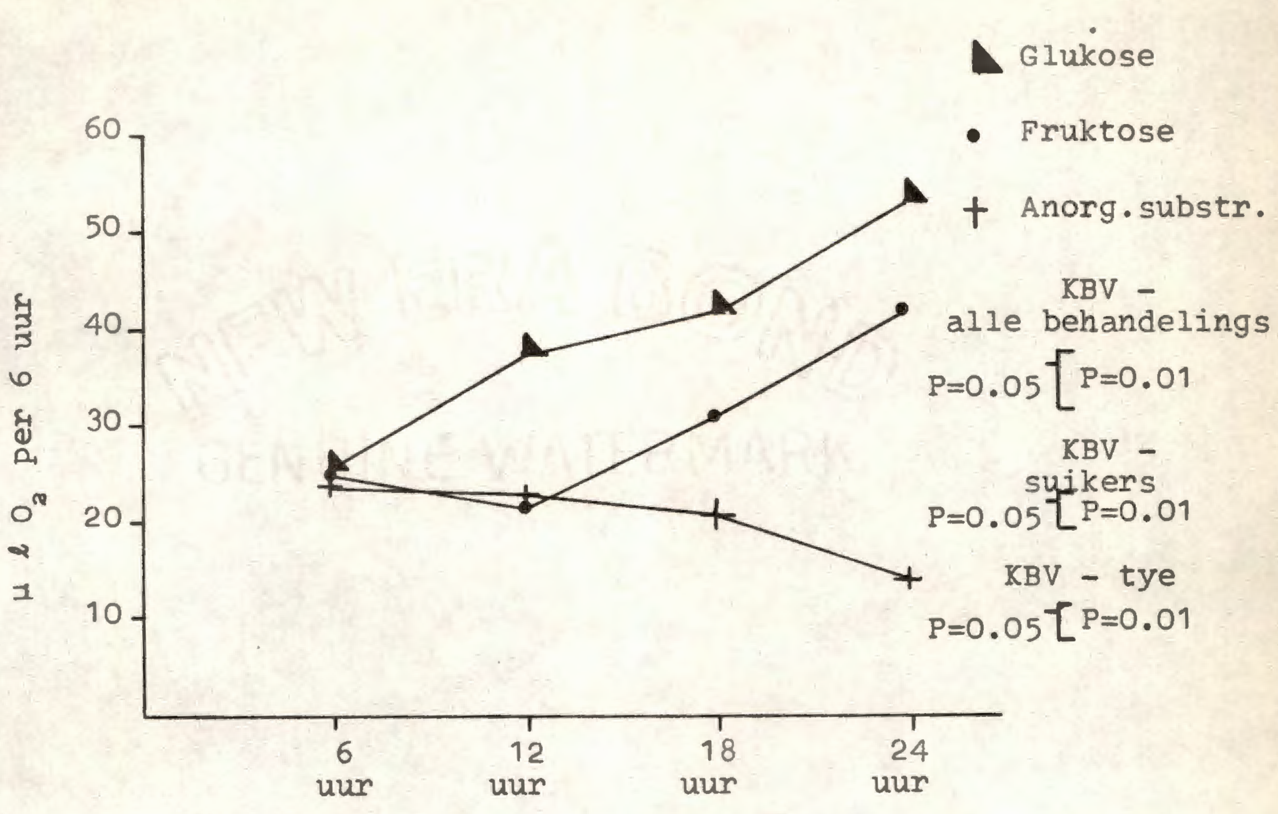


Figuur 23.*

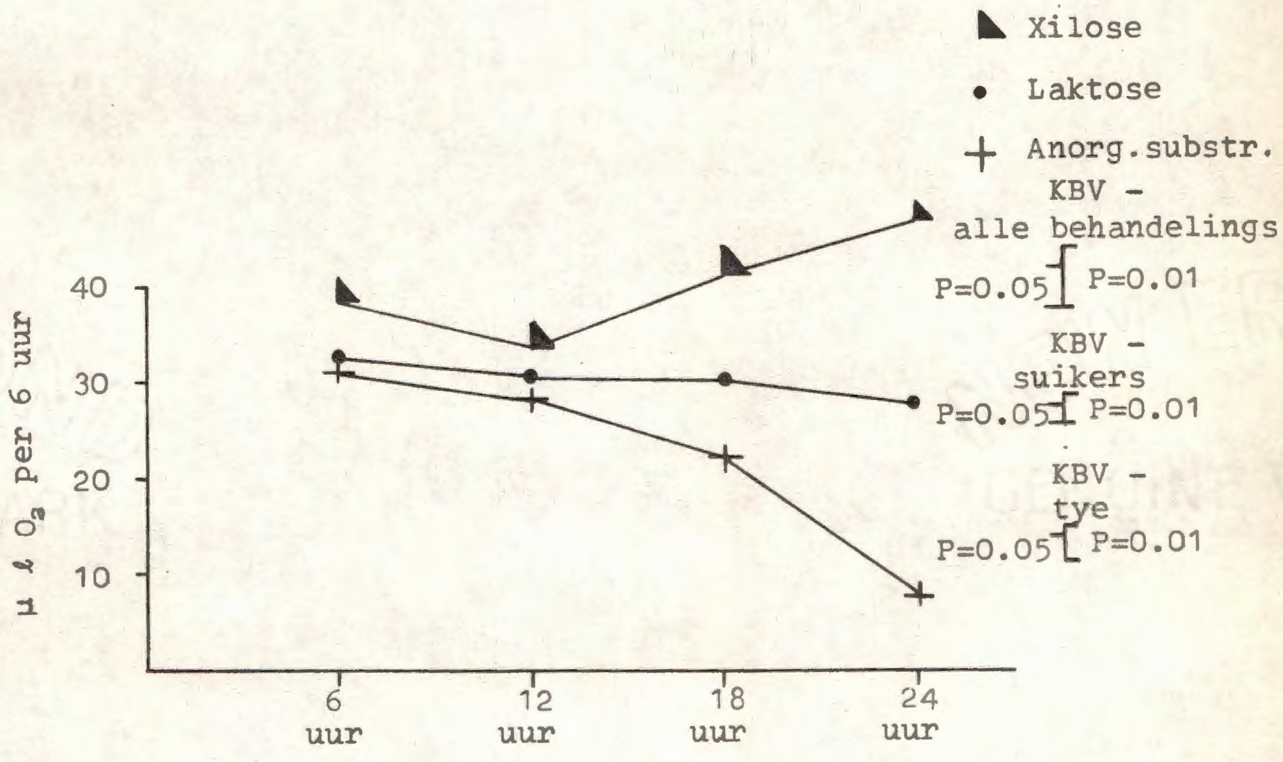


Figuur 24. *

* Die invloed van suikers op die suurstofopname van <u>Achnanthes</u> pseudohungarica in die donker by 25°C.



Figuur 25. *



Figuur 26. *

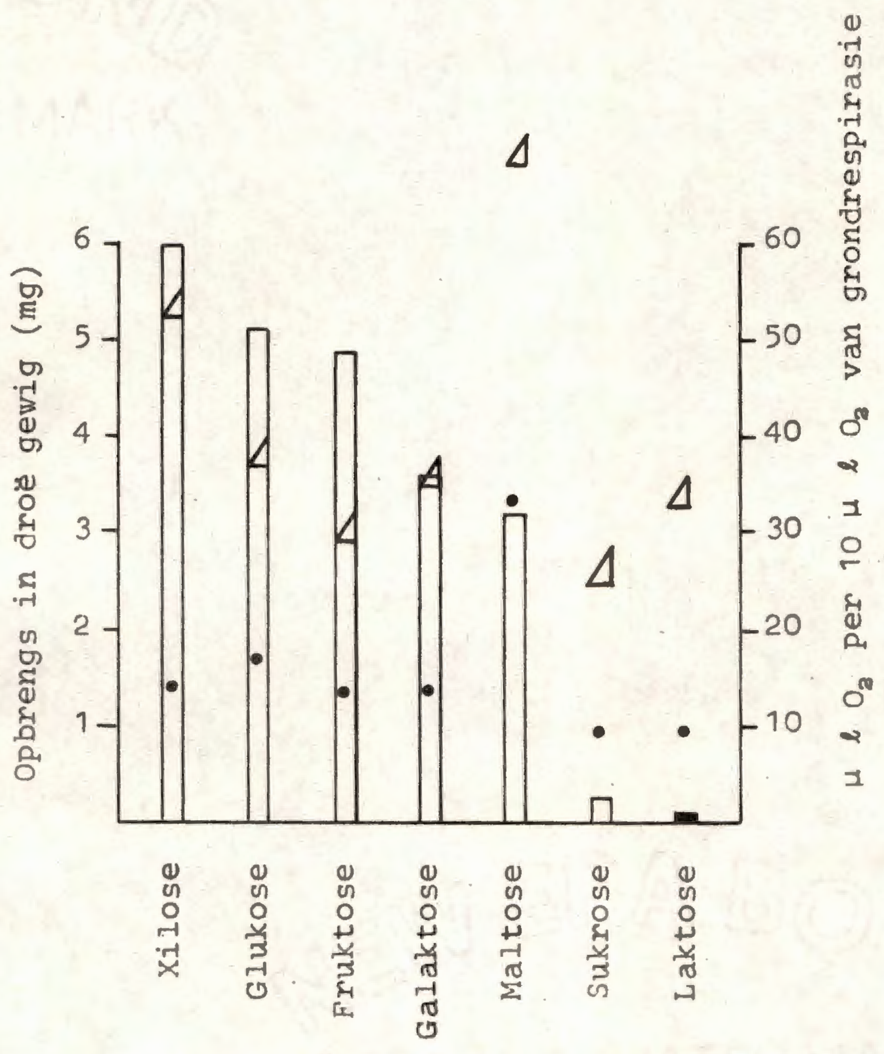
* Die invloed van suikers op die suurstofopname van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> in die donker by 25°C.

vergelyking met die kontrolewaarde vir die ooreenstemmende tyd gehad het, was die O_2-opname in die aanwesigheid van genoemde suikers na 24 uur laer as die kontrolewaarde na 6 uur. Die resultate mag moontlik daardeur verklaar word dat genoemde suikers stadiger deur die organisme opgeneem word as byvoorbeeld die monosakkariede. Die feit dat dit nie die geval met maltose, wat ook 'n disakkaried is, was nie, dui eerder daarop dat die ensieme wat dié suikers metaboliseer, moontlik in lae konsentrasies aanwesig was of 'n lae metaboliese aktiwiteit het.

Uit die resultate van proef nr. 7 op bladsy 46 blyk dit dat sekere suikers deur die diatoom as enigste bronne van koolstof benut kan word. Op soortgelyke wyse as vir die aminosure is 'n poging aangewend om te bepaal of die suikers vinnig genoeg deur die diatoom tot CO_2 geoksideer word om die groei in afwesigheid van CO_2 soos in proef nr. 7 waargeneem, te laat plaasvind al sou die suikers slegs fotosinteties geassimileer word.

Net soos vir die aminosure is die invloed van die suikers op die O_2-opname as 'n maatstaf vir die tempo waarteen die suikers tot CO_2 geoksideer word, gebruik. In Figuur 27 op bladsy 91 word die opbrengs in droë gewig van die diatoom in lig in die aanwesigheid van suikers en die gelyktydige afwesigheid van CO_2 met die effek van die suikers op die O_2-opname deur die diatoom na 24 uur, vergelyk. Die O_2-opname na 24 uur word aangegee as 'n faktor van die grondrespirasie na 24 uur en as 'n faktor van die grondrespirasie na 6 uur. Van die figuur kan afgelei word dat die invloed van die suikers op die O_2-opname van die diatoom na 24 uur in verhouding tot die grondrespirasie na 24 uur in 'n mate ooreenstem met die toeganklikheid van die suikers as enigste bronne van koolstof vir die diatoom. 'n Uitsondering is egter maltose,

wat die/......



Figuur 27.

▯ Die opbrengs in droë gewig van Achnanthes pseudohungarica in lig in die aanwesigheid van verskillende suikers en in die gelyktydige afwesigheid van CO_2.

Δ Die invloed van suikers op die O_2-opname (μℓO_2) van Achnanthes pseudohungarica na 24 uur per 10 μℓO_2 van die grondrespirasie na 24 uur.

• Die invloed van suikers op die O_2-opname (μℓO_2) van Achnanthes pseudohungarica na 24 uur per 10 μℓO_2 van die grondrespirasie na 6 uur.

wat die grootste toename in die O_2-opname bewerkstellig het terwyl die opbrengs in droë gewig in aanwesigheid van maltose veel laer was as in aanwesigheid van xilose, glukose en fruktose wat die O_2-opname nie tot dieselfde mate beïnvloed het nie.

In die aanwesigheid van laktose en sukrose was die opbrengs in droë gewig baie gering (groei in aanwesigheid van laktose slegs mikroskopies waarneembaar) terwyl die suikers na 24 uur in verhouding tot die grondrespirasie na 24 uur 'n 2.3- en 'n 3.3-voudige toename in die O_2-opname onderskeidelik bewerkstellig het. Geen verklaring kan hiervoor gegee word anders as dat die vermoë van die diatoom om genoemde stowwe te oksideer met verloop van tyd afneem of dat lig miskien die oksidasie van dié stowwe rem nie. Hier kan net genoem word dat die kontrole in die geval van die laktosebehandeling buitengewoon vinnig in die laaste 6 uur van die bepaling afgeneem het en daar bestaan rede om aan hierdie resultate te twyfel.

In ieder geval lyk dit asof die res van die suikers vinnig genoeg na CO_2 geoksideer word om toe te laat dat die suikers slegs fotosinteties geassimileer word. Net soos in die geval van die aminosure is daar egter geen bewys dat die suikers na 24 uur dieselfde effek op die O_2-opname sou gehad het indien daar nie 'n afname in die grondrespirasie was nie. As die invloed van die suikers op die O_2-opname na 24 uur in verhouding tot die grondrespirasie na 6 uur (voordat die reserwemateriaal uitgeput is) bepaal word, blyk dit dat die invloed nie werklik so groot is nie.

In die aanwesigheid van laktose en sukrose byvoorbeeld was die O_2-opname na 24 uur effens laer as die grondrespirasie na 6 uur. Dit blyk dus dat die toename in die O_2-opname in aanwesigheid van sukrose en laktose nie eers vir die afname in die grondrespirasie kon kompenseer nie. Dit

verklaar dan/....

verklaar dan ook moontlik die lae opbrengs in aanwesigheid van die suikers en in die gelyktydige afwesigheid van CO_2. Wat die res van die suikers betref, lyk dit ook onwaarskynlik dat die opbrengs in droë gewig, soos in proef nr.7 waargeneem, moontlik sou wees indien daar nie ook 'n direkte assimilasie van die suikers was nie.

In die algemeen wil dit voorkom asof die effek van die suikers op die O_2-opname baie geringer is as dié van die aminosure en asof dit skynbaar vir die suikers langer neem om 'n maksimale effek op die O_2-opname te hê as vir die aminosure.

DIE INVLOED VAN AMINOSURE, UREUM EN SUIKERS OP DIE RESPIRASIEKOËFFISIËNT (RK) EN VRYSTELLING VAN CO_2 DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA
(PROEF NR. 15)

Inleiding

Indien 'n oksideerbare stof by die kultuurmedium gevoeg word, veroorsaak dit dikwels 'n toename van die O_2-opname deur die organisme in die groeimedium aanwesig, soos byvoorbeeld die byvoeging van, onder andere, sekere aminosure by kulture van *Achnanthes pseudohungarica*. Die toegediende substraat kan verskeie moontlike effekte op die grondrespirasie van die organisme hê, naamlik :

1. Die toegediende substraat kan deur een of ander chemiese effek die grondrespirasie laat toeneem sonder om noodwendig self geoksideer te word.
2. Die toegediende substraat kan die oksidasie van die endogene substraat laat toeneem en self ook nog geoksideer word.

3. Die toegediende substraat kan onafhanklik van die endogene substraat geoksideer word sonder om enige invloed op die grondrespirasie te hê.

4. Die toegediende substraat kan die oksidasie van die endogene substraat heeltemal vervang deurdat dit as die uitsluitlike bron van energie benut kan word. Dit kan maklik verklaar word. Wanneer glukose byvoorbeeld toegedien word, kan verwag word dat die glukose, nadat dit geabsorbeer is, as respireerbare materiaal meer toeganklik sal wees as byvoorbeeld die glukose wat tot stysel gepolimeriseer is. Net so sal asetaat, nadat dit geabsorbeer is, waarskynlik meer toeganklik wees as die asetaat wat van vette of vetsure in die organisme verkry kan word.

Om korrekte afleidings uit die resultate van die proewe wat hierop volg asook uit die resultate van die vorige proewe te kan maak, sou dit belangrik wees om te weet hoe die toegediende substrate die oksidasie van die endogene substrate beïnvloed. Die belangrikheid hiervan word deur die volgende voorbeelde beklemtoon : In die vorige proewe is die verhoogde O_2-opname wat aan die aanwesigheid van die toegediende substrate toegeskryf kan word, as 'n maatstaf gebruik om te bepaal teen watter tempo die verskillende substrate tot CO_2 geoksideer word. Daar is van die veronderstelling uitgegaan dat die oksidasie van die toegediende substrate geen effek op die grondrespirasie het nie. Dit kon egter net sowel die geval gewees het dat die grondrespirasie gestimuleer is in welke geval 'n veel laer waarde van die tempo waarteen die substrate tot CO_2 geoksideer word, verkry sou word. Andersyds kon die toegediende substrate die endogene substrate as 'n bron van respireerbare materiaal geheel of gedeeltelik vervang het in welke geval 'n veel hoër waarde verkry sou word.

Twee metodes word algemeen gebruik om meer inligting in dié verband te bekom. In die eerste plek word daar van manometriese gegewens (indirekte metode) gebruik gemaak, terwyl daar in die sogenaamde direkte metode van radio-isotope gebruik gemaak word.

Volgens die resultate van Barker (1936), Taylor (1950), Myers *et al.*, (1947) en Syrett (1951), wat van indirekte metodes gebruik gemaak het, wil dit voorkom asof die aanwesigheid van 'n toegediende substraat 'n remmende effek op die grondrespirasie het. Lewin (1954) het op grond van sy bevindinge tot die gevolgtrekking gekom dat dit nie die geval is waar asetaat deur *Chlamydomonas dysosmos* geoksideer word nie.

Op grond van die bevindinge van Pirson *et al.*, (1955), Gibbs *et al.*, (1952), Kandler (1958), Moses *et al.*, (1955), wat almal van die direkte metode gebruik gemaak het, wil dit voorkom asof die aanwesigheid van 'n toegediende substraat oor die algemeen óf geen invloed op die endogene respirasie het nie, óf dat dit die grondrespirasie stimuleer.

Pirson *et al.*, (1955) het byvoorbeeld bevind dat indien glukose by kulture van *Chlorella vulgaris*, wat in aanwesigheid van isotopekoolstof ($C^{13}O_2$) gekweek is, gevoeg word, daar 'n toename van 30% in die hoeveelheid isotopekoolstof was wat deur respirasie afgegee is. Kandler (1958), het deur van $C^{14}O_2$ gebruik te maak, op soortgelyke wyse vasgestel dat die byvoeging van glukose by kulture van *Chlorella pyrenoidosa* 'n viervoudige toename van die hoeveelheid C^{14} wat deur respirasie afgegee word, bewerkstellig. Daar is verder ook bevind dat die toediening van asetaat 'n soortgelyke effek op die tempo van die C^{14} wat afgegee word, het.

As aanvaar sou word dat die resultate wat deur die direkte metode verkry word, betroubaar is, wil dit voorkom asof die aanwesigheid van 'n oksideerbare toegediende substraat in die

voedingsoplossing/...

voedingsoplossing óf geen invloed op die grondrespirasie het nie óf dat die grondrespirasie daardeur gestimuleer word, maar dat dit nie 'n remmende effek daarop het nie. Dit wil egter voorkom asof dit nog gladnie 'n uitgemaakte saak is watter invloed toegediende substrate op die grondrespirasie het nie.

In hierdie proef is die invloed van 'n aantal aminosure, ureum en suikers op die respirasiekoëffisiënt (RK) van die diatoom bepaal. Deur die RK in die aanwesigheid van 'n toegediende substraat te bepaal en dit te vergelyk met die RK wat in die afwesigheid van enige toegediende substraat bepaal is, asook met die berekende RK vir 'n bepaalde stof, is gehoop om 'n aanduiding te kry of sowel die toegediende as die endogene substrate geoksideer word en of die aanwesigheid van die toegediende substraat enige effek op die grondrespirasie het. Daar is verder gehoop om uit die resultate van dié proef 'n aanduiding te kry van die tempo waarteen die verskillende substrate tot CO_2 geoksideer word.

Proeftegnieke

Die hoeveelheid CO_2 afgegee, asook die hoeveelheid O_2 opgeneem, is bepaal soos reeds beskryf. Die 14 beskikbare flessies vir 'n enkele bepaling is soos volg gebruik :

	Inhoud van die middelste houer van die Warburgflesse	Aantal flessies
Termobarometer	0.2 cm^3 KOH	1
	0.2 cm^3 H_2O	1
Anorg. substr.(kontrole)	0.2 cm^3 KOH	3
	0.2 cm^3 H_2O	3
Anorg. substr. +	0.2 cm^3 KOH	3
toeg. substr.	0.2 cm^3 H_2O	3

In alle gevalle/....

In alle gevalle is die hoeveelheid CO_2 afgegee en O_2 opgeneem, 10 uur na die byvoeging van die organiese substraat vir 'n periode van 4 uur bepaal. Die rede hiervoor was om genoeg tyd toe te laat vir die toegediende substrate om 'n waarneembare effek op die O_2-opname te hê. Die volgende stowwe is by die proef ingesluit :

alanien	norleusien	fruktose
aspartiensuur	prolien	glukose
fenielalanien	serien	galaktose
glisien	treonien	laktose
glutamiensuur	triptofaan	maltose
leusien	valien	sukrose
isoleusien	ureum	xilose

Die gemiddelde RK-waardes vir die verskillende bepalings word in Tabel 19 op bladsy 98 aangebied.

Die invloed van aminosure en ureum op die hoeveelheid CO_2 afgegee en die statistiese verwerking daarvan word in Figuur 28 op bladsy 100 asook in Tabel 20 op bladsy 14 van die bylaag aangebied.

Bespreking en Gevolgtrekking

Die RK-waarde in die afwesigheid van enige toegediende substraat was ongeveer 1, wat daarop dui dat die endogene substraat wat onder dié toestande gerespireer is heelwaarskynlik 'n koolhidraat van een of ander aard was. Die RK-waardes in die aanwesigheid van die verskillende suikers was ook ongeveer 1.

Die RK-waardes in die aanwesigheid van die verskillende aminosure was in al die gevalle aansienlik laer as dié van die grondrespirasie, asook van die berekende RK-waardes vir die verskillende aminosure.

Die aminosure/......

TABEL 19

DIE INVLOED VAN AMINOSURE EN SUIKERS OP DIE RESPIRASIEKOËFFISIËNT VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA IN DIE DONKER BY 25°C

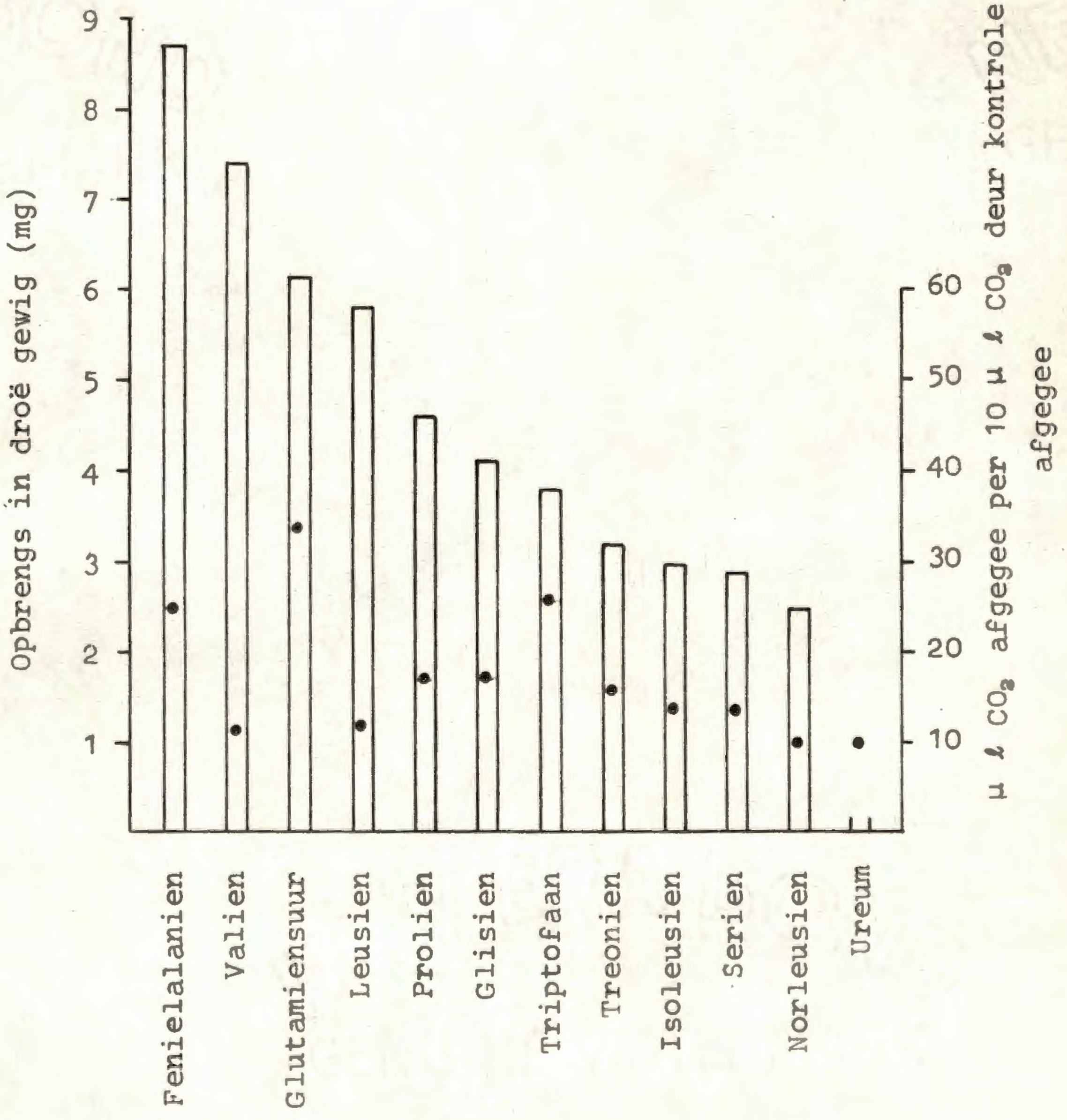
Die gaswisseling is vir 'n periode van 4 uur, 10 uur nadat die betrokke organiese substraat bygevoeg is, bepaal.

Toegediende substraat (10 μ mol/fles)	Respirasiekoëffisiënt	
	Kontrole	Behandeling
Alanien	0.91	0.56
Aspartiensuur	1.01	0.43
Fenielalanien	1.08	0.51
Glisien	0.97	0.50
Glutamiensuur	1.02	0.49
Leusien	1.11	0.37
Isoleusien	0.99	0.31
Norleusien	0.94	0.44
Prolien	1.13	0.37
Serien	1.04	0.50
Treonien	1.16	0.44
Triptofaan	0.97	0.45
Valien	1.04	0.22
Ureum	1.10	0.99
Fruktose	1.14	1.12
Glukose	1.09	1.01
Galaktose	0.95	1.02
Laktose	0.81	1.08
Maltose	0.87	1.05
Sukrose	0.97	1.12
Xilose	1.11	0.92

Die aminosure alanien, leusien, isoleusien, norleusien, serien, treonien en valien het op die stadium toe die RK-waarde bepaal is, nog geen beduidende effek op die hoeveelheid CO_2 afgegee gehad nie, maar wel op die hoeveelheid O_2 opgeneem. 'n Moontlike verklaring vir hierdie resultate is dat 'n oksidatiewe deaminasie van die aminosure plaasvind waartydens O_2 opgeneem word sonder dat CO_2 afgegee word. Die res van die aminosure het die hoeveelheid CO_2 afgegee betekenisvol of hoogsbetekenisvol laat toeneem in vergelyking met 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing, en in dié gevalle is dit duidelik dat daar nie net 'n oksidatiewe deaminasie kon plaasgevind het nie, maar dat daar ook 'n verdere oksidasie van die res van die aminosuurmolekuul moes plaasgevind het.

In Figuur 28 op bladsy 100 word die vermoë van die diatoom om in aanwesigheid van aminosure en in die gelyktydige afwesigheid van CO_2 te groei met die effek van die aminosure op die hoeveelheid CO_2 deur die diatoom afgegee, vergelyk. Uit dié resultate wil dit voorkom asof die vermoë van die organisme om aminosure tot CO_2 te oksideer, swak korreleer met die toeganklikheid van dié substrate as enigste bronne van koolstof vir die diatoom. Uit dié resultate lyk dit asof die opbrengs in droë gewig van die diatoom wat deur die aminosure in afwesigheid van CO_2 bewerkstellig is, nie moontlik sou wees indien die substrate slegs fotosinteties geassimileer sou word nadat hulle deur die organisme tot CO_2 geoksideer is nie. Dit wil dus voorkom asof daar ook 'n direkte assimilasie van die substrate plaasvind. Wat hier egter in gedagte gehou moet word, is dat die CO_2-vrystelling oor 'n relatief kort periode bepaal is. Die moontlikheid is dus nie uitgesluit dat die CO_2-vrystelling oor 'n langer periode beter met die toeganklikheid van die aminosure as enigste koolstofbronne sal korreleer nie.

Uit die/........



Figuur 28

□ Opbrengs in droë gewig van Achnanthes pseudohungarica in aanwesigheid van aminosure en die gelyktydige afwesigheid van CO_2.

• Die invloed van aminosure op die CO_2 vrystelling van Achnanthes pseudohungarica in die donker by 25°C 10 uur nadat die aminosure bygevoeg is.

Uit die resultate blyk dit verder dat die aanwesigheid van ureum geen effek op die gaswisseling van die diatoom gehad het nie. Hierdie resultate kan die indruk skep dat ureum geassimileer word deur inkorporasie by 'n ander molekuul sonder dat enige deel daarvan in gasvorm vrygestel word. Die groei van die diatoom met ureum as enigste koolstofbron was egter baie gering. Dit is dus moontlik dat die CO_2-vrystelling gedurende die metingsperiode so min was dat dit nie meetbaar was nie, maar oor 'n lang tydperk tog voldoende was om geringe groei te bewerkstellig.

DIE DEAMINASIE-AKTIWITEIT VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 16)

Inleiding

'n Moontlike verklaring vir die bevinding dat die aanwesigheid van aminosure in die kultuurmedium die O_2-opname deur die diatoom buitengewoon laat toeneem en die RK-waarde besonder baie laat afneem, was dat die oksidatiewe deaminasie van die aminosure die oorheersende reaksie was in welke geval O_2 opgeneem word sonder dat 'n gelyke hoeveelheid CO_2 afgegee word. In hierdie proef is 'n poging aangewend om 'n aanduiding van die deaminasie-aktiwiteit van die diatoom te kry.

Proeftegnieke

'n Aanduiding van die deaminasie-aktiwiteit van die diatoom is soos volg verkry : 'n Diatoomsuspensie is in 'n groeimedium wat 'n bepaalde aminosuur bevat het, oorgedra. Na ongeveer 12 uur is lug wat vooraf deur H_2SO_4 geborrel is om dit van ammoniak te bevry, deur die kultuur geborrel en oor lakmoespapier gelei. Vir kontroledoeleindes is dieselfde prosedure gelyktydig met 'n suiwer anorganiese voedingsmedium herhaal. Dieselfde aminosure asook ureum,

soos vir/......

soos vir die vorige proef, is by dié proef ingesluit.

Resultate

Vir al die aminosure waarvoor getoets is, is 'n positiewe toets verkry. As die hoë oplosbaarheid van ammoniak in water in aanmerking geneem word, dui die resultate op 'n redelik aktiewe deaminasie-aktiwiteit vir die diatoom. Hierdie resultate versterk dus die moontlike verklaring vir die resultate van die vorige proef.

HOOFSTUK 5

DIE ASSIMILASIE EN OKSIDASIE VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA, NITZSCHIA PALEA EN DIE SCENEDESMUS-SPESIE

INLEIDING

Dit is 'n welbekende feit dat die direkte assimilasie van organiese stowwe as selmateriaal, byvoorbeeld stysel uit glukose, proteïne uit aminosure, ensovoorts, energie vereis. In die afwesigheid van lig is die enigste bron van energie wat vir dié assimilasie aangewend kan word, respirasie. Die verhoogde tempo van respirasie wat in aanwesigheid van 'n organiese substraat waargeneem word, word dan ook onder andere aan die bykomstige energie wat vir die assimilasie benodig word, toegeskryf.

