

DIE MORFOLOGIE EN ULTRASTRUKTUUR VAN DIE BLAARTRIGOME VAN
NICOTIANA TABACUM L.

Maria Johanna van der Merwe, B.Sc., B.Sc.(Honn.).

Verhandeling goedgekeur as gedeeltelike nakoming van die
vereistes vir die graad Magister Scientiae in Plantwetenskappe in
die Fakulteit Natuurwetenskappe van die Potchefstroomse
Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys.

Studieleier : Dr. H. Kruger

Potchefstroom

1990

INHOUDSOPGAWE

1. INLEIDING	1
2. MATERIAAL EN METODES	6
2.1 MATERIAAL	6
2.2 METODES.....	7
2.2.1 LIGMIKROSKOPIESE ONDERSOEK.....	7
2.2.2 TRANSMISSIE-ELEKTRONMIKROSKOPIESE ONDERSOEK.....	11
2.2.3 SKANDEERELEKTRONMIKROSKOPIESE ONDERSOEK.....	12
2.2.4 BEPALING VAN VERHOUDING:KORT TOT LANG TRIGOME....	12
2.2.5 BEPALING VAN OPPERVLAKLIPIEDE.....	13
3. UITWENDIGE BOU EN VERSPREIDING VAN TRIGOME.....	14
3.1 RESULTATE.....	14
3.2 BESPREKING.....	15
4. ONTOGENIE VAN DIE TRIGOME.....	23
4.1 RESULTATE.....	24
4.1.1 KORT KLIERTRIGOME.....	24
4.1.2 LANG KLIERTRIGOME.....	24
4.1.3 NIE-KLIERTRIGOME.....	25
4.2 BESPREKING.....	25
5. SAMESTELLING VAN DIE SELWANDE EN INHOUD VAN DIE TRIGOME.....	30
5.1 RESULTATE.....	30
5.2 BESPREKING.....	34

6.	ULTRASTRUKTURELE BOU VAN DIE KOPSELLE VAN DIE LANG EN KORT KLIERTRIGOME.....	40
6.1	RESULTATE.....	40
6.1.1	LANG KLIERTRIGOME.....	40
6.1.2	KORT KLIERTRIGOME.....	44
6.2	BESPREKING.....	49
6.2.1	LANG KLIERTRIGOME.....	49
6.2.2	KORT KLIERTRIGOME.....	56
7.	GEVOLGTREKKING.....	69
8.	UITTREKSEL/ABSTRACT.....	72
9.	BEDANKINGS.....	74
10.	LITERATUURVERWYSINGS.....	76

1. INLEIDING

Een van die belangrike aspekte waarop gelet word gedurende verbouings- en telingsprogramme van tabak is aromatiese kwaliteit. Aromatiese kwaliteit van tabak word direk aan die aroma en geur waaroor 'n blaar na droging beskik gekoppel (Wolf, 1962). Tabak is een van die min aangeplante gewasse waar die blaar, as gevolg van sy aromatiese kwaliteit en ekonomiese waarde, as 'n kommersiële produk aangewend word. Die tabakblaar word nie net in die sigaretbedryf benut nie, maar word ook aangewend in die vervaardiging van insektegif. Om hierdie rede was en is die tabakblaar die onderwerp van intensiewe navorsing.

Tabakblare is bedek met 'n lagie klewerige sekreet wat na veroudering en behandeling deur outoksidasie en polimerisasie, waarskynlik bydra tot die aromatiese kwaliteit van die produk. Beskikbare literatuur oor die aromatiese kwaliteit handel veral oor chemiese aspekte. So is bevind dat die sekreet wat op die tabakblare voorkom uit duvaanditerpene, labaan-diterpene, sukrose-esters, vetalkohole en was-esters bestaan (Severson, et al., 1985). Die sekreet ontstaan volgens Gamou & Kawashima (1979), Chang et al. (1985) en Keene & Wagner (1985) in kliertrigome wat op beide blaaroppervlakke voorkom, maar min aandag word in die literatuur geskenk aan die presiese plek van oorspang van die sekreet.

Tabakboere ondervind tans probleme met die aromatiese

kwaliteit van die produk. So is bevind dat die tipe besproeiing wat toegepas word, 'n invloed op die aromatiese kwaliteit het. Sprinkelbesproeiing het tot gevolg dat die aromatiese kwaliteit verlaag omdat die sekreet afgewas word. Sekreetkomponente inhibeer ook miseliumgroeï en blare word vinniger geïnfekteer wanneer die sekreet van die blaaroppervlak verwyder word. Die sekreet speel ook waarskynlik 'n rol in die weerstand van die plant teen sekere insekte. So is bevind dat sekere kultivars se sekreet oor sekere komponente beskik wat insekte meer beïnvloed as ander kultivars waarby hierdie komponent(e) ontbreek.

Sedert daar in die sewentiende eeu na trigome verwys is as "sekondêre plante" en die "harige vel" van die plant, het verskeie definisies en terminologieë rondom hierdie strukture ontstaan, wat wissel van eenvoudige epidermale uitgroeiings tot meersellige trigome, wat verdeel word in klier- en nie-kliertrigome. Payne het in 1978 'n glossarium saamgestel met meer as 600 beskrywende terme vir trigome en 'n verdere 150 terme wat van toepassing is op die indumentum as geheel. In hierdie ondersoek word 'n kliertrigoom beskou as 'n epidermale aanhangsel, betrokke by die vervoer en sekresie van verskeie stowwe, wat Schnepf (1974) in twee funksionele groepe verdeel, naamlik lipofilies of hidrofilies. Lipofiliese kliere sluit kliere in wat terpene (essensiële olies en harpui), wasse en lipiede sekreter. Verteenwoordigers van die families Solanaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Cannabaceae en Geraniaceae het lipofiliese trigome

(Metcalfe & Chalk, 1950; Uphof, 1962; Schnepf, 1969a).

Die Solanaceae bestaan uit 85 genusse met meer as 2000 spesies. Die genus *Nicotiana* wat tot die familie Solanaceae behoort, word in 60 spesies verdeel. Die meeste *Nicotiana* spesies is kruidagtige eenjarige plante, met 'n paar meerjarige spesies en twee spesies wat houtagtige struik is (Goodspeed, 1954).

Nicotiana tabacum L. het ontstaan as gevolg van natuurlike hibridisering tussen *N. sylvestris* en *N. otophora*, met die gevolg dat die spesie polimorfies is. *N. tabacum* en *N. rustica* is die twee spesies wat algemeen verbou word. Eersgenoemde is "gewone" tabak, terwyl laasgenoemde veral verbou word in westelike Asië, waar dit by die Russe bekend staan as "mahorka" en by die Arabiere as "tombac" (Wolf, 1962).

Die plante is aanpasbaar by 'n wye reeks grondtipes, klimaattipes en boerderypraktyke. As gevolg van die sensitiwiteit kan die kwaliteit van die tabakblaar verander word deur klein veranderinge in die klimaat, grond of boerderypraktyk. Tabak word in verskillende klasse verdeel volgens die tipe tabak en metode van droging. Verteenwoordigers van vier tabakklasse wat in die Republiek van Suid-Afrika van belang is (Cornelissen, 1989) word hieronder bespreek.

Oriëntale tabak beskik oor klein aromatiese blare. Die blare

word van onder geoes namate hulle ryp word en in die son gedroog. Vanweë die besondere aroma daarvan, word Oriëntale tabak ook in Virginiese rookmengsels gebruik om die smaak daarvan te verbeter.

Lugdroogtabak is meer droogtebestand as die oonddroogklas. Dit word geoes deur die hele plant af te kap en onder natuurlike toestande te droog. Lugdroogtabak word in twee klasse verdeel, naamlik ligte lugdroogtabak en donker lugdroogtabak. Ligte lugdroogtabak word in die vervaardiging van sigarette en sekere pypmengsels gebruik, terwyl donker lugdroogtabak in donker pyptabak, snuif en roltabak gebruik word.

Burley tabak word stadig gedroog om die kenmerkende kleur en eienskappe van die Burley blaar te verkry. Die gedroogde blaar het 'n fyn tekstuur met 'n tipiese donker, rooibruin kleur en kenmerkende aroma. Dit word hoofsaaklik in sigaretmengsels en ligte pypmengsels gebruik.

Oonddroogtabak word normaalweg onder besproeiing verbou. Die blare word van onder na bo ryp en word ook so geoes. Die tabak word in oonde gedroog en veral vir die vervaardiging van sigarette gebruik.

In Suid-Afrika word 'n groot aantal kultivars van *N. tabacum* verbou, elk met sy eiesoortige aromatiese kwaliteit. Hierdie verskil in aromatiese kwaliteit tussen die onderskeie kultivars kan gekoppel word aan 'n moontlike verskil in

trigoomverspreiding, 'n verskil in die aktiwiteit van die kliertrigome of 'n verskil in die samestelling van die trigoomkomplement.

Met die verbetering van veral elektronmikroskopiese tegnieke is dit nou moontlik om die waarskynlike funksionering van die kliertrigome te bestudeer. 'n Ultrastrukturele ondersoek is gedoen om te bepaal of daar op grond van ultrastruktuur 'n onderskeid getref kan word tussen die onderskeie trigoomtipes se sekreet of 'n moontlike onderskeid tussen die onderskeie kultivars se sekreet. Deur hierdie resultate in verband te bring met die moontlike verskil in die trigoomkomplement van die onderskeie kultivars, kan dit as moontlike kriterium gebruik word om onderskeid tussen die verskillende tabakklasse te tref. Dit mag ook in toekomstige telingsprogramme gebruik word om die aromatiese kwaliteit van die tabakblaar te verbeter.

2. MATERIAAL EN METODES

2.1 MATERIAAL

Saad van *N. tabacum* kultivars (Tabel 1) is verkry vanaf die Navorsingsinstituut vir Tabak en Katoen te Rustenburg. Die saad is in steriele sand gesaai, waarna die saailinge, sodra hulle 'n hoogte van 40-50 mm bereik het, in komposryke grond in potte uitgeplant is. Gedurende die winter is die plante in 'n glashuis gehou met 'n 14 h ligperiode om blomvorming te voorkom, terwyl die plante gedurende die somermaande in die buitelug gekweek is.

TABEL 1. Tabakkultivars wat in die ondersoek gebruik is, gerangskik volgens aromatiese kwaliteit. Oriëntale tabak het die hoogste aromatiese kwaliteit en oonddroogtabak die laagste (Cornelissen, 1989).

ORIËNTALE TABAK	LUGDROOG= TABAK	BURLEY TABAK	OONDDROOG= TABAK
Samsun Turks	Groot Swazi 46	Burley 21-52	TL 33
Corolla Elite Turks	MA ₂	Burley 64	Coker 411
Elsenburg Soulouk	Western Dark Nyassa	Russian Burley	Hicks

Blare van verskillende fisiologiese ouderdomme is vir beide die lig- en elektronmikroskopiese ondersoeke gebruik, omdat vorige ondersoeke aan die lig gebring het dat die chemiese

samestelling van tabakblare by verskillende ortostieges mag verskil (Bowman & Nichols, 1968). Materiaal van jong onvolwasse blare (bo), volwasse blare (middel) en volwasse blare wat reeds begin verkleur het (onder) is versamel. By tabaktelers is die blare volgens hulle posisie respektiewelik as blad, snyblad en onderblare bekend.

2.2 METODEDES

2.2.1. LIGMIKROSKOPIESE ONDERSOEK

Stukkies blaarmateriaal is vir 24 h in 2,5% glutaaraldehyd in 0,1 M fosfaatbuffer (pH 7,2) gefikseer, gedehidreer in 'n metielcellosolvereeks (O'Brien & McCully, 1981) en in 2-hidroksie-etiel-metakrilaatmengsel (GMA) ingebed volgens die metode van Feder & O'Brien (1968). Sneë van 3-5 μm dik is met glasmaas met 'n Porter-Blum mikrotoom gemaak.

Handsneë is van vars blaarmateriaal gemaak.

Die volgende histochemiese kleuringsprosedures is uitgevoer:

Wandpolisakkariede

Die perjoodsuur-Schiff reaksie (PAS-reaksie) (O'Brien & McCully, 1981) is gebruik vir die lokalisering van polisakkariede, veral om die volgende redes:

1. dit is spesifiek en die aard van die reaksie is bekend,
2. die resultate word nie maklik deur ander selwandstowwe beïnvloed nie,
3. dit gee intense en stabiele kleuring.

Die PAS-reaksie is gebaseer op die vermoë van perjoodsuur om

komponente wat glikolgroepe bevat na aldehyede te oksideer. Die aldehyede reageer met Schiff se reagens om 'n rooi kleur te gee. Schiff se reagens reageer met alle koolhidraatkomponente van die selwand en kan dus nie alleen as reagens gebruik word om tussen die verskillende selwandlae te onderskei nie (O'Brien & McCully, 1981). Die beste resultate is verkry met materiaal wat in GMA ingebed is.