Die energie wat vir dié assimilasie benodig word, kan afkomstig wees van die oksidasie van die endogene substraat of die oksidasie van die toegediende substraat self. So byvoorbeeld het Barker (1936) bevind dat *Prototheca* in 'n stikstofvrye medium 36% van die bygevoegde glukose geoksideer het, terwyl die oorblywende 64% geassimileer is. Daar is verder bevind dat 'n hele aantal *Chlorella*-spesies (Myers *et al.*, 1947; Cramer *et al.*, 1949; Syrett, 1951; Fujita, 1959) en *Scenedesmus quadricauda* (Taylor, 1950) 80 - 90% van die bygevoegde koolstof assimileer, terwyl 10 - 20% daarvan as CO_2 vrygestel word. Hierdie resultate is verkry deur van nie-groeiende organismes gebruik te maak, byvoorbeeld deur die weglating van stikstof uit die groeimedium. In die geval van aktief-groeiende organismes is die persentasie van die toegediende substraat wat geassimileer word, oor die algemeen heelwat laer. So byvoorbeeld is bevind dat groeiende selle van *Prototheca* 44% (Barker, 1935), *Chlorella pyrenoidosa* 43-51% (Myers *et al.*, 1949; Samejima *et al.*, 1958) en *Chlorella ellipsoidea* 53-59%

(Samejima/.....

(Samejima *et al.*, 1958) van die glukose-koolstof assimileer.

Die hoë persentasie van die toegediende substraat wat in die geval van nie-groeiende selle geassimileer word, kan daardeur verklaar word dat die organismes onder dié omstandighede min energie vereis vir die instandhouding van die selle. In die geval van aktief-groeiende selle word egter meer energie vereis vir die instandhouding van die selle en die sintese van nuwe selmateriaal, met die gevolg dat 'n groter persentasie van die toegediende substraat geoksideer word en 'n kleiner persentasie geassimileer word.

Hoewel die persentasie van die toegediende substraat wat geoksideer word, om die nodige energie vir die assimilasie daarvan te verskaf, verskillend is onder verskillende toestande, word dit algemeen as 'n maatstaf vir die doeltreffendheid van die assimilasie gebruik.

So byvoorbeeld het Lewin (1954) bevind dat 'n gedeelte van die bygevoegde asetaatkoolstof deur *Chlamydomonas dysosmos* geassimileer word, terwyl daar deur 'n mutant van hierdie organisme 'n volledige oksidasie van die bygevoegde asetaat was. Wat egter van belang is, is die feit dat die mutant in teenstelling met die wilde tipe selle nie heterotroof op asetaat kan groei nie. Lewin verklaar dié feit daardeur dat die mutant nie oor die vermoë beskik om die energie tydens die oksidasie van die toegediende substraat vrygestel, doeltreffend met die assimilasie daarvan te koppel nie.

Dit is bevind dat aminosure in die lig as enigste bronne van koolstof vir *Achnanthes pseudohungarica* toeganklik is. Die feit dat die organisme nie heterotroof op die substrate kan groei nie of fotosintese met chemosintese kan aanvul nie, dui daarop dat die organisme die organiese substrate nie direk as selmateriaal kan assimileer nie.

Die effek/......

Die effek van die substrate op die O_2-opname van die organisme dui dan ook daarop dat sommige van die stowwe vinnig genoeg tot CO_2 geoksideer word om 'n uitsluitlik fotosintetiese assimilasie van die substrate moontlik te maak. Vir 'n hele aantal van die substrate wil dit egter voorkom asof daar wel 'n direkte assimilasie van die substrate moet plaasvind.

Vir Nitzschia palea is bevind dat hoewel die organisme onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is, fotosintese met chemosintese kan aanvul, die organisme nie tot heterotrofe groei op die organiese substrate in staat is nie. Daar bestaan verskeie moontlike verklarings vir hierdie verpligte outotrofe groei van Nitzschia palea, naamlik dat groei van een of ander fotochemiese reaksie afhanklik is of dat die assimilasie van organiese substrate in die afwesigheid van lig nie vinnig genoeg kan plaasvind om waarneembare groei van hierdie organisme te bewerkstellig nie.

In die hieropvolgende proewe word die assimilasie van organiese substrate deur Achnanthes pseudohungarica en Nitzschia palea nader ondersoek. Vir vergelykende doeleindes is die assimilasie van organiese substrate deur die Scenedesmus-spesie ook ondersoek. Aangesien die Scenedesmus-spesie tot heterotrofe groei in staat is en toegediende substrate dus wel kan assimileer, behoort hierdie organisme besonder geskik te wees vir 'n vergelykende ondersoek.

DIE OKSIDASIE EN ASSIMILASIE VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 17)

Proeftegnieke

Om die assimilasie van toegediende substrate deur 'n organisme te ondersoek, word die volgende manometriese metode

algemeen/......

algemeen gebruik. (Barker, 1935 en 1936; Lewin, 1954; Daniel, 1956.)

'n Bekende hoeveelheid van die organiese substraat word by die voedingsoplossing gevoeg. In die aanwesigheid van sommige van die toegediende substrate is daar 'n toename in die O_2-opname (byvoorbeeld die byvoeging van sekere aminosure by kulture van Achnanthes pseudohungarica). Die selle word nou toegelaat om te respireer totdat daar geen verskil in die O_2-opname in die aanwesigheid van die toegediende substraat en 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing is nie. Soos reeds genoem, word die bykomstige hoeveelheid O_2 wat in die aanwesigheid van die toegediende substraat opgeneem word toegeskryf aan die oksidasie van 'n gedeelte van hierdie substraat om die nodige energie vir die assimilasie van die oorblywende gedeelte te verskaf. Deur die bykomstige hoeveelheid O_2 uit te druk as 'n persentasie van die berekende waarde vir die hoeveelheid O_2 benodig om 'n volledige oksidasie van die toegediende substraat te bewerkstellig, kan die persentasie van die substraat wat geassimileer word, vasgestel word.

'n Moontlike nadeel van hierdie metode is die volgende : Dit kan gebeur dat daar geen oksidasie van die endogene substraat in aanwesigheid van die toegediende substraat plaasvind nie en dat die toegediende substraat as die uitsluitlike bron van energie benut word. 'n Gedeelte van die toegediende substraat sal dan aangewend word vir die normale energiebehoeftes van die organisme (grondrespirasie). Dié gedeelte van die substraat wat dan in werklikheid geassimileer word, sal dan veel minder wees as die waarde wat proefondervindelik bepaal word. Daar kan egter geargumenteer word dat die organisme die verskil tussen die hoeveelheid wat werklik geassimileer word en die waarde wat proefondervindelik bepaal word, baat, aangesien 'n ekwivalente hoeveelheid endogene substraat bespaar word. Andersyds kan die energie vir die

assimilasieproses/..

assimilasieproses benodig verskaf word deur 'n verhoogde oksidasie van die endogene substraat. In dié geval sal 'n veel hoër persentasie van die toegediende substraat geassimileer word as wat werklik bepaal word. Die organisme sal die groter hoeveelheid toegediende substraat wat geassimileer word, egter „verloor" deurdat 'n groter hoeveelheid endogene substraat geoksideer word.

Dit wil dus voorkom asof die effek van die toegediende substraat op die oksidasie van die endogene substraat vir die doel van hierdie proewe naamlik om die doeltreffendheid van die assimilasieproses te bepaal, buite rekening gelaat kan word.

Die beskikbare Warburgflessies vir 'n bepaling is soos volg gebruik :

Termobarometer	- 2 flessies
Anorg. substr.	- 3 flessies
Anorg. substr. + toeg. substr. nr. 1	- 3 flessies
Anorg. substr. + toeg. substr. nr. 2	- 3 flessies
Anorg. substr. + toeg. substr. nr. 3	- 3 flessies

Die volgende stowwe is by dié proef ingesluit :

alanien	serien
apartiensuur	treonien
fenielalanien	triptofaan
glisien	valien
glutamiensuur	galaktose
isoleusien	glukose
leusien	maltose
norleusien	fruktose
prolien	xilose.

Die resultate word in Tabel 21 op bladsy 15 van die bylaag en in Figuur 29 op bladsy 108 aangetoon. Die

hoeveelheid/....

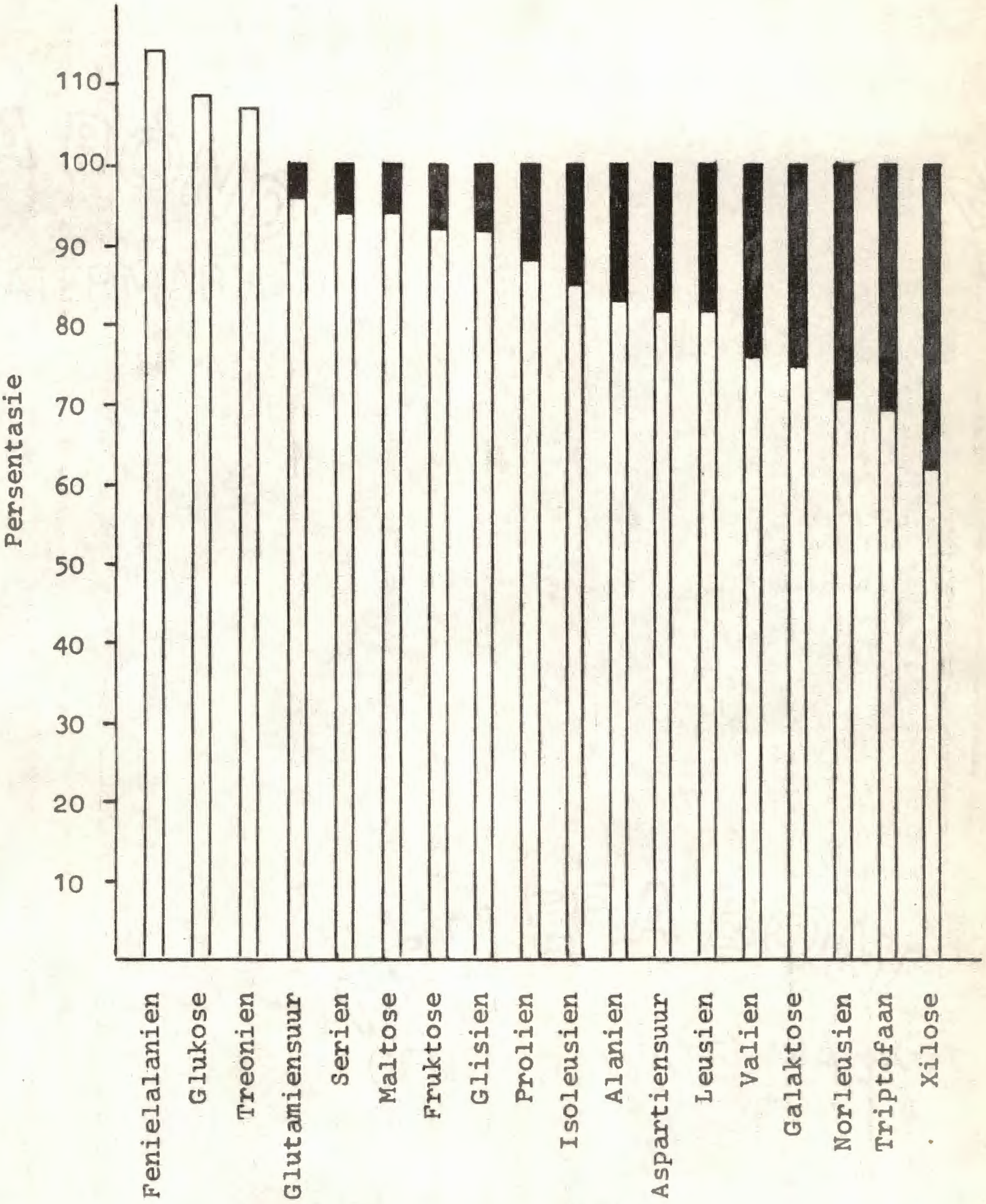


Fig. 29. Die hoeveelheid van die toegediende substraat wat in die donker by 25°C deur *Achnanthes pseudohungarica* geoksideer word, uitgedruk as 'n persentasie van die berekende waarde vir die volledige oksidasie van die hoeveelheid substraat bygevoeg.

Persentasie van substraat geoksideer.

hoeveelheid O_2 eksperimenteel bepaal, word telkens uitgedruk as 'n persentasie van die berekende waarde vir die volledige oksidasie van 1 µ mol van die stof.

Bespreking en Gevolgtrekking

Vir norleusien, valien en galaktose was die persentasie van die substraat wat geoksideer is, betekenisvol en vir triptofaan en xilose hoogsbetekenisvol laer as die 100%-waarde. Vir die res van die substrate het die persentasie wat geoksideer is, nie betekenisvol van die 100%-waarde verskil nie en blyk dit dat 'n lae persentasie van die substrate, indien enige, deur die diatoom geassimileer is. Selfs vir die substrate waarvan die persentasie wat geoksideer is, betekenisvol en hoogsbetekenisvol laer was as die 100%-waarde, kon die persentasie wat geassimileer is, nie baie groot gewees het nie. Veral as in aanmerking geneem word dat die kulture in die afwesigheid van lig gehou is en daar dus nie aktiewe groei kon plaasvind nie.

Indien dit wel uit hierdie gegewens afgelei kan word dat Achnanthes pseudohungarica slegs 'n lae persentasie van die toegediende substrate assimileer, stem dit ooreen met die bevinding dat die organisme nie heterotroof op die organiese substrate kan groei nie en dat fotosintese nie met chemosintese aangevul kan word indien hierdie organiese substrate aangebied word nie. Of dit wel geregverdig is om hierdie afleidings uit die beskikbare gegewens te maak, is egter 'n ope vraag. Verskeie persone, onder andere Barker (1935 en 1936); Lewin (1954) en Daniel (1956), maak wel van resultate wat op dié wyse verkry word, gebruik om die hoeveelheid van 'n toegediende substraat wat geassimileer word, te bepaal. Wat die proefwerk met Achnanthes pseudohungarica betref, moet die volgende egter in gedagte gehou word :

Die hoeveelheid/...

Die hoeveelheid diatoommateriaal wat vir hierdie proewe beskikbaar was, was nie genoegsaam om 'n vinnige oksidasie van die toegediende substrate te bewerkstellig nie. Vir die meerderheid van die substrate het die oksidasie van die substrate eers na 'n geruime tyd 'n aanvang geneem. Die gevolg was dat die proewe oor die algemeen besonder lank geduur het. In sommige gevalle het dit selfs langer as 24 uur geduur voordat die O_2-opname in die aanwesigheid van 'n toegediende substraat tot dieselfde vlak gedaal het as die O_2-opname in 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing. Vir vorige proewe is bevind dat indien die selle vir so 'n lang periode in die donker gehou word, daar 'n aansienlike afname van die grondrespirasie plaasvind klaarblyklik as gevolg van die feit dat die reserwemateriaal van die selle afneem.

Sou dit nou gebeur dat die toegediende substrate wel in die donker geassimileer word, kan aanvaar word dat die reserwemateriaal wat vir die respirasie in die donker gebruik word, deur die geassimileerde substrate aangevul sal word. Aangesien daar, indien assimilasie wel plaasvind, vir die afname in respireerbare materiaal gekompenseer word, kan ook aanvaar word dat die O_2-opname in aanwesigheid van 'n toegediende substraat hoër sal wees as in 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing, al sou die assimilasieproses reeds afgehandel wees. Hierdie verhoogde O_2-opname in aanwesigheid van 'n toegediende substraat, behoort dan ook voort te duur totdat die geassimileerde substraat of die ekwivalent daarvan volledig geoksideer is. Na aanleiding van bogenoemde wil dit dus voorkom asof 'n 100% oksidasie van 'n toegediende substraat onder sekere toestande verkry kan word al sou die substraat deur die organisme geassimileer word.

Betroubare/.....

Betroubare afleidings uit resultate, soos vir diè proef verkry, kan dus slegs in die volgende gevalle gemaak word :

Die tydsduur van die bepalings moet só kort wees dat daar geen noemenswaardige afname van die grondrespirasie is nie soos wat die geval is met die proewe wat deur die reeds vermelde Barker, Lewin en Daniel uitgevoer is, tensy die afname in die grondrespirasie bekend is en in berekening gebring kan word. In soortgelyke proewe hierna met Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie uitgevoer, is hierdie vermoede dan ook bevestig.

Op die stadium toe diè proefreeks uitgevoer is, is die moontlike invloed van die afname van die grondrespirasie tydens die duur van die proef nie as belangrik beskou nie. Gevolglik is die lesings op ongereelde tye geneem sodat die afname in grondrespirasie teenoor tyd nie uit die gegewens afgelei kon word nie en dit kan dus nie hier in berekening gebring word nie.

'n Moontlike verklaring vir die gevalle waar daar nie 'n 100% oksidasie van die toegediende substrate was nie, kan wees dat die stowwe nie volledig deur die organisme gemetaboliseer kan word nie. As gevolg van die duur van sommige van die bepalinge het die respirasie sodanig verminder dat dit naderhand moeilik was om te bepaal of the O_2-opname in aanwesigheid van die toegediende substraat van die O_2 opname in 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing verskil.

Met die bepaling van die effek van die toegediende substrate op die hoeveelheid CO_2 deur die diatoom afgegee is vir 'n hele aantal aminosure bevind dat terwyl die O_2-opname reeds aansienlik toegeneem het in die aanwesigheid van diè substrate hierdie stowwe nog geen effek op die CO_2-vrystelling deur die organisme gehad het nie. Hierdie resultate kan

moontlik/......

moontlik daaraan toegeskryf word dat 'n oksidatiewe deaminasie van die aminosure plaasgevind het. Uit die resultate van hierdie proef blyk dit egter dat die diatoom 'n volledige of 'n feitlik volledige oksidasie van die meerderheid van die stowwe waarvoor getoets is, kan bewerkstellig. Die koolstofskelet van die aminosure word derhalwe ook geoksideer. Uit dié resultate, tesame met dié van die vorige proef, wil dit dus voorkom asof 'n oksidatiewe deaminasie van die aminosure aanvanklik die oorheersende reaksie is en dat die oksidasie van die res van die aminosuurmolekuul eers na verloop van tyd of baie stadiger plaasvind.

Daar kan geen verklaring gegee word vir die feit dat alanien tot CO_2 geoksideer word maar blykbaar nie vir die diatoom as 'n enigste bron van koolstof toeganklik is nie.

DIE OKSIDASIE EN ASSIMILASIE VAN ASETAAT, GLUTAMIENSUUR, FENIELALANIEN EN GLUKOSE DEUR NITZSCHIA PALEA EN DIE SCENEDESMUS-SPESIE (PROEF NR. 18)

Inleiding

Soos reeds genoem, is 'n moontlike verklaring vir die verpligte outotrofe groei van *Nitzschia palea* dat die organisme die toegediende substrate nie vinnig genoeg in die afwesigheid van lig kan assimileer nie. In hierdie proef is die assimilasie van verskeie toegediende substrate in die afwesigheid van lig deur *Nitzschia palea* bepaal. Vir vergelykende doeleindes is die assimilasie van toegediende substrate deur die *Scenedesmus*-spesie ook bepaal.

Proeftegnieke

Hierdie proef was dieselfde as die vorige, behalwe dat *Nitzschia palea* en die *Scenedesmus*-spesie as proeforganismes

gebruik/.....

gebruik is. In teenstelling met die proef vir Achnanthes pseudohungarica is lesings op gereelde tye geneem sodat die afname in grondrespirasie tydens die duur van die proef in berekening gebring kan word.

Die resultate word in Tabelle 22 en 23 op bladsy 16 van die bylaag verstrek en in Figure 30 - 32 op bladsye 114 - 116 en Figuur 34 op bladsy 121.

Bespreking en Gevolgtrekking

Soos voorheen reeds aangetoon, word 'n gedeelte van die toegediende substraat geoksideer en die energie wat hierdeur vrygestel word, word aangewend vir die direkte assimilasie van die oorblywende gedeelte van die toegediende substraat as selmateriaal.

'n Algemene kenmerk van die grafieke (Figure 30 - 32) is dat daar na die toediening van die substrate 'n toename van die O_2-opname was gevolg deur 'n skerp afname tot ongeveer op dieselfde vlak as wat die grondrespirasie met die aanvang van die proef was.

Hierdie tipe grafiek is deur ander werkers (Barker, 1936; Lewin, 1954; Daniel, 1956) soos volg verklaar :

Die verhoogde O_2-opname in die aanwesigheid van die toegediende substraat word toegeskryf aan die oksidasie van 'n gedeelte van die substraat om energie vir die assimilasie van die ander gedeelte daarvan te verskaf. Nadat die assimilasieproses voltooi is, byvoorbeeld deur die sintese van reserwestowwe, daal die O_2-opname tot ongeveer dieselfde vlak as voor die toediening van die substraat. Op die grafieke word dit deur die pyltjies aangedui. Deur die bykomstige hoeveelheid O_2 in die aanwesigheid van 'n toegediende substraat uit te druk as 'n persentasie van die berekende waarde vir die volledige oksidasie van die toegediende substraat, kan die

hoeveelheid/.......

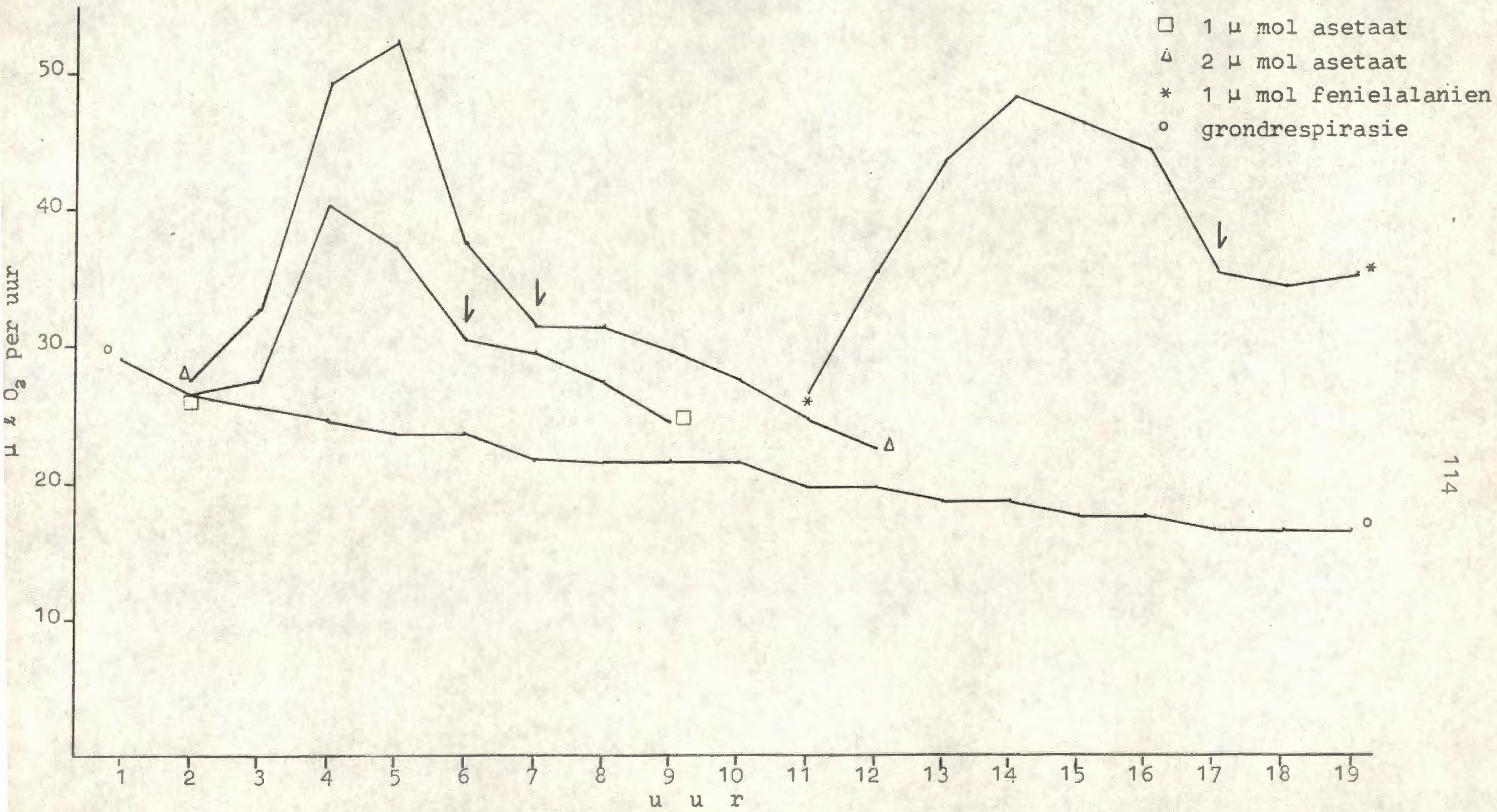


Fig. 30. Die invloed van asetaat en fenielalanien op die suurstofopname van die <u>Scenedesmus</u>-spesie in die donker by 25°C.

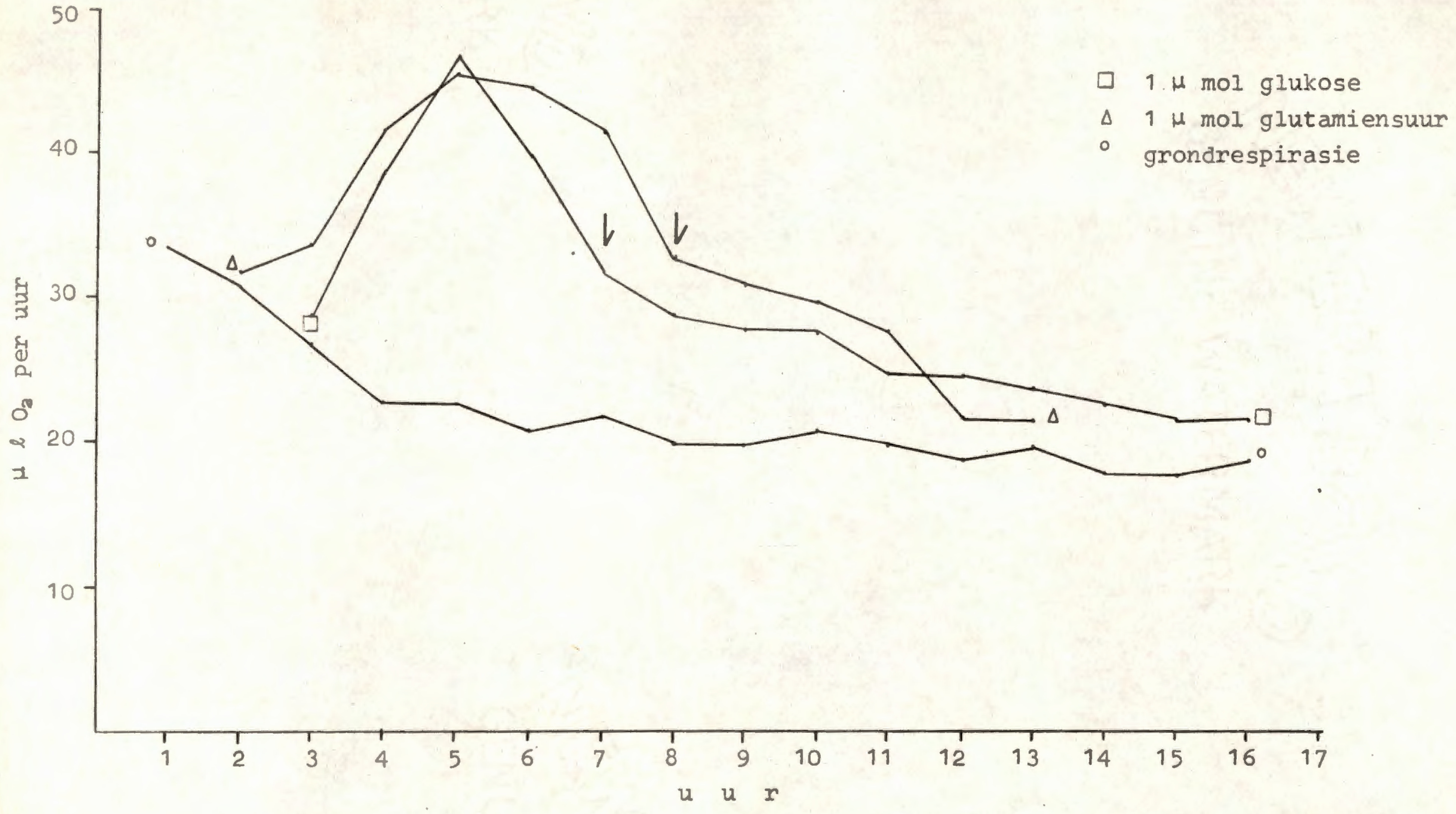


Fig. 31. Die invloed van glutamiensuur en glukose op die suurstofopname van die Scenedesmus-spesie in die donker by 25°C.

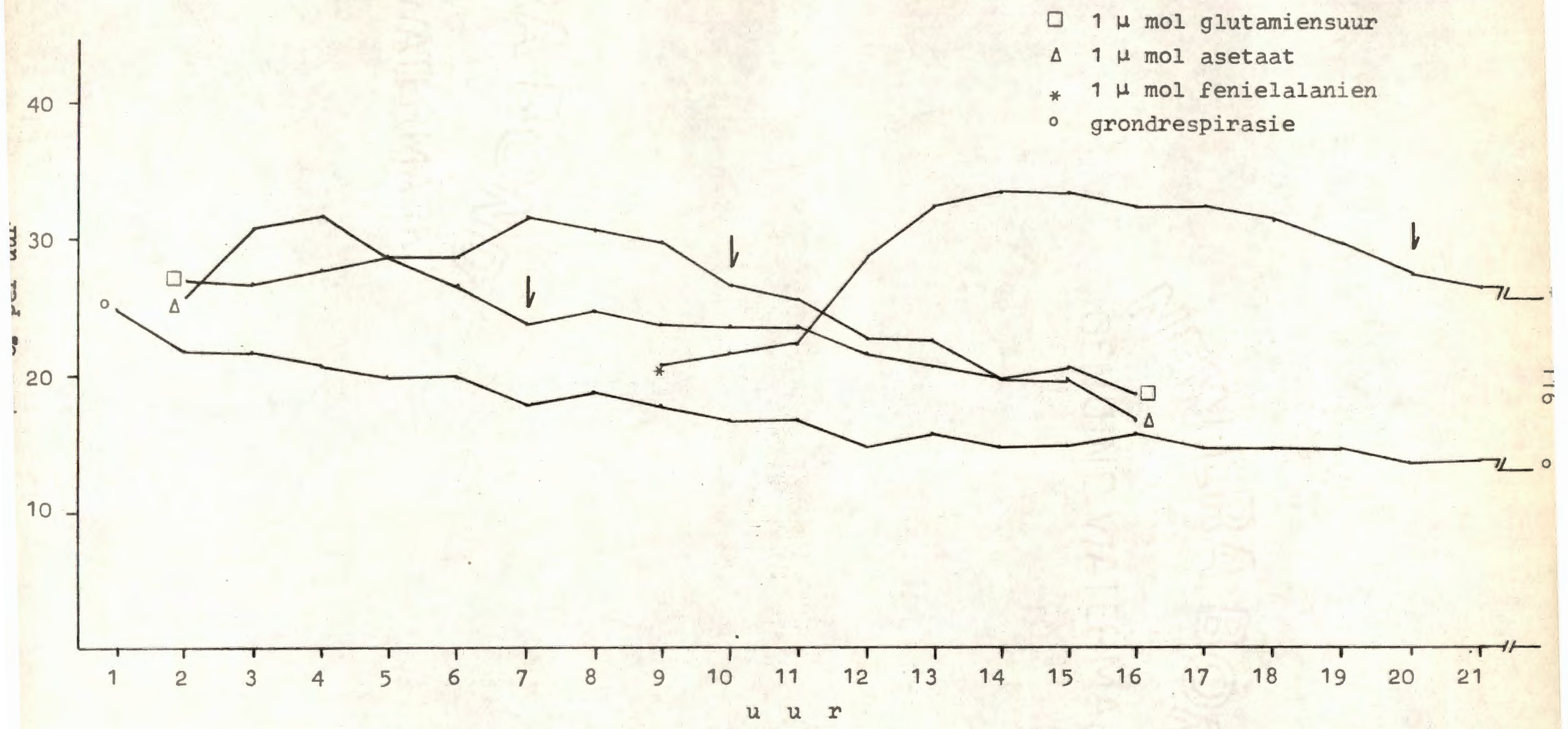


Fig. 32. Die invloed van glutamiensuur, fenielalanien en asetaat op die O_2-opname van <u>Nitzschia palea</u> in die donker by 25°C.

hoeveelheid van die toegediende substraat wat geoksideer word, asook die hoeveelheid wat geassimileer word, vasgestel word.