Sellulose

Om die teenwoordigheid van sellulose te bepaal, is die IKI-H₂SO₄-toets (Johansen, 1940) op handsneë wat van blare gemaak is, uitgevoer.

Pektiese stowwe

Rutheniumrooi is volgens die metode van Jensen (1962) vir die lokalisering van pektiese stowwe gebruik. 'n Positiewe reaksie word slegs verkry wanneer pektiese stowwe in hoë konsentrasies aanwesig is. 'n Negatiewe reaksie dui dus nie noodwendig op die afwesigheid van pektiese stowwe nie. GMA-sneë is in hierdie geval gebruik.

Lignien

Volgens Gahan (1984) bestaan daar nie 'n spesifieke toets vir lignien wat betroubaar is onder alle toestande nie. Fluoroglusinol, wat ook in hierdie ondersoek gebruik is, is die standaard reagens vir lignienlokalisering (Johansen, 1940). Die fluoroglusinol reageer met die sinnedaldehydegroepe van lignien en ontwikkel 'n rooi-pers kleur, wat redelik spesifiek, maar nie baie intens, is nie (Jensen,

1962).

Kutien

Handsneë en GMA-sneë is met Sudan IV (O'Brien & McCully, 1981) gekleur.

Stysel

Die teenwoordigheid van stysel is in vars materiaal bepaal deur die IKI-reaksie (Johansen, 1940). Die reaksie is gebaseer op die akkumulering van jodium in die sentrum van die helikale styselmolekule.

Polifenole

Histochemiese lokalisering van polifenole is moeilik, omdat baie min stowwe daarmee reageer om 'n kenmerkende kleurkomponent te vorm. Natuurlike verbruining is ook nie altyd voldoende om polifenole mikroskopies waar te neem nie (Reeve, 1951). Die eenvoudigste toets vir polifenole is die Nitroso-reaksie, waartydens 'n geel tot rooi kleur ontwikkel wanneer polifenole aanwesig is (Reeve, 1951). Handsneë en GMA-sneë is hiervoor gebruik.

Proteïene

GMA-sneë is met Coomassie Brilliant Blue G-250 (Coomassie BB) (Bradford, 1976) vir proteïene gekleur. Hierdie metode is 'n baie vinnige en akkurate manier om die teenwoordigheid van proteïene waar te neem. Dit is gebaseer op die feit dat Coomasie Brilliant Blue uit twee kleurvorme bestaan, naamlik rooi en blou. Die rooi-vorm word na die blou-vorm omgeskakel

wanneer dit met die proteïene verbind. Die proteïenkleurstofkompleks het 'n hoë ekstensiekoëffisiënt, wat lei tot hoë sensiwiteit ten opsigte van proteïene (Bradford, 1976). Handsneë en GMA-sneë is vir hierdie reaksie gebruik.

Lipiede

Een van die probleme ten opsigte van die suksesvolle lokalisering van lipiede is die oplosbaarheid van lipiede in organiese oplosmiddels. Metodes vir die lokalisering van lipiede kan in twee groepe verdeel word:

1. dié wat op die oplosbaarheid van die kleurstof gebaseer is, naamlik die fisiese metode (Sudankleurstowwe, Nylblou & "Oil Red" O) en
2. dié wat gebaseer is op chemiese reaksies, naamlik die chemiese metode (osmiumtetroksied).

a. Sudankleurstowwe (Sudan III & Sudanswart)

Jensen (1962) wys daarop dat Sudankleurstowwe net fisiese kleurstowwe is wat afhanklik is van die oplossing van die inerte kleurstowwe in die lipiede self. In hierdie ondersoek is Sudan III sowel as Sudanswart gebruik. In die geval van Sudan III is handsneë volgens die metode van Jensen (1962) sowel as GMA-sneë (O'Brien & McCully, 1981) gebruik, terwyl GMA-sneë net in die geval van die Sudanswartkleuring (O'Brien & McCully, 1981) gebruik is. Sudan III kleur vette, olies, wasse en vrye vetsure, maar nie fosfolipiede nie. Sudanswart kleur alle lipiede, insluitende fosfolipiede.

b. Nylblou

Hierdie kleurstof bestaan uit 'n mengsel van twee kleurstawe, naamlik oxazin, die blou komponent en oxazoon die rooi komponent (Cain, 1947). Vette, olies en wasse neem die oxazoon op en kleur rooi, terwyl vrye vetsure en fosfolipiede met die oxazin reageer en blou kleur. Handneë is gebruik en die metode van Gahan (1984) is gevolg.

c. Osmiumtetroksied

Die swart komponent van osmiumtetroksied wat vorm, dui op die teenwoordigheid van lipiede met 'n groot aantal dubbelbande, naamlik fosfolipiede en sterole. Osmiumtetroksied as histochemiese kleurstof is egter nie baie betroubaar nie (Adams et al., 1967).

d. "Oil Red" O

Verdere kleuring vir lipiede is ook met "Oil Red" O uitgevoer (Lillie, 1965). Hierdie kleurstof, wat baie algemeen vir die kleuring van dierweefsel gebruik word, kleur lipiede donkerrooi. Handsneë is in hierdie geval gebruik.

2.2.2 TRANSMISSIE-ELEKTRONMIKROSKOPIESE ONDERSOEK

Afsonderlike trigome is van die blare verwyder in fikseermiddel bestaande uit 2,5% glutaaraldehyd en 1,25% paraformaldehyd in 0,05 M natriumkalkodilaatbuffer (Todd, 1986). Die materiaal is daarna vir 1 h in dieselfde fikseermiddel gelaat. Nafiksering is vir 1 h in 0,5% waterige osmiumtetroksied uitgevoer. Beide fikseringstappe is by kamertemperatuur uitgevoer. Die materiaal is in 'n

etanolreeks gedehidreer, in hars ingebed (Spurr, 1969) en gepolimeriseer vir 12 h by 70°C. Ultradunsneë is met 'n Reichert-Jung ultramiktrotroom met glasmesse gemaak. Die sneë is met 4% waterige uranielasetaat en loodsitraat (Reynolds, 1963) gekontrasteer en met behulp van 'n Phillips CM10 transmissie- elektronmikroskoop ondersoek.

2.2.3 SKANDEERELEKTRONMIKROSKOPIESE ONDERSOEK

Materiaal is in 2,5% glutaaraldehyd in 0,1M fosfaatbuffer (pH 7,4) vir 24 h gefikseer en gedehidreer in 'n etanolreeks. Na kritiekepundroging met CO₂ en freon as verplasingsvloeistof is die materiaal met koolstof en goud-paladium bedamp en met 'n Cambridge Stereoscan skandeerelektronmikroskoop ondersoek.

2.2.4 BEPALING VAN VERHOUDING: KORT TRIGOME TOT LANG TRIGOME

Die trigoomverhouding is op die abaksiale en adaksiale oppervlakke van die blare bepaal. Aangesien die trigome te dig versprei is om effektief met 'n stereomikroskoop te ondersoek, is skandeerelektronmikroskopie gebruik. Stukkies blaar is willekeurig versamel terwyl die rand van die blaar doelbewus vermy is, omdat hier dikwels variasie in die trigoomverspreiding voorkom. Die hoofare op die abaksiale blaaroppervlak is ook vermy, omdat die digte verspreiding van die trigome hierop ook die resultate mag beïnvloed. Die trigome is op elektronmikrograwe by 'n vergroting van 150 getel.

Tellings van die twee hoofgroepe trigome gemaak. Die aantal tellings van die verskillende trigome is op die elektronmikrograwe gedoen totdat die 96% waarskynlikheidsgrens net 5% afgewyk het van die gemiddeld. Hiervoor is die formule gebruik van Huntsberger & Billingsley (1973), naamlik

$$\text{AANTAL TELLINGS} = 1,96 \times \text{standaardafwyking}/5\% \text{ van die gemiddeld}$$

Die data is statisties verwerk deur die variansie, rekenkundige gemiddeld en standaardafwyking te bepaal. Vir die grafiese voorstelling van die data is die metode gebruik soos uiteengesit deur Huntsberger & Billingsley (1973).

2.2.5 BEPALING VAN DIE OPPERVLAKLIPIEDE

Vir die bepaling van die oppervlaklipiede is 'n aangepaste metode van Gamou & Kawawshima (1979) gebruik. Die blaaroppervlakte is met behulp van 'n Planix 7P planometer bepaal, waarna elke blaar vir 60 sekondes in 300 ml chloroform gewas is. Die ekstrak is met Whatman 1PS filtreerpapier gefiltreer en onder vakuum afgedamp met 'n Bücher Rotavapor-R rolfllesapparaat by 40°C tot 'n volume van 10 ml. Hiervan is 2 ml monsters by 90°C vir 3 h gedroog. Die hoeveelheid lipiede per eenheidsoppervlakte is vasgestel deur die massa van die gedroogde monster te bepaal.

3. UITWENDIGE BOU EN VERSPREIDING VAN DIE TRIGOME

Trigome is een- of meersellige aanhangsels van die epidermis en mag onderverdeel word in klier- en nie-kliertrigome (Fahn, 1982). Trigoomstruktuur varieer in sekere plantfamilies, of selfs in een spesie, terwyl dit konstant uitgebeeld is by ander families en as taksonomiese kriterium gebruik word.

3.1 RESULTATE

Uitwendige bou

Twee hooftipes trigome kom by al die tabakkultivars wat ondersoek is voor, naamlik lang en kort trigome (Figuur 1). Die lang trigome word verdeel in kliertrigome en nie-kliertrigome. Kliertrigome sluit in trigome met meersellige stele en eensellige koppe (Figure 2 & 10) en trigome met meersellige stele en meersellige koppe (Figuur 3). Vertakte kliertrigome met meersellige koppe kom selde voor (Figuur 4). Die lang nie-kliertigome is meersellig (Figuur 8).

Kort trigome bestaan uit 'n enkele steelsel met 'n meersellige kop (Figure 5 - 7 & 9).

Trigoomverhouding

Die verhouding kort trigome:lang trigome varieer in die geval van die boonste blare (Figuur 11), terwyl dit by die middelste blare minder variasie toon (Figuur 12) en by die onderste blare die minste varieer (Figuur 13).

Die trigoomdigtheid neem af van die boonste blare na die onderste blare (Figure 14 - 19). Die trigome is digter gerangskik op die abaksiale blaaroppervlak as op die adaksiale oppervlak (Figuur 14 - 19).

3.2 BESPREKING

Verteenwoordigers van die Solanaceae het twee tipes kliertrigome, naamlik kort trigome met een- of tweesellige stele en een- of meersellige sferiese koppe en lang trigome met meersellige stele en meersellige sferiese koppe. Eersgenoemde tipe kom algemeen voor, terwyl die tweede tipe beperk is tot onder andere sekere spesies van *Nicotiana* en *Petunia* hibriede L. (Metcalf & Chalk, 1983).

Goodspeed (1954) onderskei vyf hooftipes trigome by die genus *Nicotiana*, naamlik eenvoudige trigome, vertakte trigome, kliertrigome, hidatodes en trigome met spesiale steelselle. In elk van bogenoemde groepe word subgroepe onderskei op grond van verskille in die ontwikkeling van 'n sekere morfologiese kenmerk of op grond van 'n kombinasie van twee of meer kenmerke. Ondersoeke van 25 spesies van *Nicotiana* het aan die lig gebring dat die verskillende spesies op grond van trigoommorfologie onderskei kan word. Die verspreidingspatroon van sekere tipes trigome op die plant en die tipes trigome, wat kenmerkend is van sekere spesies, kan gebruik word om spesies in 'n genus te identifiseer (Goodspeed, 1954).

Volgens Barrera & Wernsman (1966) kan trigoomverspreiding nie

gebruik word om die potensiële aromatiese kwaliteit van 'n tabakkultivar te bepaal nie. Hierdie outeurs het bevind dat die hibried Coker 316, wat 'n lae aromatiese kwaliteit het, net soveel of selfs meer trigome het as standaard lugdroogvariëteite en selfs meer as Turkse tabak. Die moontlikheid bestaan dus dat die hoeveelheid en kwaliteit sekreet geproduseer per trigoom volume by verskillende genotipes mag verskil of selfs dat sommige van die trigome nie-funksioneel mag wees. Laasgenoemde outeurs gaan van die standpunt uit dat indien die klewerige sekreet van die trigome verantwoordelik is vir die aroma, dit misleidend is om die trigoomdigtheid per eenheidsoppervlakte te bereken en dat die verhouding sekreet-volume:blaar-volume, 'n meer betroubare verwysingspunt sal wees. Hulle beveel dus aan dat die aantal trigome per volume blaar bepaal moet word. Seleksie vir verhoogde trigoomdigtheid sal dan ook terselfdertyd seleksie wees vir lyne met kleiner blare. Smalblaar lugdroogvariëteite het dikker blare as breëblaar variëteite en daarom is dit moontlik om te selekteer vir hoër trigoomdigtheid sonder om die aantal trigome per eenheidsvolume blaar te verander. Dit sal dus voordeliger wees om, indien seleksie plaasvind op grond van trigoomdigtheid, blaarvorm in gedagte te hou in plaas van die aantal trigome per blaarvolume. Met bogenoemde in gedagte, is die trigoomdigtheid nie spesifiek bepaal nie, maar wel die verhouding tussen die voorkoms van die kort trigome en die lang trigome, ten einde 'n moontlike verband tussen

trigoomverspreiding en aromatiese kwaliteit te verkry.

Die histochemiese (5.1) en ultrastrukturele (6.1) ondersoekes dui daarop dat die aard van die sekreet van die twee tipes trigome verskil. Daar is dus van die standpunt uitgegaan dat as gevolg van 'n verskil in verhouding van die twee tipes trigome en as gevolg van die verskil in sekreetsamestelling, dit moontlik 'n verskil in aromatiese kwaliteit tot gevolg kan hê. Uit die resultate blyk dit egter dat daar geen betekenisvolle verband bestaan tussen die verhouding kort trigome:lang trigome en die aromatiese kwaliteit van tabak nie. Die trigoomdigtheid verlaag tydens volwassewording van die blaar as gevolg van die vergroting van die epidermisselle. Ondersoekes wat op die blare van tabak uitgevoer is, dui daarop dat trigome digter op blare gerangskik is van plante wat in die veld gekweek is, as op dié wat onder glashuistoestande gekweek is. Bogenoemde verskil kan indirek aan onder andere daglengte, temperatuur, ligintensiteit of 'n kombinasie van bogenoemde veranderlikes toegeskryf word (Snyder & Hyatt, 1984).

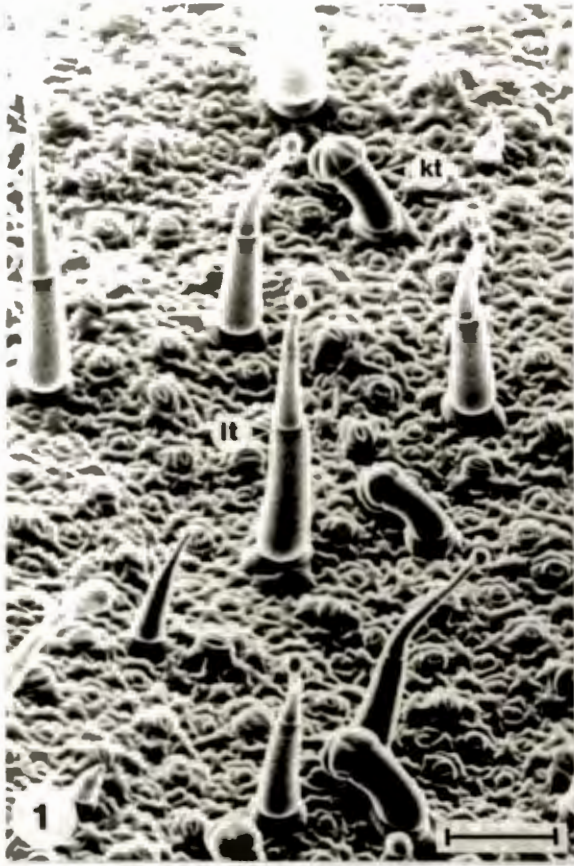
FIGUUR 1. Skandeerelektronmikrograaf van lang trigome en kort trigome op die blaar van *N. tabacum* cv. TL 33. Skaalmerker = 600 μ m.

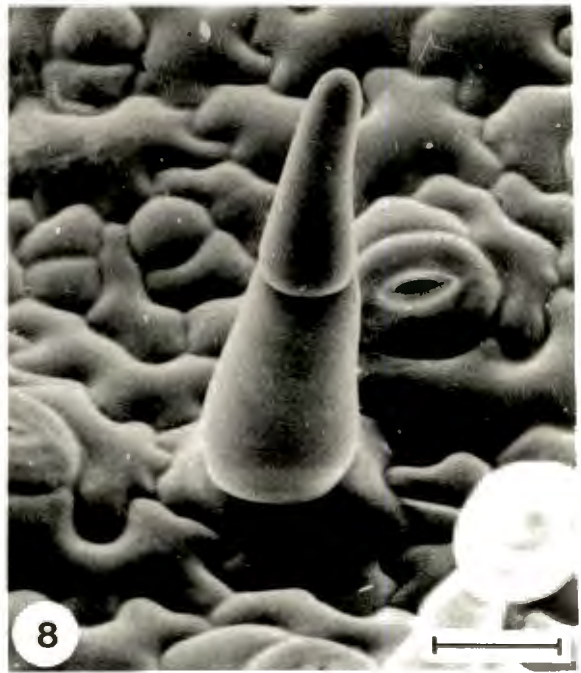
FIGUUR 2. Skandeerelektronmikrograaf van lang trigome met meersellige stele en eensellige koppe op die blaar van *N. tabacum* cv. TL 33. Skaalmerker = 400 μ m.

FIGUUR 3. Skandeerelektronmikrograaf van 'n meersellige kop van 'n lang trigoom op die blaar van *N. tabacum* cv. TL 33. Skaalmerker = 20 μ m.

FIGUUR 4. Skandeerelektronmikrograaf van 'n vertakte lang trigoom op die blaar van *N. tabacum* cv. Western Dark Nyassa. Skaalmerker = 300 μ m

kt - kort kliertrigoom
lt - lang kliertrigoom





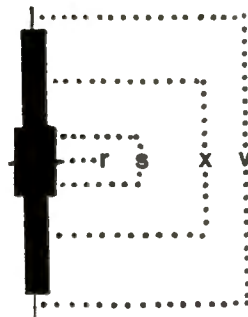


FIGUUR 11. Verhouding van kort trigome (kt) : lang trigome (lt) op die boonste blare van *N. tabacum*.

FIGUUR 12. Verhouding van kort trigome (kt) : lang trigome (lt) op die middelste blare van *N. tabacum*.

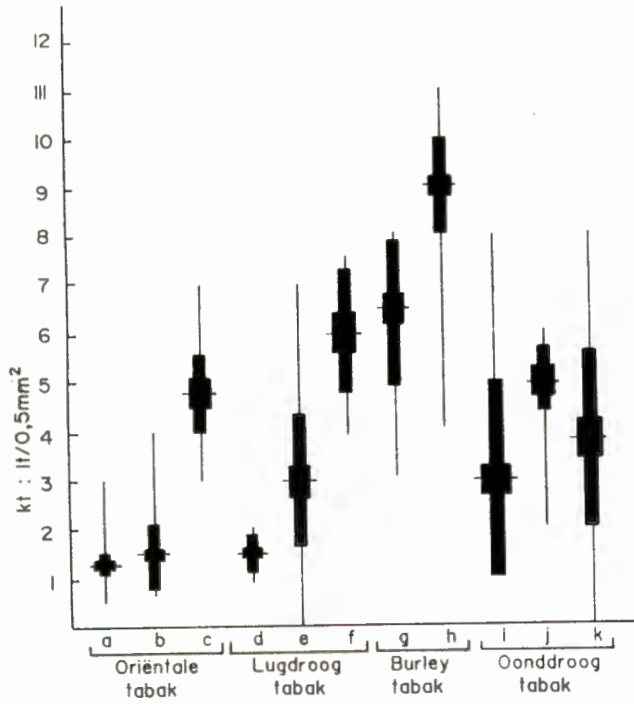
FIGUUR 13 Verhouding van kort trigome (kt) : lang trigome (lt) op die onderste blare van *N. tabacum*.

- | | |
|-------------------------|--------------------|
| a - Samsun Turks | g - Burley 21-52 |
| b - Corolla Elite Turks | h - Russian Burley |
| c - Elsenburg Soulouk | i - TL 33 |
| d - Groot Swazi 64 | j - Coker 411 |
| e - MA | k - Hicks |
| f - Western Dark Nyassa | |

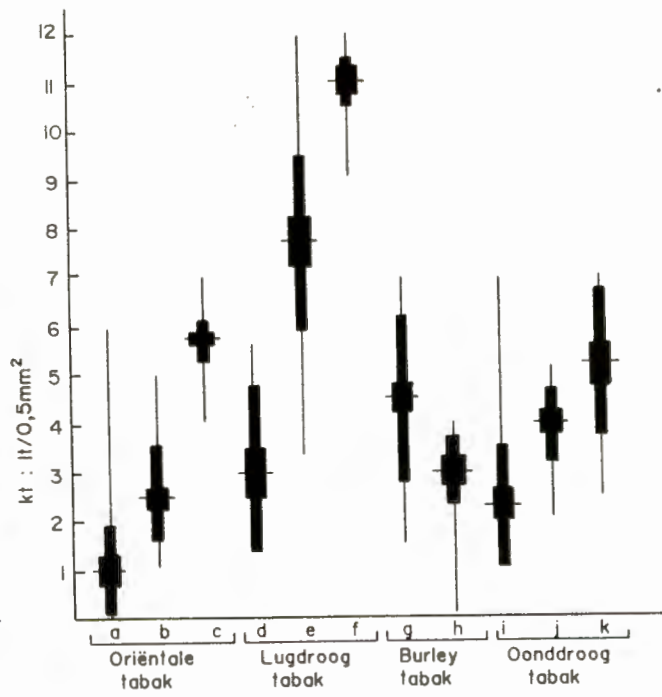


- | | |
|----------------------------|-----------------------|
| r - rekenkundige gemiddeld | s - standaardfout |
| v - variasie breedte | x - standaardafwyking |

Adaksiaal

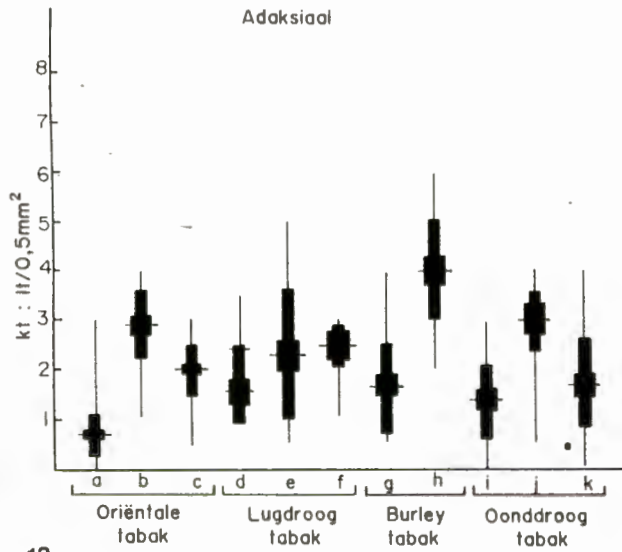


Abaksiaal

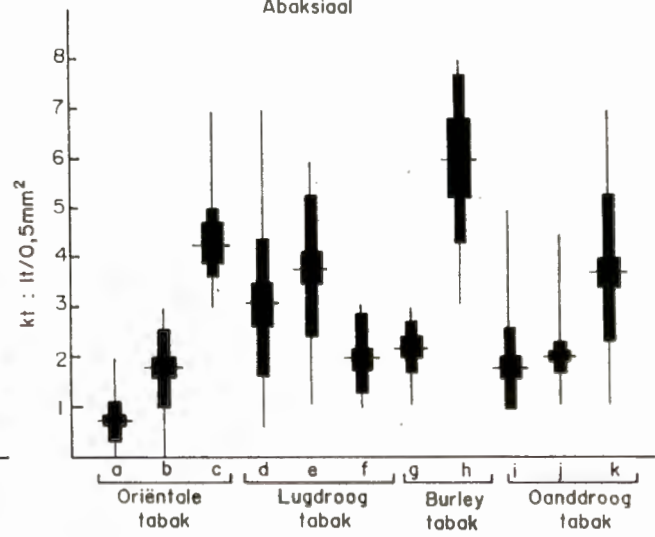


11

Adaksiaal

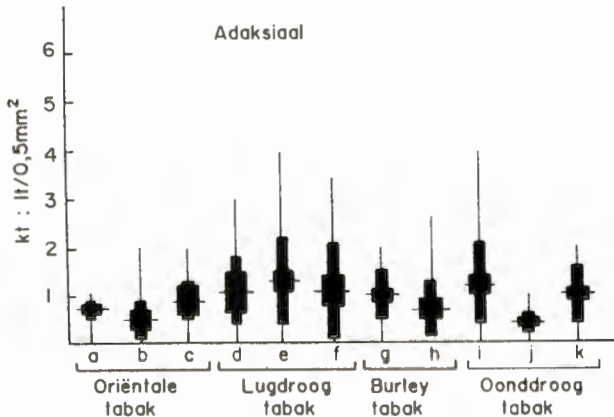


Abaksiaal

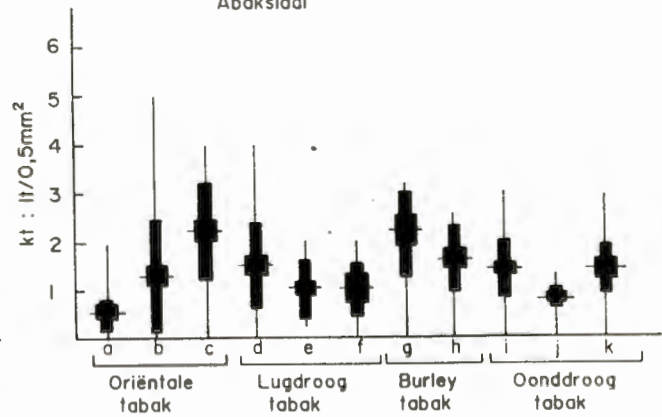


12

Adaksiaal



Abaksiaal



13

FIGURE 14 - 19. Skandeerelektronmikrograwe wat verspreiding van die trigome by die verskillende blaarposisies toon.