In die berekening van dié waardes moet verskeie faktore egter in gedagte gehou word. So byvoorbeeld is dit nie bekend wat die invloed van die toegediende substrate op die oksidasie van die endogene substraat is nie. Soos voorheen reeds aangetoon, is die bevindinge in dié verband teenstrydig. Barker (1936), Taylor (1950), Myers et al.,(1947) en Syrett (1951) byvoorbeeld is van mening dat die grondrespirasie deur die aanwesigheid van toegediende substrate onderdruk word. Daarenteen is Lewin, (1954); Pirson et al., (1955) en Kandler, (1958) van mening dat toegediende substrate óf geen effek op die grondrespirasie het nie óf dat dit die grondrespirasie laat toeneem. Barker, (1936), byvoorbeeld, beskou die O_2-opname in die aanwesigheid van toegediende substrate tot en met die skielike afname (soos op die grafieke aangedui) in die geval van Prototheca zopfii as die hoeveelheid O_2 wat vir die oksidasie van die toegediende substraat gebruik is sonder om die grondrespirasie soos in 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing bepaal, daarvan af te trek.

Kritiek wat teen die berekening, soos op dié wyse gedoen, uitgespreek kan word, is dat al sou die toegediende substraat instede van die endogene substraat geoksideer word, al die energie op dié wyse vrygestel, nie aangewend word vir die assimilasie van die substraat nie, maar dat 'n gedeelte van die energie ook aangewend word om aan die normale energie-behoeftes (grondrespirasie) van die organisme te voorsien. Hoewel dié gedeelte van die toegediende substraat wat hiervoor aangewend word, nie geassimileer word nie, baat die organisme, soos reeds genoem, by die endogene substraat wat nou nie verbruik word nie.

Dit lyk dus/.....

Dit lyk dus asof dit meer korrek sal wees om die grondrespirasie in berekening te bring, of die oksidasie van die endogene substraat noual onveranderd voortgaan dan wel of die toegediende substraat as die uitsluitlike bron van energie gebruik word.

'n Verdere probleem wat met dié proewe ondervind is, wat nie algemeen ondervind word nie, is dat die proewe besonder lank geduur het, aangesien sommige van die substrate eers na verloop van 'n geruime tyd geoksideer word terwyl daar vir sommige van die proewe nie genoeg materiaal beskikbaar was om 'n vinnige oksidasie van die substrate te bewerkstellig nie. As gevolg van die duur van die proewe is in alle gevalle bevind dat daar 'n aansienlike afname van die grondrespirasie was. Aangesien hierdie afname waarskynlik gepaard gaan met 'n afname van die reserwestowwe in die algselle kan dit verwag word dat 'n gedeelte van die toegediende substraat aangewend sal word om vir die afname in die grondrespirasie te kompenseer. Onder dié toestande sal 'n gedeelte van die toegediende substraat dus in werklikheid aangewend word om aan die normale energiebehoeftes van die algselle te voorsien en word dié energie dus nie alles aangewend vir die assimilasie van die substraat nie.

Om te bepaal of die toegediende substraat ten volle deur die organisme gemetaboliseer kan word, is die selle toegelaat om te respireer totdat daar geen verskil in O_2-opname in die aanwesigheid van 'n toegediende substraat en 'n suiwer anorganiese voedingsmedium was nie. Aangesien daar 'n afname van die grondrespirasie plaasgevind het, sou die assimilasieprodukte ook ten volle geoksideer word om vir hierdie afname in die grondrespirasie te kompenseer.

In dié proefreeks is bogenoemde faktore met die bepaling van dié gedeelte van die toegediende substraat wat geoksideer word vir die verskaffing van energie vir die assimilasieproses

in berekening/......

in berekening gebring. Die volgende is 'n voorbeeld van so 'n berekening : (Assimilasie van 1 μ mol asetaat deur die <u>Scenedesmus</u>-spesie)

Vir die volledige oksidasie van 1 μ mol asetaat is 50 $\mu \ell O_2$ nodig.

Volgens die grafiek (Figuur 30 bladsy 114) was die assimilasie van 1 μ mol asetaat na ses uur voltooi.

Tydens die assimilasie het die grondrespirasie met 18.63 $\mu \ell O_2$ afgeneem, waarskynlik as gevolg van die afname van die reserwestowwe van die organisme. Indien 'n gedeelte van die toegediende substraat gebruik sou word om vir hierdie afname in die grondrespirasie te kompenseer, en dus nie vir die assimilasieproses aangewend word nie, laat dit 'n hoeveelheid asetaat wat ekwivalent aan 31.37 $\mu \ell O_2$ is (50 - 18.63) wat vir die assimilasieproses beskikbaar is. Hiervan word 'n hoeveelheid asetaat wat ekwivalent aan 21.01 $\mu \ell O_2$ is geoksideer om die assimilasieproses deur te voer. (21.01 $\mu \ell O_2$ is 66.97% van 31.37 $\mu \ell O_2$.) Die 21.01 $\mu \ell O_2$ verteenwoordig die verskil in O_2-opname in aanwesigheid van asetaat en dié van 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing nadat die afname in grondrespirasie van die verskil afgetrek is.

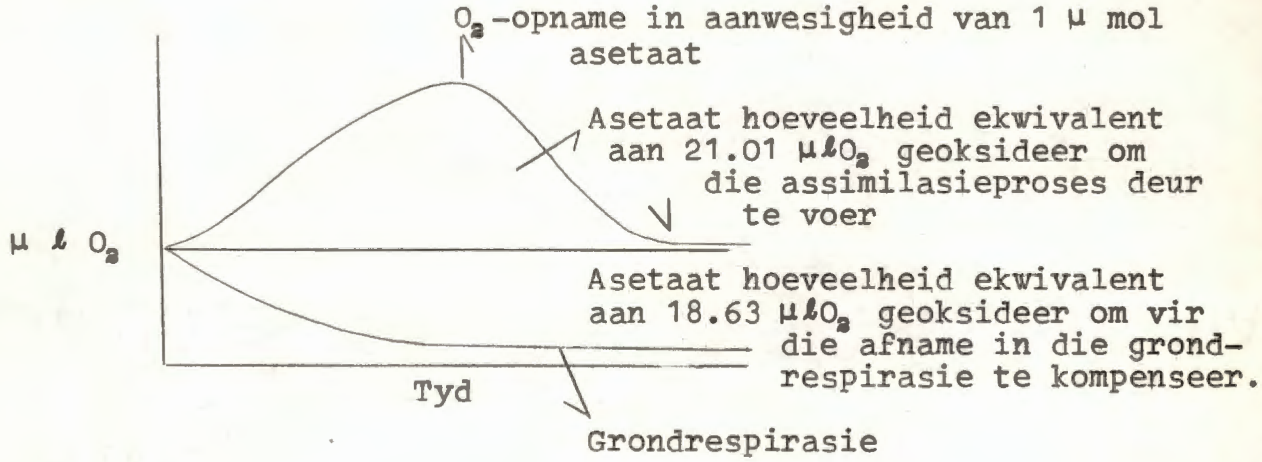


Fig. 33. Assimilasie van 1 μ mol asetaat (skematiese voorstelling).

Die berekening/......

Die berekening soos hier gedoen, verteenwoordig nie net die totale gedeelte van die substraat wat geoksideer word nie, maar onderskei tussen dié gedeelte van die substraat wat geoksideer word om vir die afname in die grondrespirasie te kompenseer en dié gedeelte wat geoksideer word om die assimilasieproses deur te voer.

As gevolg hiervan behoort die gegewens in Tabelle 22 en 23 verstrek, 'n goeie aanduiding te gee van die doeltreffendheid van die assimilasieproses. Aangesien die afname in die grondrespirasie sal wissel vir verskillende proewe na gelang van die duur van die proewe as gevolg van byvoorbeeld verskillende hoeveelhede materiaal in verskillende proewe gebruik, behoort hierdie metode van berekening meer geskik te wees om die resultate van verskillende proewe met mekaar te kan vergelyk.

Indien die berekeninge gedoen word soos hierbo uiteengesit, kom dit uit die resultate voor asof <u>Nitzschia palea</u> die drie substrate waarvoor getoets is, in die donker kan assimileer. As die persentasie van 'n bepaalde toegediende substraat, wat geassimileer word as 'n maatstaf vir die doeltreffendheid van die assimilasie gebruik word, blyk die volgende uit die resultate : (Fig. 34 op bladsy 121)

Hoewel die doeltreffendheid van assimilasie vir die twee organismes verskil, is hierdie verskille nie sodanig dat dit 'n verklaring vir die verpligte outotrofe groei van <u>Nitzschia palea</u> bied nie.

Om vas te stel of die gegewens op dié wyse ingewin enigsins as 'n aanduiding kan dien van die vermoë van 'n organisme om heterotroof op organiese substrate te kan groei, of om dié substrate aan te wend om fotosintese met chemosintese aan te vul, word hierdie resultate soos volg met dié van vorige proewe vergelyk :

Die resultate/.....

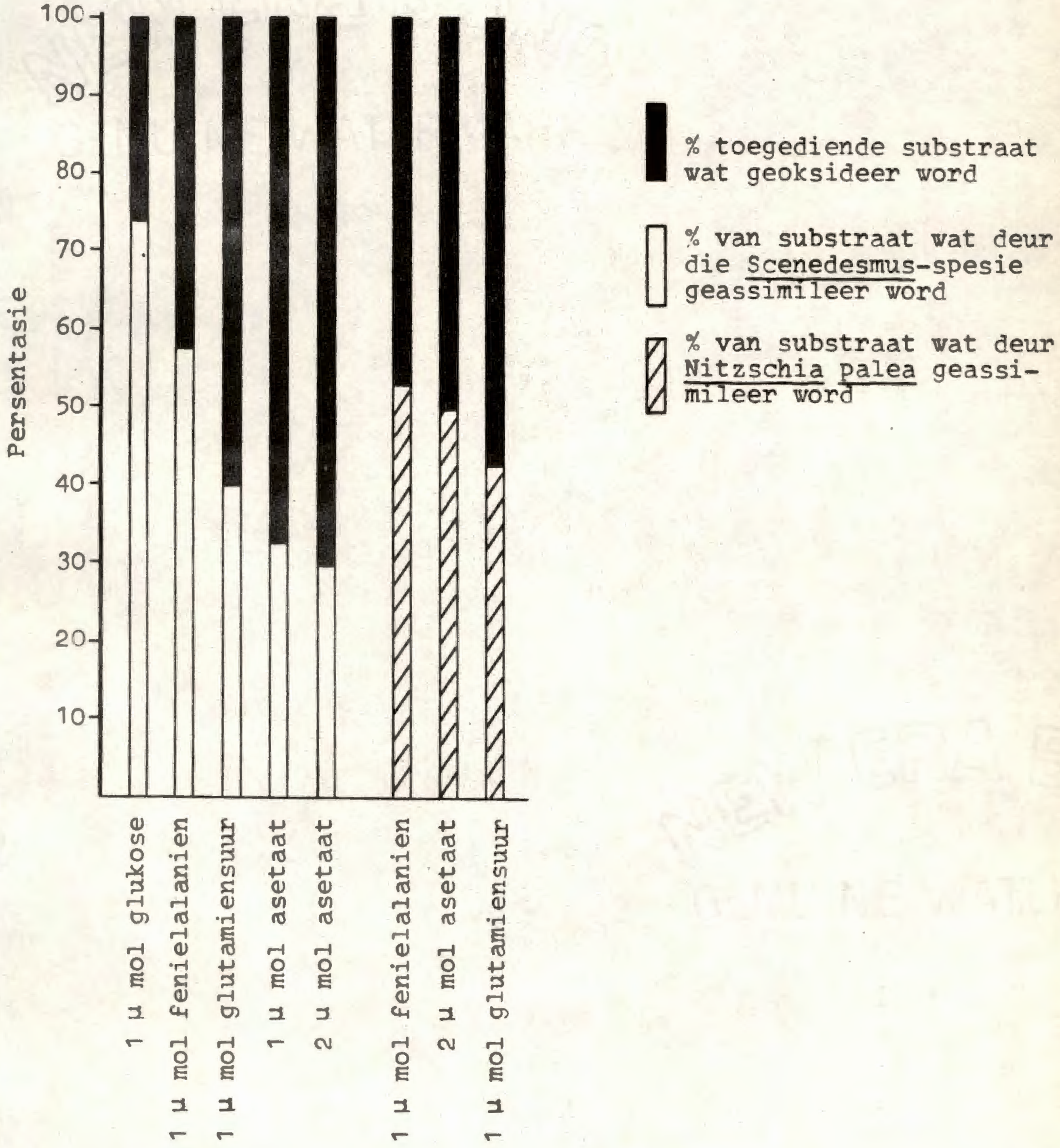


Fig. 34. Die assimilasie en oksidasie van toegediende substrate deur die Scenedesmus-spesie en Nitzschia palea in die donker by 25°C soos manometries bepaal.

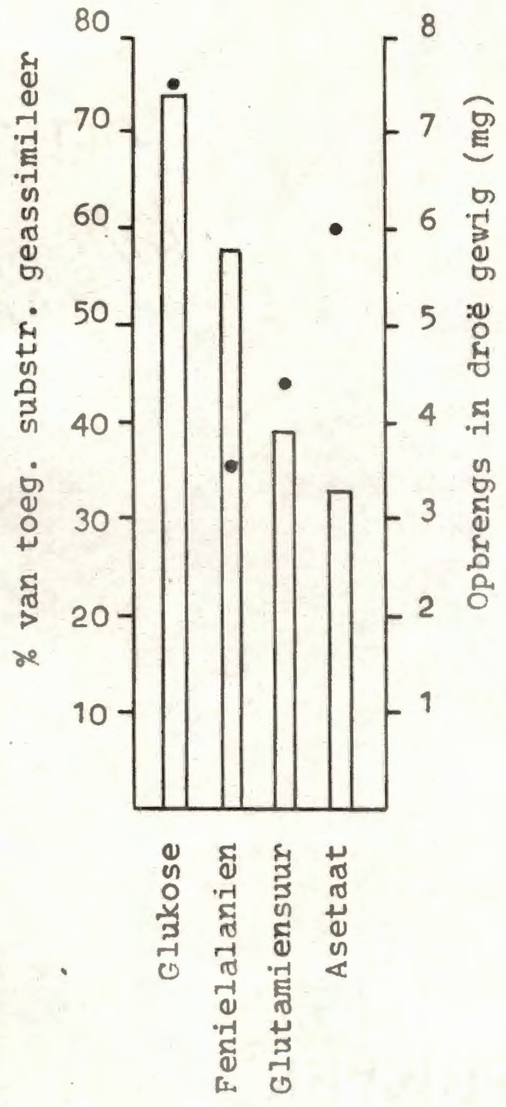


Fig. 35.

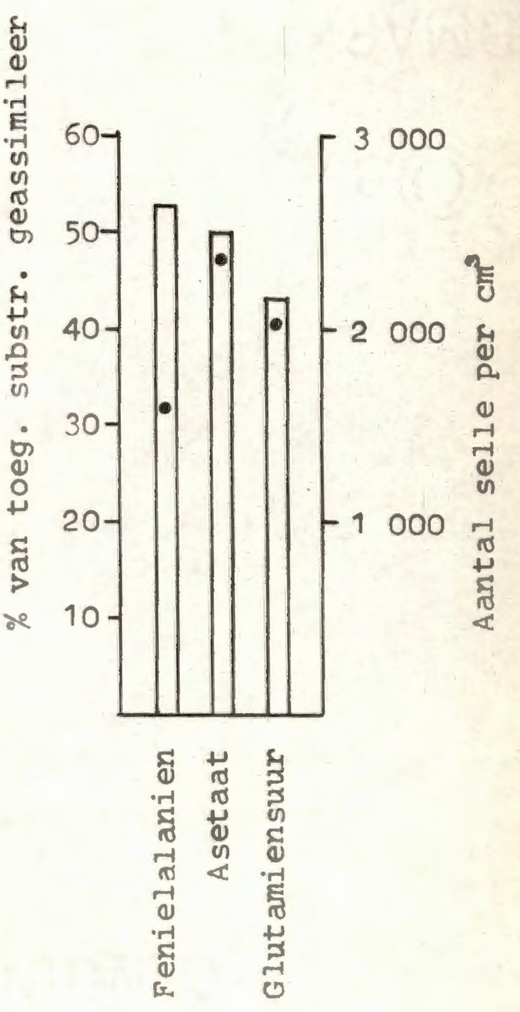


Fig. 36.

% van toeg. substr. deur die Scenedesmus-spesie geassimileer.

• Invloed van toeg. substr. op die opbrengs in droë gewig van die Scenedesmus-spesie in die donker.

% van toeg. substr. deur Nitzschia palea geassimileer.

• Invloed van toeg.substr. op die groei van Nitzschia palea (selle per cm^3) onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is.

Die resultate vir die Scenedesmus-spesie word vergelyk met die vermoë van dié organisme om heterotroof op die betrokke substrate te groei. (Figuur 35 op bladsy 122)

Die resultate vir Nitzschia palea word vergelyk met die vermoë van die organisme om fotosintese met chemosintese aan te vul indien die substrate onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is aangebied word. (Figuur 36 op bladsy 122)

Volgens die figure wil dit voorkom asof daar vir die Scenedesmus-spesie 'n positiewe korrelasie is tussen die persentasie toegediende glukose wat geassimileer word en die vermoë van die organisme om heterotroof op glukose te groei. Vir die res van die substrate wil dit egter voorkom asof daar eerder 'n negatiewe korrelasie is.

Vir Nitzschia palea wil dit voorkom asof daar 'n positiewe korrelasie is tussen die persentasie toegediende asetaat en glutamiensuur wat in die donker deur die organisme geassimileer word en die vermoë van die organisme om hierdie substrate te gebruik om fotosintese met chemosintese aan te vul. Vir fenielalanien was hierdie korrelasie negatief.

Uit die voorafgaande blyk dit dat gegewens, soos vir dié proef ingewin, nie altyd as 'n aanduiding kan dien van die vermoë van 'n organisme om heterotroof op organiese substrate te groei of om fotosintese met chemosintese aan te vul nie.

DIE EFFEK VAN ASETAAT, FENIELALANIEN EN GLUTAMIENSUUR OP DIE VETAGTIGE STOWWE VAN NITZSCHIA PALEA (PROEF NR. 19)

Inleiding

/ ......

DIE EFFEK VAN ASETAAT, FENIELALANIEN EN GLUTAMIENSUUR OP DIE VETAGTIGE STOWWE VAN NITZSCHIA PALEA (PROEF NR. 19)

Inleiding

Uit die resultate van die vorige proef blyk dit dat *Nitzschia palea* asetaat, fenielalanien en glutamiensuur in die afwesigheid van lig kan assimileer. Vir dié proef is egter van 'n indirekte metode gebruik gemaak. In hierdie proef word 'n direkte metode gebruik om die assimilasie van organiese substrate deur *Nitzschia palea* te ondersoek. Vir die doel van dié proef is die vorming en verdwyning van vetagtige stowwe in die algselle onder verskillende toestande nagegaan. Die rede waarom die vetagtige stowwe getoets is, is dat die diatome oor die algemeen hulle reserwestowwe in die vorm van oliedruppels opgaar.

Proeftegnieke

Aangesien daar op die stadium toe dié proef gedoen is, nie genoeg materiaal was en die materiaal nie 'n reinkultuur was nie is geen kwantitatiewe bepaling van die vetagtige stowwe gemaak nie, maar slegs 'n kwalitatiewe bepaling.

Die proef is soos volg opgestel :

Selle van *Nitzschia palea* is aan die volgende toestande blootgestel :

1. Kulture in 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing vir 144 uur in die donker gehou.
2. Kulture in 'n anorganiese voedingsoplossing plus 'n toegediende substraat vir 144 uur in die donker gehou.
3. Kulture in 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing onder normale ligtoestande gehou.

4. Na/......

4. Na afloop van 144 uur is 'n gedeelte van die kulture onder 1 beskryf vir 'n verdere 72 uur in die donker in die aanwesigheid van toegediende substrate gehou.

Hierna is die vetagtige stowwe van die selle kwalitatief bepaal deur die selle met Soedan 3 te behandel waardeur die vette in die organisme helder oranje-rooi kleur.

Asetaat, fenielalanien en glutamiensuur is as toegediende substrate by die proef ingesluit. Die voedingsoplossing was soos reeds beskryf.

Bespreking en Gevolgtrekking

By die selle wat in die donker in die afwesigheid van enige organiese substraat gehou is, was daar na afloop van die 144 uur feitlik geen waarneembare kleurreaksie met Soedan 3 nie. By die kulture wat in die aanwesigheid van die drie toegediende substrate in die donker gehou is, asook by dié wat onder normale ligtoestande gehou is, was daar 'n duidelik waarneembare kleurreaksie. Daar was ook geen waarneembare verskille tussen dié kulture nie.

Die kulture wat vooraf in die donker in 'n anorganiese voedingsmedium gehou is voordat organiese substrate bygevoeg is, het na 'n verdere 72 uur in die donker 'n duidelik waarneembare kleurreaksie met Soedan 3 gegee. Die kulture wat in die aanwesigheid van asetaat gehou is, het egter 'n duideliker reaksie gegee.

Wat die effek van ander organismes in die kulture op dié resultate was, is nie bekend nie. Uit die resultate blyk dit nietemin dat die drie substrate waarvoor getoets is, deur die organisme in die afwesigheid van lig geassimileer word om onder andere vetagtige stowwe te vorm.

SAMEVATTENDE/.........

SAMEVATTENDE BESPREKING

Uit die resultate van die voorafgaande proewe blyk dit dat die meerderheid aminosure en suikers volledig deur Achnanthes pseudohungarica geoksideer kan word. Uit die resultate kon egter geen aanduiding gekry word van die assimilasie van dié substrate deur die organisme nie.

Vir Nitzschia palea is bevind dat asetaat, glutamiensuur en fenielalanien deur die organisme in die afwesigheid van lig geassimileer kan word. Uit die resultate blyk dit verder dat die assimilasie van dié stowwe deur die Scenedesmus-spesie nie meer doeltreffend was as die assimilasie van dié stowwe deur Nitzschia palea nie. Hierdie resultate bied dus geen verklaring vir die verpligte outotrofe groei van laasgenoemde organisme nie.

HOOFSTUK 6

DIE EFFEK VAN OLIGOMISIEN OP DIE RESPIRASIE VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA EN DIE EFFEK VAN A D P OP DIE RESPIRASIE VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA, NITZSCHIA PALEA EN DIE SCENEDESMUS-SPESIE

INLEIDING

Lewin (1954) is van mening dat die onvermoë van 'n mutant van *Chlamydomonas dysosmos* om heterotroof op asetaat te groei daaraan te wyte is dat die organisme die energie wat tydens die oksidasie van die asetaat vrygestel word, nie doeltreffend met die sintese van ATP kan koppel nie. Dat oksidasie van organiese substrate wel sonder die sintese van ATP kan plaasvind, blyk uit die volgende :

Hackett (1960) het bevind byvoorbeeld dat remstowwe wat tussen sitochroom en molekulêre suurstof in patatweefsel (*Ipomea batatas*) funksioneer, die elektrone heelwaarskynlik op 'n alternatiewe roete kan oorskakel om deur O_2 opgeneem te word. Hackett het verder bevind dat die alternatiewe oksidasiemeganisme nie met fosforilasie gekoppel is nie.

'n Moontlike verklaring vir die onvermoë van *Achnanthes pseudohungarica* om heterotroof op organiese substrate te groei, of om fotosintese met chemosintese aan te vul, kan wees dat die oksidasie van toegediende substrate deur hierdie organisme nie doeltreffend met fosforilasie gekoppel is nie. In die hieropvolgende proewe word hierdie moontlikheid nader ondersoek. Die metode wat algemeen gebruik word om die verband tussen bogenoemde twee prosesse te ondersoek, is om die verdwyning van anorganiese fosfaat (Pa) uit die kultuurmedium te bepaal en dit te vergelyk met die hoeveelheid van die betrokke substraat wat oor dieselfde periode geoksideer is. Een probleem wat met hierdie metode ondervind word, is dat Pa

gereeld uit/......

gereeld uit ATP vrygestel word. Waar met selfraksies gewerk word, word dié probleem onder andere oorbrug deur die byvoeging van suurdeegheksokinase wat die gevormde ATP met glukose laat reageer en die vrystelling van Pa teëwerk of die gebruik van mitochondria waarvan die ATP-ase-inhoud so laag is, dat die effek daarvan geïgnoreer kan word. (Kielley *et al.*, 1951; Schneider *et al.*, 1950; Lardy *et al.*, 1952.)

Vir die doel van die ondersoek kon daar egter nie van selfraksies gebruik gemaak word nie, maar moes die hele organisme gebruik word. Die algemene metode waarna hierbo verwys is, sou dus nie hier toegepas kan word nie.

Aangesien daar geen direkte metode was om die verband tussen die oksidasie van toegediende substrate en die sintese van ATP in vivo te bepaal nie, is van twee indirekte metodes gebruik gemaak. Vir die eerste metode is die effek van die remstof oligomisien op die grondrespirasie en oksidasie van toegediende substrate deur die organisme bepaal. In die tweede plek is die effek van ADP op die grondrespirasie en oksidasie van toegediende substrate bepaal. Hierdie laaste metode is ook op ander organismes, naamlik *Nitzschia palea* en die *Scenedesmus*-spesie getoets. Die rede waarom hierdie organismes gebruik is, is die volgende : Die *Scenedesmus*-spesie kan, soos reeds genoem, heterotroof op organiese substrate groei, terwyl *Nitzschia palea* fotosintese met chemosintese kan aanvul. Dit spreek dus vanself dat die oksidasie van die organiese substrate deur hierdie organismes doeltreffend met die sintese van ATP gekoppel sal wees. As gevolg daarvan dat die beskikbare oligomisien beperk was, en die koste vir die aankoop daarvan hoog was, kon die eerste metode waarna hierbo verwys is, nie op soortgelyke wyse uitgetoets word nie.

DIE EFFEK/.....

DIE EFFEK VAN OLIGOMISIEN OP DIE GRONDRESPIRASIE EN OKSIDASIE VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 20)

Proeftegnieke

Die remstof, oligomisien, het 'n remmende werking op die O_2-opname deurdat dit spesifiek die sintese van ATP uit ADP en Pa rem, soos in die diagram aangetoon word (Lardy *et al.*, 1958) :

Hierdie selektiewe effek van oligomisien kan gedemonstreer word deur die byvoeging van dinitrofenol wat dan in plaas van ADP gefosforileer word en die remmende werking van oligomisien op die O_2-opname ophef. (Borst *et al.*, 1960)

Indien die oksidasie van die toegediende substrate nie met forforilasie gekoppel is nie, kan verwag word dat oligomisien nie dieselfde remmende werking op die oksidasie van die toegediende substrate sal hê nie.

Die proef is soos volg opgestel :

Termobarometer	- 2 flessies
Anorg. substr.	- 3 flessies
Anorg. substr. + oligomisien	- 3 flessies
Anorg. substr. + fenielalanien	- 3 flessies
Anorg. substr. + oligomisien + fenielalanien	- 3 flessies

Die byvoeging van die anorganiese voedingstowwe sowel as dié van die aminosuur, was soos vantevore.

Die byvoeging/....

Die byvoeging van oligomisien was ongeveer 12 μ mol per Warburgflessie. Die konsentrasie oligomisien was veel hoër as wat normaalweg vereis word. Lardy et al. (1958) byvoorbeeld, het 'n konsentrasie van 2 μ mol per 3 cm^3 gebruik. In 'n steekproef wat vooraf uitgevoer is, is egter bevind dat oligomisien slegs by konsentrasies soos in dié proef gebruik, die grondrespirasie van Achnanthes pseudohungarica betekenisvol laat afneem het. Die verskil kan moontlik daaraan te wyte wees dat hier van die hele organisme gebruik gemaak is en nie net van selfraksies in welke geval die mitochondria direk met die oligomisien in aanraking kom nie.

Die oligomisien is op dié stadium bygevoeg toe die O_2-opname in aanwesigheid van fenielalanien aansienlik meer as die grondrespirasie was.

Die resultate en statistiese verwerking daarvan word in Tabel 24 op bladsy 17 van die bylaag en Figuur 37 op bladsy 131 aangebied.

Bespreking en Gevolgtrekking

Uit die resultate blyk dit dat die aanwesigheid van oligomisien in die kultuurmedium die grondrespirasie hoogsbetekenisvol laat afneem het, terwyl die aanwesigheid van fenielalanien die O_2-opname hoogsbetekenisvol laat toeneem het.

Die O_2-opname in die aanwesigheid van beide oligomisien en fenielalanien was hoogsbetekenisvol laer as in die aanwesigheid van fenielalanien alleen. Die effek van oligomisien op die oksidasie van fenielalanien was egter nie betekenisvol nie in teenstelling met die invloed van oligomisien op die grondrespirasie. Uit die resultate blyk dit asof oligomisien die grondrespirasie meer gerem het as die oksidasie van fenielalanien. As in aanmerking geneem word dat oligomisien

spesifiek/......

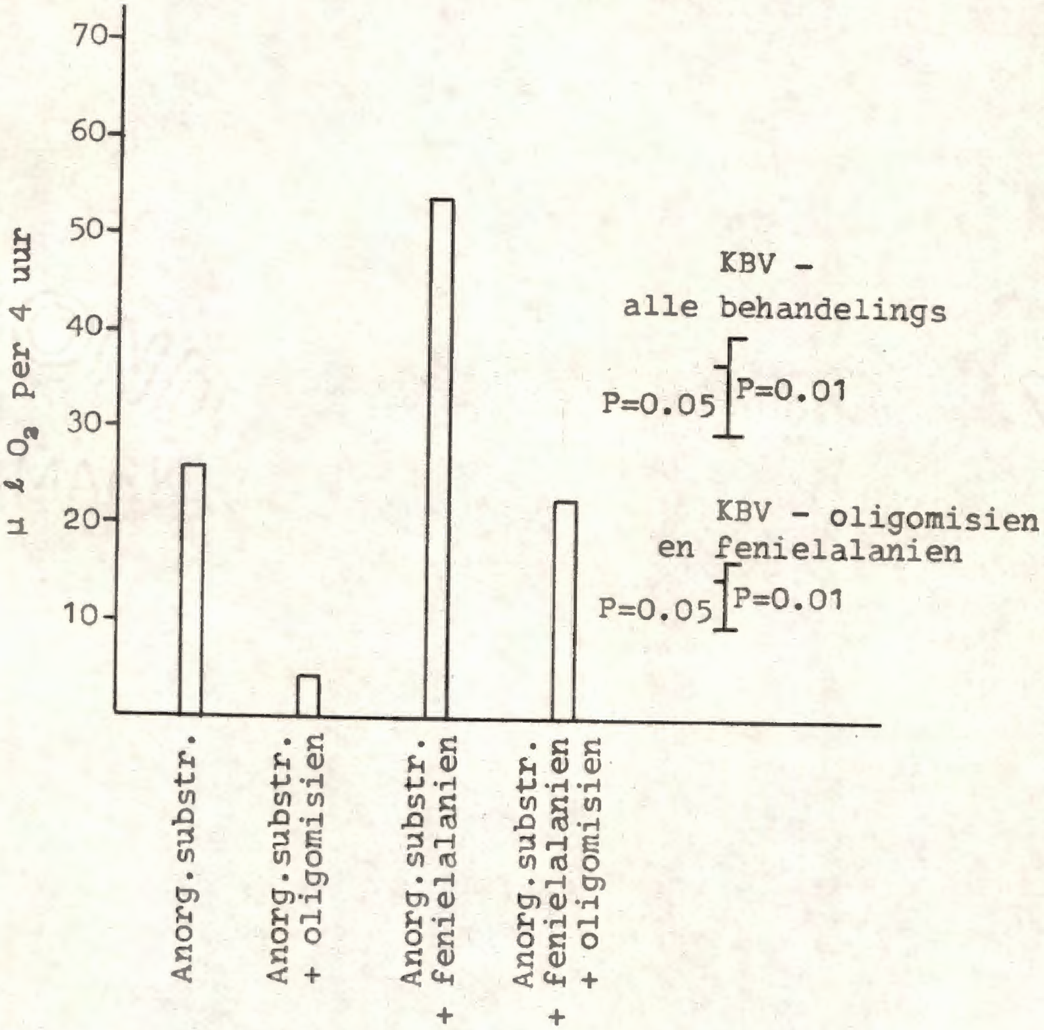


Fig. 37. Die invloed van oligomisien en fenielalanien op die O_2-opname van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> in die donker by 25°C.

spesifiek die sintese van ATP rem, kan geredeneer word dat die oksidasie van fenielalanien nie tot dieselfde mate as die grondrespirasie met fosforilasie gekoppel is nie. Aangesien daar nie meer oligomisien beskikbaar was nie, kon hierdie proef nie herhaal word nie.