FIGUUR 14. Adaksiale oppervlak van 'n boonste blaar van *N. tabacum* cv. Groot Swazi 46. Skaalmerker = 200 μ m

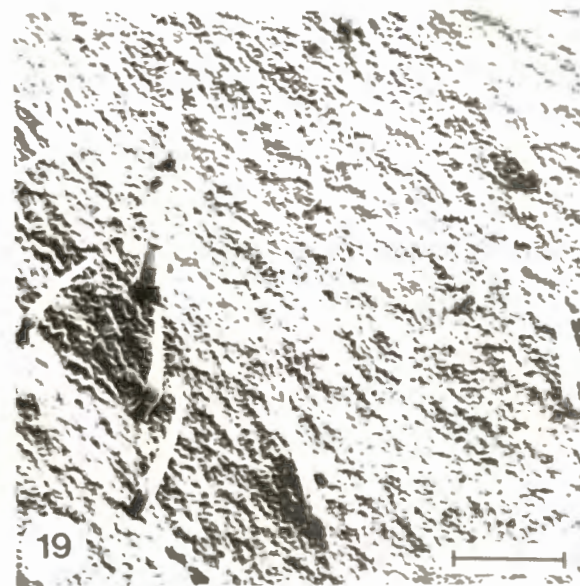
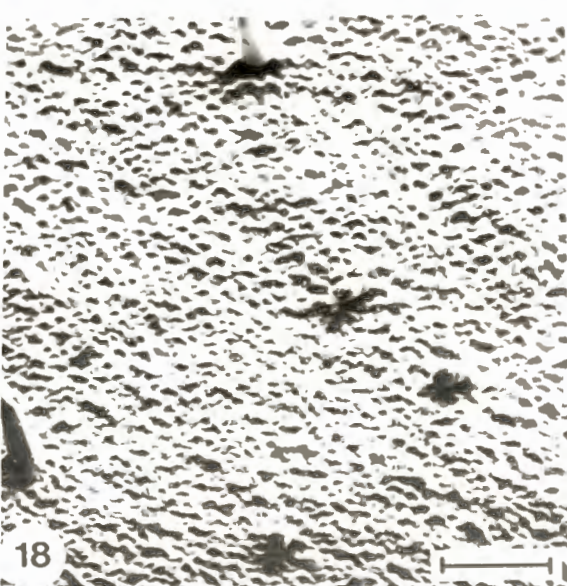
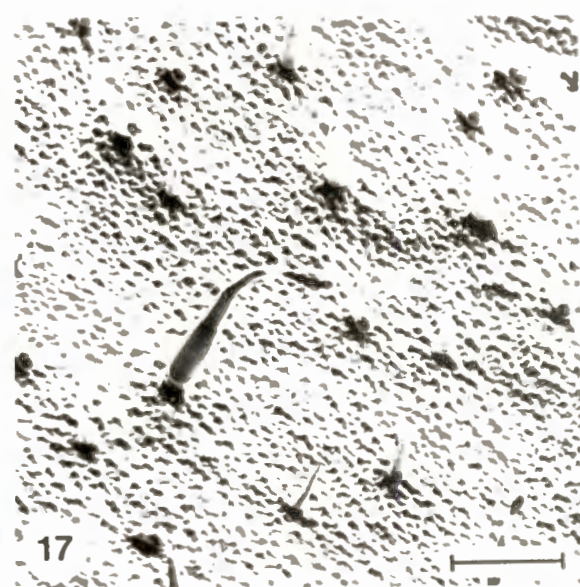
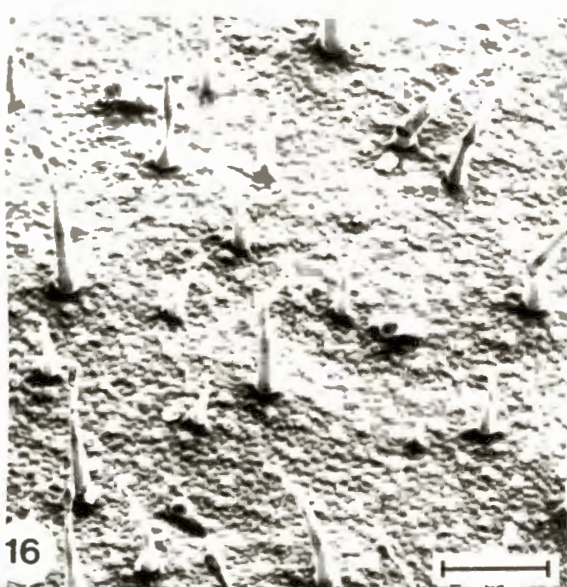
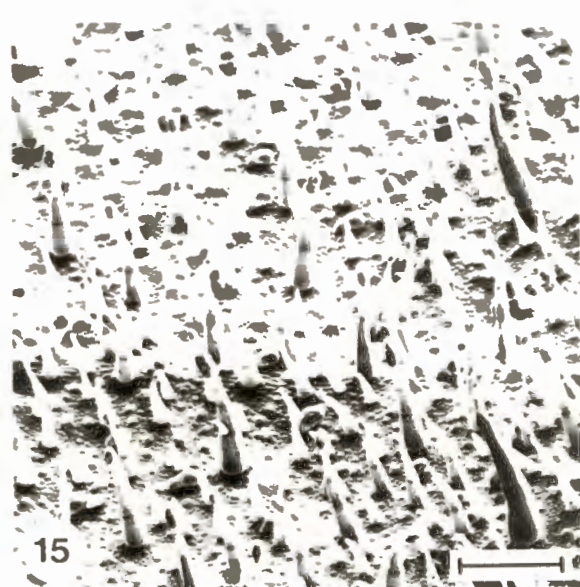
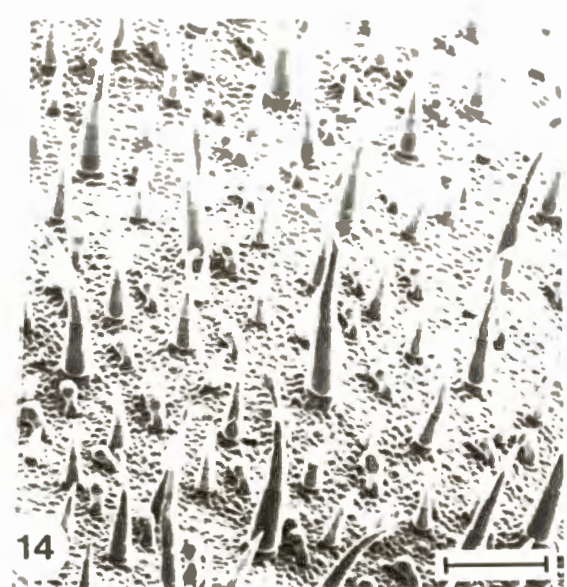
FIGUUR 15. Abaksiale oppervlak van 'n boonste blaar van *N. tabacum* cv. Groot Swazi 46. Skaalmerker = 200 μ m

FIGUUR 16. Adaksiale oppervlak van 'n middelste blaar van *N. tabacum* cv. Elsenburg Soulouk. Skaalmerker = 200 μ m

FIGUUR 17. Abaksiale oppervlak van 'n middelste blaar van *N. tabacum* cv. Elsenburg Soulouk. Skaalmerker = 200 μ m

FIGUUR 18. Adaksiale oppervlak van 'n onderste blaar van *N. tabacum* cv. MA . Skaalmerker = 200 μ m
2

FIGUUR 19. Abaksiale oppervlak van 'n onderste blaar van *N. tabacum* cv. MA . Skaalmerker = 200 μ m
2



4. ONTOGENIE VAN DIE TRIGOME

Elke protodermis is 'n potensiële trigoom (Netolitsky, 1932). Omgewings- en genetiese faktore beïnvloed die vermoë van 'n protodermis om in 'n trigoom te ontwikkel. Dieselfde faktore oefen ook 'n invloed uit op die tipe trigoom wat uit so 'n sel ontstaan (Johnson, 1975). Volgens Dell & McComb (1978) kan 'n protodermis, wat aan 'n trigoom gaan oorsprong gee, onderskei word van ander protodermisse deur die teenwoordigheid van digte sitoplasma.

Trigome kan eenmalig ontwikkel, soos in die geval van *Beyeria viscosa* (Labill.) Miq. (Dell & McComb, 1974) of kan voortdurend ontwikkel, soos by die skutblare van *Cannabis sativa* L., waar drie tipes trigome ontstaan gedurende die ontogenie van hierdie blare (Hammond & Mahlberg, 1973). Ontogenie van trigome kan op verskeie maniere plaasvind en verskil van spesie tot spesie asook van trigoomtipe tot trigoomtipe.

Slegs een beskrywing van trigoomontwikkeling by *Nicotiana tabacum* is beskikbaar (Bentley & Wolf, 1945). Geen lig- of elektronmikroskopiese werk is tot dusver in hierdie verband op enige verteenwoordiger van die Solanaceae gedoen nie, en daarom is dit in hierdie ondersoek nodig geag om ook die ontogenetiese ontwikkeling van die verskillende trigoomtipes by *N. tabacum* na te gaan. Daar is veral gelet op verskille in

die ontwikkelingspatrone van die twee tipes kliertrigome.

4.1 RESULTATE

4.1.1 KORT KLIERTRIGOME

Die eerste twee katafille van die saailing is sonder trigome (Figuur 20). Die trigome verskyn eers op die derde jongste blaar. 'n Kort kliertrigoom ontstaan deur uitstulping van die buitenste periklinale selwand van die protodermis (Figure 21, 22 & 36 i en ii). Die nukleus beweeg tot in die buitenste helfte van die sel waar dit verdeel. 'n Periklinale selwand word neergelê net bokant die vlak van die buitenste periklinale wand van die aangrensende epidermisselle, sodat die basale sel tussen die aangrensende epidermisselle ingewig is (Figure 23 & 36 iii). Die apikale sel ondergaan antiklinale sowel as periklinale delings om aan 'n meersellige kop oorsprong te gee (Figure 24 & 36 iv, v). Die basale sel se inhoud gaan mettertyd verlore. Die steelsel verleng en begin reeds op hierdie jong stadium na die blaarrand oorleun (Figure 25, 26 & 36 v). Die kort trigome ontwikkel reeds vroeg ten volle en neem mettertyd in grootte toe, sodat daar reeds volledig gedifferensieerde trigome op die derde gevormde blaar voorkom.

4.1.2 LANG KLIERTRIGOME

In die geval van die lang kliertrigome stulp 'n epidermissel ook aanvanklik uit, maar dit word nie dadelik deur 'n periklinale deling gevolg nie (Figure 27 - 29 & 37 i en ii).

Die sitoplasma van die epidermissel versamel binne die uitstulping en tydens verlenging van die sel bly die sitoplasma in die terminale punt gekonsentreer. Na aanvanklike selverlenging verdeel die sel en word dwarswande neergelê om 'n meersellige steel te vorm (Figure 30 & 37 iii en iv). Op hierdie stadium is 'n kopsel nog nie gevorm nie (Figuur 31). Eers na aansienlike verlenging en die vorming van een of meer dwarswande in die steel word die sitoplasma in die terminale punt deur 'n wand afgegrens (Figure 32 & 37 v en vi). Dwarswandvorming vind plaas wanneer die nukleus na die vlak beweeg waar die dwarswand gaan vorm, en dan verdeel. Die gevormde kopsel kan eensellig bly (Figuur 33) of verdere anti- en periklinale delings ondergaan om aan 'n meersellige kop oorsprong te gee (Figure 34 & 37 vii). Lang trigome kom aanvanklik hoofsaaklik op die abaksiale oppervlak van die saailingblaar voor (Figuur 35). Die lang trigome differensieer stadiger as die kort trigome en die eerste ten volle gedifferensieerde lang trigome verskyn eers na aansienlike vergroting van die saailingblaar.

4.1.3 NIE-KLIERTRIGOME

Ontogenetiese ontwikkeling van die nie-kliertrigome vind op dieselfde wyse plaas soos beskryf is vir die lang trigome, met dié verskil dat kopselle nie op die terminale punt ontwikkel nie (Figure 27 - 31 & 37 i - iii).

4.2 BESPREKING

Die ontwikkelingspatroon van die twee hooftipes kliertrigome

wat op die blare voorkom, verskil van mekaar ten opsigte van volgorde van selwandvorming (Figure 36 & 37). In die geval van die kort kliertrigome vorm die kopselle eerste, waarna die steelsel verleng. Daarenteen ontwikkel die steelselle van die lang kliertrigome eerste, waarna die kopsel op die terminale punt afgegrens word.

Dit is aanvanklik moeilik of selfs onmoontlik om te voorspel watter protodermis aan 'n trigoom gaan oorsprong gee en nog moeiliker om te voorspel watter tipe trigoom uit 'n spesifieke sel gaan ontwikkel. Nadat die protodermis egter begin uitstulp het, kan daar met redelike sekerheid voorspel word watter tipe trigoom gaan ontwikkel as gevolg van die verskil in papilvorm.

Volgens Oosthuizen (1983) bied die volgorde waarin die epidermis van *Pelargonium scabrum* (L.) L'Hérit. oorsprong gee aan die verskillende selle van die trigoom, 'n verklaring vir die verspreiding van selwandstowwe in die individuele selle.

Bentley & Wolf (1945) wat die kliertrigome by *Nicotiana tabacum* ondersoek het, het bevind dat trigome op die eerste twee blare ontbreek en dat die trigome eers vanaf die derde gevormde blaar voorkom. Verder het hulle bevind dat die trigome hoofsaaklik op die are en rande van die blare gekonsentreer is. Volgens hierdie outeurs kom daar aansienlik meer trigome op die vierde blaar voor as op die derde blaar.

FIGURE 20 - 26. Skanderelektronmikrograwe van die onto-
genetiese ontwikkeling van die kort kliertrigome van Nicotiana
tabacum cv. Burley 64

- FIGUUR 20. Saailingblaar sonder trigome. Skaalmerker =
200 μ m.
- FIGUUR 21. Eerste aanduidings van ontwikkeling van kort
kliertrigoom. Skaalmerker = 20 μ m.
- FIGUUR 22. Vergrotende jong trigoom. Skaalmerker = 5 μ m.
- FIGUUR 23. Jong kort kliertrigoom met eerste aanduidings van
kopsel. Skaalmerker = 5 μ m.
- FIGUUR 24. Jong kliertrigoom met meersellige kop en verlengde
steelsel. Skaalmerker = 20 μ m.
- FIGUUR 25. Ten volle gedifferensieerde kort kliertrigoom.
Skaalmerker = 10 μ m.
- FIGUUR 26. Adaksiale oppervlak van saailingblaar met kort
kliertrigome. Skaalmerker = 1mm.

ep - epidermissel
kp - kopsel
mkp - meersellige kop
stl - steelsel
us - uitstulping

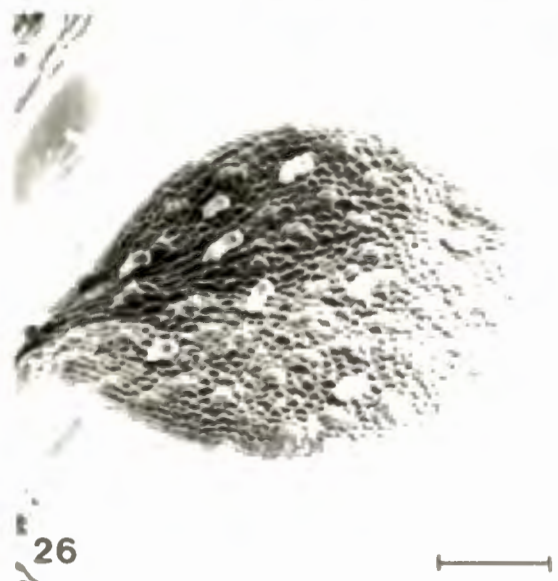
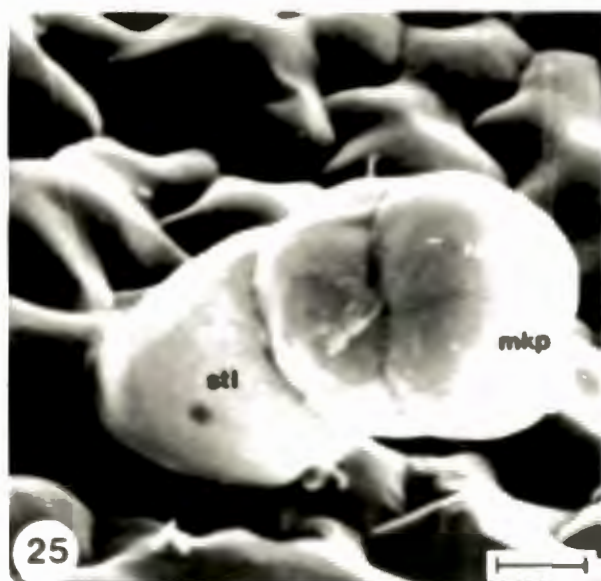
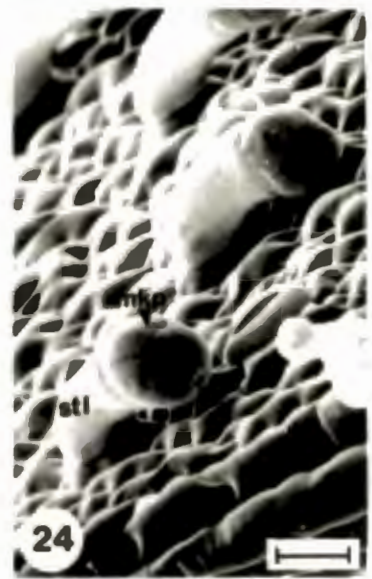
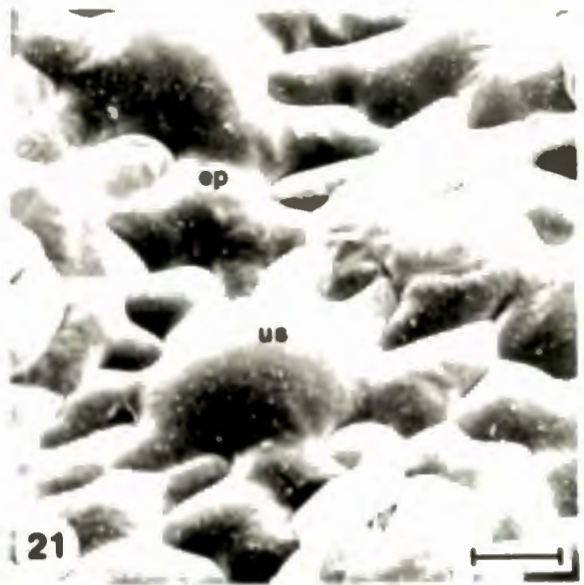
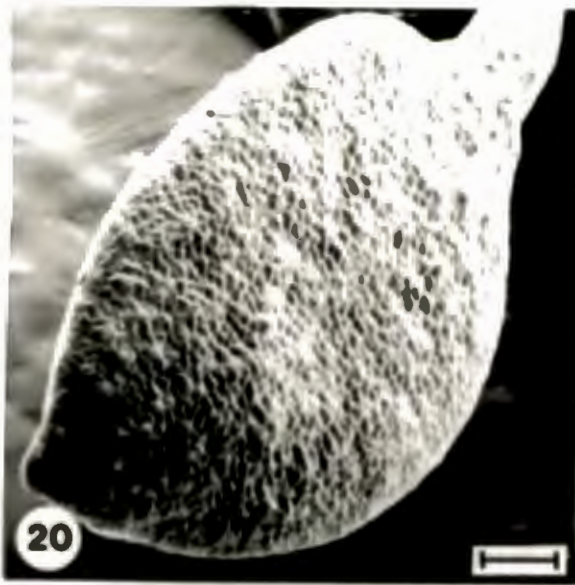


FIGURE 27 - 35. Skandeerelektronmikrograwe van die ontogenetiese ontwikkeling van die lang kliertrigome van Nicotiana tabacum cv. Burley 64

FIGURE 27. Eerste aanduidings van ontwikkeling van lang kliertrigoom. Skaalmerker = 15 μ m

FIGURE 28 & 29. Vergrotende jong lang trigoom.

Figuur 28. Skaalmerker = 20 μ m

Figuur 29. Skaalmerker = 10 μ m

FIGUUR 30. Verlenging van trigoominisiaal. Skaalmerker = 10 μ m

FIGURE 31. Dwarswandvorming in trigoominisiaal. Skaalmerker = 10 μ m

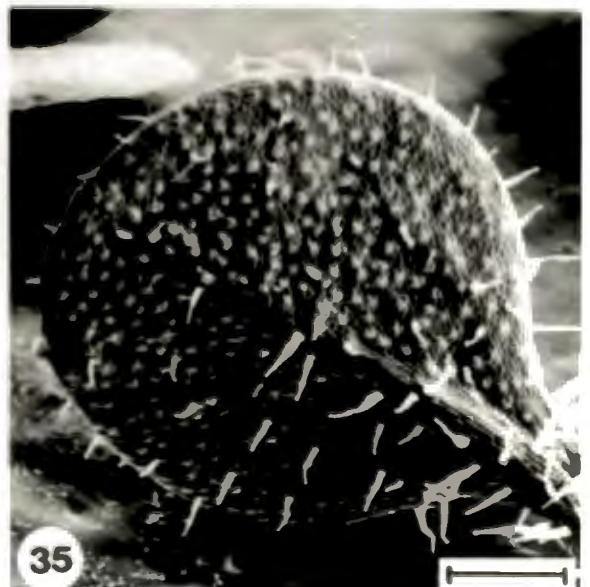
FIGUUR 32. Eerste aanduidings van ontwikkelende kopsel. Skaalmerker = 20 μ m

FIGUUR 33. Ten volle gedifferensieerde lang kliertrigoom met eensellige kop. Skaalmerker = 50 μ m

FIGUUR 34. Ten volle gedifferensieerde lang kliertrigoom met meersellige kop. Skaalmerker = 25 μ m

FIGUUR 35. Abaksiale oppervlak van saailingblaar met lang trigome. Skaalmerker = 0,5mm

- a - eerste gevormde selwand
- b - tweede gevormde selwand
- c - derde gevormde selwand
- kp - kopsel
- mkp - meersellige kop
- stl - steelsel
- us - uitstulping



FIGUUR 36. Diagrammatiese voorstelling van die volgorde van selwandvorming by 'n kort kliertrigoom.

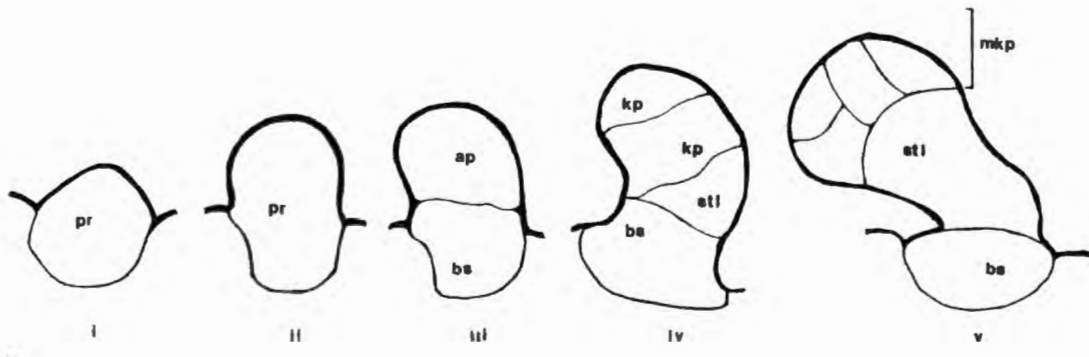
- Stadium i & ii. Geen dwarswandvorming.
- Stadium iii. Vorming van die eerste selwand.
- Stadium iv. Vorming van 'n meersellige kop.
- Stadium v Volwasse kort trigoom.

FIGUUR 37. Diagrammatiese voorstelling van die volgorde van selwandvorming by 'n lang kliertrigoom.