DIE EFFEK VAN ADP OP DIE GRONDRESPIRASIE EN OKSIDASIE VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA, NITZSCHIA PALEA EN DIE SCENEDESMUS-SPESIE (PROEF NR. 21)

Proeftegnieke

Die effek wat die toediening van ADP op die grondrespirasie en die oksidasie van toegediende substrate het, is manometries bepaal. Die proef is soos volg opgestel :

Termobarometer	- 2 flessies
Anorg. substr.	- 3 flessies
Anorg. substr. + ADP	- 3 flessies
Anorg. substr. + toeg. substr.	- 3 flessies
Anorg. substr. + ADP + toeg. substr.	- 3 flessies

Die anorganiese voedingsoplossing en pH was soos vantevore. Die hoeveelheid ADP en Pa wat bygevoeg is, was 2 μ mol van elkeen per fles.

Uit die gegewens op dié wyse verkry, sal die volgende bepaal kan word :

1. Die grondrespirasie.

2. Die invloed van ADP op die grondrespirasie.

3. Die hoeveelheid wat die O_2-opname in aanwesigheid van 'n toegediende substraat die grondrespirasie oorskry kan as 'n maatstaf dien van die tempo waarteen die toegediende substraat geoksideer word.

4. Die/......

4. Die gesamentlike effek van ADP en 'n toegediende substraat op die O_2-opname asook die wisselwerking tussen die twee prosesse.

Vir Achnanthes pseudohungarica is die organiese substrate in Figuur 38 op bladsy 134 aangetoon, by dié proef ingesluit.

Soos reeds genoem, is hierdie metode op Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie getoets. Vir hierdie organismes is die volgende substrate by dié proef ingesluit:

Nitzschia palea - asetaat, glutamiensuur en fenielalanien.

Scenedesmus-spesie - asetaat, glutamiensuur, fenielalanien en glukose.

Vir Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie is selle gebruik wat onder normale ligtoestande gekweek is, asook selle wat vooraf uitgehonger is deur hulle vir 120 uur in 'n anorganiese substraat in die donker te hou.

In alle gevalle is die ADP en Pa 10 uur na die byvoeging van die organiese substraat bygevoeg, waarna die O_2-opname vir 'n periode van 6 uur bepaal is.

Die resultate en statistiese verwerking daarvan word in Tabelle 25 - 27 op bladsye 18 - 20 van die bylaag en in Figure 38 - 40 op bladsye 134 - 136 aangebied.

Bespreking en Gevolgtrekking

Vir Achnanthes pseudohungarica is die volgende bevind: Die aanwesigheid van 2 μ mol ADP en 2 μ mol Pa in die voedingsoplossing het die grondrespirasie telkens hoogsbetekenisvol laat toeneem, wat bewys dat ADP onder dié toestande die

beherende /.......

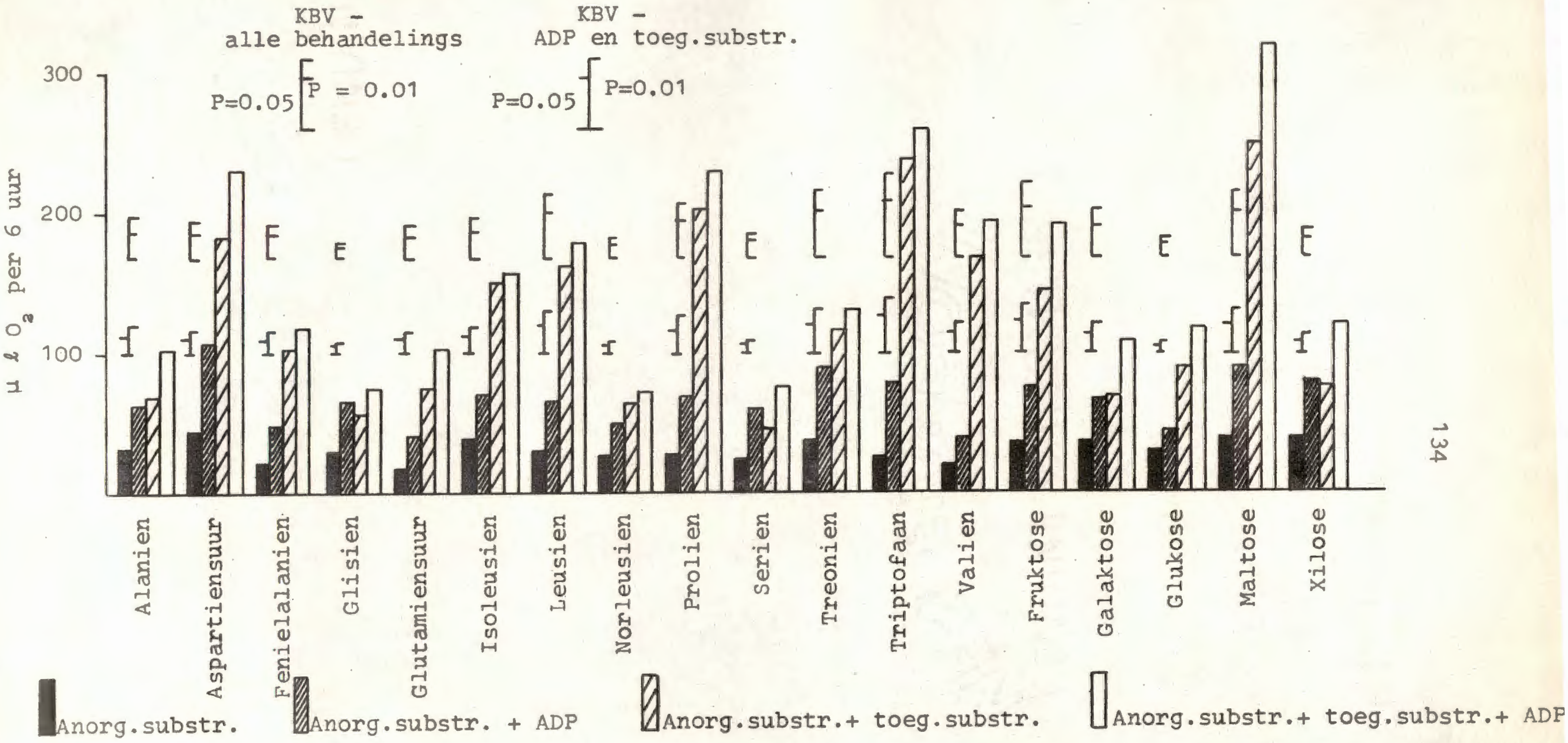


Fig. 38. Die invloed van ADP en toegediende substrate op die suurstofopname van <u>Achnanthes pseudohungarica</u>. Die ADP is bygevoeg 10 uur nadat die betrokke organiese substraat bygevoeg is. Die bepalings is in die donker by 25°C gedoen.

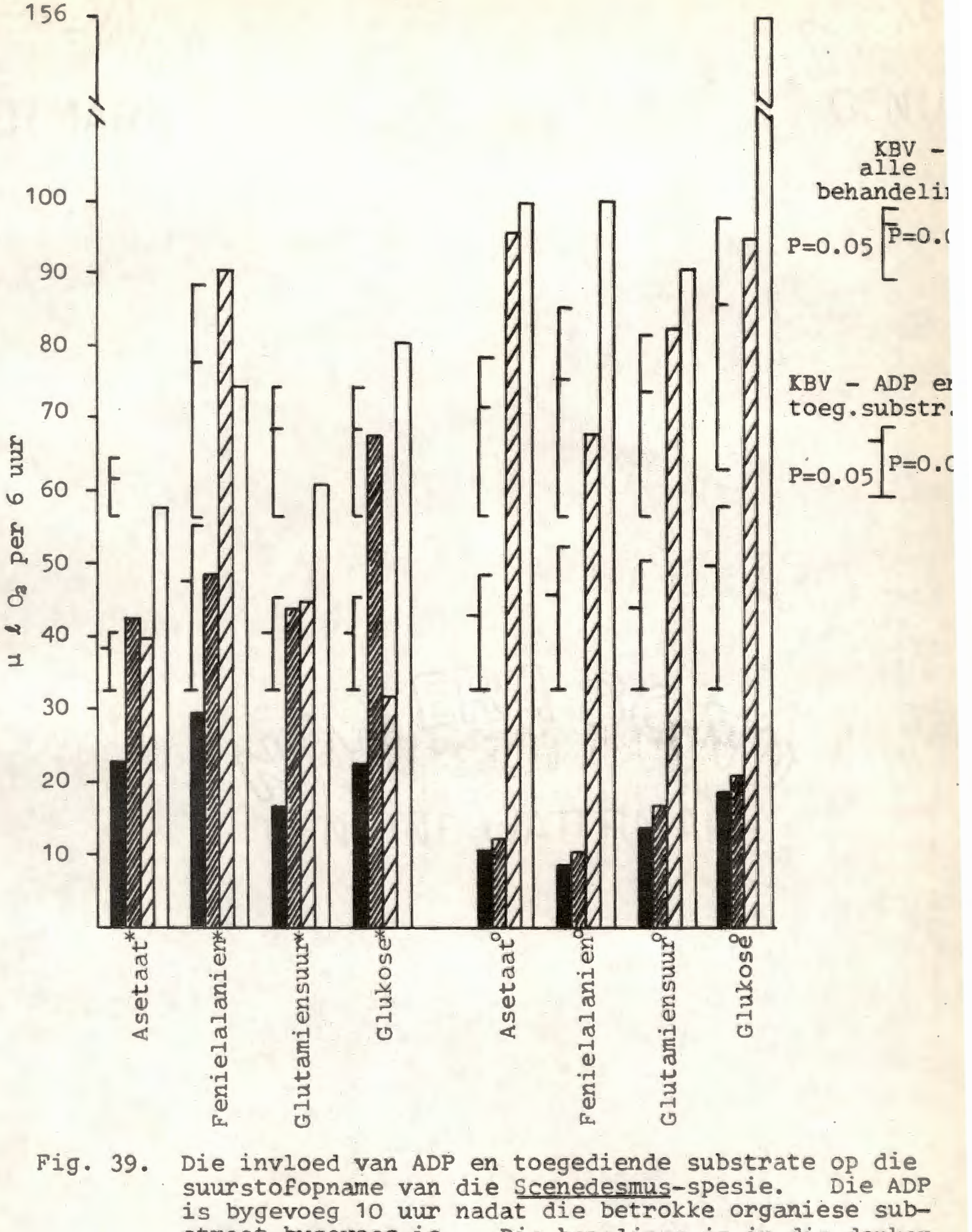


Fig. 39. Die invloed van ADP en toegediende substrate op die suurstofopname van die Scenedesmus-spesie. Die ADP is bygevoeg 10 uur nadat die betrokke organiese substraat bygevoeg is. Die bepalings is in die donker by 25°C gedoen.

* Kulture onder normale groeitoestande gekweek.

o Kulture vooraf vir 120 uur in 'n anorganiese voedingsoplossing in die donker gehou.

Anorg.substr. | Anorg.substr. + ADP | Anorg.substr. + toeg.substr. | Anorg.substr. + toeg.substr. + ADP

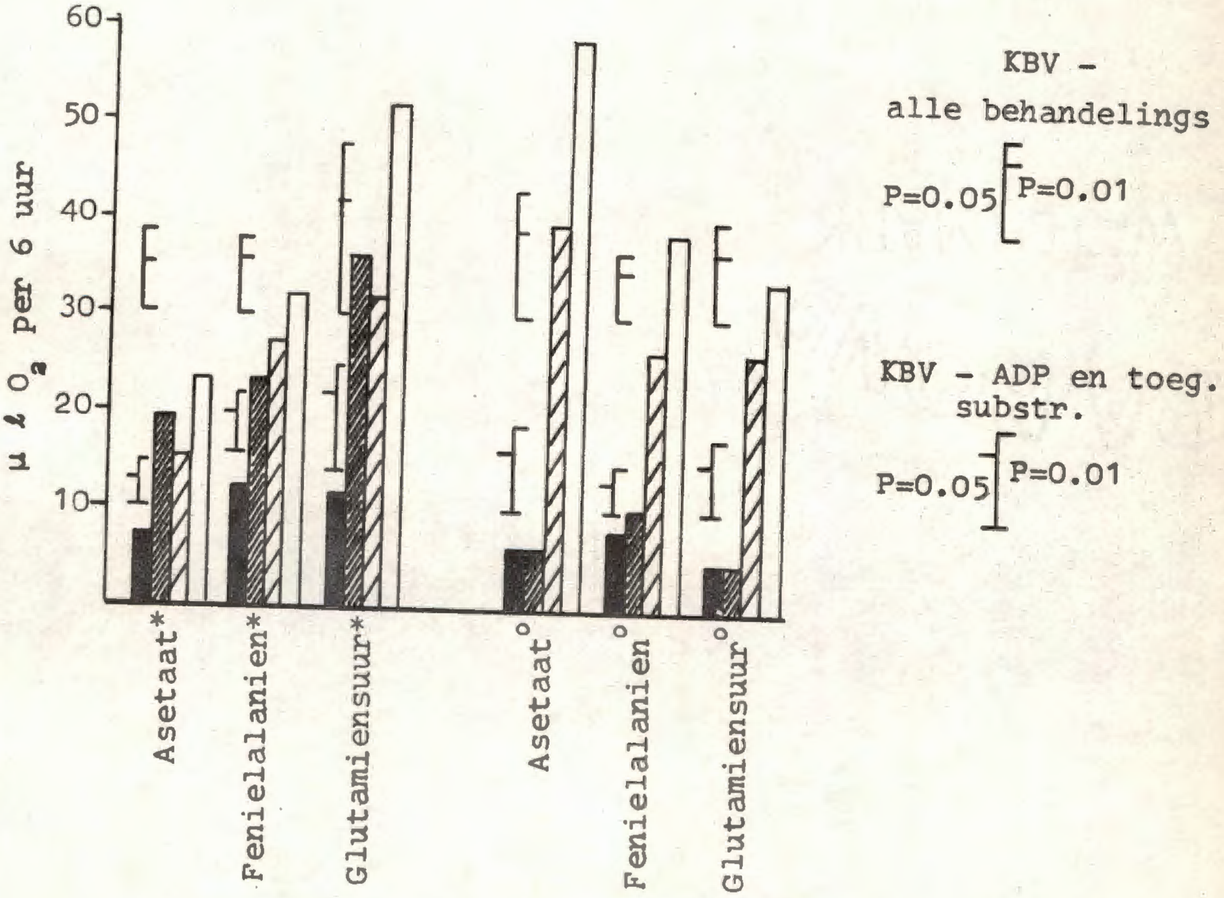


Fig. 40. Die invloed van ADP en toegediende substrate op di suurstofopname van Nitzschia palea. Die ADP is bygevoeg 10 uur nadat die betrokke organiese substraat bygevoeg is. Die bepalings is in die donke by 25°C gedoen.

* Kulture onder normale groeitoestande gekweek.

o Kulture vooraf vir 120 uur in 'n anorganiese voedin oplossing in die donker gehou.

Anorg.substr. — Anorg.substr. + ADP — Anorg.substr. + toeg.substr. — Anorg.substr. + toeg.substr. + ADP

beherende faktor is. Die toegediende substrate het die O_2-opname deur die organisme telkens betekenisvol en hoogsbetekenisvol laat toeneem. Die gesamentlike effek van ADP en fenielalanien, glisien, isoleusien, leusien, norleusien, prolien, treonien en triptofaan as toegediende substrate het nie betekenisvol van óf die afsonderlike effek van ADP of die afsonderlike effek van die toegediende substrate verskil nie. Vir die res van die gevalle was die gesamentlike effek van ADP en die toegediende substrate betekenisvol en hoogsbetekenisvol hoër as óf die afsonderlike effek van ADP óf die afsonderlike effek van die toegediende substrate.

Slegs vir alanien, glutamiensuur, valien, fruktose, galaktose, glukose, maltose en xilose was die gesamentlike effek van ADP en die toegediende substrate gelyk aan of meer as die afsonderlike effek van ADP plus die afsonderlike effek van die toegediende substrate.

Die positiewe wisselwerking tussen ADP en die betrokke toegediende substrate was slegs vir galaktose betekenisvol en vir maltose en xilose hoogsbetekenisvol terwyl die negatiewe wisselwerking tussen ADP en die toegediende substrate slegs vir fenielalanien en glisien beduidend was.

As in aanmerking geneem word dat die toediening van ADP die grondrespirasie telkens betekenisvol of hoogsbetekenisvol laat toeneem het, sou 'n mens verwag dat indien die oksidasie van toegediende substrate met fosforilasie gekoppel is, ADP 'n soortgelyke effek op die oksidasie van toegediende substrate deur _Achnanthes pseudohungarica_ sal hê. Hierdie resultate kan dus die indruk skep dat die oksidasie van die meerderheid van die toegediende substrate dus nie doeltreffend met die sintese van ATP gekoppel is nie. Dit sou beslis 'n verklaring bied vir die verpligte outotrofe groei van _Achnanthes pseudohungarica_. 'n Vergelyking van dié resultate met die effek van ADP op die oksidasie van toegediende substrate deur _Nitzschia palea_ en die _Scenedesmus_-spesie dui egter daarop dat bogenoemde

interpretasie/.....

interpretasie van die resultate vir Achnanthes pseudohungarica nie geregverdig is nie.

Net soos vir Achnanthes pseudohungarica het die toediening van ADP die grondrespirasie van kulture van Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie wat onder normale toestande gekweek is, telkens betekenisvol en hoogsbetekenisvol laat toeneem. Vir albei die organismes was die gesamentlike effek van ADP en die toegediende substrate in die meeste gevalle kleiner as die afsonderlike effek van ADP plus die afsonderlike effek van die toegediende substrate. Die negatiewe wisselwerking tussen ADP en die toegediende substrate was in geen geval egter beduidend nie. Hierdie resultate stem nietemin ooreen met dié wat vir Achnanthes pseudohungarica verkry is. Soos reeds genoem kan hierdie substrate heterotrofe groei by die Scenedesmus-spesie bewerkstellig, terwyl Nitzschia palea hierdie substrate, onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is, kan gebruik om fotosintese met chemosintese aan te vul. Dit kan dus aanvaar word dat die oksidasie van toegediende substrate deur hierdie organismes wel doeltreffend met die sintese van ATP gekoppel is. Die waarskynlikste verklaring vir die resultate in die geval van Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie is die volgende :

Die effek van ADP op die grondrespirasie van hierdie organismes dui daarop dat ADP die beherende faktor vir die respirasie is want die toediening van ADP het 'n toename van die O_2-opname tot gevolg. Die verhoogde O_2-opname in aanwesigheid van 'n toegediende substraat wat deur die organisme geassimileer word, kan op sy beurt soos volg verklaar word : Deurdat energie vir die assimilasieproses benodig word, sal daar in aanwesigheid van die toegediende substrate 'n groter ATP-omset wees. Dit lei weer tot die beskikbaarstelling van groter hoevellhede ADP. Aangesien ADP, soos reeds genoem, die beherende faktor is, sal die oksidasieproses hierdeur verhoog word. Die toegediende substrate sal dan in werklikheid

dieselfde/.......

dieselfde effek op die respirasie as die toediening van ADP hê.

In aanwesigheid van beide ADP en 'n toegediende substraat word die „tekort" aan ADP heeltemal opgehef en 'n ander faktor sal dan beperkend wees, byvoorbeeld enige ander reaksie wat by die oksidasie betrokke is. As gevolg hiervan sal die gesamentlike effek van ADP en die toegediende substrate kleiner wees as die afsonderlike effek van ADP plus die afsonderlike effek van die toegediende substrate.

As gevolg daarvan dat die resultate vir al drie organismes heeltemal ooreenstem lyk dit heeltemal geregverdig om te aanvaar dat die resultate vir Achnanthes pseudohungarica op soortgelyke wyse verklaar moet word, en dat die oksidasie van die toegediende substrate deur die organisme tog wel doeltreffend met die sintese van ATP gekoppel mag wees.

Uit die resultate blyk dit verder dat indien kulture van Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie vooraf uitgehonger word deur hulle in die donker te hou, die effek van ADP op die grondrespirasie baie gering is. In teenstelling met die effek daarvan op normale selle blyk dit dat die toediening van ADP 'n beduidende positiewe effek op die oksidasie van die toegediende substrate het.

HOOFSTUK 7

DIE INVLOED VAN REMSTOWWE EN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA EN NITZSCHIA PALEA

INLEIDING

Tydens hierdie ondersoek is bevind dat hoewel 'n hele aantal organiese substrate in die lig as enigste bronne van koolstof vir Achnanthes pseudohungarica toeganklik is, die organisme nie heterotroof op dié stowwe kan groei nie. Voorts is bevind dat die oksidasie van toegediende substrate deur dié organisme met die sintese van ATP gekoppel mag wees. Hoe doeltreffend die sintese van ATP met die oksidasie van toegediende substrate gekoppel is, kon egter nie bepaal word nie, aangesien daar van indirekte metodes gebruik gemaak is. Net soos vir Achnanthes pseudohungarica bied die resultate van vorige proewe ook geen verklaring vir die verpligte outotrofe groei van Nitzschia palea nie.

In 'n poging om die verpligte outotrofe groei van dié organismes te verklaar, word in die hieropvolgende proefreeks 'n poging aangewend om te bepaal of toegediende substrate deur hierdie organismes op identiese wyse as die endogene substrate geoksideer word.

Dat die oksidasie van 'n toegediende substraat deur 'n organisme nie noodwendig op identiese wyse as dié van die endogene substraat of substrate plaasvind nie, blyk uit die werk van, onder andere, Syrett, (1951), wat bevind het dat die oksidasie van toegediende substrate deur 'n Chlorella-spesie meer deur die aanwesigheid van sianied gerem word as die grondrespirasie. Hierdie bevindinge stem verder ook ooreen met dié van Emerson (1927) en Genevois (1927). Merret et al., (1960) het verder ook deur van isotope gebruik te maak, bevind dat die oksidasie van glukose en asetaat

as /.......

as toegediende substrate in ouer selle van Chlorella vulgaris van mekaar geskei is.

DIE INVLOED VAN REMSTOWWE EN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 22)

Inleiding

In hierdie proefreeks is die volgende bepaal :

1. Die effek van KCN op die grondrespirasie van Achnanthes pseudohungarica asook op die oksidasie van toegediende substrate deur dié organisme. Die volgende stowwe is as toegediende substrate by dié proef ingesluit :

alanien	leusien	valien
aspartiensuur	norleusien	galaktose
fenielalanien	prolien	glukose
glisien	serien	maltose
glutamiensuur	treonien	fruktose
isoleusien	triptofaan	xilose

2. Die effek van joodasetaat op die grondrespirasie van Achnanthes pseudohungarica en die oksidasie van toegediende triptofaan, fenielalanien, glukose en maltose deur die organisme.

3. Die effek van KCN op die grondrespirasie van Nitzschia palea en die oksidasie van toegediende asetaat, fenielalanien en glutamiensuur deur die organisme.

Deur die sensitiwiteit van die oksidasie van die toegediende substrate vir vergiftiging deur die remstowwe te vergelyk met die van die grondrespirasie, is gehoop om

'n aanduiding/.....

'n aanduiding te kry of die toegediende substraat op identiese wyse as die endogene substraat geoksideer word. Die rede waarom bogenoemde remstowwe gebruik is, was omdat albei stowwe daarvoor bekend is dat hulle een of ander deel van die respirasie rem.

Proeftegnieke

In die eerste plek is *Achnanthes pseudohungarica* in die afwesigheid van enige toegediende substraat aan verskillende konsentrasies KCN en joodasetaat blootgestel. Op grond van hierdie resultate is 'n konsentrasie van 2×10^{-3} M KCN en 'n 10^{-3} M joodasetaat vir die proewe gekies.

Die beskikbare flessies vir 'n bepaling is soos volg gebruik :

Termobarometer	- 2 flessies
Anorg. substr. (kontrole)	- 3 flessies
Anorg. substr. + remstof	- 3 flessies
Anorg. substr. + toeg. substr.	- 3 flessies
Anorg. substr. + toeg. substr. + remstof	- 3 flessies

In alle gevalle is die remstof 10 uur na toediening van die substraat bygevoeg waarna die O_2-opname vir 'n periode van 6 uur bepaal is.

Die resultate en statistiese verwerking daarvan word in Tabelle 28 - 30 op bladsye 21 - 23 van die bylaag en in Figure 41, 42 en 43 op bladsye 143, 148 en 149 onderskeidelik, aangebied.

Bespreking en Gevolgtrekking

Die effek van KCN op die respirasie van *Achnanthes pseudohungarica* :

Uit die resultate blyk dit dat die aanwesigheid van 2×10^{-3} M KCN in die voedingsoplossing die O_2-opname van

die kontrole/......

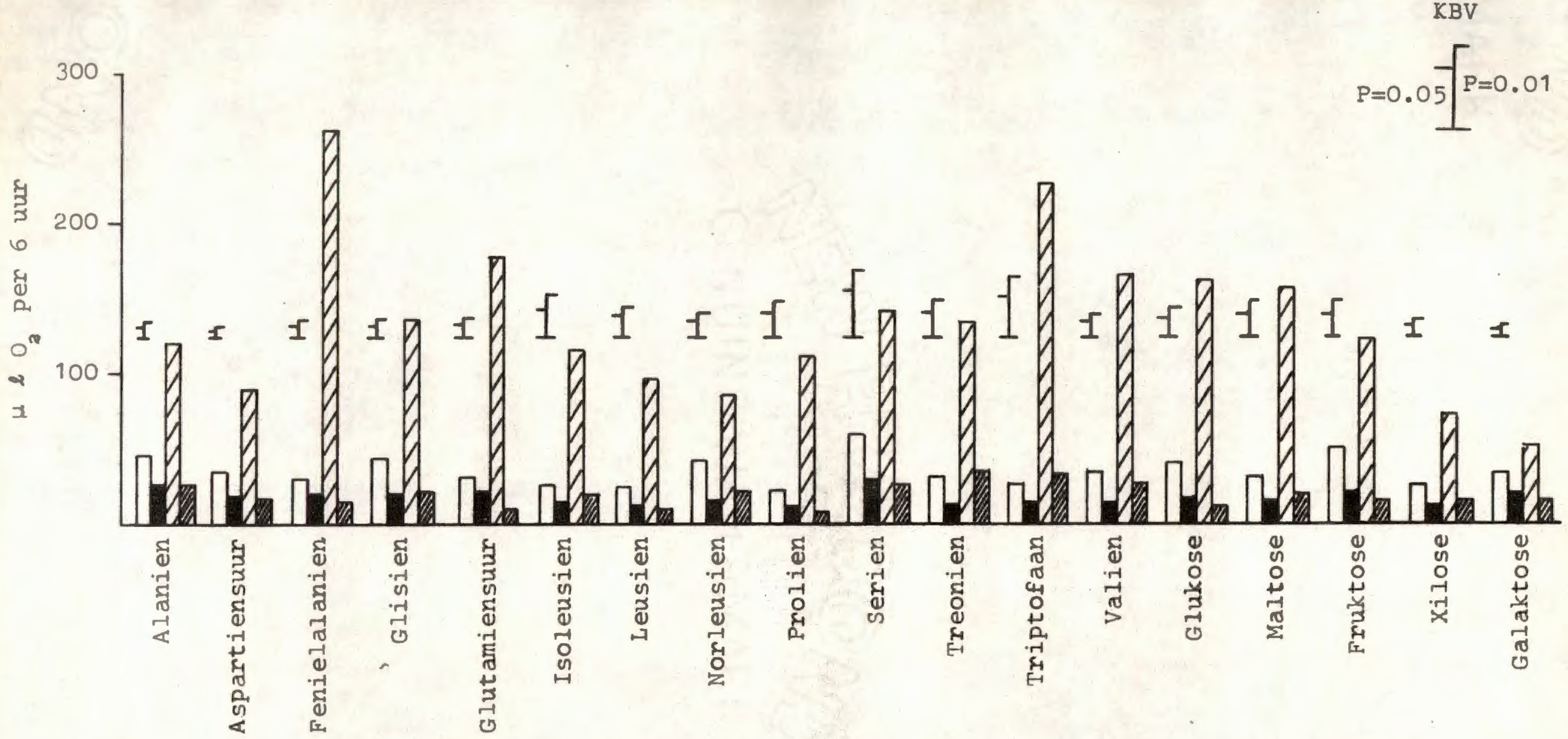


Fig. 41. Die invloed van 2 x 10^{-3} M KCN en toegediende substrate op die suurstofopname van <u>Achnanthes pseudohungarica</u>. Die betrokke organiese substraat is onmiddellik na die aanvang van 'n proef bygevoeg terwyl die KCN na 'n verdere 10 uur bygevoeg is. Die bepalings is in die donker by 25°C gedoen.

Anorg.substr. | Anorg.substr. + KCN | Anorg.substr. + toeg.substr. | Anorg.substr. + toeg.substr. + KCN

die kontrole vir die verskillende bepalings telkens betekenisvol en hoogsbetekenisvol laat afneem het. In al die bepalings het die aanwesigheid van 'n toegediende substraat die O_2-opname betekenisvol en hoogsbetekenisvol laat toeneem.

Die invloed van KCN op die oksidasie van die toegediende substrate was soos volg : In die geval van die volgende aminosure as toegediende substrate het die O_2-opname in aanwesigheid van beide die toegediende substrate en KCN nie betekenisvol van die O_2-opname in aanwesigheid van KCN alleen verskil nie : alanien, aspartiensuur, fenielalanien, glisien, leusien, norleusien, prolien en serien.

Uit die resultate wil dit voorkom asof die oksidasie van die toegediende substrate in hierdie gevalle heeltemal deur die aanwesigheid van KCN gerem is.

Vir die aminosure triptofaan, treonien en valien as toegediende substrate is gevind dat hoewel KCN die oksidasie van die toegediende substrate hoogsbetekenisvol laat afneem het, die O_2-opname in die aanwesigheid van KCN en die verskillende toegediende substrate nogtans hoogsbetekenisvol hoër was as die O_2-opname in die aanwesigheid van KCN alleen. Die aanneemlikste verklaring vir hierdie resultate is dat die oksidasie van die toegediende substrate in teenstelling met die vorige aminosure vir bogenoemde aminosure nie heeltemal deur die aanwesigheid van KCN gerem is nie.

In die geval van glutamiensuur is bevind dat die O_2-opname in die aanwesigheid daarvan en KCN hoogsbetekenisvol laer was as die O_2-opname in die aanwesigheid van KCN alleen. Daar kan geen verklaring vir hierdie resultate gegee word nie.

Die O_2-opname in die aanwesigheid van die verskillende suikers en KCN het in geeneen van die gevalle betekenisvol van die O_2-opname in die aanwesigheid van KCN alleen verskil nie.

Net soos/......

Net soos in die geval van die aminosure wil dit voorkom asof die oksidasie van die toegediende substrate heeltemal of aansienlik meer as die grondrespirasie deur die aanwesigheid van KCN gerem word.

Die remmende invloed van sianied op die O_2-opname dui op die aanwesigheid van metaalhoudende ensieme in die respirasiestelsel. Die ensiem wat blykbaar die meeste deur sianied beïnvloed word, is sitochroom - a_3 (sitochroomoksidase). So byvoorbeeld is bevind dat hierdie ensiem in vivo deur 10^{-8} M sianied gerem word.

Nieteenstaande die remmende werking van KCN op die grondrespirasie dui die feit dat die grondrespirasie slegs met ongeveer die helfte gerem word, op 'n besondere mate van bestandheid teen vergiftiging deur sianied. Hierdie bevinding hoef egter nie as buitengewoon beskou te word nie soos blyk uit die werk van Syrett (1951), wat ook 'n besondere mate van bestandheid teen HCN-remming by *Chlorella vulgaris* aangetref het. So byvoorbeeld is bevind dat 30 - 60% van die totale O_2-opname by *Chlorella vulgaris* deur die sianied-bestande gedeelte van die stelsel kan plaasvind.

Hierdie bestandheid teen vergiftiging deur sianied word egter nie by alle alge aangetref nie, soos blyk uit die werk van Webster *et al.*, (1953), wat bevind het dat 10^{-4} M sianied die O_2-opname by *Anabaena variabilis* en *Oscillatoria simplicissima* met meer as 60% verminder.

As die invloed van sianied op sitochroom - a_3 in aanmerking geneem word, sal 'n moontlike verklaring vir die bestandheid teen vergiftiging deur sianied wees dat die sianied-sensitiewe gedeelte van die sitochroomstelsel op een of ander wyse omseil word. Dat so iets wel moontlik is, blyk uit die reeds vermelde werk van Hackett (1960) wat bevind het dat remstowwe wat tussen sitochroom - b en molekulêre suurstof in

patatweefsel/.......

patatweefsel (*Ipomea batatas*) funksioneer die elektrone heelwaarskynlik op 'n alternatiewe roete kan inskakel om deur suurstof opgeneem te word.

Uit die resultate blyk dit dat die oksidasie van toegediende substrate baie meer sensitief is vir vergiftiging deur sianied as die grondrespirasie, en dat dit heelwaarskynlik in die meeste gevalle heeltemal deur 2 x 10^{-3} M KCN gerem word. Hierdie resultate dui dus daarop dat die oksidasie van die toegediende substrate heelwaarskynlik deur die sitochroomstelsel bewerkstellig word en dat sitochroomoksidasie nie uitgesluit is nie.

Die verskil in sensitiwiteit tussen die grondrespirasie en oksidasie van toegediende substrate vir vergiftiging deur sianied, kan op verskeie maniere verklaar word.

Dit is moontlik dat daar verskillende metaboliese paaie vir die grondrespirasie en oksidasie van die toegediende substrate bestaan.

Indien die toegediende substrate wel deur die organisme opgeneem moet word, voordat dit geoksideer word, is dit moontlik dat die aanwesigheid van sianied die oksidasie van die toegediende substrate rem deurdat dit die opname van die toegediende substrate teëwerk. 'n Verdere moontlikheid is dat daar 'n gedeeltelike oksidasie van die substrate reeds buite die organisme plaasvind, wat die aminosure in 'n vorm verander wat vir die diatoom toeganklik is. 'n Voorbeeld hiervan is *Monodus subterraneus*. Miller (1959) het bevind dat hierdie alg 'n glutaminase afskei wat die hidrolise van die amied-groep van glutamien kataliseer. In so 'n geval kan verwag word dat 'n ensiem buite die organisme met hoër konsentrasies KCN in aanraking sal kom as die ensiemsisteme binne die organisme.

Die effek van/......

Die effek van joodasetaat op die respirasie van Achnanthes pseudohungarica : (Figuur 42 op bladsy 148)

Uit die resultate blyk dit dat die joodasetaat 'n remmende werking op die grondrespirasie gehad het. Volgens die statistiese verwerking blyk dit egter asof dié remmende werking nie altyd betekenisvol was nie.

Die O_2-opname in die aanwesigheid van joodasetaat en die suikers het nie betekenisvol van die O_2-opname in die aanwesigheid van joodasetaat alleen verskil nie. Uit die resultate wil dit dus voorkom asof die oksidasie van die suikers as toegediende substrate heeltemal deur die aanwesigheid van joodasetaat gerem is.

Die O_2-opname in die aanwesigheid van joodasetaat en fenielalanien was aansienlik hoër (2 x) as die O_2-opname in aanwesigheid van joodasetaat alleen. Uit die statistiese ontleding blyk dit egter dat hierdie verskil nie betekenisvol was nie.

Die O_2-opname in die aanwesigheid van triptofaan en joodasetaat was hoogsbetekenisvol hoër as die O_2-opname in die aanwesigheid van joodasetaat alleen.

Uit die resultate wil dit voorkom asof die oksidasie van die aminosure as toegediende substrate in teenstelling met die invloed van joodasetaat op die oksidasie van die suikers nie heeltemal gerem is nie. Net soos vir die remming deur KCN wil dit voorkom asof die oksidasie van die toegediende substrate baie meer gevoelig was vir vergiftiging deur joodasetaat as die grondrespirasie.

Die effek van KCN op die respirasie van Nitzschia palea: (Fig.43)

Uit die resultate blyk dit dat KCN die grondrespirasie van Nitzschia palea betekenisvol en hoogsbetekenisvol laat afneem het.

In geeneen/.....

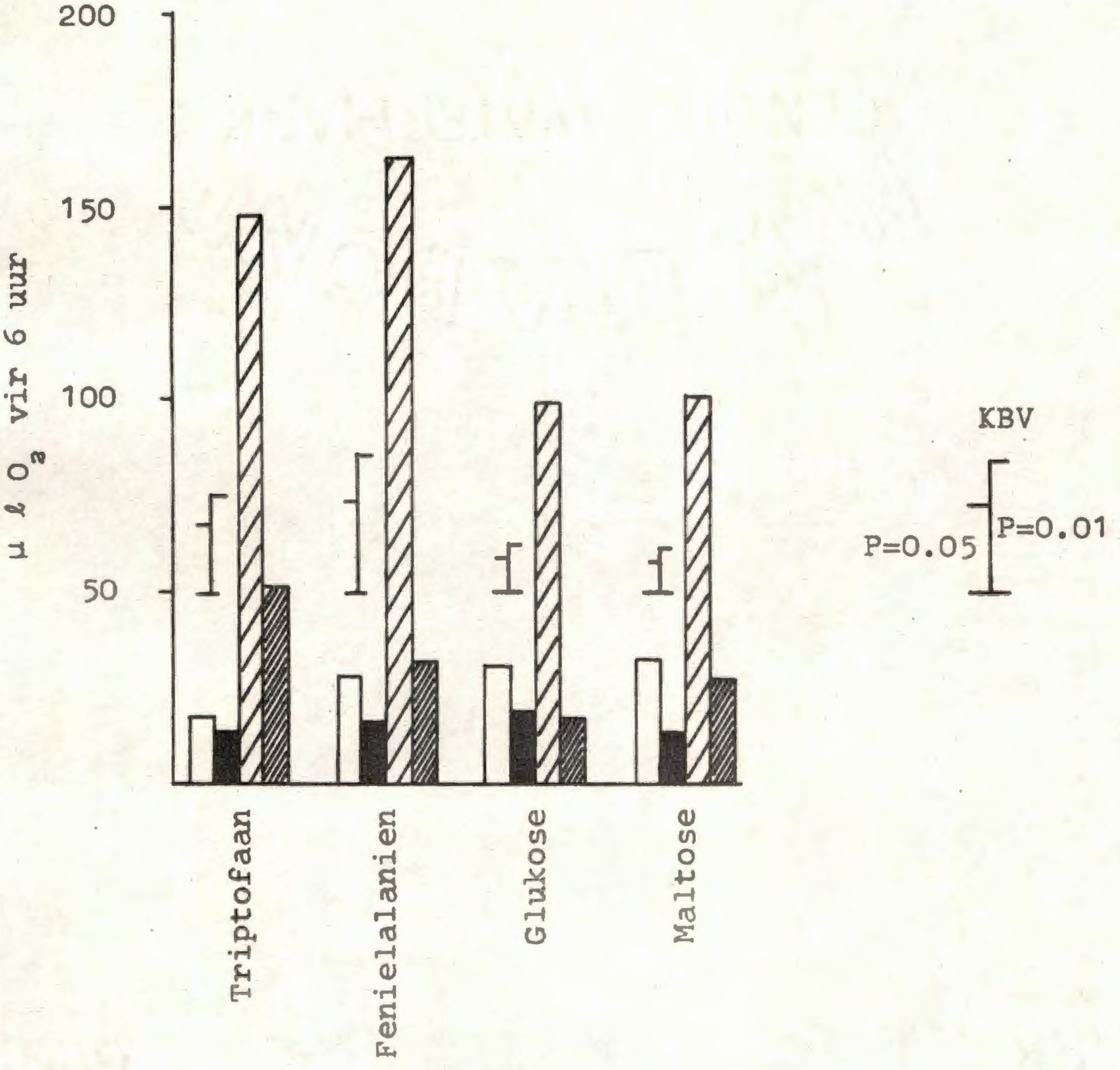


Fig. 42. Die invloed van 10^{-3} M joodasetaat en toegediende substrate op die suurstofopname van *Achnanthes pseudohungarica*. Die betrokke organiese substraat is onmiddellik na die aanvang van 'n proef bygevoeg terwyl die joodasetaat na 'n verdere 10 uur bygevoeg is. Die bepalings is in die donker by 25°C gedoen.

Anorg.substr. Anorg.substr. + joodasetaat Anorg.substr. + toeg. substr.

Anorg.substr. + toeg.substr. + joodasetaat

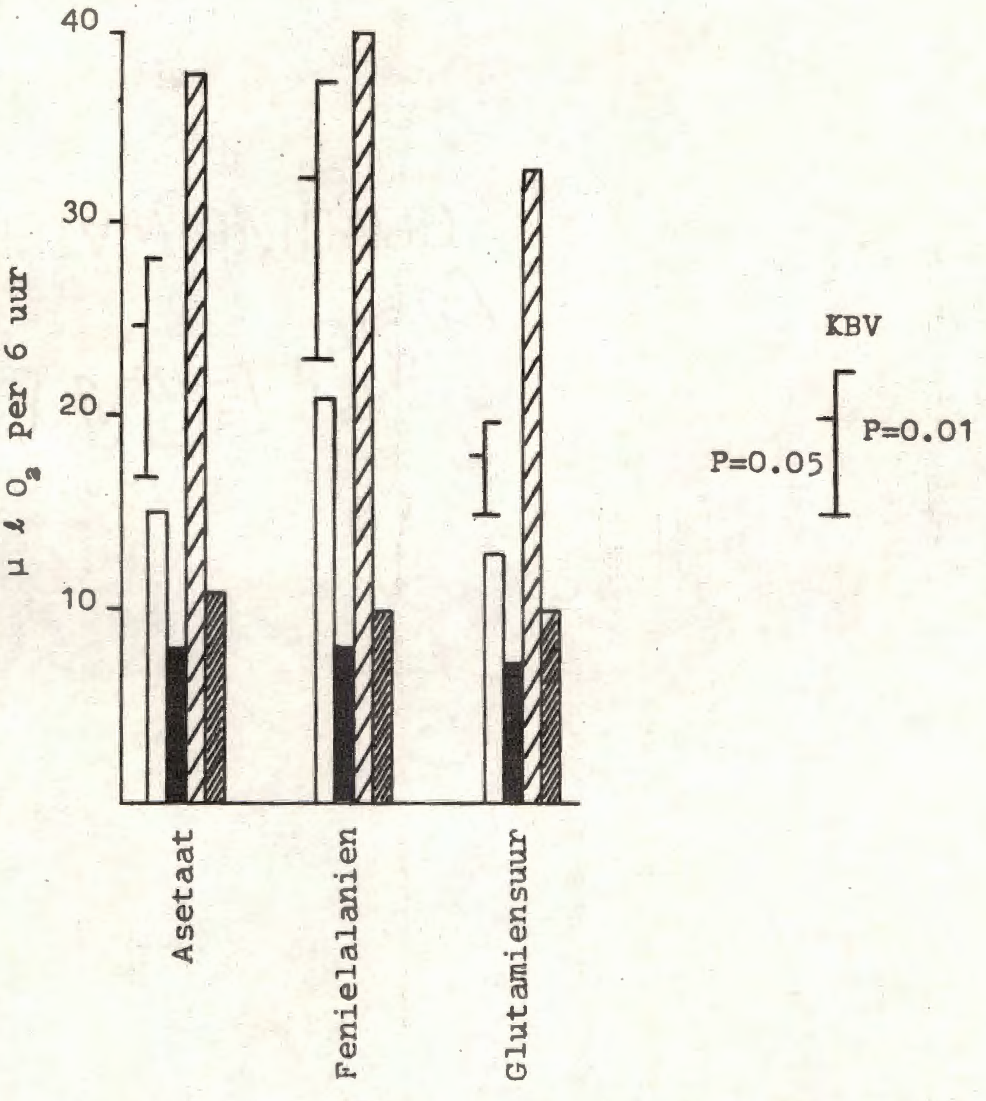


Fig. 43. Die invloed van 2 x 10^{-3} M KCN en toegediende substraat op die suurstofopname van <u>Nitzschia palea</u> in die donker by 25°C. Die betrokke organiese substraat is onmiddellik na die aanvang van 'n proef bygevoeg terwyl die KCN na 'n verdere 10 uur bygevoeg is.

Anorg.substr. Anorg.substr. + KCN Anorg.substr. + toeg. substr.

Anorg.substr. + toeg.substr. + KCN

In geeneen van die gevalle het die O_2-opname in die aanwesigheid van beide KCN en die toegediende substrate betekenisvol van die O_2-opname in die aanwesigheid van KCN alleen verskil nie. Net soos in die geval van Achnanthes pseudohungarica dui hierdie resultate daarop dat die oksidasie van die toegediende substrate baie meer gerem word as die grondrespirasie of heeltemal gerem word.

Soos reeds genoem, kan hierdie resultate as aanduiding dien dat die twee prosesse gedeeltelik van mekaar geskei is.

HOOFSTUK 8

DIE AFSKEIDING VAN ENSIEME DEUR ACHNANTHES PSEUDO-HUNGARICA EN NITZSCHIA PALEA

INLEIDING

Die bevinding dat die oksidasie van toegediende substrate deur Achnanthes pseudohungarica en Nitzschia palea meer sensitief is vir vergiftiging deur sianied as die grondrespirasie, kan moontlik daardeur verklaar word dat die twee prosesse gegedeeltelik van mekaar geskei is. 'n Moontlike manier waarop dié twee prosesse van mekaar geskei kan wees, is, soos reeds genoem, dat die organismes ensieme afskei of op die seloppervlakte konsentreer, wat die oksidasie van die toegediende substrate bewerkstellig.

Dit is egter baie onwaarskynlik dat alle ensieme vir die oksidasie benodig, afgeskei sal word en indien daar wel ensieme afgeskei word, kan verwag word dat daar slegs 'n gedeeltelike oksidasie van die substrate buite die organismes sal plaasvind.

Verdere gegewens wat op die moontlike afskeiding van ensieme dui, is die bevinding dat na die byvoeging van aminosure by kulture van Achnanthes pseudohungarica 'n oksidatiewe deaminasie aanvanklik die oorheersende reaksie is. Op soortgelyke wyse as vir Achnanthes pseudohungarica is bevind dat kulture van Nitzschia palea glutamiensuur en fenielalanien redelik aktief deamineer.

In die hieropvolgende proewe word die moontlike afskeiding van ensieme deur bogenoemde organismes, ondersoek.

MOONTLIKE/.......

MOONTLIKE AFSKEIDING VAN ENSIEME DEUR ACHNANTHES PSEUDO-HUNGARICA
(PROEF NR. 23)

Proeftegnieke

'n Gekonsentreerde diatoomsuspensie is vir 48 uur aan 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing blootgestel, waarna die diatome afgefiltreer is. Die filtraat is met fenielalanien in Warburgflessies by 25°C geïnkubeer. Vir kontroledoeleindes is 'n anorganiese voedingsmedium, waarin geen diatome aanwesig was nie, gebruik.

Resultate

Geen verandering kon op die manometers waargeneem word wat daarop kon dui dat die fenielalanien geoksideer word nie.

(PROEF NR. 24)

In 'n daaropvolgende proef is nog 'n poging aangewend om te bepaal of Achnanthes pseudohungarica ensieme afskei.

Proeftegnieke

Uit die resultate van vorige hoofstukke se proewe is dit duidelik dat die O_2-opname in die aanwesigheid van die meeste oksideerbare toegediende substrate vir ongeveer die eerste 18 uur geleidelik toeneem. Hierdie geleidelike styging kan moontlik daardeur verklaar word dat die verskillende toegediende substrate stadig deur die diatoom opgeneem word en dat dit eers na 'n aansienlike tyd 'n hoë konsentrasie in die diatoom bereik. Indien die toegediende substrate egter buite die organisme geoksideer word, kan die aanvanklik lae O_2-opname in die aanwesigheid van die toegediende substrate daardeur verklaar word dat die konsentrasie van die ensieme in die buite oplossing aanvanklik laag is en geleidelik toeneem met 'n gevolglike toename in die O_2-opname.

In hierdie/.......

In hierdie proef is van hierdie oorwegings uitgegaan om te probeer vasstel of enige ensieme deur die diatoom afgeskei word of nie. Die proef is soos volg opgestel :

Termobarometer	-	2 flesse
Kontrole (anorg. substr.)	-	3 flesse
Anorg. substr. + Aminosuur (bygevoeg onmiddellik na aanvang van die proef)	-	3 flesse
Anorg. substr. + Aminosuur (na 18 uur bygevoeg)	-	3 flesse
Anorg. substr. + Aminosuur (na 24 uur bygevoeg)	-	3 flesse

Indien die toename in die O_2-opname afhanklik sou wees van die tempo waarteen die aminosuur opgeneem word, sal daar in al drie gevalle dieselfde geleidelike toename in die O_2-opname wees, selfs waar die diatome reeds vir 24 uur in die kultuurmedium aanwesig was. Indien die toegediende substraat egter buite die organisme deur ensieme wat deur die organisme afgeskei word, geoksideer word, en die geleidelike toename in die O_2-opname dus aan die geleidelike toename in die konsentrasie van die ensieme in die kultuurmedium toegeskryf word, kan 'n mens verwag dat die toename in die O_2-opname, direk na die byvoeging van die aminosuur, verskillend sal wees vir die drie verskillende tye waarby die aminosuur bygevoeg is.

Resultate

Die resultate word grafies op bladsy 154 aangebied. (Fig.44)

Gevolgtrekking

Uit die resultate blyk dit duidelik dat daar by die drie verskillende tye waarby die aminosuur bygevoeg is, dieselfde geleidelike toename in die O_2-opname was. Toe die tweede en

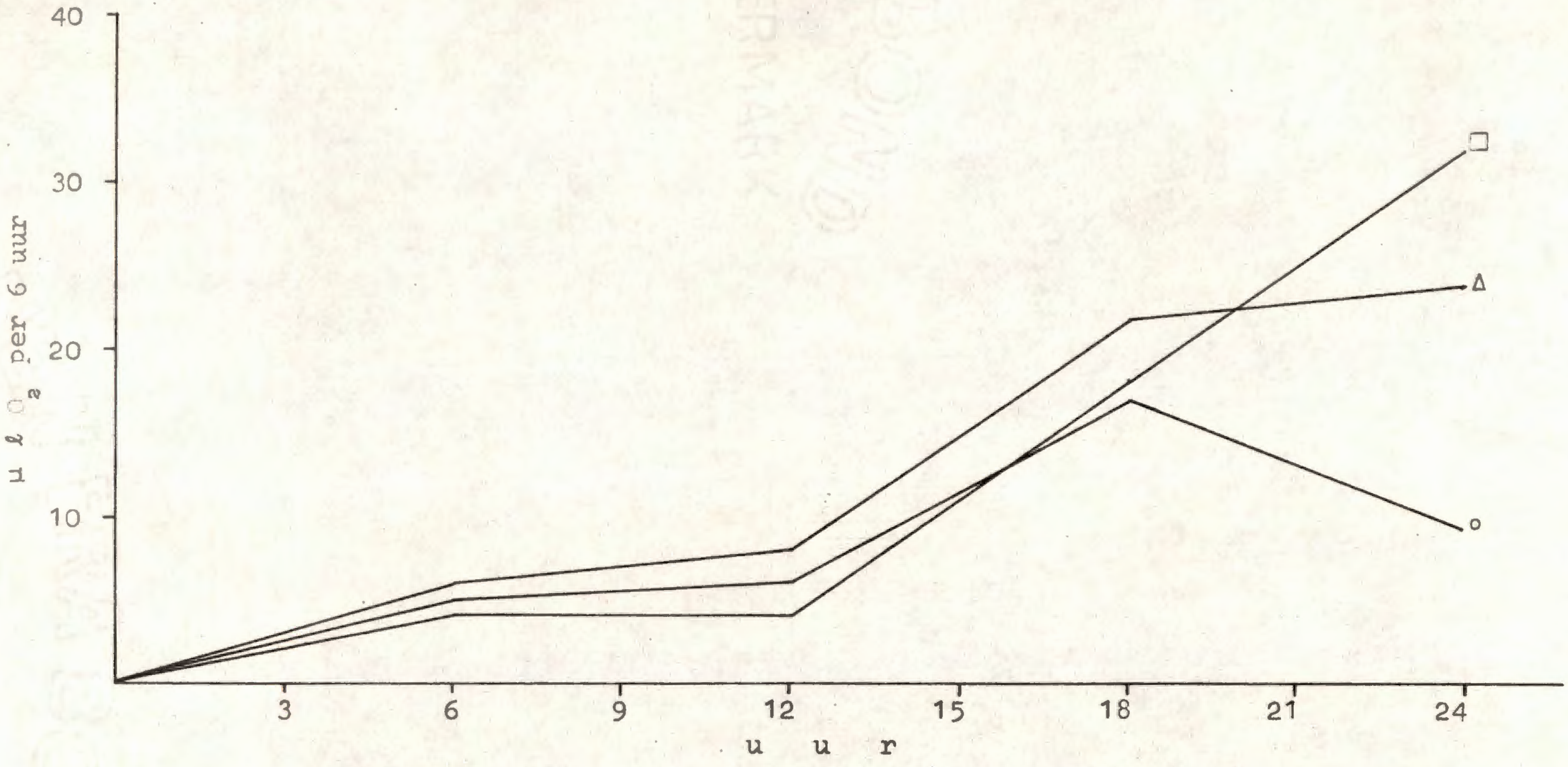


Fig. 44. Die invloed van fenielalanien op die suurstofopname van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> in die donker by 25°C. Die fenielalanien is op drie verskillende tye na die aanvang van die proef bygevoeg.

□ Fenielalanien onmiddellik na die aanvang van die proef bygevoeg.

Δ Fenielalanien na 18 uur by die tweede reeks bygevoeg.

o Fenielalanien na 24 uur by die derde reeks bygevoeg.

derde byvoeging van die aminosuur na 18- en 24 uur onderskeidelik gemaak is, was die O_2-opname in die aanwesigheid van die aminosuur wat direk na die aanvang van die proef bygevoeg is, reeds aansienlik hoër as die kontrolewaarde. Indien enige ensieme deur die organisme afgeskei sou word, sou die toename in die O_2-opname vinniger plaasgevind het waar die aminosuur na 18- en 24 uur bygevoeg is.

Uit die resultate van dié proef en dié van die vorige wil dit voorkom asof die oksidasie van die toegediende substrate nie deur ensieme wat deur die organisme afgeskei word, bewerkstellig word nie.

DIE EFFEK VAN FENIELALANIEN OP DIE MOONTLIKE AFSKEIDING VAN ENSIEME DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA (PROEF NR. 25)

Inleiding

Uit die resultate van die vorige proewe wil dit voorkom asof die diatoom geen ensieme (in voldoende hoeveelhede) afskei wat die oksidasie van die toegediende substrate buite die organisme kan bewerkstellig nie. Die volgende moet egter in gedagte gehou word, naamlik dat die diatome in die vorige proewe slegs aan 'n suiwer anorganiese voedingsmedium blootgestel was. Die moontlikheid is nie uitgesluit dat ensieme wel deur die organisme afgeskei word, maar dat die aanwesigheid van 'n organiese stof in die groeimedium hier 'n rol kan speel nie. Gegewens wat op so 'n moontlikheid dui, is die volgende: In proef nr. 13 is bevind dat hoewel die O_2-opname na die byvoeging van fenielalanien geleidelik was, was dit nie so geleidelik soos wat die geval in proef nr. 24 was nie. So byvoorbeeld was die O_2-opname in die geval van proef nr. 13 6 uur na die byvoeging van die fenielalanien reeds betekenisvol hoër as die kontrolewaarde, terwyl fenielalanien in die geval van proef nr. 24 na 6 uur nog geen invloed op die O_2-opname gehad het nie. 'n Moontlike verklaring hiervoor is dat die diatome wat vir proef nr. 13 gebruik is, baie vars was en direk voor gebruik aan 'n organiese stof in die groei-

medium/.....

medium blootgestel was. Die diatome wat vir die vorige proef gebruik is, (proef nr. 24), was egter van kulture afkomstig wat veel ouer was. As gevolg van die ouderdom van die kulture was dit heelwaarskynlik die geval dat die diatome voor gebruik reeds al die organiese stowwe in die groeimedium geoksideer het en dus slegs aan 'n suiwer anorganiese voedingsmedium blootgestel was. Die diatome sou dus in eersgenoemde geval, in teenstelling met laasgenoemde geval, reeds voor gebruik by die aanwesigheid van 'n organiese stof in die groeimedium aangepas wees.

In hierdie proef is 'n poging aangewend om te bepaal of die aanwesigheid van 'n organiese stof in die groeimedium enige invloed op die afskeiding van ensieme deur die diatoom of die sametrekking van ensieme op die oppervlak van die diatoomselle het.

Proeftegnieke

2 μ mol fenielalanien per Warburgfles is by die kultuurmedium gevoeg. Nadat die toegediende substraat volledig geoksideer is, is 'n verdere 2 μ mol per fles bygevoeg. Die gevolglike toename in O_2-opname is in albei gevalle bepaal. Die proef is soos volg opgestel :

Termobarometer	- 2 flesse
Anorg. substr.	- 5 flesse
Anorg. substr. + 2 μ mol fenielalanien	- 5 flesse.

Resultate

Die resultate word grafies op bladsy 157 aangebied. (Fig.45)

Gevolgtrekking

Uit die resultate blyk dit dat die O_2-opname na die eerste byvoeging van die fenielalanien net soos vir die vorige proef

baie /.......

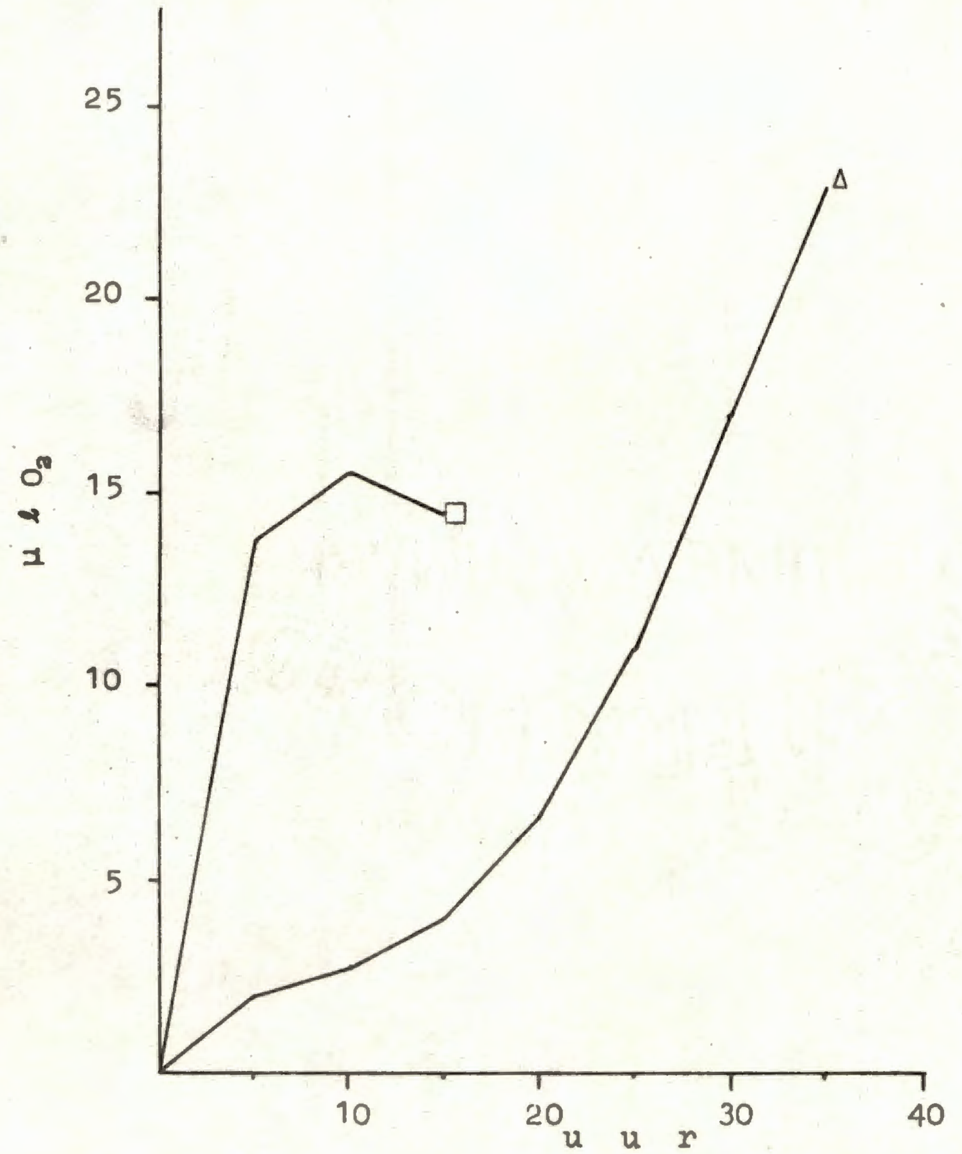


Fig. 45. Die invloed van fenielalanien op die suurstofopname van <u>Achnanthes pseudohungarica</u> in die donker by 25° C. Nadat die 2 μ mol fenielalanien wat direk na die aanvang van die proef bygevoeg is, volledig geoksideer is, is 'n verdere 2 μ mol bygevoeg.

Δ Toename in die O_2-opname na die eerste byvoeging van fenielalanien.

□ Toename in die O_2-opname na die tweede byvoeging van fenielalanien.

baie geleidelik was. Na die tweede byvoeging van die feniel-alanien was die toename in die suurstofopname baie skielik en reeds na die eerste uur was die toename in die O_2-opname ongeveer dieselfde as wat dit na 20 uur na die eerste byvoeging van die 2 μ mol van die aminosuur was. Hierna was daar geen verdere toename van die O_2-opname nie. Die toename in die O_2-opname na die tweede byvoeging van fenielalanien het ook nie dieselfde vlak bereik as na die eerste byvoeging nie. Hierdie resultate kan waarskynlik daaraan toegeskryf word dat die dia-tome na die tweede byvoeging reeds 'n geruime tyd in die donker was.

Twee moontlike verklarings vir dié resultate is die volgende :

1. Dit is moontlik dat die oksidasie van die toegediende substraat deur ensieme wat deur die organisme afgeskei word buite die organisme bewerkstellig word. Indien dit wel die geval sou wees, sou 'n mens uit 'n vergelyking van die resultate van dié proef met dié van die vorige kan aflei dat die aanwesigheid van 'n organiese stof in die groeimedium 'n vereiste is voordat enige ensieme deur die diatoom afgeskei of op die oppervlakte daarvan ge-konsentreer word.

2. 'n Verdere moontlike verklaring van die resultate is dat sinchronisasie van die selle hier 'n rol kon gespeel het. Dit is moontlik dat al die selle voor die tweede byvoeging van fenielalanien in dieselfde aktiewe fisio-logiese toestand verkeer het as gevolg van die vorige toediening van fenielalanien of die veel langer tyd wat die selle reeds in die donker gehou is.

DIE MOONTLIKE/......

DIE MOONTLIKE AFSKEIDING VAN ENSIEME DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA
(PROEF NR. 26)

Proeftegnieke

'n Verdere poging om die probleem te ondersoek was deur van 2,3,5-trifenieltetrasoliumchloried (TTC) gebruik te maak. In die aanwesigheid van reduserende ensieme (dehidrogenases) word die TTC wat kleurloos is, tot 'n alkoholoplosbare rooi kleurstof, naamlik trifenielformasaan, gereduseer. (Botha, 1966)

TTC is by die volgende kulture gevoeg :

1. Kulture wat in 'n suiwer anorganiese voedingsmedium gekweek is. (Op agar in petribakkies en vloeistofmedium.)
2. Kulture wat in die aanwesigheid van verskeie organiese substrate gekweek is. (Op agar in petribakkies en vloeistofmedium.)

Na die byvoeging van TTC is die kulture in die donker gehou.

Resultate en Gevolgtrekking

Nie in een van die gevalle is enige kleurverandering waargeneem wat die vorming van trifenielformasaan aangetoon het nie. Hierdie resultate dui dus op die afwesigheid van enige dehidrogenerende ensieme.

Om te toets of waarneembare hoeveelhede formasaan wel onder hierdie toestande gevorm kan word, is TTC by besmette kulture gevoeg. Veral in die geval waar die kulture op agarplate gekweek is, was die vorming van formasaan duidelik waarneembaar.