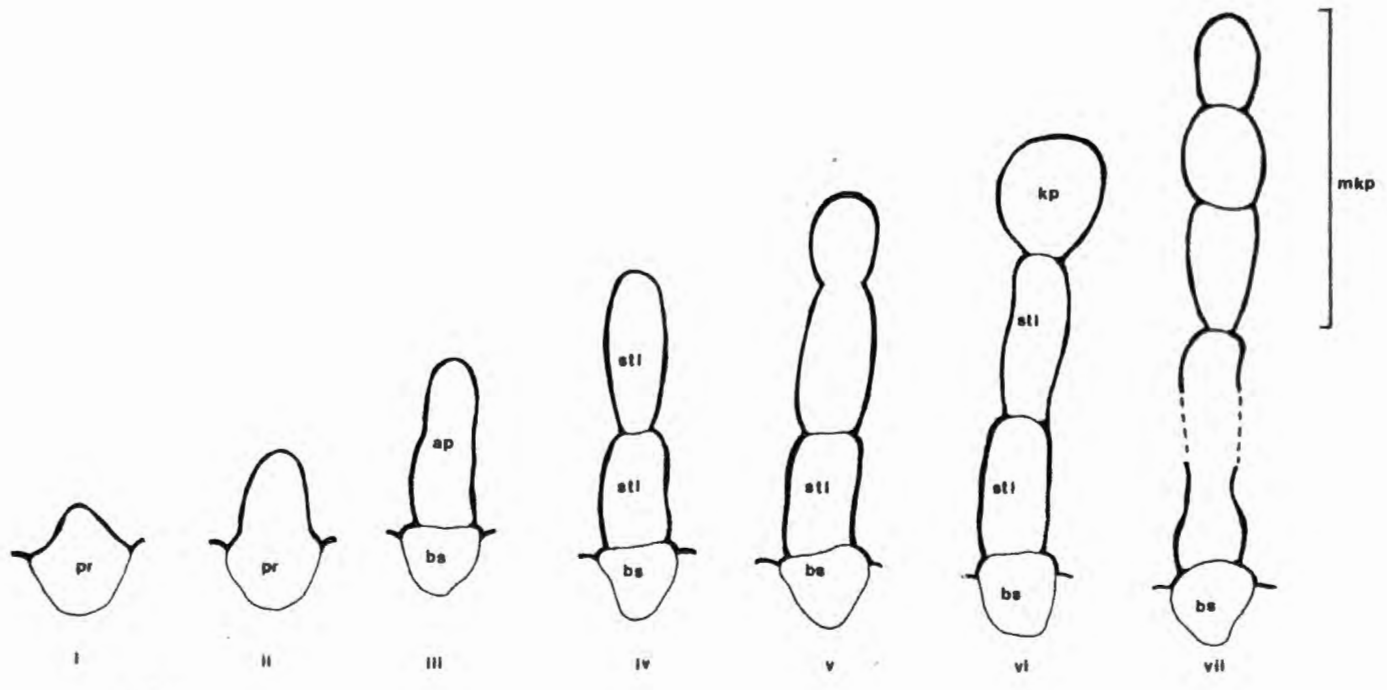
- Stadium i & ii. Geen dwarswandvorming.
- Stadium iii. Neerlegging van die eerste dwarswand.
- Stadium iv Neerlegging van die tweede dwarswand.
- Stadium v Eerste aanduiding van kopsel.
- Stadium vi Dwarswand vorm om aan 'n kopsel oorsprong te gee.
- Stadium vii Vorming van meersellige kop, terwyl verdere steelselle gevorm word.

ap - apikale sel
bs - basale sel
kp - kopsel

mkp - meersellige kop
pr - protodermis
stl - steelsel



36



37

5. SAMESTELLING VAN DIE SELWANDE EN INHOUD VAN TRIGOME

Die selwandsamestelling van trigome verskil dikwels van dié van die epidermis, en dit is dus belangrik om die aard van die trigoomwand deur middel van histochemiese toetse te bepaal (Peterson & Vermeer, 1984). Histochemiese kleuring is ook een van die eenvoudigste tegnieke om die hoofkomponentsamestelling van trigoomsekreet te bepaal.

Die ideale toestande vir histochemiese kleuringsreaksies is om van intakte lewende weefsel gebruik te maak, maar dit is nie altyd moontlik nie. 'n Alternatiewe metode is om handsneë te gebruik. Dit skakel die moontlikheid uit dat die selwandstowwe en ander komponente deur voorbereidingstegnieke verwyder mag word.

5.1 RESULTATE

Kutien

Al die ondersoekte kultivars se trigome het dieselfde reaksie met Sudan III getoon (Tabelle 2 - 4). 'n Dun lagie kutien kom in die buitewand van alle trigoomtipes voor, asook in die buitenste tangensiale selwande van die gewone epidermisselle.

Pektiese stowwe

Die verskillende trigoomtipes van *Nicotiana tabacum* het verskillende reaksies met Rutheniumrooi gegee. In die geval van die lang kliertrigome, het die selwande van beide die steelselle en die kopselle van al die kultivars 'n positiewe reaksie getoon (Tabel 2), terwyl in die geval van die kort

kliertrigome 'n positiewe reaksie slegs in selwande van die steelselle verkry is (Tabel 4). 'n Negatiewe reaksie is in die selwande van die kopselle verkry. Die negatiewe reaksie is waarskynlik daaraan toe te skryf dat groot hoeveelhede lipiede in en rondom hierdie selwande akkumuleer (Figuur 71) en dus die reaksie van Rutheniumrooi beïnvloed.

TABEL 2. Histochemiese kleuringsreaksies van die lang kliertrigome.

+ Positiewe reaksie

- Negatiewe reaksie

WANDSTOF	KLEURSTOF/REAGENS	KOPSELLE	STEELSELLE
Kutien	Sudan IV	+	+
Pektiese stowwe	Rutheniumrooi	+	+
Lignien	Fluoroglusinol	-	-
Lignien	Na-sulfietreaksie	-	-
Lignien	IKI - H ₂ SO ₄	-	+
Wandpolisakkariede	Schiff se reagens	+	+
Sellulose	IKI - H ₂ SO ₄	+	+
Proteïene	Kaliumsianiedreaksie	-	-
Lipiede	Osmiumtetroksied	+	+

SELINHOUD	KLEURSTOF/REAGENS	KOPSELLE	STEELSELLE
Lipiede	Sudan III	+	-
Lipiede	Sudanswart	+	-
Lipiede	"Oil Red" O	+	-
Suurlipiede	Nylblou	-	-
Neutrale lipiede	Nylblou	+	-
Koolhidrate	Schiff se reagens	-	-
Polifenole	Nitroso-reaksie	+	-
Proteïene	Coomassie BB	-	-
Stysel	IKI-reaksie	-	-
Chlorofil	Outofluoressensie	+	-
Essensiële olies	Outofluoressensie	+	-

TABEL 3. Histochemiese kleuringsreaksies van die nie-kliertrigome.

+ Positiewe reaksie - Negatiewe reaksie

WANDSTOF	KLEURSTOF/REAGENS	STEELSELE
Kutien	Sudan IV	+
Pektiese stowwe	Rutheniumrooi	+
Lignien	Fluoroglusinol	-
Lignien	Na-sulfietreaksie	-
Lignien	IKI - H ₂ SO ₄	+
Wandpolisakkariede	Schiff se reagens	+
Sellulose	IKI - H ₂ SO ₄	+
Proteïene	Kaliumsianiedreaksie	-
Lipiede	Osmiumtetroksied	+

Lignien

Alle kleuringsreaksies vir lignien by die verskillende trigoomtipes van *N. tabacum* was negatief (Tabel 2 - 4).

Wandpolisakkariede/sellulose

Beide die histochemiese kleuringsreaksies vir wandpolisakkariede (Schiff se reagens) en sellulose (IKI - H₂SO₄-reaksie) het 'n positiewe resultaat in die lang

trigome en kort trigome se selwande gegee (Tabel 2 - 4).

Lipiede Lipiede is skynbaar die hoofkomponent van die sekreet (Tabel 2 - 4) en dit is dus ook kwantitatief bepaal (Figuur 38). Die resultate verkry met die trigome van die boonste blare varieer baie en geen sinvolle afleiding kon hieruit gemaak word nie. In die geval van die middelste blare is dit duidelik dat die meer aromatiesse kultivars (Tabel 1) meer

lipiede per oppervlakte-eenheid vorm as die minder aromatiese kultivars. Hierdie tendens is die duidelikste in die geval van die onderste blare. Die afleiding kan dus gemaak word, dat daar nie 'n verband is tussen trigoomverspreiding (sien 3.1) en aromatiese kwaliteit nie, maar wel tussen hoeveelheid oppervlaksekreet en aromatiese kwaliteit.

TABEL 4. Histochemiese kleuringsreaksies van die kort kliertrigome.

+ Positiewe reaksie - Negatiewe reaksie

WANDSTOF	KLEURSTOF/REAGENS	KOPSELLE	STEELSEL
Kutien	Sudan III	+	+
Pektiese stowwe	Rutheniumrooi	-	+
Lignien	Fluoroglusinol	-	-
Lignien	Na-sulfietreaksie	-	-
Lignien	IKI - H ₂ SO ₄	-	+
Wandpolisakkariede	Schiff se reagens	+	+
Sellulose	IKI - H ₂ SO ₄	+	+
Proteïene	Kaliumsianiedreaksie	-	-
Lipiede	Osmiumtetroksied	+	+

SELINHOUD	KLEURSTOF/REAGENS	KOPSELLE	STEELSEL
Lipiede	Sudan III	+	-
Lipiede	Sudanswart	+	-
Lipiede	"Oil Red O"	+	-
Suurlipiede	Nylblou	+	-
Neutrale lipiede	Nylblou	-	-
Polifenole	Nitroso-reaksie	+	-
Koolhidrate	Schiff se reagens	-	-
Proteïene	Coomassie BB	-	-
Stysel	IKI-reaksie	-	-
Chlorofil	Outofluoressensie	-	-
Essensiële olies	Outofluoressensie	-	-

Essensiële olies

Die sekreet van die lang kliertrigome outofluoresseer geelgroen met ultravioletlig (Tabel 2) wat dui op die teenwoordigheid van terpene. Hierdie reaksie is waargeneem by lang kliertrigome van die boonste, middelste en verkleurde blare. Die kort kliertrigome het geen reaksie met die ultravioletlig getoon nie (Tabel 4).

Proteïene

Kleuring met Coomassie BB is veral gerig op die sitoplasmiese proteïene, en die kaliumsianiedreaksie op die strukturele proteïene. Negatiewe resultate is met albei hierdie reaksies verkry (Tabel 2 - 4).

Stysel

Die IKI-reaksie het 'n negatiewe resultaat ten opsigte van die teenwoordigheid van stysel gegee (Tabel 2 - 4).

5.2 BESPREKING

Die trigome van *Pelargonium* (Oosthuizen, 1983) toon soortgelyke reaksies vir kutien as die trigome van *N. tabacum*.

Werker & Fahn (1981) het bevind dat daar wel pektiese stowwe in die selwande van die kopselle van die trigome van *Inula viscosa* (L.) Ait. voorkom. 'n Negatiewe reaksie is egter verkry met Rutheniumrooi by die steelselle van hierdie trigome, ooreenstemmend met die resultate by trigome van *N. tabacum*.

Volgens Esau (1965) kom lignien wel in die selwande van trigome voor, alhoewel nie algemeen nie.

Akers et al. (1978) wat die trigome van *N. tabacum* cv. xanthi, 'n Oriëntale tabakkultivar, histochemies ondersoek het, het bevind dat die sekreet van die lang en kort kliertrigome sowel as die sekreet wat op die blaaroppervlak voorkom, positief kleur vir lipiede. Volgens Schepartz et al. (1982) is dit veral neutrale lipiede wat teenwoordig is. Solanesol, koolwaterstofwasse en neofitadien is van die neutrale lipiede wat deur laasgenoemde outeurs uit die blare van *N. tabacum* cv. NC 95 & LA 53 geïsoleer is. Vetsure wat voorgekom het, is sterole. Hierdie outeurs kom tot die gevolgtrekking dat die neutrale lipiede baie veranderinge ondergaan gedurende die drogingsproses. Die *N. tabacum* kultivars wat in hierdie ondersoek gebruik is, se lang trigoomkopselle kleur pienk met Nylblou by die boonste en middelste blare, terwyl by die onderste blare 'n ligpienk kleur in beide die kopselle en die steelselle, sowel as op die oppervlak van die epidermis, waargeneem is. Dit dui moontlik daarop dat die lipiede wat in die geval van die jonger blare in die trigome se kopselle gekonsentreer was, nou vrygestel is en op die blaaroppervlak voorkom.