DIE MOONTLIKE AFSKEIDING VAN ENSIEME DEUR NITZSCHIA PALEA (PROEF NR. 27)

Die metodes wat gebruik is om te bepaal of enige ensieme deur *Nitzschia palea* afgeskei word, is min of meer dieselfde as vir *Achnanthes pseudohungarica* en was kortliks soos volg :

1. Die byvoeging van TTC by aktiefgroeiende kulture.
2. Deur 'n diatoomsuspensie vir etlike dae in 'n voedingsoplossing te hou waarna die diatome verwyder word. Hierna word die oksidasie van toegediende substrate deur die voedingsoplossing manometries bepaal.

In geen geval was daar enige beduidenis dat ensieme deur *Nitzschia palea* afgeskei word nie.

HOOFSTUK 9

DIE EFFEK VAN 'N LANGDURIGE AFWESIGHEID VAN LIG IN DIE GELYKTYDIGE AANWESIGHEID VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE VERMOË VAN NITZSCHIA PALEA EN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA OM TOEGEDIENDE SUBSTRATE TE OKSIDEER

INLEIDING

In al die proefwerk tot dusver gedoen, is van kulture gebruik gemaak wat al die stadiums van die lewensiklus insluit.

Hoewel geen werk opgespoor kon word wat 'n drastiese verskil tussen verskillende stadiums van die lewensiklus aantoon nie, dui die bevindinge van verskeie werkers wat van sinchrone kulture gebruik gemaak het, daarop dat die verskillende stadiums van die lewensiklus van sommige organismes met betrekking tot sekere eienskappe aansienlik verskil.

So byvoorbeeld het Nihei *et al.*, (1954) bevind dat fotosintese tydens die rypwordingsfase van *Chlorella ellipsoidea* 'n baie hoër tempo het as tydens die ander fases. Sorokin *et al.*, (1957) weer, het bevind dat die oksidasie van glukose deur 'n *Chlorella*-spesie die aktiefste is aan die begin van die groeifase en aansienlik afneem tot en met die seldelings-fase.

Die moontlikheid is nie uitgesluit dat slegs een of meer van die stadiums van die lewensiklusse van *Achnanthes pseudohungarica* en *Nitzschia palea* die toegediende substrate kan oksideer en assimileer terwyl die ander stadiums van die lewensiklus dit nie kan doen nie. Indien dit die geval sou wees, sou dit moontlik kan verklaar waarom die lewensiklus nie in die afwesigheid van lig en in die gelyktydige aanwesigheid van toegediende substrate voltooi kan word nie. Die bevinding dat die oksidasie van die toegediende substrate meer sensitief is vir vergiftiging deur sekere remstowwe as die grondrespirasie sal dan daardeur verklaar kan word dat die betrokke stadium of stadiums wat wel die toegediende

substrate/......

substrate kan oksideer, meer sensitief is vir vergiftiging deur sianied as die ander stadiums.

In die hieropvolgende proewe word hierdie moontlikheid vir Nitzschia palea nader ondersoek. Ongelukkig was daar op dié stadium van die ondersoek nie meer materiaal van Achnanthes pseudohungarica beskikbaar om hierdie moontlikhede vir hierdie organisme te ondersoek nie. Hier kan dus slegs na die resultate van vorige proewe verwys word.

In die eerste plek is verskeie pogings aangewend om sinchrone kulture van Nitzschia palea te verkry.

Metodes wat algemeen gebruik word om algkulture te sinchroniseer, is blootstelling van die kulture aan verskillende ligintensiteite en aan verskillende ligperiodes. (Tamiya et al., 1953; Iwamura et al., 1955; Hase et al., 1957; Morimura, 1959.)

Ander metodes sluit in die blootstelling van die kulture aan verskillende temperature (Padilla et al., 1960).

Geeneen van die metodes was egter suksesvol in die verkryging van sinchrone kulture van Nitzschia palea nie. Een van die probleme wat met hierdie werk ondervind is, was dat die verskillende stadiums van die lewensiklus moeilik onderskei kon word.

DIE EFFEK VAN 'N LANGDURIGE AFWESIGHEID VAN LIG IN DIE AANWESIGHEID VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE VERMOË VAN NITZSCHIA PALEA OM TOEGEDIENDE SUBSTRATE TE OKSIDEER (PROEF NR. 28)

Inleiding

As daar van die veronderstelling uitgegaan sou word dat 'n bepaalde fase van die lewensiklus nie oor die vermoë beskik om toegediende substrate te oksideer en te assimileer nie, kan 'n mens verwag dat die volgende in 'n gemengde kultuur in die afwesigheid van lig en in die gelyktydige aanwesigheid van 'n toegediende substraat, sal plaasvind :

Die algselle/.....

Die algselle wat in dié stadium van die lewensiklus verkeer wat nie die toegediende substrate kan oksideer en assimileer nie, behoort onveranderd te bly as gevolg van 'n gebrek aan 'n energiebron.

Die algselle wat in dié stadiums van die lewensiklus verkeer, wat wel die toegediende substrate kan oksideer en assimileer, behoort hierdeur energie beskikbaar te kan stel om in 'n volgende fase van die lewensiklus te ontwikkel. Die oorgang van een stadium in 'n volgende van die lewensiklus behoort voort te duur totdat die selle in die stadium ontwikkel het wat nie die toegediende substrate kan assimileer nie. Die vermoë van 'n kultuur wat onder dié toestande in die aanwesigheid van 'n toegediende substraat gehou word om die substraat te oksideer en te assimileer, behoort met verloop van tyd dus af te neem namate al die selle in die kultuur in dié stadium ontwikkel wat nie die toegediende substrate kan oksideer nie.

In hierdie proef is 'n poging aangewend om te bepaal of die vermoë van Nitzschia palea om toegediende substrate te oksideer in die donker, in die aanwesigheid van organiese substrate, afneem.

Proeftegnieke

Die effek van asetaat, fenielalanien en glutamiensuur op die O_2-opname van kulture van Nitzschia palea wat vooraf soos volg behandel is, is oor 'n periode van 24 uur bepaal :

1. Kulture in 'n anorganiese voedingsmedium onder normale groeitoestande gekweek.
2. Kulture vooraf in 'n anorganiese voedingsmedium plus asetaat (225 mg asetaatkoolstof per 1 000 cm^3 bygevoeg) vir 120 uur in die afwesigheid van lig gehou.
3. Kulture vooraf in 'n anorganiese voedingsmedium en fenielalanien (225 mg fenielalanienkoolstof per 1 000 cm^3 bygevoeg) vir 120 uur in die afwesigheid van lig gehou.

4. Kulture/.....

4. Kulture vooraf in 'n suiwer anorganiese voedingsmedium vir 120 uur in die afwesigheid van lig gehou.

Die Warburgflessies is soos volg gebruik :

Termobarometer	- 2 flessies
Anorg. substr.	- 3 flessies
Anorg. substr. + asetaat	- 3 flessies
Anorg. substr. + fenielalanien	- 3 flessies
Anorg. substr. + glutamiensuur	- 3 flessies.

Die resultate en die statistiese verwerking daarvan word in Tabelle 31 - 34 op bladsye 24 en 25 van die bylaag en in Figure 46 - 49 op bladsye 165 - 168 aangebied.

Bespreking en Gevolgtrekking

Uit die resultate blyk dit dat daar by die algselle wat in die afwesigheid van enige organiese substraat uitgehonger is, geen betekenisvolle afname in die grondrespirasie oor die 24-uur periode was nie. Hierdie resultate is 'n tipiese kenmerk van die respirasie van kulture wat op dié wyse uitgehonger is. In teenstelling hiermee was daar by die kulture wat nie vooraf uitgehonger is nie en by dié wat in die aanwesigheid van asetaat en fenielalanien uitgehonger is, reeds na 6 uur 'n hoogsbeduidende afname van die grondrespirasie. Hierdie resultate dui dus daarop dat die kulture wat in die aanwesigheid van die organiese substrate uitgehonger is, nie so arm aan reserwestowwe was as dié wat in die afwesigheid van enige organiese substrate uitgehonger is nie en dit bevestig weer eens dat genoemde substrate wel deur die organisme geassimileer word.

Die effek van die toegediende substrate op die O_2-opname van die kulture vir die verskillende voorbehandelings kan kortliks soos volg saamgevat word :

By die kulture/.....

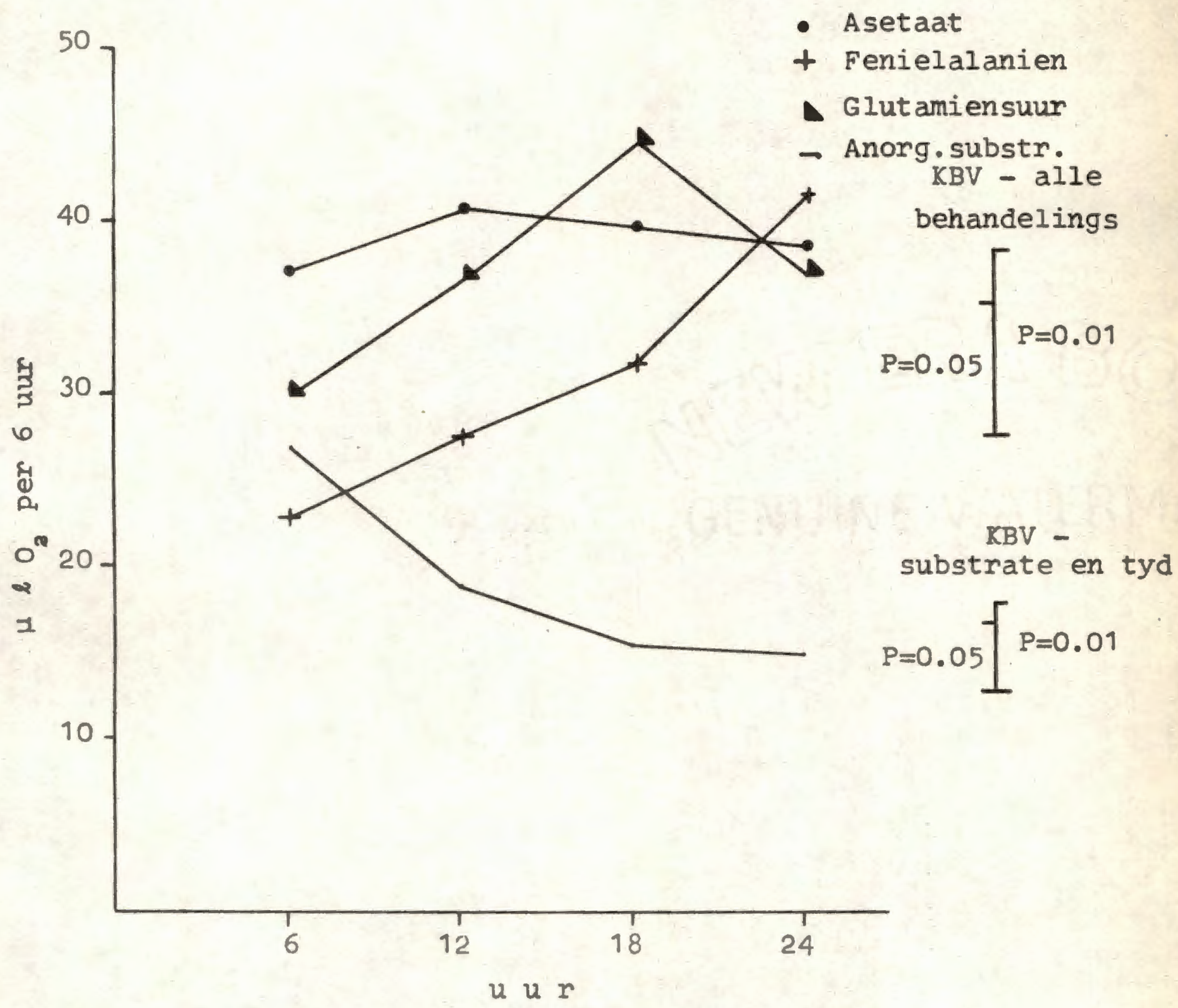


Fig. 46. Die invloed van toegediende substrate op die suurstofopname van Nitzschia palea-kulture, in die donker by 25°C, wat in 'n anorganiese voedingsmedium onder normale groeitoestande gekweek is.

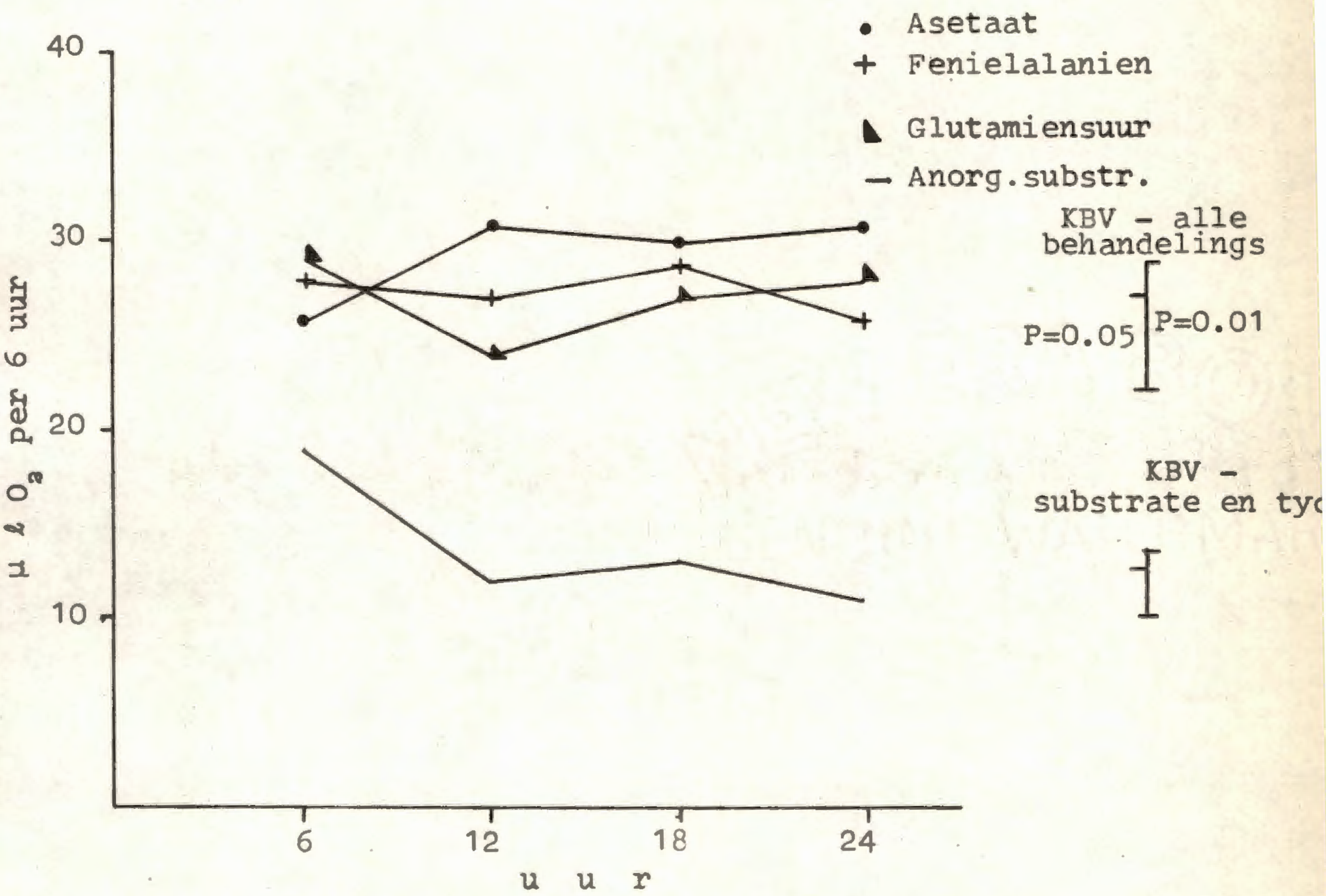


Fig. 47. Die invloed van toegediende substrate op die suurstofopname van Nitzschia palea-kulture, in die donker by 25°C, wat vooraf in die aanwesigheid van fenielalanien uitgehonger is.

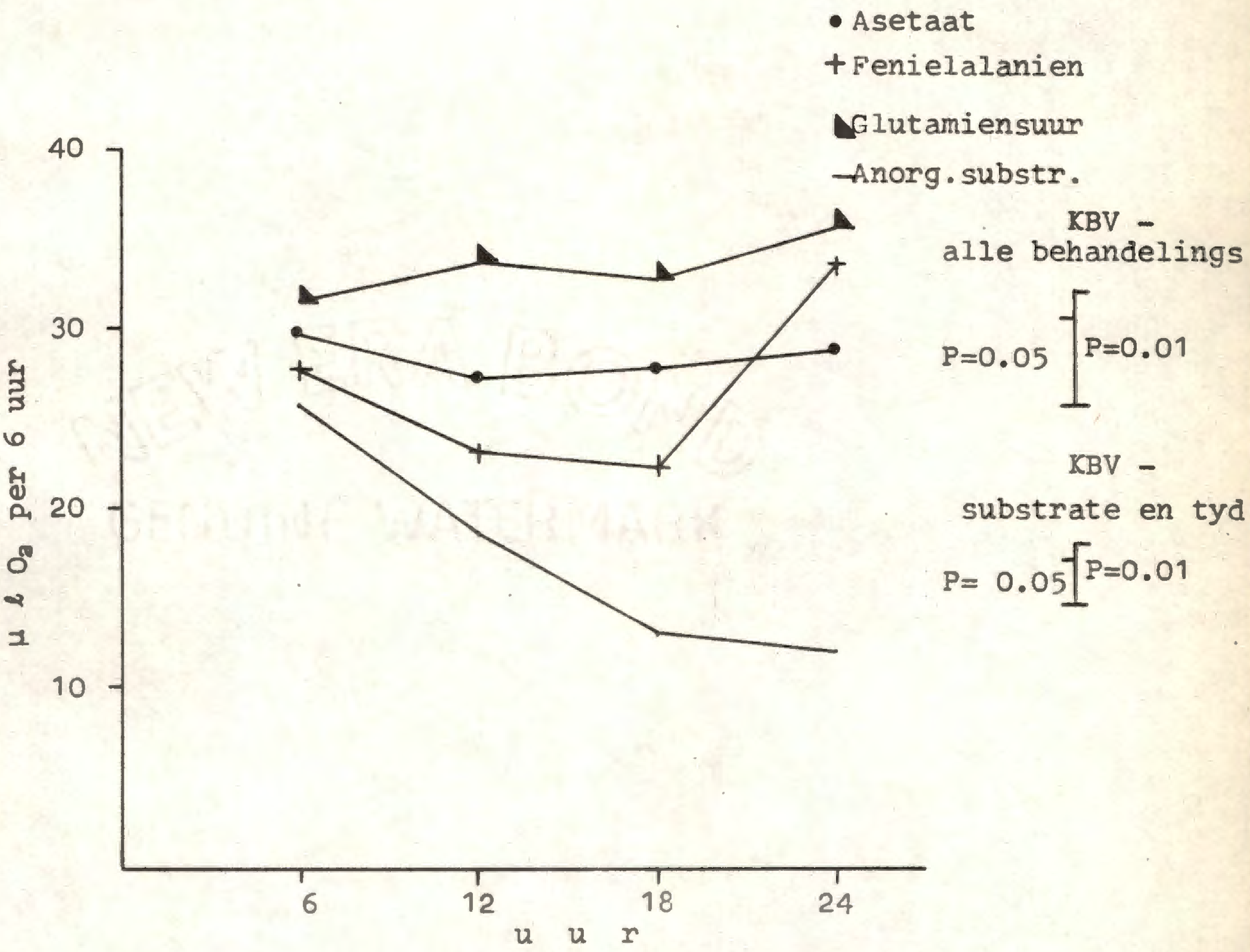


Fig. 48. Die invloed van toegediende substrate op die suurstofopname van *Nitzschia palea*-kulture, in die donker by 25° C, wat vooraf in die aanwesigheid van asetaat uitgehonger is.

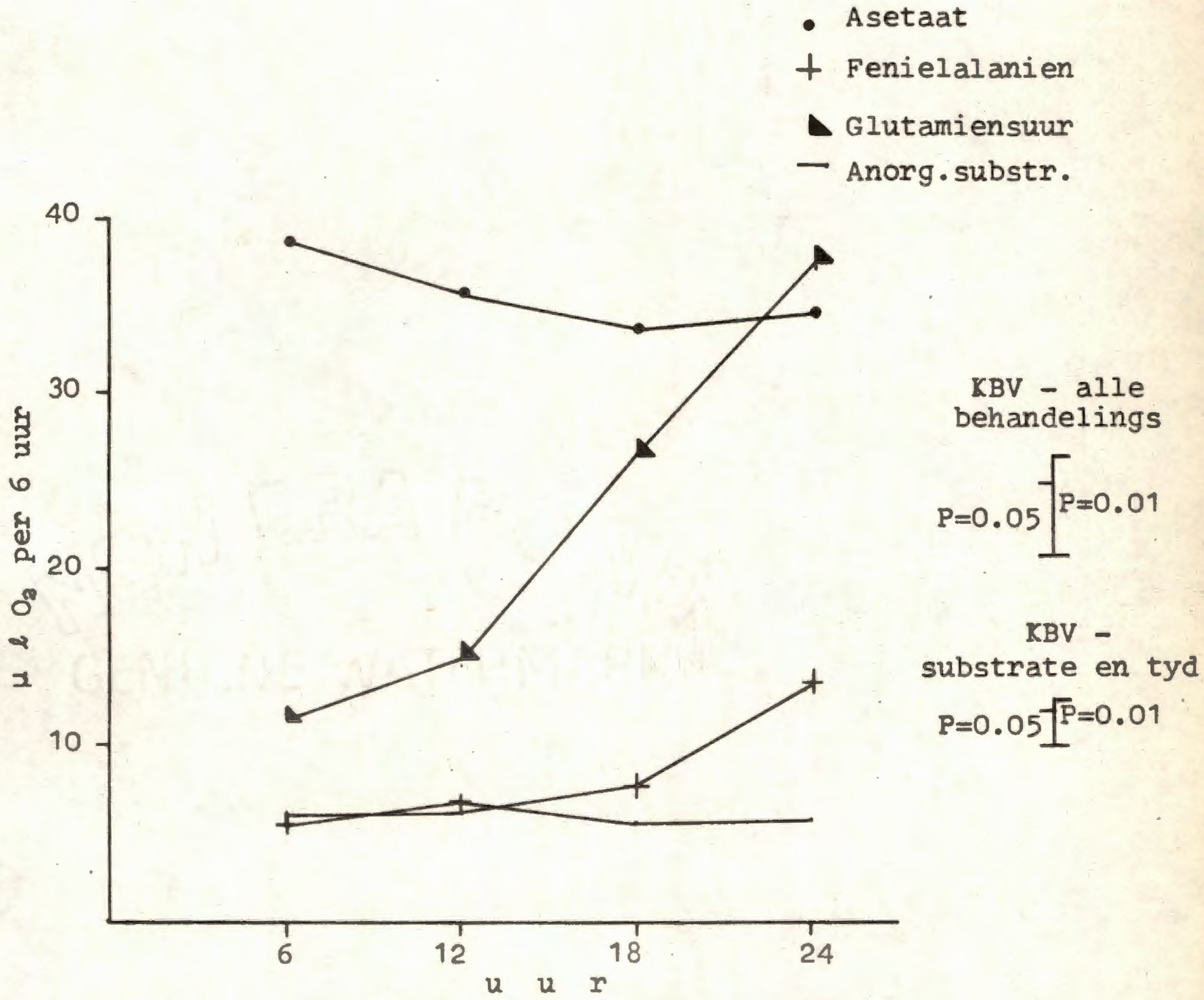


Fig. 49. Die invloed van toegediende substrate op die suurstofopname van Nitzschia palea-kulture, in die donker by 25°C, wat vooraf in 'n anorganiese voedingsmedium uitgehonger is.

By die kulture wat onder normale toestande gekweek is, het die verskillende toegediende substrate dieselfde toename in die O_2-opname bewerkstellig wat deurgaans in al die vorige proewe waargeneem is. Die tye waarop die verskillende stowwe 'n maksimale effek op die O_2-opname gehad het, stem goed ooreen met hulle molekulêre grootte.

By die kulture wat vooraf in die afwesigheid van enige substraat uitgehonger is, was die patroon min of meer dieselfde, behalwe dat die effek van fenielalanien baie kleiner was as wat verwag is en ook baie meer geleidelik.

In die geval van die kulture wat vooraf in die aanwesigheid van fenielalanien uitgehonger is, het die effek van die toegediende substrate oor die 24-uur periode min verander. Die O_2-opname in die aanwesigheid van die verskillende substrate was in al drie gevalle na die eerste ses uur reeds hoogsbetekenisvol hoër as die kontrolewaarde vir die ooreenstemmende periode.

In die geval van die kulture wat vooraf in die aanwesigheid van asetaat uitgehonger is, was die effek van die toegediende substrate min of meer dieselfde as vir die kulture wat in die aanwesigheid van fenielalanien uitgehonger is, behalwe dat die effek van fenielalanien baie meer geleidelik was.

Die feit dat die effek van die toegediende substrate op die kulture wat vooraf in die aanwesigheid van 'n toegediende substraat uitgehonger is, baie minder verskil het vir die verskillende tye as wat die geval met die kulture vir die ander voorbehandelings was en daar ook nie dieselfde geleidelike toename van die O_2-opname was nie, dui daarop dat in hierdie geval die assimilasieproses versadig begin raak, of dat die algselle reeds by die toestand aangepas is, byvoorbeeld deurdat al die selle in dieselfde fisiologies-aktiewe toestand verkeer.

Dit is veral/.......

Dit is veral opvallend waar die kulture vooraf in die aanwesigheid van fenielalanien uitgehonger is. Wat die geval ook al mag wees, wil dit voorkom asof die vermoë van die kulture om die toegediende substrate te oksideer, nie noemenswaardig geaffekteer word deur die kulture vooraf in die aanwesigheid van 'n organiese substraat uit te honger nie. Die effek van dié voorbehandelings is in elk geval nie sodanig dat daaruit afgelei kan word dat die selle in 'n stadium van die lewensiklus ontwikkel wat nie die toegediende substrate kan oksideer nie.

Soos reeds genoem, blyk dit uit die resultate dat die effek van fenielalanien op die kulture wat vooraf in die afwesigheid van enige substraat uitgehonger is, baie meer geleidelik was en ook baie geringer as wat die geval met die ander voorbehandelings was. Na aanleiding van die resultate wil dit voorkom asof die selle hulle by die aanwesigheid van fenielalanien aanpas óf deur die sintese van die nodige ensieme óf deurdat die selle in dieselfde fisiologies-aktiewe toestand ontwikkel. By die selle wat vooraf in die afwesigheid van enige organiese substraat uitgehonger is, kan 'n mens verwag dat die sogenaamde aanpassing aansienlik stadiger sal plaasvind aangesien die algselle waarskynlik arm aan reserwestowwe is. Waar die selle in die aanwesigheid van fenielalanien uitgehonger is, kan verwag word dat dié selle reeds by dié toestand aangepas is. Uit die resultate wil dit dan voorkom asof die geleidelike toename van die effek van fenielalanien op die O_2-opname nie net daaraan toegeskryf kan word dat dié aminosuur stadiger opgeneem word as gevolg van sy groter molekulêre grootte nie, maar dat ander faktore hier moontlik ook 'n rol speel.

Vir <u>Achnanthes</u>/......

Vir Achnanthes pseudohungarica kan daar miskien na die resultate van proef nr. 25 op bladsy 155 verwys word waar bevind is dat daar na 'n tweede byvoeging van fenielalanien na ongeveer 24 uur 'n vinniger toename in die O_2-opname was as na die eerste byvoeging van hierdie stof. Hoewel die „voorbehandeling" vir hierdie proef (eerste byvoeging van fenielalanien) baie kort was in vergelyking met die voorbehandelings van die proef vir Nitzschia palea, dui hierdie resultate daarop dat kulture van Achnanthes pseudohungarica in die afwesigheid van lig en in die gelyktydige aanwesigheid van fenielalanien nie in 'n stadium van die lewensiklus ontwikkel wat fenielalanien nie kan oksideer nie.

Dit wil dus voorkom asof die moontlikheid dat die verpligte outotrofe voeding van Nitzschia palea en Achnanthes pseudohungarica daardeur verklaar kan word dat sekere stadiums van die lewensiklus toegediende substrate nie kan oksideer en assimileer nie, buite rekening gelaat kan word.

SAMEVATTENDE BESPREKING

Uit die voorafgaande ondersoek blyk dit dat 'n hele aantal aminosure en ureum as enigste bronne van stikstof vir Achnanthes pseudohungarica toeganklik is. 'n Hele aantal aminosure, suikers, en tot 'n minder mate, ureum, is in die lig as enigste bronne van koolstof vir die diatoom toeganklik. Nie een van die stowwe kon egter heterotrofe groei van die organisme bewerkstellig nie. Die organisme is blykbaar ook nie in staat om onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is, fotosintese met chemosintese aan te vul indien hierdie substrate aangebied word nie.

Dit blyk verder dat die diatoom, Nitzschia palea, ook nie tot heterotrofe groei in staat is nie. Hierdie bevindinge vir Nitzschia palea stem ooreen met diè van Karsten (1901), Richter (1906) en von Denffer (1947). In teenstelling met Achnanthes pseudohungarica blyk dit dat Nitzschia palea onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is, fotosintese wel met chemosintese kan aanvul.

Vir 'n organisme om heterotroof op toegediende substrate te kan groei, moet die organisme aan die volgende vereistes met betrekking tot die betrokke substrate, voldoen:

1. Die toegediende substrate moet deur die organisme opgeneem kan word.
2. Die toegediende substrate moet deur die organisme geoksideer kan word en hierdie oksidasie moet met die sintese van ATP gekoppel wees.
3. Die organisme moet die toegediende substrate as 'n basis vir die sintese van al die nodige selbestanddele kan gebruik.

Verskeie pogings is aangewend om te bepaal of enige ensieme deur Achnanthes pseudohungarica afgeskei word.

Daar was/.......

Daar was egter geen beduidenis dat enige ensieme in voldoende hoeveelhede afgeskei word om die oksidasie van toegediende substrate buite die organisme te bewerkstellig nie. Tesame hiermee moet in aanmerking geneem word dat die organisme 'n volledige of feitlik volledige oksidasie van die meeste substrate waarvoor getoets is, kan bewerkstellig en dat dit onwaarskynlik is dat al die ensieme vir dié oksidasie benodig, deur die organisme afgeskei sal word. Dit moet dus aanvaar word dat die toegediende substrate wat deur die organisme geoksideer kan word, wel deur die organisme opgeneem word.

Soos reeds genoem, is bevind dat toegediende substrate in vergelyking met 'n anorganiese voedingsoplossing onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is, geen beduidende toename in die opbrengs in droë gewig van Achnanthes pseudohungarica bewerkstellig het nie. Dit wil dus voorkom asof Achnanthes pseudohungarica fotosintese nie met chemosintese kan aanvul nie en die toegediende substrate dus nie direk as selmateriaal kan assimileer en as 'n bron van energie benut nie. Indien dit die geval sou wees, sou dit 'n bevredigende verklaring vir die verpligte outotrofe voeding van Achnanthes pseudohungarica bied. Die resultate van verskeie proewe dui egter daarop dat dit nie die geval is nie.

'n Moontlike manier waarop toegediende substrate deur Achnanthes pseudohungarica geassimileer kan word, is deurdat die substrate eers tot CO_2 geoksideer word wat dan fotosinteties vasgelê word. Hoewel sommige van die substrate vinnig genoeg deur die organisme tot CO_2 geoksideer word, om aktiewe groei van die organisme in die afwesigheid van CO_2 toe te laat al sou die assimilasie van die substrate slegs fotosinteties geskied, is dit egter nie die geval met al die substrate nie. Dit wil dus voorkom asof aktiewe groei van Achnanthes pseudohungarica in aanwesigheid van hierdie substrate en in die gelyktydige afwesigheid van CO_2 nie moontlik is tensy hierdie substrate ook direk as selmateriaal geassimileer word nie.

Na aanleiding van/..

Na aanleiding van die feit dat die Scenedesmus-spesie en Nitzschia palea toegediende substrate direk as selmateriaal kan assimileer, spreek dit vanself dat die oksidasie van toegediende substrate deur hierdie organismes wel doeltreffend met die sintese van ATP gekoppel is. Die invloed van ADP op die oksidasie van toegediende substrate deur Achnanthes pseudohungarica stem in so 'n mate ooreen met die effek van ADP op die oksidasie van toegediende substrate deur Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie dat daaruit afgelei kan word dat die oksidasie van toegediende substrate deur Achnanthes pseudohungarica ewe doeltreffend met die sintese van ATP gekoppel is.