Dit is moeilik om die bydrae van een komponent tot die aroma en geur van tabak te bepaal. Een van die metodes wat wel gebruik kan word, behels die bepaling van die sensoriese drempelwaarde van die komponent in 'n medium met die regte

polariteit (Kallianos, 1976). Indien die konsentrasie van die komponent die drempelwaarde oorskry, kan verwag word dat dit 'n definitiewe bydrae maak tot die aromatiese kwaliteit. Die enigste voorvereiste is dat die spesifieke komponent vlugtig moet wees gedurende verbranding. Vetsure voldoen aan hierdie vereiste. So is bevind dat komponente met lang vetsuurkettings lae aromatiese drempelwaardes het in 'n waterige medium en 'n hoë drempelwaarde in 'n oliërige medium, terwyl die omgekeerde waar is in die geval van kortkettingsvetsure (Kallianos, 1976). Daar kan volgens hierdie outeur met sekerheid aanvaar word dat die polariteite van die vetsure met twee en ses koolstofatome se drempelwaardes van só 'n aard is dat dit onder die konsentrasiewaarde is waarin hulle in tabak voorkom. Vetsure met 'n lae molekulêre massa dra dus definitief by tot die aromatiese kwaliteit van tabak. So dra sekere vetsure by tot die suur smaak van tabak, terwyl ander vetsure tot die soet, vrugte-agtige, wynagtige, botteragtige en kaasagtige smaak en aroma van tabak bydra (Kallianos, 1976). Schepartz et al. (1982) het bevind dat die neutrale lipiede wat in die tabakblaar voorkom, voorlopers is van aromatiese koolwaterstowwe in sigaretrook.

Die sekreet van die kliërtrogome van *Cannabis sativa* het nie gereageer met Sudankleurstowwe nie, maar wel blou gekleur met Nylblou (Furr & Mahlberg, 1981). Net soos in die geval van die kort trigome van *N. tabacum* dui 'n blou kleur nie noodwendig op die teenwoordigheid van lipiede nie, maar is

dit moontlik dat die trigome die kleurtof opneem. Die verskil tussen die reaksie by *C. sativa* en dié wat by *N. tabacum* waargeneem is, is dat die kort trigome van *N. tabacum* wel positief met Sudankleurstowwe kleur en daar dus met redelike sekerheid aanvaar kan word dat dit wel 'n positiewe reaksie is vir suurlipiede.

Volgens Oliveira & Pais (1988) dui die positiewe reaksie met osmiumtetroksied by die trigome van *Humulus lupulus* L. op die teenwoordigheid van onversadigde komponente in die sekreet, waarskynlik harpuis of essensiële olies. In die geval van die trigome op die boonste en middelste blare van *N. tabacum* reageer die kopselle positief met osmiumtetroksied, maar 'n afname in die affiniteit is by die ouer blare se trigome vir hierdie reagens waargeneem.

Polifenole

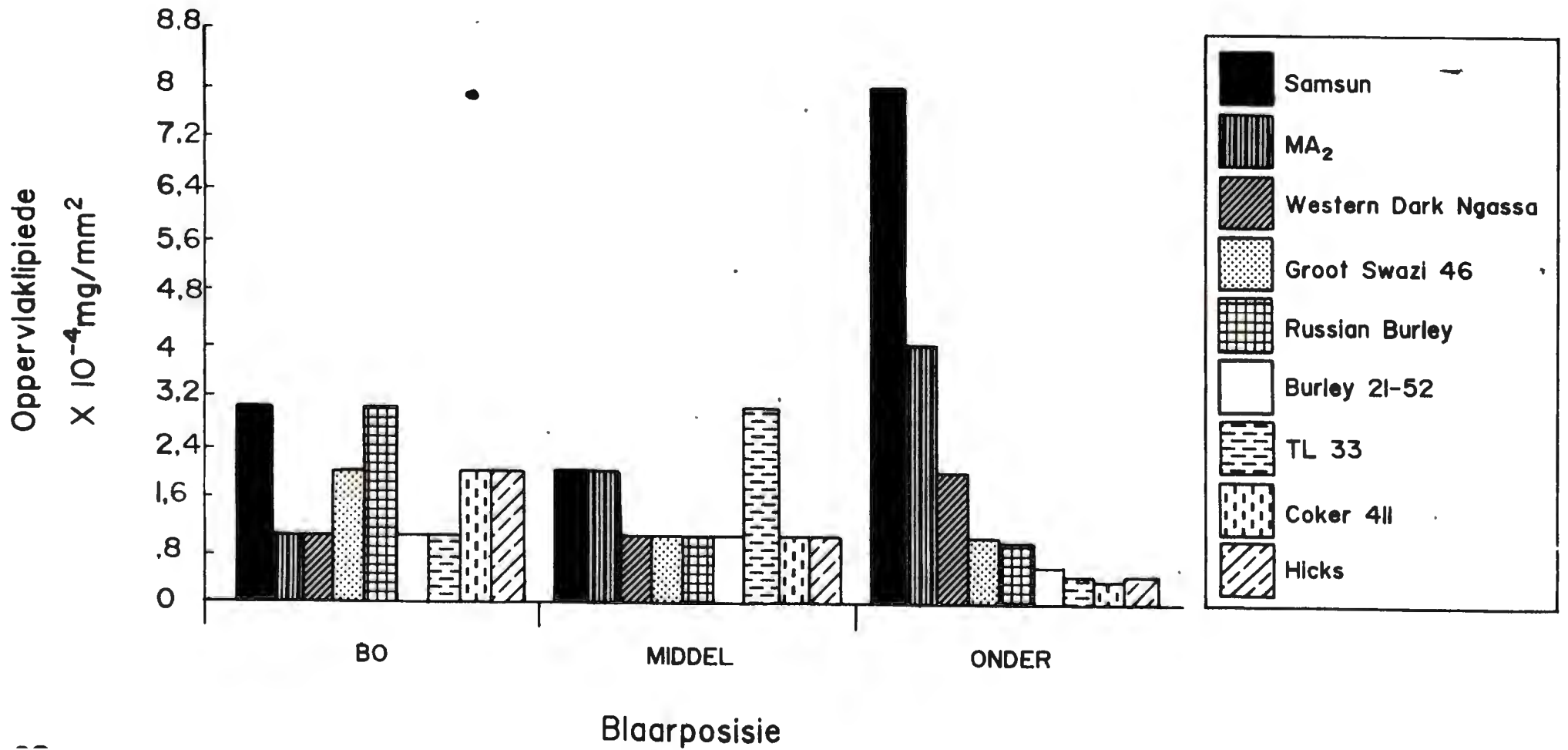
Die fenoliese verbindings van tabakblare is uniek in vergelyking met die ander blaarkomponente as gevolg van hulle verwantskap met beide die kleur en aroma, wat belangrike kriteriums is in die bepaling van die blaarkwaliteit. Die bydrae van fenole tot die aroma van die blaar is grotendeels beperk tot die lae konsentrasies van hoogs aromatiese, eenvoudiger fenole geassosieer met die essensiële olies van die blare (Wright et al., 1964). Fenole speel 'n rol as voorlopers van belangrike dihidroksibenseenkomponente van rook, soos katechol en hidroquinoon. Katechol is een van die mees algemene fenoliese verbindings in tabakrook. Polifenole en hulle pirolitiese produkte word beskou as een van die

karsinogene van tabak (Sheen, 1971). Die totale fenoliese inhoud varieer en is afhanklik van die tipe tabak wat gebruik word. Oonddroogtabak beskik oor 'n fenoliese inhoud van tot 7%, terwyl lugdroogtabak se fenoliese inhoud 0,05% of minder is (Kallianos, 1976). Volgens Penn & Weybrew (1958) dra die fenole direk by tot die kleur van die tabakblaar, maar is die bydrae wat dit maak tot die kwaliteit en aroma van die produk nie heeltemal duidelik nie, veral omdat fenole soveel veranderinge ondergaan gedurende die drogingsproses.

Fenoliese verbindings speel ook 'n rol as 'n verdedigingsmeganisme teen sekere insekte. Van die meer komplekse fenole dien as afskrikmiddel as gevolg van die onsmaklikheid daarvan. Die fenoliese verbindings wat wel in die blaartrigome van *N. tabacum* voorkom, dien waarskynlik nie as 'n afskrikmiddel nie, omdat insekte soos onder andere *Bemisia tabaci* (witvlieg), wat 'n ernstige plaag by *N. tabacum* is, moontlik deur die trigoomsekreet aangelok word.

Uit die literatuur blyk dit dat histochemiese kleuring dikwels aangewend word tydens die bestudering van sekreterende weefsel. Daar moet egter in gedagte gehou word dat min van die tegnieke werklik spesifiek is vir die bepaling van die presiese chemiese aard van byvoorbeeld sekreet en dat dit slegs 'n aanduiding kan gee van die hoofkomponente. Meer gevorderde tegnieke soos outoradiografie, chromatografie en X-straalanalise mag waardevolle inligting verskaf oor trigome en hulle sekreet.

FIGUUR 38. Histogram wat die hoeveelheid oppervlaklipiede van die onderskeie kultivars by die verskillende blaarposisies aantoon.



6. ULTRASTRUKTURELE BOU VAN DIE KOPSSELLE VAN DIE LANG EN KORT KLIERTRIGOME

Kliertrigome mag morfologies en anatomies soveel van mekaar verskil dat hulle as taksonomiese kriterium gebruik kan word. Die trigome beskik egter ook oor baie ooreenstemmende ultrastrukturele kenmerke wat lig mag werp op die aard en moontlike funksie van die sekreet.

Daar is gepoog om te bepaal of 'n verband bestaan tussen die aard van die sekreet en die ultrastrukturele bou van die kliertrigome. Nieteenstaande die feit dat daar al verskeie kere gepoog is om die oorsprong van die aroma van tabak te bepaal (Kallianos, 1976; Chang et al., 1985) is die ultrastruktuur van die trigome nie voorheen ondersoek nie.

6.1 RESULTATE

6.1.1 LANG KLIERTRIGOME

Op die boonste blare kom die plastiede versprei in die kopselle van die lang kliertrigome voor (Figuur 39). Die plastiede is opvallend gelob soos in deursneë gesien (Figuur 40), met 'n swakker ontwikkelde membraansisteem as dié van die fotosinterende weefsel van die blaar. Die stroma van die plastiede is medium elektrondeurlatend (Figuur 41) en lipieddruppels, soortgelyk aan dié wat in die sitoplasma voorkom, kom daarin voor (Figuur 41). Klein elektrondeurlatende "vesikels" kom op die periferie van die plastiede voor (Figuur 41). Dit is nie duidelik of hierdie

"vesikels" met die binneste membraan van die plastied in verbinding is nie. In die geval van die kopselle van die lang trigome van die middelste blare is die plastiede gelob met 'n swak ontwikkelde membraansisteem (Figuur 42). Die plastoglobule is medium elektrondeurlatend met 'n elektrondigte rand (Figuur 42). Klein elektrondeurlatende "streke" kom op die periferie van die plastiede by die middelste blare se trigome voor (Figuur 42). Hierdie middelste blare se trigome begin reeds tekens van veroudering toon. Die plastiede van die onderste blare se trigome is ook gelob, met medium elektrondeurlatende stroma (Figuur 43). Die plastoglobule is medium elektrondeurlatend met rande wat elektrondig vertoon (Figuur 43). Elektrondeurlatende areas is nou prominent op die periferie van die plastiede (Figuur 43). In ouer blare verander die plastiede na chromoplaste (Figuur 44), en 'n duidelike verandering in die fluoressensie van die trigoomkop vind plaas, naamlik van rooi na geelgroen.

Die mitochondrions, wat by die boonste blare se trigome deur die sel versprei is, is medium elektrondeurlatend met opgeswelde kristas (Figuur 45). Die mitochondrions van die kopselle van die middelste en onderste blaar se trigome is klaarblyklik in die perifere streek van die trigoomkopselle gerangskik (Figuur 46). Elektrondigte globule wat nie so prominent by die jong blaartrigome waargeneem is nie, kom by die middelste en onderste blare se trigome voor (Figuur 46).

Tubulêre endoplasmiese retikulum (TER) is in noue kontak met die plastiede en mag moontlik met die buitenste membraan van

die plastiede (Figuur 47) of mitochondrions versmelt wees (Figuur 48). Andersins kom die TER versprei in die sel voor en vertak dikwels om 'n uitgebreide netwerk te vorm (Figuur 48 & 49). Die TER se elektroneurlatenheid is soortgelyk aan dié van die lipieddruppels wat vry in die kopselle voorkom (Figuur 49). By die middelste blare se trigome is die TER veral in die omgewing van die buitewand van die kopsel gerangskik. Die endoplasmiese retikulum (ER) van die trigoomkopselle van die onderste blare is nie meer so opvallend uitgebeeld nie en die enkele stringe wat voorkom is geassosieer met die plastiede. Op hierdie stadium is die growwe endoplasmiese retikulum (GER) meer prominent as die TER (Figuur 50) soos wat by die jonger blare se trigome voorkom.