Die feit dat die oksidasie van toegediende substrate deur Achnanthes pseudohungarica baie gevoelig is vir vergiftiging deur KCN dui daarop dat die oksidasie deur die sitochroomstelsel bewerkstellig word en dit dien as verdere bewys dat oksidasie met fosforilasie gepaard gaan.

Hoewel daar nie materiaal van Achnanthes pseudohungarica beskikbaar was sodat dit sonder enige twyfel bevestig kon word nie, bestaan daar genoeg rede om te aanvaar dat Achnanthes pseudohungarica net soos Nitzschia palea toegediende substrate direk as selmateriaal kan assimileer en as 'n bron van energie kan benut.

Faktore wat moontlik die verpligte outotrofe groei van Nitzschia palea en Achnanthes pseudohungarica tot gevolg kan hê, is die volgende :

Hoewel albei organismes toegediende substrate kan oksideer en waarskynlik assimileer, is dit moontlik dat hierdie organismes die substrate nie in voldoende hoeveelhede kan assimileer om waarneembare heterotrofe groei te bewerkstellig nie. As die tempo waarteen hierdie organismes toegediende

substrate/........

substrate oksideer egter vergelyk word met die tempo waarteen die Scenedesmus-spesie toegediende substrate oksideer, lyk dit asof hierdie moontlikheid buite rekening gelaat kan word.

'n Verdere moontlike oorsaak vir die verpligte outotrofe groei van hierdie organismes is dat die toegediende substrate waarvoor getoets is, nie deur hierdie organismes as 'n basis gebruik kan word vir die sintese van al die selbestanddele nie. Hoewel hierdie moontlikheid nie direk ondersoek is nie, kan die volgende afleidings uit die beskikbare gegewens gemaak word : Albei organismes kan in die lig in 'n suiwer anorganiese voedingsoplossing met CO_2 as die enigste koolstofbron groei. Dit spreek dus vanself dat hierdie organismes al die nodige selbestanddele uit die produkte van fotosintese (fosfogliseraldehied) kan vervaardig. Hierdie moontlikheid bied dus geen verklaring waarom suikers wat wel deur Achnanthes pseudohungarica opgeneem kan word, nie heterotrofe groei by hierdie organisme kan bewerkstellig nie. Dit is ook duidelik dat indien aminosure nie as 'n basis vir die sintese van al die nodige selbestanddele gebruik kan word nie, dit sal wees omdat respirasie nie omgekeer kan word nie. Die sintese van asetiel-KoA uit pirodruiwesuur is nie omkeerbaar nie. Sommige organismes kan egter die sintese van fosfopirodruiwesuur, wat tot pirodruiwesuur omvorm kan word, uit die tussenprodukte van die Krebs-siklus bewerkstellig. (Conn en Stumpf, 1963.) Om 'n volledige oksidasie van fenielalanien en glutamiensuur te kan bewerkstellig, is dit nodig dat pirodruiwesuur uit hierdie substrate gevorm kan word. Beide Achnanthes pseudohungarica en Nitzschia palea kan genoemde aminosure volledig oksideer. Dit wil dus voorkom asof albei organismes die sintese van fosfopirodruiwesuur uit die tussenprodukte van die Krebs-siklus kan bewerkstellig. Verder is al die reaksies wat lei tot die sintese van fosfopirodruiwesuur uit fosfogliseraldehied

normaal/.......

normaalweg in alle organismes omkeerbaar.

Die moontlikheid dat slegs sekere stadiums van die lewensiklus van hierdie organismes toegediende substrate kan oksideer en assimileer en dat dit die rede is waarom die lewensiklus nie in die donker voltooi kan word nie, is ook ondersoek. Dit blyk uit die resultate dat hierdie moontlikheid vir Nitzschia palea heeltemal buite rekening gelaat kan word. Daar kon ook geen aanduiding gevind word dat die vermoë van hierdie organisme om toegediende substrate te oksideer en te assimileer met verloop van tyd in die donker afneem nie. Dit blyk verder uit die beskikbare gegewens asof hierdie bevindinge ook op Achnanthes pseudohungarica van toepassing is.

Aangesien die verpligte outotrofe groei van Achnanthes pseudohungarica en Nitzschia palea nie daardeur verklaar kan word dat die toegediende substrate nie in voldoende hoeveelhede of nie deur alle stadiums van die lewensiklus geassimileer kan word nie, wil dit voorkom asof hierdie organismes, afgesien van koolhidraatsintese, vir groei nogtans van lig afhanklik is.

Krauss (1958) is van mening dat moontlike heterotrofe groei by sommige algspesies dikwels misgekyk word deurdat proewe waar heterotrofe groei bestudeer word, gewoonlik in die algehele afwesigheid van lig uitgevoer word, om fotosintese sodoende heeltemal uit te skakel, sonder om die rol van lig andersins in aanmerking te neem.

Die afhanklikheid van 'n organisme van lig, afgesien van fotosintese, kan verskeie oorsake hê.

1. 'n Stof wat seldeling rem, kan in die donker gevorm en in die lig vernietig word.
2. 'n Stof waarsonder seldeling nie kan plaasvind nie, kan in die lig gevorm en in die donker vernietig word.

3. Die/.......

3. Die metabolisme kan in die afwesigheid van fotosintese sodanig gekanaliseer word dat sintese van nuwe selmateriaal nie plaasvind nie.

Werk wat oor hierdie besondere aspek van heterotrofe groei gedoen is, is nog baie beperk.

Lewin, (1950) wat die verpligte outotrofe groei van Chlamydomonas moewusii ondersoek het, kon geen aanduiding vind dat enige stof wat in die lig gevorm word, seldeling bevorder of dat daar 'n stof in die donker gevorm word wat seldeling rem nie. Wetherall (1958) het bevind dat selle van Chlamydomonas eugametos in die afwesigheid van lig aanhou om die reserwemateriaal te verbruik, maar dat groei, proteïensintese en stikstofassimilasie na 9 uur heeltemal beëindig word. Hierdie bevindinge dui daarop dat die fisies-chemiese toestand van die selle in die afwesigheid van fotosintese sodanig verander dat sintese van nuwe selmateriaal nie plaasvind nie.

Vir Nitzschia palea is bevind dat toegediende substrate die groei van die organisme onder toestande waar lig 'n beperkende faktor is, stimuleer maar dat toegediende substrate geen waarneembare effek op die groei van die organisme het nie indien die selle slegs 30 minute lig per dag ontvang nie. 'n Mens sou verwag dat indien seldeling van een of ander fotochemiese reaksie afhanklik was (vernietiging van 'n remstof of sintese van 'n stof wat seldeling bevorder), 30 minute lig per dag ook 'n effek op die groei van die organisme in aanwesigheid van toegediende substrate sou hê. Die bevinding dat selle van Nitzschia palea, nadat hulle reeds 'n geruime tyd in die donker gehou is, toegediende substrate as oliedruppels (die vorm waarin hierdie organisme reserwemateriaal normaalweg opgaar) assimileer, dui daarop dat sintese van nuwe selmateriaal nie plaasvind nie. Dit wil dus voorkom asof die verklaring vir

die verpligte/......

die verpligte outotrofe groei van hierdie organisme vergelyk kan word met dié van Chlamydomonas eugametos (Wetherall, 1958) naamlik dat die fisies-chemiese toestand van die selle in die afwesigheid van fotosintese nie vir die sintese van nuwe selmateriaal bevorderlik is nie. Die opgaar van toegediende substrate, onder andere as reserwemateriaal, onder dié toestande kan natuurlik ook die gevolg wees van die moontlikheid dat seldeling gerem word.

Vir Achnanthes pseudohungarica is dit nog moeiliker om die verpligte outotrofe groei te verklaar anders as dat lig vir seldeling of vir groei van hierdie organisme noodsaaklik is.

Die vraag ontstaan nou of hierdie verskynsel enige voordele inhou of nie. 'n Organisme sal beslis daarby baat indien hy tot heterotrofe groei in staat is. Daarenteen kan geredeneer word dat indien seldeling en sintese van nuwe selmateriaal nie in die afwesigheid van lig kan plaasvind nie, die organisme 'n beter kans sou hê om vir 'n lang tydperk in die afwesigheid van lig en enige organiese substrate te oorleef as wat die geval met 'n organisme wat aanhou vermenigvuldig en groei tot alle reserwe materiaal uitgeput is, sal wees. In die natuur kan so 'n toestand ontstaan deurdat die water na byvoorbeeld 'n stortbui reën baie troebel is of deurdat die organisme vir 'n tyd lank deur modder bedek word.

Hoewel organiese substrate nie heterotrofe groei by Nitzschia palea en Achnanthes pseudohungarica kan bewerkstellig nie, spreek dit vanself dat hierdie organismes by die aanwesigheid van dié organiese substrate wat deur die organismes geassimileer kan word, sal baat. In hoe 'n mate dit vir die aanwesigheid van hierdie organismes in rioolbesoedelde water verantwoordelik is, kan moontlik uit die volgende afgelei word :

Nitzschia palea/...

Nitzschia palea word aangetref waar rioolbesoedeling nog baie erg is, terwyl die Scenedesmus-spesie gewoonlik voorkom waar die besoedeling as gevolg van verdunning en die biologiese aktiwiteite van ander organismes reeds aansienlik afgeneem het (Hynes, 1963). In die Belmont-rivier, waar materiaal van Nitzschia palea, Achnanthes pseudohungarica en die Scenedesmus-spesie verkry is, is dieselfde waarnemings gemaak. Sou die verspreiding van hierdie organismes egter afhang van die vermoë van die organismes om organiese substrate as bronne van energie en koolstof te benut, sou 'n mens verwag om eerder die Scenedesmus-spesie in die meer besoedelde water aan te tref, aangesien hierdie organisme tot heterotrofe groei in staat is. In hierdie ondersoek is verder bevind dat beide Nitzschia palea en die Scenedesmus-spesie net so goed in 'n suiwer anorganiese voedingsmedium groei, indien die CO_2-voorsiening voldoende is, as in 'n voedingsoplossing wat met organiese substrate verryk is.

Waar die water deur rioolwater besoedel is, en dus ryk is aan organiese materiaal, kan verwag word dat daar voldoende CO_2 in die water opgelos sal wees as gevolg van die metaboliese aktiwiteite van die groot hoeveelhede bakterieë en fungi, wat in sulke water aangetref word. Dit wil dus voorkom asof die vermoë van Nitzschia palea en Achnanthes pseudohungarica om toegediende substrate te assimileer, nie die enigste rede is waarom hierdie organismes in rioolbesoedelde water aangetref word nie, maar dat die vermoë om in sulke water te oorleef, en aktief te groei, 'n ewe belangrike faktor is.

Dit spreek vanself dat hierdie organismes, as gevolg van die feit dat hulle organiese substrate kan oksideer, 'n belangrike rol in die suiwering van rioolbesoedelde water kan speel. Veral lyk dit asof Achnanthes pseudohungarica 'n belangrike rol in watersuiwering kan speel, aangesien hierdie organisme, soos reeds aangetoon, 'n groot verskeidenheid organiese stowwe kan oksideer.

SUMMARY/.......

S U M M A R Y

The diatom Achnanthes pseudohungarica is capable of utilizing urea and a large number of amino acids as its only sources of nitrogen. This diatom can also assimilate and utilize urea and a large number of amino acids and sugars as its only sources of carbon. None of these substances could, however, support the growth of this organism in the dark, or stimulate its growth under conditions where light was a limiting factor.

Although acetate, glutamic acid and phenylalanine were found to be assimilated by the diatom Nitzschia palea in the dark, and to stimulate the growth of this organism under conditions where light was a limiting factor, nevertheless none of these substances could support the growth of this organism in the dark.

Various attempts were made to determine the cause of the obligate phototrophy in Nitzschia palea and Achnanthes pseudohungarica by comparing various aspects of the metabolism of these organisms with that of a Scenedesmus-specie, which is capable of heterotrophic growth.

There seems to be no significant synthesis of new cellular material in Nitzschia palea in the absence of photosynthesis and in the simultaneous presence of organic substrates. This is reflected by the fact that cells which have been kept in the dark for more than a week assimilated organic substrates as oil drops which would normally constitute the reserve material of this organism. For the inability of Achnanthes pseudohungarica to grow in the dark in the simultaneous presence of organic substrates which, moreover, it can assimilate, no other explanation can be given than that light is required for its growth.

Nitszchia palea/....

Nitzschia palea grew equally well in the presence of organic substrates and in an inorganic culture solution where ample CO_2 was supplied. This suggests that the presence of this organism in sewage-polluted water is not only the result of its ability to utilize organic substrates as sources of nitrogen, carbon and energy, but also that its ability to grow actively under these conditions is equally important.

The importance of *Achnanthes pseudohungarica* in the purification of sewage-polluted water is reflected by the ability of this organism to oxidize a large number of organic substrates.

DANKBETUIGINGS/.....

DANKBETUIGINGS

My opregte dank aan professor P.J. Botha, hoof van die Departement Plantkunde aan die P.U. vir C.H.O., wat as promotor vir die ondersoek opgetree het. Dit was vir my 'n groot eer en voorreg om 'n student van hom te kon wees en om vryelik van sy kennis en ervaring gebruik te kon maak. Graag wil ek hom bedank vir sy leiding, al sy moeite en bereidwilligheid om op soms ongeleë tye aandag aan hierdie werk te gee.

Graag wil ek vir professor M.H. Giffen, aan die Universiteit van Fort Hare, bedank vir sy hulp met die identifikasie van die plantmateriaal, asook vir sy aanmoediging en belangstelling.

'n Woord van dank aan dr. Kate Cholnoky-Pfannkuche van die W.N.N.R., vir die plantmateriaal wat sy tot my beskikking gestel het.

My opregte dank aan dr. J.N. Eloff, van die Departement Plantkunde aan die Universiteit van die Oranje Vrystaat en dr. A.J. Duvenhage van die Departement Plantkunde aan die P.U. vir C.H.O. vir hulle raad en handige wenke.

My dank en waardering aan die Universiteit van Fort Hare in wie se laboratoriums hierdie ondersoek uitgevoer is.

My opregte dank aan die personeel van die Departement Aardrykskunde aan die Universiteit van Fort Hare vir die beskikbaarstelling van die nodige tekenapparaat.

Graag wil ek vir mev. E.E. Wannenburg, van die Universiteit van Fort Hare, wat al die tikwerk verbonde aan die proefskrif onderneem het, hartlik bedank vir haar tegemoetkomende samewerking en vir haar bereidwilligheid om hierdie werk in 'n besondere kort tydjie te voltooi.

Die volgende/.....

Die volgende persone wil ek graag bedank vir hulle aandeel aan die voltooiing van my studies :

Mnr. en Mev. F.E. Steyn, Skuinsdrif.
Mnr. en Mev. I.M. Botha, Utrecht.
Mnr. C.J. Ferreira, Pietermaritzburg.

Graag wil ek my ouers hartlik bedank vir die hulp wat hulle aan my verleen het, asook vir wat hulle opgeoffer het, tydens my studietydperk. In besonder wil ek hulle bedank vir hulle volgehoue en toegewyde belangstelling en aanmoediging wat vir my as 'n groot aansporing gedien het.

In besonder wil ek my vrou bedank vir haar aanmoediging en belangstelling asook vir die groot aandeel wat sy aan die voorbereiding van hierdie proefskrif gehad het.

Graag wil ek hierdie proefskrif aan my vrou en twee dogters, Corni-Annalette en Anèl, wat almal baie moes opoffer terwyl ek met hierdie werk besig was, opdra.

AANGEHAALDE LITERATUUR

Aaronson, S., and Scher, S. (1960). Effect of amino-triazole and streptomycin on multiplication and pigment production of photosynthetic microorganisms. J. Protozool. 7, 156-158.

Algéus, S. (1948a). Glycocoll as a source of nitrogen for Scenedesmus obliquus. Physiol. Plantarum 1, 66-84.

Algéus, S. (1948b). The utilization of glycocoll by Chlorella vulgaris. Physiol. Plantarum 1, 236-244.

Algéus, S. (1948c). The deamination of glycocoll by green algae. Physiol. Plantarum 1, 382-383.

Algéus, S. (1949). Alanine as a source of nitrogen for green algae. Physiol. Plantarum 2, 266-271.

Allen, M.B. (1952). The cultivation of Myxophyceae. Arch. Mikrobiol. 17, 34-53.

Anderson, R.L. and Bancroft, T.A. (1952). Appendix. (In hulle Statistical theory in research. Mc Craw-Hill, New York en London, p.379-387.)

Arnow, P., Oleson, J.J., and Williams, J.H. (1953). The effect of arginine on the nutrition of Chlorella vulgaris. Am. J. Botany 40, 100-104.

Barker, H.A. (1935). The metabolism of the colorless alga Prototheca zopfii Krüger. J. Cellular Comp. Physiol. 7, 73-93.

Barker, H.A. (1936). The oxidative metabolism of the colorless alga, Prototheca zopfii. J. Cellular Comp. Physiol. 8, 231-250.

Belcher, J.H. and Fogg, G.E. (1958). Studies on the growth of Xanthophyceae in pure culture. III. *Tribonema aequale* Pascher. *Arch. Mikrobiol.* 30, 17-22.

Borst, P., and Slater, E.C. (1960). The site of action of 2, 4-dinitrophenol on oxidative phosphorylation. *Biochem. Biophys. Acta* 48, 362-379.

Botha, P.J. (1966). 'n Vergelykende studie van die dehidrogenasemetode en 'n potkultuurmetode om toeganklike plantvoedingstowwe in die grond te bepaal. *Tydskr. Natuurwet.* 6/7, 300 (1966/67).

Cholnoky-Pfannkuche, Kate (1967). Permeabilitätsversuche mit Harnstoff. *Revista de Biologia* 6 (1-2), 35-48.

Conn, E.E., and Stumpf, P.K. (1963). Lipid Metabolism. (*In* hulle Outlines of biochemistry. Wiley, New York en Londen, p. 230-247.)

Cramer, M.L. and Myers, J. (1949). Effect of starvation on the metabolism of *Chlorella*. *Plant Physiol.* 24, 255-264.

Cramer, M., and Myers, J. (1952). Growth and photosynthetic characteristics of *Euglena gracilis*. *Arch. Mikrobiol.* 17, 384-401.

Daniel, A.L. (1956). Stoffwechsel und Mineralsalzernährung einzelliger Grünalgen. III. Atmung und oxydative Assimilation von *Chlorella*. *Flora (Jena)* 143, 31-66.

Davis, E.A., Dedrick, J., French, C.S., Milner, H.W., Myers, J., Smith, J.H.C., and Spoehr, H.A. (1953). Laboratory experiments on *Chlorella* culture at the Carnegie Institution of Washington department of plant biology. *In* "Algal Culture" (J.S. Burlew, red.), p. 105-153. Carnegie Inst., Washington, D.C. (Aangehaal deur Syrett, 1962.)

Droop, M.R. (1955). Some new supra-littoral protista. J. Marine Biol. Assoc. United Kingdom 34, 233-245.

Ellner, P.D., and Steers, E. (1955). Urea as a carbon source for Chlorella and Scenedesmus. Arch. Biochem. Biophys. 59, 534-535.

Emerson, R. (1927). The effect of certain respiratory inhibitors on the respiration of Chlorella. J. Gen. Physiol. 10, 469-477.
(Aangehaal deur Gibbs, 1962.)

Finkle, B.J., Appleman, D., and Fleischer, F.K. (1950). Growth of Chlorella vulgaris in the dark. Science III, 309.

Florkin, M., and Stotz, E.H. red. (1966). Comprehensive Biochemistry Vol. 14. Elsevier, Amsterdam, Londen en New York.

Fujita, K. (1959). The metabolism of acetate in Chlorella cells. J. Biochem. (Tokyo) 45, 253-268.

Genevois, L. (1927). Über Atmung und Gärung in grunen Pflanzen. Biochem. Z. 186, 461-473.
(Aangehaal deur Gibbs, 1962.)

Ghosh, P., and Burris, R.H. (1950). Utilization of nitrogenous compounds by plants. Soil Sci. 70, 187-203.

Gibbs, M. (1962). Respiration. (In Lewin, red. (1962), p. 61-90.)

Gibbs, M., and Wood, W.A. (1952). The effect of substrate on the endogenous respiration of Pseudomonas fluorescens. Bacteriol. Proc. (Soc. Am. Bacteriologists): Physiol. Bacteria. Nr. P11, 137.

Hackett, D.P., Rice, B., and Schmid, C. (1960). The partial dissociation of phosphorylation from oxidation in plant mitochondria by respiratory chain inhibitors. J. Biol. Chem. 235, 2140-2144.

Hase, E. (1962). Cell division. (In Lewin, red. (1962), p. 617-624.)

Hase, E., Morimura, Y., and Tamiya, H. (1957). Some data on the growth physiology of Chlorella studied by the technique of synchronous culture. Arch. Biochem. Biophys. 69, 149-165.

Hutner, S.H., Provasoli, L., Schatz, A., and Haskins, C.P. (1950). Some approaches to the study of the role of metals in the metabolism of microorganisms. Proc. Am. Phil. Soc. 94, 152-170.

Hynes, H.B.N. (1963). Biological effects of organic matter. (In The biology of polluted waters. Liverpool University Press. p.92-121.)

Iwamura, T., Hase, E., Morimura, Y., and Tamiya, H. (1955). Life cycle of the green alga Chlorella with special reference to the protein and nucleic acids contents of cells in successive formative stages. Ann. Acad. Sci. Fennicae Ser. A. II. Nr. 60, 89-102.

Kandler, O. (1954). Z. Naturforsch. 9b, 625-644. (Aangehaal deur Krauss, 1958.)

Kandler, O. (1958). Untersuchungen über den Einfluss von Substratzufuhr auf den Abbau zelleigenen Materials bei C^{14}-markierter Chlorella. Planta 51, 167-172.

Karsten, G. (1901). Über farblose Diatomeen der Kieler Föhrde. Jb. wiss. Bot. 35, 535.

(Aangehaal deur Lewin, 1953.)

Kielley, W.W., and Kielley, R.K. (1951). J. Biol. Chem. 191, 485.
(Aangehaal deur Slater, 1966.)

Killam, A., and Meyers, J. (1956). A special effect of light on the growth of *Chlorella vulgaris.* Am. J. Bot. 43, 569-572.

Kratz, W.A., and Myers, J. (1955). Nutrition and growth of several blue-green algae. Am. J. Botany 42, 282-287.

Krauss, R.A. (1958). Physiology of the fresh-water algae. Ann. Rev. Plant Physiol. 9, 207-244.

Krauss, R.W. (1962). Inhibitors. (*In* Lewin, red. (1962) p. 673-685.)

Lardy, H.A., Johnson, D., and McMurray, W.C. (1958). Antibiotics as tools for metabolic studies. I. A survey of toxic antibiotics in respiratory, phosphorylative and glycolytic systems. Arch. Biochem. Biophys. 78, 587-597.

Lardy, H.A., and Wellman, H. (1952). J. Biol. Chem. 191, 485.
(Aangehaal deur Slater, 1966.)

Lewin, J.C. (1950). Obligate autotrophy in *Chlamydomonas Moewusii* Gerloff. Science 112, 652-653.

Lewin, J.C. (1953). Heterotrophy in diatoms. J. Gen. Microbiol. 9, 305-313.

Lewin, J.C., and Lewin, R.A. (1960). Auxotrophy and heterotrophy in marine littoral diatoms. Can. J. microbiol. 6, 127-134.

Lewin, R.A. (1954). The utilization of acetate by wild-type and mutant Chlamydomonas dysosmos. J.Gen. Microbiol. II, 459-471.

Lewin, R.A., red. (1962). Physiology and Biochemistry of Algae. Academic Press, New York.

Ludwig, C.A. (1938). The availability of different forms of nitrogen to a green alga (Chlorella). Am. J. Botany 25, 448-458.

Merrett, M.J. and Syrett, P.J. (1960). The relationship between glucose oxidation and acetate oxidation in Chlorella vulgaris. Physiol. Plantarum. 13, 237-249.

Meyers, J., and Johnston, J. (1949). Carbon and nitrogen balance of Chlorella during growth. Plant Physiol. 24, 397-414.

Meyers, J., Cramer, M., and Johnston, J. (1947). Oxidative assimilation in relation to photosynthesis in Chlorella. J. Gen. Physiol. 30, 217-227.

Meyers, J. (1962). Laboratory Cultures. (In Lewin, red. (1962), p. 603-615.)

Miller, J.D.A. (1959). An extra-cellular enzyme produced by Monodus. Brit. Phycol. Bull. 7, 22.

Miller, J.D.A., and Fogg, G.E. (1958). Studies on the growth of Xanthophyceae in pure culture. II. The relations of Monodus subterraneus to organic substances. Arch. Mikrobiol. 30, 1-16.

Morimura, Y. (1959). Synchronous culture of Chlorella. I. Kinetic analysis of the life cycle of Chlorella ellipsoidea as affected by changes of temperature and light intensity. Plant and Cell Physiol. 1, 49-62.

Moses, V., and Syrett, P.J. (1955). The endogenous respiration of microorganisms. J. Bacteriol. 70, 201-204.

Moyse, A. (1956). Étude de la croissance d'algues monocellulaires (Chlorelles et espèces voisines) en cultures accélérées. II. Vitesse de croissance et mili eux de culture. J. recherches centre nat. recherche sci., Lab. Bellevue (Paris) No. 35, 177-192.
(Aangehaal deur Syrett, 1962.)

Neish, A.C. (1951). Carbohydrate nutrition of Chlorella vulgaris. Can. J. Botany 29, 68-78.

Nihei, T., Sasa, T., Miyachi, S., Suzuki, K., and Tamiya, H. (1954). Change of photosynthetic activity of Chlorella cells during the course of the normal life cycle. Arch. Mikrobiol. 21, 155-164.

Padilla, G.M., and James, T.W. (1960). Synchronization of cell division in Astasia longa on a chemically defined medium. Exptl. Cell Research 20, 410-415.

Pirson, A., Daniel, A.L. and Becker, E.W. (1955). Zur Beziehung zwischen endogener Atmung und Glucoseatmung bei Chlorella. Arch. Mikrobiol. 22, 214-218.

Provasoli, L., Hutner, S.H., and Pintner, I.J. (1951). Destruction of chloroplasts by streptomycin. Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol. 16, 113-120.
(Aangehaal deur Krauss, 1962.)

Richter, O. (1906). Zur Physiologie der Diatomeen. S.B. Akad. Wiss. Wien. Abt. I. 115, 127.
(Aangehaal deur Lewin, 1953.)

Ryther, J.H. (1954). The ecology of phytoplankton blooms in Moriches Bay and Great South Bay, Long Island, New York. Biol. Bull 106, 198-209.

Sager, R., and Granick, S. (1953). Nutritional studies with Chlamydomonas reinhardi. Ann. N.Y. Acad. Sci., 56 831-838.

Samejima, H., and Myers, J. (1958). On the heterotrophic growth of Chlorella pyrenoidosa. J. Gen. Microbiol. 18, 107-117.

Schneider, W.C., and Hogeboom, G.H. (1950). J. Biol. Chem. 183, 123.
(Aangehaal deur Slater, 1966.)

Slater, E.C. (1966). Oxidative phosphorilation. (In Florkin and Stotz, red. (1966), Vol. 14, p. 327-396.)

Sorokin, C. (1957). Changes in photosynthetic activity in the course of cell development in Chlorella. Physiol. Plantarum 10, 659-666.

Steeman Nielsen, E., and Hansen, V.K. (1959). Measurements with carbon 14 technique of rates of respiration in natural populations of phytoplankton. Deep-Sea Research 5, 222-233.

Syrett, P.J. (1951). The effect of cyanide on the respiration and the oxidative assimilation of glucose by Chlorella vulgaris. Ann. Botany 15, 473-482.

Syrett, P.J. (1962). Nitrogen assimilation. (In Lewin, red. (1962), p. 171-188.)

Tamiya, H., Hase, E., Shibata, K., Mituya, A., Iwamura, T., Nihei, T., and Sasa, T. (1953). Kinetics of growth of Chlorella, with special reference to its dependence on quantity of available light and on temperature. In "Algal Culture" (J.S. Burlew red.), p. 204-232. Carnegie Inst., Washington.
(Aangehaal deur Hase, 1962.)

Tamiya, H., Iwamura, T., Shibata, K., Hase, E., and Nihei, T. (1953). Correlation between photosynthesis and light-independent metabolism in the growth of Chlorella. Biochem. et Biophys. Acta 12, 23-40.

Taylor, F.J. (1950). Oxidative assimilation of glucose by Scenedesmus quadricauda. J. Exptl. Botany 1, 301-321.

Thomas, M., Ranson, S.L., and Richardson, J.A. (1956). The nature and sources of the food of green plants. (In hulle Plant physiology. Churchill, Londen, p.233-236.)

Umbreit, W.W., Burris, R.H. and Stauffer, J.F. (1957). Manometric Techniques. Burgess, Minneapolis, Minnesota.

von Denffer, D. (1947). Die planktische Massenkultur pennater Grunddiatomeen. Arch. Mikrobiol. 14, 159. (Aangehaal deur Lewin, 1953.)

Webster, G.C., and Frenkel, A.W. (1953). Some respiratory characteristics of the blue-greem alga, Anabaena. Plant Physiol. 28, 63-69.

Wetherell, D.F. (1958). Obligate phototrophy in Chlamydomonas eugametos. Physiol. Plantarum. II, 260-274.

B Y L A A G

TABEL 3

DIE INVLOED VAN AMINOSUUR- EN UREUMSTIKSTOF (18.2 mg N PER 1 000 cm^3) OP DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA

Die proef het 26 dae geduur.

Stikstofbron	Gemiddeld van 5 replikate (mg)	Eind pH
Alanien	3.82	8.1
γ-Amino-*n*-bottersuur	3.06	8.2
Arginien	2.44	7.5
Asparagien	2.92	7.8
Aspartiensuur	4.38	8.7
Fenielalanien	7.06	7.8
Glisien	5.30	7.9
Glutamiensuur	5.42	8.8
Hidroksiprolien	1.80	8.9
Histidien	3.40	7.6
Leusien	6.90	7.8
Isoleusien	5.36	7.6
Norleusien	4.96	7.8
Lisien	3.18	7.4
Nitraatstikstof	4.06	7.6
Prolien	7.10	7.5
Serien	5.18	7.5
Treonien	5.10	7.6
Triptofaan	6.82	7.8
Tirosien	4.86	7.1
Ureum	4.22	8.1
Valien	6.18	7.5

Replikate F = 0.913
Tabulêre waarde vir F (P=0.05) = 2.52
(P=0.01) = 4.43

Behandelings F = 11.79
Tabulêre waarde vir F (P=0.05)=1.75
(P=0.01)=2.94

KBV	
P = 0.05	P = 0.01
0.945	1.236

TABEL 4

DIE INVLOED VAN VERSKILLENDE AMINOSUURSTIKSTOFKONSENTRASIES OP DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG (IN mg) VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA

Die verskillende proewe is telkens na 28 dae beëindig.

Stikstofbron		mg N per 1 000 cm^3					KBV	
		18.2	28.7	39.2	49.7	60.2	P=0.05	P=0.01
Alanien	Gewig	4.18	3.44	3.52	2.54	2.12	0.862	1.187
	Eind pH	7.8	7.9	7.9	8.0	8.1		
Y-Amino-n-bottersuur	Gewig	3.92	4.12	3.68	3.50		1.083	1.519
	Eind pH	8.2	8.0	8.1	8.1	8.1		
Arginien	Gewig	2.98	3.22	3.62	+	+	0.98	1.409
	Eind pH	7.4	7.3	7.5	7.5	7.6		
Asparagien	Gewig	3.04	2.58	2.85	3.14	?	0.789	1.107
	Eind pH	7.8	7.9	8.1	8.2	8.2		
Aspartiensuur	Gewig	3.14	4.48	2.90	+	+	0.784	1.126
	Eind pH	-	-	-	-	-		
Fenielalanien	Gewig	7.38	10.0	11.58	11.16	?	1.872	2.625
	Eind pH	7.6	7.7	7.7	7.5	8.0		
Glisien	Gewig	3.98	4.44	5.08	6.38	6.62	1.512	2.084
	Eind pH	8.3	8.3	8.4	8.4	8.6		
Glutamiensuur	Gewig	6.78	8.68	12.22	9.10	?	2.833	3.97
	Eind pH	8.8	8.9	8.8	9.2	8.4		
Hidroksiprolien	Gewig	+	+	?	?	?		
	Eind pH	8.9	8.7	8.2	8.2	8.2		
Histidien	Gewig	4.20	3.28	3.08	3.98	4.34	1.805	2.488
	Eind pH	7.5	7.6	7.5	7.5	7.5		
Leusien	Gewig	4.62	5.28	6.48	5.97	?	1.487	2.085
	Eind pH	7.6	7.7	7.8	8.0	8.0		
Isoleusien	Gewig	3.24	4.04	4.74	4.56	?	2.059	2.887
	Eind pH	7.9	7.9	7.9	7.9	8.1		
Norleusien	Gewig	5.12	6.84	7.18	3.42	?	1.306	1.831
	Eind pH	7.9	7.6	7.6	8.0	8.2		
Lisien	Gewig	4.02	4.56	4.78	2.68	?	1.431	2.006
	Eind pH	7.3	7.2	7.2	6.9	-		

Nitraatstikstof/......

TABEL 4 (Vervolg)

Stikstofbron		mg N per 1 000 cm^3					KBV	
		18.2	28.7	39.2	49.7	60.2	P=0.05	P=0.01
Nitraatstikstof	Gewig	4.72	3.38	?	?	?	0.338	0.560
	Eind pH	7.6	7.5	7.7	7.8	7.8		
Prolien	Gewig	4.26	5.98	7.34	8.16	?	1.411	1.978
	Eind pH	7.6	7.6	7.4	7.4	7.9		
Serien	Gewig	4.02	4.92	6.44	6.90	7.88	1.473	2.029
	Eind pH	-	-	-	-	-		
Treonien	Gewig	6.08	8.32	8.74	10.18	10.98	1.981	2.729
	Eind pH	-	-	-	-	-		
Triptofaan	Gewig	3.08	3.92	4.54	4.98	5.42	0.872	1.201
	Eind pH	7.7	7.8	7.7	7.7	7.4		
Tirosien	Gewig	4.80	4.08	5.04	5.24	?	1.017	1.426
	Eind pH	-	-	-	-	-		
Ureum	Gewig	3.98	4.02	4.24	5.02	5.22	0.916	1.262
	Eind pH	-	-	-	-	-		
Valien	Gewig	3.92	4.56	6.10	7.18	9.20	0.980	1.350
	Eind pH	7.5	7.7	7.7	7.9	7.9		

\- Eind pH nie bepaal nie.

\+ Groei wel waargeneem.

? Groei twyfelagtig.

TABEL 6

DIE TOEGANKLIKHEID VAN AMINOSUUR- EN UREUMKOOLSTOF VIR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA SOOS GEMEET AAN DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG

Die proef het 34 dae geduur.

Koolstofbron	Opbrengs in droë gewig	
	in mg/34 dae	as % van die toegevoegde koolstof
Fenielalanien	8.68	19.9
Glisien	4.12	42.5
Glutamiensuur	6.08	25.0
Leusien	5.80	19.9
Isoleusien	3.02	10.4
Norleusien	2.46	8.5
Prolien	4.62	19.0
Serien	2.90	19.8
Treonien	3.20	21.9
Triptofaan	3.80	7.1
Ureum	+	
Valien	7.42	30.5
Kontrole	0	0

KBV		KBV	
P=0.05	P=0.01	P=0.05	P=0.01
0.937	1.254	4.88	6.54

TABEL 7

DIE INVLOED VAN AMINOSURE EN UREUM OP DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA ONDER TOESTANDE WAAR LIG 'N BEPERKENDE FAKTOR IS

Die proef het 45 dae geduur.

Behandeling	Opbrengs in droë gewig (mg/45 dae)
Fenielalanien	2.28
Glisien	1.88
Glutamiensuur	1.98
Leusien	2.80
Isoleusien	2.46
Norleusien	2.40
Prolien	2.10
Serien	1.90
Treonien	2.52
Triptofaan	2.08
Ureum	2.14
Valien	2.66
Kontrole (Anorganies)	2.38

Replikate:
F = 1.78

Tabulêre waarde vir F :
(P = 0.05) = 2.52

Behandelings:
F = 2.135

Tabulêre waarde vir F:
(P = 0.05) = 2.00
(P = 0.01) = 2.66

KBV	
P = 0.05	P = 0.01
= 0.565	= 0.754

TABEL 8

DIE INVLOED VAN SWAKKER LIGTOESTANDE OP DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA IN 'N ANORGANIESE VOEDINGSTOFOPLOSSING

Die proef het 45 dae geduur.

Behandeling	Opbrengs in droë gewig (mg/45 dae)
Normale ligtoestande	5.97
Swakker ligtoestande	2.38 *

* Hoogsbetekenisvol laer as vir normale ligtoestande.

TABEL 9

DIE TOEGANKLIKHEID VAN SUIKERS AS ENIGSTE KOOLSTOFBRONNE VIR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA SOOS GEMEET AAN DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG

Die proef het 38 dae geduur.

Koolstofbron	Opbrengs in droë gewig (mg/38 dae)	
Galaktose	3.58	Replikate F = 3.15
Fruktose	4.82	(P = 0.05) = 2.87
Glukose	5.12	(P = 0.01) = 4.43
Sukrose	0.28	
Maltose	3.18	Behandelings F = 35.0
Xilose	5. 98	Tabulêre waarde vir F
Laktose	+	(P = 0.01) = 4.10
Kontrole	0	

KBV	
P = 0.05	P = 0.01
1.005	1.371

TABEL 10

DIE TOEGANKLIKHEID VAN ASETAAT, FENIELALANIEN EN GLUTAMIENSUUR AS ENIGSTE KOOLSTOFBRONNE VIR NITZSCHIA PALEA SOOS GEMEET AAN DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG (IN mg)

Die proewe het telkens 28 dae geduur.

Toeg. substr.	Anorg.substr. (Geen C)	Anorg.substr. + 15 mg C/fles	Anorg.substr. + 22.5 mg C/fles	Anorg.substr. + 30 mg C/fles	Anorg.substr. + 2% CO_2 in die lug	KBV P=0.05	KBV P=0.01
Asetaat	00	4.50	5.20	5.50	6.20	0.796	1.088
Fenielalanien	00	4.28	4.64	4.76	5.82	0.731	0.999
Glutamiensuur	00	3.70	3.12	2.14	5.64	0.636	0.870

TABEL 11

DIE TOEGANKLIKHEID VAN ASETAAT, FENIELALANIEN EN GLUTAMIENSUUR AS ENIGSTE BRONNE VAN ENERGIE VIR NITZSCHIA PALEA ASOOK DIE INVLOED VAN KATALITIESE HOEVEELHEDE LIG OP DIE VERMOË VAN DIE ORGANISME OM ORGANIESE SUBSTRATE TE BENUT SOOS GEMEET AAN DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG (IN mg)

Die proef het 32 dae geduur.

Substraat	Afwesigheid van lig.	30 minute lig/dag.	24 uur lig/dag.
Asetaat	0	0	6.28
Fenielalanien	0	0	5.76
Glutamiensuur	0	0	5.48
Slegs anorg.substr.	0	0	7.12

KBV	
P = 0.05	P = 0.01
1.531	2.093

TABEL 12

DIE EFFEK VAN ASETAAT, FENIELALANIEN EN GLUTAMIENSUUR OP DIE GROEI VAN NITZSCHIA PALEA ONDER TOESTANDE WAAR LIG 'N BEPERKENDE FAKTOR IS SOOS GEMEET AAN DIE AANTAL SELLE PER cm^3 (100 SELLE/ cm^3)

Die proef het 16 dae geduur.

Lig 'n beperkende faktor.				Normale lig.
Anorg. Substr.	Anorg.substr. + asetaat.	Anorg.substr. + feniel-alanien.	Anorg.substr. + glutamien-suur.	Anorg.substr.
6.6	24.1	15.6	20.9	39.6

KBV	
P= 0.05	P= 0.01
7.71	10.59

TABEL 13

DIE TOEGANKLIKHEID VAN ASETAAT, GLUTAMIENSUUR, FENIELALANIEN EN GLUKOSE AS ENIGSTE BRONNE VAN KOOLSTOF VIR DIE SCENEDESMUS-SPESIE SOOS GEMEET AAN DIE OPBRENGS IN DROË GEWIG (IN mg)

Die proef het 28 dae geduur.

Substraat	Afwesigheid van lig	30 min. lig/dag	24 uur lig/dag
Asetaat	6.04	6.50	28.00
Fenielalanien	3.48	3.74	25.28
Glutamiensuur	4.36	4.14	22.78
Glukose	7.56	7.84	27.76
Kontrole (Anorg.substr.)	00	00	30.04

KBV - alle behandelings	
P = 0.05	P = 0.01
3.662	4.900

KBV - vir substrate	
P = 0.05	P = 0.01
1.883	2.519

KBV - vir lig	
P = 0.05	P = 0.01
1.630	2.181

TABEL 15

DIE INVLOED VAN AMINOSURE EN UREUM OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA IN DIE DONKER BY 25°C

Die suurstofopname is vir 'n periode van 2 uur bepaal, 12 uur nadat die betrokke organiese substrate bygevoeg is.

Behandeling.	µ ℓ O_2/2 uur
Alanien	21.3
Asparagien	12.5
Aspartiensuur	24.2
γ-Amino-*n*-bottersuur	11.8
Arginien	9.5
Fenielalanien	70.2
Glisien	15.4
Glutamiensuur	62.0
Hidroksiprolien	9.7
Histidien	10.4
Leusien	69.4
Isoleusien	54.0
Norleusien	17.8
Lisien	12.8
Prolien	64.3
Serien	14.7
Treonien	49.7
Tirosien	13.4
Triptofaan	113.5
Ureum	11.5
Valien	56.0
Kontrole	10.0

Replikate F = 0.5
Tabulêre waardes vir F
(P = 0.05) = 2.76

Behandelings F = 171.77
Tabulêre waardes vir F.
(P = 0.01) = 2.20

KBV	
P = 0.05	P = 0.01
5.59	7.44

TABEL 16

DIE INVLOED VAN AMINOSURE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA IN DIE DONKER BY 25°C

Die suurstofopname is vir 'n periode van 24 uur, 6-uurliks, bepaal. Die hoeveelheid suurstof (μ ℓ O_2) per 6 uur opgeneem word telkens aangegee.

Aminosuur		6 uur	12 uur	18 uur	24 uur
Alanien		30.18	37.90	54.40	57.28
Kontrole		29.53	22.28	17.28	16.70
KBV	P=0.05	5.088*	2.546**	3.596***	
	P=0.01	6.925	3.465	4.895	
Aspartiensuur		35.95	55.48	50.25	44.55
Glisien		72.55	64.40	40.50	40.80
Kontrole		31.00	26.50	21.33	16.28
KBV	P=0.05	8.832*	4.417**	5.099***	
	P=0.01	11.894	5.948	6.867	
Fenielalanien		23.15	55.15	71.80	75.65
Triptofaan		15.35	35.08	64.38	56.83
Kontrole		13.28	12.25	7.03	5.60
KBV	P=0.05	6.767*	3.379**	3.904***	
	P=0.01	9.113	4.551	5.258	
Glutamiensuur		78.10	137.65	97.83	86.63
Leusien		45.30	55.45	156.33	162.68
Kontrole		39.85	30.30	19.18	17.68
KBV	P=0.05	13.892*	6.945**	8.021***	
	P=0.01	18.708	9.353	10.802	
Isoleusien		38.50	61.35	74.73	85.75
Prolien		14.58	36.68	85.10	89.88
Kontrole		13.20	12.05	10.68	9.23
KBV	P=0.05	8.397*	4.198**	4.848***	
	P=0.01	11.308	5.654	6.529	

Vervolg/.....

TABEL 16 (Vervolg)

Aminosuur	6 uur	12 uur	18 uur	24 uur
Norleusien	12.68	19.68	21.33	18.68
Serien	18.58	23.25	16.10	14.95
Kontrole	13.23	10.63	9.18	8.05
KBV P=0.05	2.383*	1.192**	1.376***	
KBV P=0.01	3.209	1.605	1.853	
Treonien	65.38	86.83	45.78	34.90
Valien	45.93	54.03	71.08	109.28
Kontrole	24.20	19.83	14.40	11.35
KBV P=0.05	6.767*	3.380**	3.904***	
KBV P=0.01	9.114	4.551	5.258	

* KBV vir alle behandelings

** KBV vir aminosure

*** KBV vir tye

TABEL 18

DIE INVLOED VAN SUIKERS OP DIE O_2-OPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA IN DIE DONKER BY 25°C

Die suurstofopname is vir 'n periode van 24 uur 6-uurliks bepaal. Die hoeveelheid suurstof (μ ℓ O_2) per 6 uur opgeneem word telkens aangegee.

Suiker		6 uur	12 uur	18 uur	24 uur
Maltose		15.13	26.65	35.43	48.83
Kontrole		14.30	9.48	8.50	7.08
KBV	P=0.05	3.817*	1.908**	2.698***	
	P=0.01	5.195	2.597	3.672	
Fruktose		25.40	22.15	30.50	42.10
Glukose		26.93	38.38	41.55	52.93
Kontrole		24.15	23.18	21.45	14.33
KBV	P=0.05	4.676*	2.338**	2.700***	
	P=0.01	6.298	3.149	3.636	
Galaktose		28.13	33.60	38.90	41.18
Sukrose		31.38	26.08	27.58	25.40
Kontrole		29.13	23.25	14.35	11.33
KBV	P=0.05	4.848*	2.424**	2.798***	
	P=0.01	6.529	3.264	3.768	
Laktose		32.08	30.25	29.95	27.90
Xilose		37.70	32.73	40.95	44.65
Kontrole		30.95	27.75	22.35	8.33
KBV	P=0.05	4.194*	2.097**	2.422***	
	P=0.01	5.649	2.824	3.262	

* KBV vir alle behandelings

** KBV vir suikers

*** KBV vir tye

TABEL 20

DIE INVLOED VAN AMINOSURE OP DIE KOOLSUURGASVRYSTELLING VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA IN DIE DONKER BY 25°C

Die hoeveelheid koolsuurgas (μ ℓ CO_2) vrygestel is vir 'n periode van 4 uur, 10 uur nadat die betrokke aminosuur bygevoeg is, bepaal.

Aminosuur	Anorganiese voedingsoplossing	Anorganiese voedingsoplossing plus toegediende substraat.
Alanien	20.9	23.3°°
Aspartiensuur	31.8	40.7*
Fenielalanien	29.8	73.56*
Glisien	24.4	40.76*
Glutamiensuur	34.73	118.3 **
Leusien	21.63	23.36°°
Isoleusien	27.83	42.00°°
Norleusien	23.33	23.80°°
Prolien	33.23	55.46**
Serien	34.76	47.74°°
Treonien	43.73	70.80°°
Triptofaan	38.96	101.06**
Valien	22.69	25.94°°

°° Gemiddeldes verskil nie betekenisvol

* Gemiddeldes verskil betekenisvol

** Gemiddeldes verskil hoogsbetekenisvol

TABEL 21

DIE HOEVEELHEID VAN DIE TOEGEDIENDE SUBSTRAAT WAT IN DIE DONKER BY 25°C DEUR ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA GEOKSIDEER WORD, UITGEDRUK AS 'N PERSENTASIE* VAN DIE BEREKENDE WAARDE VIR DIE VOLLEDIGE OKSIDASIE VAN DIE HOEVEELHEID SUBSTRAAT BYGEVOEG

Toegediende substraat (1 μ mol)	*
Alanien	83.16^{o}
Aspartiensuur	82.70^{o}
Fenielalanien	112.43^{o}
Glisien	91.63^{o}
Glutamiensuur	95.66^{o}
Isoleusien	85.10^{o}
Leusien	81.83^{o}
Norleusien	71.86^{x}
Prolien	88.33^{o}
Serien	94.66^{o}
Treonien	107.40^{o}
Triptofaan	69.59^{xx}
Valien	76.30^{x}
Glukose	108.53^{o}
Maltose	94.20^{o}
Fruktose	92.03^{o}
Xilose	61.66^{xx}
Galaktose	75.03^{x}

x Waarde verskil betekenisvol van 100%

xx Waarde verskil hoogsbetekenisvol van 100%

o Waarde verskil nie betekenisvol van 100% nie.

TABEL 22

DIE ASSIMILASIE VAN ASETAAT, FENIELALANIEN, GLUTAMIENSUUR EN GLUKOSE DEUR DIE SCENEDESMUS-SPESIE, IN DIE DONKER BY 25°C, SOOS MANOMETRIES BEPAAL.

Substraat	% geoksideer	% geassimileer	*
1 µ mol asetaat	66.97	33.03	109.46
2 µ mol asetaat	69.65	30.35	118.28
1 µ mol fenielalanien	41.26	58.74	135.99
1 µ mol glutamiensuur	60.21	39.79	107.37
1 µ mol glukose	25.78	74.22	92:17

* Die toename in die O_2-opname in aanwesigheid van 'n toegediende substraat uitgedruk as persentasie van die berekende waarde vir die volledige oksidasie van die substraat.

=============

TABEL 23

DIE ASSIMILASIE VAN ASETAAT, FENIELALANIEN EN GLUTAMIENSUUR DEUR NITZSCHIA PALEA IN DIE DONKER BY 25°C, SOOS MANOMETRIES BEPAAL

Substraat	% geoksideer	% geassimileer	*
2 µ mol asetaat	49.66	50.34	116.18
1 µ mol fenielalanien	46.90	53.10	121.31
1 µ mol glutamiensuur	66.46	43.54	98.24

* Die toename in die O_2-opname in aanwesigheid van 'n toegediende substraat uitgedruk as persentasie van die berekende waarde vir die volledige oksidasie van die substraat.

TABEL 24

DIE INVLOED VAN OLIGOMISIEN IN DIE DONKER BY 25°C OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA IN 'N ANORGANIESE VOEDINGSOPLOSSING ASOOK IN DIE AANWESIGHEID VAN FENIELALANIEN. DIE HOEVEELHEID SUURSTOF OPGENEEM ($\mu\ell\ O_2$) IS VIR 'N PERIODE VAN 4 UUR BEPAAL.

Kontrole Slegs anorg.substr.	Anorg.substr. + oligomisien	Anorg.substr. + fenielalanien	Anorg.substr. + oligonisien + fenielalanien
26.27	4.50	54.47	22.93

Waarde vir F

	Tabulêre waardes	
	P=0.05	P=0.01
	3.84	7.01

Behandelings

Oligomisien	24.6
Fenielalanien	32.1
Wisselwerking	1.1

KBV - alle behandelings	P=0.05	6.80
	P=0.01	10.30
KBV - fenielalanien en oligomisien	P=0.05	4.81
	P=0.01	7.29

TABEL 25

DIE INVLOED VAN ADP EN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA IN DIE DONKER BY 25°C. DIE ADP IS BYGEVOEG 10 UUR NADAT DIE BETROKKE ORGANIESE SUBSTRAAT BYGEVOEG IS. (SUURSTOFOPNAME ($\mu \ell O_2$) VIR 'N PERIODE VAN 6 UUR BEPAAL.)

Toeg.substr.	Anorg.substr.	Anorg.substr. + ADP	Anorg.substr. + toeg.substr.	Anorg.substr. + toeg.substr. + ADP	KBV Alle behandelings P=0.05	KBV Alle behandelings P=0.01	KBV ADP en toeg.substr. P=0.05	KBV ADP en toeg.substr. P=0.01
Alanien	33.33	64.73	67.33	102.63	19.78	29.97	14.02	21.25
Aspartiensuur	46.80	107.13	184.53	233.43	17.72	26.85	12.53	18.98
Fenielalanien	21.53	49.13	104.56	118.86	15.23	23.07	10.77	16.31
Glisien	30.73	66.06	58.26	76.06	7.77	11.77	5.49	8.32
Glutamiensuur	18.76	33.23	77.80	103.03	15.87	24.04	11.22	17.00
Isoleusien	43.43	71.30	153.43	158.80	19.46	29.48	13.76	20.85
Leusien	30.43	67.56	162.90	184.86	29.85	45.23	21.11	31.98
Norleusien	27.10	50.46	65.23	74.93	9.49	14.38	6.72	10.18
Prolien	28.63	72.23	204.83	233.30	26.26	39.78	18.58	28.14
Serien	25.09	63.56	48.83	77.50	10.93	16.56	7.73	11.71
Treonien	38.70	89.40	116.73	134.10	31.69	48.07	22.41	33.95
Triptofaan	26.16	82.00	249.46	264.43	39.52	59.87	27.95	42.33
Valien	20.40	40.60	168.67	195.83	22.58	34.20	15.96	24.18
Fruktose	37.70	77.93	148.76	194.63	35.08	53.37	24.80	37.57
Galaktose	36.80	68.23	69.93	110.60	21.83	33.07	15.44	23.39
Glukose	30.50	45.86	89.86	119.16	8.91	13.50	6.30	9.55
Maltose	40.66	88.06	250.16	321.46	30.83	46.71	21.79	33.01
Xilose	42.23	82.50	76.00	121.23	13.37	20.23	9.46	14.32

TABEL 26

DIE INVLOED VAN ADP EN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN KULTURE VAN DIE SCENEDESMUS-SPESIE ONDER NORMALE GROEITOESTANDE GEKWEEK, ASOOK VAN KULTURE WAT VOORAF VIR 120 UUR IN DIE DONKER GEHOU IS. DIE ADP IS BYGEVOEG 10 UUR NADAT DIE BETROKKE ORGANIESE SUBSTRAAT BYGEVOEG IS, WAARNA DIE SUURSTOFOPNAME ($\mu \ell$ O_2) VIR 'N PERIODE VAN 6 UUR IN DIE DONKER BY 25°C BEPAAL IS.

	Substraat	Anorg.substr.	Anorg.substr. + ADP	Anorg.substr. + Toeg.substr.	Anorg.substr. + ADP + Toeg.substr.	KBV vir alle behandelings		KBV vir ADP en Toeg.substr.	
						P=0.05	P=0.01	P=0.05	P=0.01
*	Asetaat	20.30	43.70	39.33	58.53	9.122	13.819	6.680	10.120
*	Fenielalanien	30.03	49.27	90.77	84.90	21.737	32.737	15.372	23.280
*	Glutamiensuur	17.03	44.10	45.27	61.60	11.983	18.153	8.474	12.837
*	Glukose	23.47	68.97	32.17	80.70	11.851	17.953	8.381	12.696
x	Asetaat	10.83	12.37	95.67	100.73	14.60	22.116	10.320	15.636
x	Fenielalanien	9.17	10.83	68.47	100.40	18.90	28.633	13.366	20.240
x	Glutamiensuur	14.17	17.43	82.57	90.90	17.129	25.949	11.243	18.350
x	Glukose	19.13	20.93	95.30	156.83	23.366	35.398	16.520	25.026

* Kulture onder normale groeitoestande gekweek.

x Kulture vooraf vir 120 uur in 'n anorganiese voedingsloplossing in die donker gehou.

TABEL 27

DIE INVLOED VAN ADP EN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN KULTURE VAN NITZSCHIA PALEA ONDER NORMALE GROEITOESTANDE GEKWEEK, ASOOK VAN KULTURE WAT VOORAF VIR 120 UUR IN DIE DONKER GEHOU IS. DIE ADP IS BYGEVOEG 10 UUR NADAT DIE BETROKKE ORGANIESE SUBSTRAAT BYGEVOEG IS, WAARNA DIE SUURSTOFOPNAME ($\mu \ell$ O_2) VIR 'N PERIODE VAN 6 UUR IN DIE DONKER BY 25°C BEPAAL IS.

Substraat	Anorg. substr.	Anorg.substr. + ADP	Anorg.substr. + Toeg. substr.	Anorg.substr. + ADP + Toeg. substr.	KBV vir alle behandelings		KBV vir ADP en Toeg.substr.	
					P=0.05	P=0.01	P=0.05	P=0.01
Asetaat	7.40	19.47	14.90	23.40	4.688	7.103	3.316	5.023
* Fenielalanien	12.10	23.23	27.23	31.90	5.582	8.456	3.947	5.979
Glutamiensuur	11.47	36.10	31.87	51.73	11.890	18.012	8.405	12.733
Asetaat	6.47	6.37	39.53	59.03	8.574	12.990	6.066	9.190
x Fenielalanien	7.93	10.00	26.90	38.80	4.498	6.813	3.181	4.819
Glutamiensuur	4.97	5.30	26.57	34.07	7.089	10.739	5.011	8.576

* Kulture onder normale groeitoestande gekweek.

x Kulture vooraf vir 120 uur in 'n anorganiese voedingsoplossing in die donker gekweek.

TABEL 28

DIE EFFEK VAN 2 x 10^{-3} M KCN EN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDO-HUNGARICA. DIE BETROKKE ORGANIESE SUBSTRAAT IS ONMIDDELLIK NA DIE AANVANG VAN 'N PROEF BYGEVOEG TERWYL DIE KCN NA 'N VERDERE 10 UUR BYGEVOEG IS. HIERNA IS DIE SUURSTOFOPNAME ($\mu \ell$ O_2) VIR 'N PERIODE VAN 6 UUR IN DIE DONKER BY 25°C BEPAAL.

Toegediende substraat	Kontrole (Anorg.substr.)	Anorg.substr. + KCN	Anorg.substr. + toeg.substr.	Anorg.substr. + toeg.substr. + KCN	KBV P=0.05	KBV P=0.01
Alanien	48.30	25.67	141.73	28.67	8.944	13.549
Aspartiensuur	36.77	18.63	91.80	17.07	5.966	9.038
Fenielalanien	31.43	21.20	263.50	15.33	8.780	13.30
Glisien	46.70	20.47	138.27	24.03	9.159	13.875
Glutamiensuur	32.60	21.17	137.80	10.27	8.946	13.553
Isoleusien	25.90	15.50	118.43	20.90	19.800	30.090
Leusien	25.30	13.13	97.37	11.37	15.105	22.883
Norleusien	43.60	17.03	86.93	21.10	11.993	18.168
Prolien	23.17	12.40	113.30	6.50	15.663	23.729
Serien	60.53	30.33	143.53	27.23	31.126	47.153
Treonien	33.77	14.97	136.10	36.03	16.913	25.623
Triptofaan	28.73	15.67	227.93	32.23	28.997	43.928
Valien	35.80	13.73	167.70	28.50	11.410	17.286
Glukose	40.43	17.60	164.67	12.03	13.679	20.722
Maltose	32.73	15.17	159.00	20.20	16.329	24.737
Fruktose	50.93	22.30	123.07	16.77	16.366	24.792
Xilose	26.27	14.13	70.47	16.90	7.632	11.562
Galaktose	35.00	20.63	54.90	15.67	5.873	8.897

TABEL 29

DIE INVLOED VAN 10^{-3} M JOODASETAAT EN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN ACHNANTHES PSEUDOHUNGARICA. DIE BETROKKE ORGANIESE SUBSTRAAT IS ONMIDDELLIK NA DIE AANVANG VAN 'N PROEF BYGEVOEG TERWYL DIE JOODASETAAT NA 'N VERDERE 10 UUR BYGEVOEG IS. HIERNA IS DIE SUURSTOFOPNAME ($\mu \ell\ O_2$) VIR 'N PERIODE VAN 6 UUR IN DIE DONKER BY 25°C BEPAAL.

Toeg. substr.	Kontrole (Anorg.substr.)	Anorg.substr. + joodasetaat	Anorg.substr. + toeg.substr.	Anorg.substr. + toeg. substr. + joodasetaat	KBV P=0.05	KBV P=0.01
Triptofaan	18.5	13.6	148.8	50.9	17.5	25.5
Fenielalanien	29.5	16.0	188.3	35.1	24.8	36.1
Glukose	32.7	19.0	98.7	17.4	8.5	12.4
Maltose	33.4	23.5	101.3	28.7	8.4	12.2

TABEL 30

DIE EFFEK VAN 2 x 10^{-6} M KCN EN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN NITZSCHIA PALEA. DIE BETROKKE ORGANIESE SUBSTRATE IS ONMIDDELLIK NA DIE AANVANG VAN 'N PROEF BYGEVOEG TERWYL DIE KCN NA 'N VERDERE 10 UUR BYGEVOEG IS. HIERNA IS DIE SUURSTOFOPNAME ($\mu \ell$ O_2) VIR 'N PERIODE VAN 6 UUR IN DIE DONKER BY 25°C BEPAAL.

Substraat	Anorg.substr.	Anorg.substr. + KCN	Anorg.substr. + toeg. substr.	Anorg.substr. + KCN + toeg. substr.	KBV	
					P=0.05	P=0.01
Asetaat	15.43	7.97	37.90	11.13	7.817	11.388
Fenielalanien	21.67	8.20	40.00	9.70	9.553	14.472
Glutamiensuur	13.00	7.53	32.90	9.63	3.247	4.919

TABEL 31

DIE INVLOED VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN NITZSCHIA PALEA-KULTURE WAT IN 'N ANORGANIESE VOEDINGSMEDIUM ONDER NORMALE GROEITOESTANDE GEKWEEK IS. DIE SUURSTOFOPNAME IS OOR 'N PERIODE VAN 24 UUR, 6-UURLIKS IN DIE DONKER BY 25°C BEPAAL. DIE HOEVEELHEID SUURSTOF (µ ℓ O_2) PER 6 UUR OPGENEEM WORD TELKENS AANGEGEE.

Tyd	Anorg.substr.	Anorg.substr. + asetaat	Anorg.substr. + fenielalanien	Anorg.substr. + glutamiensuur
6 uur	27.17	37.47	23.03	30.03
12 uur	19.17	40.60	27.83	37.07
18 uur	15.50	40.37	32.40	45.27
24 uur	15.03	38.90	41.63	37.50

KBV vir alle behandelings		KBV vir substrate en tyd.	
P=0.05	P=0.01	P=0.05	P=0.01
7.843	10.563	3.921	5.280

==========

TABEL 32

DIE INVLOED VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN NITZSCHIA PALEA-KULTURE WAT VOORAF IN DIE AANWESIGHEID VAN FENIELALANIEN UITGEHONGER IS. DIE SUURSTOFOPNAME IS OOR 'N PERIODE VAN 24 UUR, 6-UURLIKS IN DIE DONKER BY 25°C BEPAAL. DIE HOEVEELHEID SUURSTOF (µ ℓ O_2) PER 6 UUR OPGENEEM WORD TELKENS AANGEGEE.

Tyd	Anorg.substr.	Anorg.substr. + asetaat	Anorg.substr. + fenielalanien	Anorg.substr. + glumamiensuur
6 uur	19.77	26.43	27.63	29.03
12 uur	12.30	30.73	26.90	24.07
18 uur	12.70	29.87	27.50	26.80
24 uur	10.60	31.33	25.50	28.07

KBV vir alle behandelings		KBV vir substrate en tyd	
P=0.05	P=0.01	P=0.05	P=0.01
5.023	6.765	2.512	3.383

TABEL 33

DIE INVLOED VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE O_2-OPNAME VAN NITZSCHIA PALEA-KULTURE WAT VOORAF IN DIE AANWESIGHEID VAN ASETAAT UITGEHONGER IS. DIE SUURSTOFOPNAME IS OOR 'N PERIODE VAN 24 UUR, 6-UURLIKS IN DIE DONKER BY 25°C BEPAAL. DIE HOEVEELHEID SUURSTOF ($\mu \ell$ O_2) PER 6 UUR OPGENEEM WORD TELKENS AANGEGEE.

Tyd	Anorg.substr.	Anorg.substr. + asetaat	Anorg.substr. + fenielalanien	Anorg.substr. + glutamiensuur
6 uur	25.83	29.60	27.77	32.23
12 uur	19.33	27.53	23.57	33.80
18 uur	13.37	28.37	32.47	32.87
24 uur	12.07	29.17	33.93	35.70

KBV vir alle behandelings		KBV vir substrate en tyd.	
P=0.05	P=0.01	P=0.05	P=0.01
4.993	6.201	2.459	3.311

==================

TABEL 34

DIE EFFEK VAN TOEGEDIENDE SUBSTRATE OP DIE O_2-OPNAME VAN NITZSCHIA PALEA-KULTURE WAT VOORAF IN 'N ANORGANIESE VOEDINGSMEDIUM UITGEHONGER IS. DIE SUURSTOFOPNAME IS OOR 'N PERIODE VAN 24 UUR, 6 UURLIKS, IN DIE DONKER BY 25°C BEPAAL. DIE HOEVEELHEID SUURSTOF ($\mu \ell$ O_2) PER 6 UUR OPGENEEM WORD TELKENS AANGEGEE.

Tyd	Anorg.substr.	Anorg.substr. + asetaat	Anorg.substr. + fenielalanien	Anorg.substr. + glutamiensuur
6 uur	55.97	39.33	5.90	11.47
12 uur	6.57	35.87	6.33	15.13
18 uur	5.77	34.10	7.57	27.10
24 uur	5.87	34.83	13.67	38.13

KBV vir alle behandelings		KBV vir substrate en tyd	
P=0.05	P=0.01	P=0.05	P=0.01
4.159	5.602	2.079	2.800