Slegs een nukleus kom per kopsel voor. Dit is sentraal geleë met 'n reëlmatige, ronde voorkoms (Figuur 51).

By die boonste en middelste blare se trigome is die vakuole en vesikels nie op 'n vasgestelde posisie in die selle nie. Die vakuole word omsluit deur 'n duidelik onderskeibare tonoplast, terwyl granulêre (Figuur 52) en lipiedagtige (Figuur 53) materiaal in die vesikels voorkom. Vesikels met elektroneurlatende inhoud vul 'n groot gedeelte van die kopselle van die lang trigome van die onderste blare (Figuur 54).

Die diktiosome is deurgaans skynbaar onaktief en bestaan uit drie of vier sisternums met enkele geassosieerde vesikels

(Figuur 46).

Plasmodesmas kom by al drie blaarposisies, veral tussen die basale kopsel en die terminale steelsel, voor (Figuur 55).

Ribosome kom algemeen in die selle voor as vrye ribosome of polisome by al drie blaarposisies.

In die geval van die boonste blare se lang trigome kan die plasmalemma óf in noue kontak met die selwand wees óf kan daarvan los gaan as gevolg van stowwe wat in die ekstraplasmiese ruimte versamel (Figure 52 & 56).

Plasmatabule met korrelrige inhoud wat in die ekstraplasmiese ruimte voorkom, word deur 'n membraan omsluit, wat ooreenstem in tekstuur en struktuur met dié van die plasmalemma (Figuur 57). Geen veranderinge kan in die selwand waargeneem word waar die plasmatabule voorkom nie. Hierdie kenmerke kom by die plasmalemma in die geval van die boonste, middelste en onderste blaartrigome voor. Die plasmalemma is nie uitsonderlik gegolf soos verwag sou word by aktief sekreterende weefsel nie (Figure 61 & 62).

Ander aanduidings van sekreetvorming of voorlopers van sekreet, behalwe vir die granulêre materiaal wat in die vesikels aangetref word en dié wat in die ekstraplasmiese ruimte versamel, is enkele lipieddruppels in vesikels of andersins konglomerate of enkele lipieddruppels in die sitoplasma. Hulle vertoon medium elektrondeurlatend, met 'n meer elektrondigte rand (Figure 58 & 59). Die effens

geriffelde voorkoms wat hierdie druppels het, kan moontlik toegeskryf word aan die feit dat lipiede moeilik fikseer en dus ook moeilik sny. By sommige kultivars is hierdie druppels elektrondig, wat moontlik daarop dui dat dit tannienagtige verbindings mag wees. In ouer trigome is, behalwe vir lipiedagtige druppels wat in die plastiede voorkom, min ander lipieddruppels in die sitoplasma waargeneem (Figuur 54).

Die selwand is opgebou uit sellulose fibrille en 'n dun kutikula. Geen sub-kutikulêre ruimte kom in die kopselle van die trigome van die boonste blare voor nie (Figuur 60).

By die kopselle van die trigome van die middelste blare vertoon die selwand diffuus. Die kutikula gaan, waarskynlik as gevolg van versameling van sekreet, los van die selwand en is slegs met enkele fibrille daarmee in verbinding (Figuur 61). Elektrondeurlatende streke wat in die selwand waargeneem is, mag moontlik sekreet wees wat deur die selwand beweeg (Figuur 62). Hier kan nie na 'n subkutikulêre ruimte verwys word nie, omdat, sover waargeneem, die kutikula nie heeltemal van die selwand losgaan nie. Die selwand van die trigome van die onderste blare se voorkoms verskil nie van dié van die middelste blare se trigome nie.

6.1.2 KORT KLIERTRIGOME

Min plastiede kom in die kopselle van die kort kliertrigome voor, in teenstelling met die groot aantal mitochondrions wat teenwoordig is (Figuur 63). Die vorm van die plastiede

wissel, soos in deursnee gesien, van rond tot gelob (Figuur 64). Die stroma is medium elektrondeurlatend met feitlik geen onderskeibare interne membraanstruktuur nie (Figuur 64). Die plastiede is leukoplaste omdat hulle, in teenstelling met dié wat in die lang trigome voorkom, geen chlorofil bevat nie (Tabelle 2 & 4). Lipiedagtige globule wat 'n groot gedeelte van die plastied se inhoud uitmaak, is in enkele kultivars waargeneem (Figuur 64). Geen styselkorrels is in die plastiede waargeneem nie. Die enkele leukoplaste wat in die middelste blare se trigoomkopselle voorkom, het 'n reëlmatige ronde voorkoms met enkele tilakoïede (Figuur 65). Elektrondeurlatende vesikels kom hoofsaaklik op die periferie van die plastied voor (Figuur 65). Ronde elektrondigte areas kom saam met kleiner, medium elektrondigte globule in hierdie plastiede voor (Figuur 65). Die leukoplaste van die onderste blare se trigoomkopselle is gelob met elektrondigte matrys (Figuur 66). Elektrondeurlatende vesikels kom ook op die periferie van die plastiede voor (Figuur 66).

In teenstelling met die lang trigoomkopselle se gladde TER, het die kort trigome GER. Hierdie GER, wat veral op die periferie van die kopselle voorkom, is in plate gerangskik parallel aan die oppervlak van die sel (Figuur 67) en versmelt skynbaar met die mitochondrions (Figuur 68). Die inhoud is heeltemal elektrondeurlatend en die buisvormige strukture neig om veral by die punte op te swel om klein vesikels te vorm (Figuur 69). Geen variasie in die voorkoms van die GER is by die verskillende blaarposisies waargeneem

nie.

Die mees opvallende kenmerk van die kort trigoomkopselle is die groot aantal mitochondrions wat aanwesig is (Figuur 70). Hierdie organelle beslaan 'n groot persentasie van die selinhoud (Figure 70 & 71). Die kristas dui op hoë aktiwiteit en die matrys vertoon medium elektrondeurlatend. By die middelste blare kom steeds 'n groter aantal mitochondrions voor as plastiede. Hulle vorms soos in deurneë gesien, wissel van rond tot verleng of gelob (Figuur 72). Die mitochondrions van die onderste blare se trigoomkopselle vertoon net so aktief soos dié van die jonger blare (Figuur 73).

Die enkele nukleus wat by alle blaarposisies effens gelob vertoon kom in die sentrale gedeelte van die sel voor. Een of twee nukleolusse kom voor (Figuur 63).

Hierdie trigome se kopselle word gekenmerk deur een of meer groot vakuole en/of kleiner vesikels met duidelike tonoplaste (Figuur 74). In gevalle waar sekreetvrystellig nog nie 'n aanvang geneem het nie, kom vesikels met granulêre materiaal of elektrondigte globule versprei in die sel voor. (Figuur 74). By trigome van die boonste, middelste en onderste blare wat aktief sekreet vorm en vrystel, word feitlik die hele sel deur vesikels en/of vakuole in beslag geneem (Figuur 75). Trigome waar sekreetvrystelling nie meer plaasvind nie, het 'n vakuool wat die hele sel feitlik vul. Die sitoplasma wat nog hier teenwoordig is, is wandstandig.

By sommige trigome kom kristalsand in die vesikels voor (Figuur 88), wat veroorsaak dat die sneë hier maklik skeur.

Meer diktiosome kom by die kort trigome voor as by die lang trigome. Hierdie organelle kom veral in die omgewing van die selwand van die boonste en middelste blare se trigome voor. Elke diktiosoom bestaan uit vier tot ses sisternums met geen geassosieerde vesikels nie (Figure 76 & 87). Geen diktiosome is by die onderste blaar se trigome waargeneem nie.

Vrye ribosome en polisome saam met die ribosome wat met die GER geassosieer is, gee aan die sitoplasma 'n digte voorkoms (Figure 67, 70 & 77).

Sekretdruppels wat in die kort trigome voorkom, is meer elektrondig as dié van die lang trigome (Figure 76 & 78), wat daarop dui dat dit moontlik tannienagtige verbindings mag wees. Anders as in die geval van die lang trigome kom hierdie druppels nie versprei in die sitoplasma voor nie, maar binne die vakuole en/of vesikels (Figuur 74) of in die ekstraplasmiese ruimte (Figuur 65 & 78).

Die voorkoms van die plasmalemma stem ooreen by die verskillende blaarposisies en wissel van glad en reguit tot gegolf (Figuur 76). In sommige gevalle is die plasmalemma onder die selwand geleë, terwyl dit andersins met die talle elektrondigte globule geassosieer is en moeilik onderskeibaar is (Figuur 77).

Die globule wat meesal elektrondig is, versamel in die

ekstraplasmiese ruimte (Figure 65 & 78). In sommige kultivars is hierdie globule wat ook binne die selwand waargeneem kan word, elektrondeurlatend (Figuur 79). Tesame met die globule wat in die ekstraplasmiese ruimte voorkom, kom klein buisies en vesikels ook voor (Figuur 80). Hierdie buisies, beter bekend as plasmatubule, se inhoud is effens elektrondig (Figuur 80). Die plasmatubule is nie beperk tot spesifieke posisies in die selle nie, maar is in die omgewing van sowel die buitewande as die binneste antiklinale en periklinale selwande aangetref.

Die selwand tussen aangrensende selle het wandinsluitings wat fibrillêr vertoon en meer elektrondeurlatend is as die selwand (Figuur 81). Soortgelyke strukture is ook prominent waar 'n dwarswand by die buitewand aansluit (Figuur 82). Die kutikula is baie dikker (0,22 μm) as die selwand (0,1 μm) en bestaan uit 'n fibrillêre laag (Figuur 83).

Sekretvrystelling

Sekretvorming en -vrystelling is nie beperk tot trigome by sekere blaarposisies nie, maar is 'n proses wat reeds by baie jong blare begin en voortdurend plaasvind tot by die verouderde blare. Die gevormde sekret beweeg deur die plasmalemma en deur die ekstraplasmiese ruimte tot teen die selwand (Figuur 84). Hier reageer sekere van die sekretkomponente moontlik met die selwandkomponente en raak sigbaar as mediuielektrondigte globule binne die selwand (Figuur 85). Mettertyd beweeg die sekret deur die selwand en word aanvanklik deur die kutikula gestuit (Figure 85 & 86).

Die drukking van die sekreet wat deur die selwand beweeg, veroorsaak dat die kutikula van die selwand weggedruk word om 'n subkutikulêre ruimte te vorm (Figure 86 & 87). Sekere sekreetkomponente is waarskynlik elektroneurlatend omdat die subkutikulêre ruimte in sommige gevalle "leeg" vertoon (Figure 87 & 88). Sekreetvrystelling vind plaas deur óf die drukking van die sekreet, óf deur meganiese beskadiging van die kutikula (Figuur 89).

Die steelselle van die kort kliertrigome vertoon inhoudloos.

6.2 BESPREKING

In die geval van die lang trigome tree veroudering reeds by die middelste blare in. In die geval van die kort trigome begin hulle op die boonste blare aktief sekreet vorm en vrystel. Daarna begin die sel tekens van veroudering toon. Hierdie aspekte is wel in ag geneem by die interpretasie en bespreking van die resultate.

6.2.1 LANG TRIGOME

Die plastiede in die kopselle van die lang trigome van *Nicotiana tabacum* stem ooreen met leukoplaste wat by ander trigome, waarvan die sekreet lipofilies is, voorkom, met dié verskil dat chlorofil in die plastiede van die blaartrigome van *N. tabacum* voorkom, soos aangetoon deur middel van outofluoressensie tegnieke. Hier kan dus nie verwys word na leukoplaste nie. Aangesien die interne struktuur van hierdie organelle van dié van chloroplaste verskil word na die

organelle as plastiede verwys. Die trigome wat lipofiliese sekreet vorm by *Psychotria* Val., *Arctrium* en *Calceolaria* (Schnepf, 1969b), *Beyeria viscosa* (Labill.) Miq. (Dell & McComb, 1974) en *Eremophila* F. Meull. (Dell & McComb, 1977), het almal plastiede sonder 'n interne membraansisteem. Uitsonderings kom wel by plastiede van trigome van *N. tabacum* voor, soos reeds deur Akers et al. (1978) waargeneem. Hierdie uitsonderings kan óf aan die fisiologiese ouderdom van die trigoom gekoppel word óf aan die fisiese toestand van die trigoom of die plant.

Gelobte plastiede is kenmerkend van die boonste, middelste en onderste blare se lang trigoomkopselle. Dit dui daarop dat die plastiede reeds by jong blare betrokke is by sekreetvorming en dat hierdie proses voortdurend plaasvind. Deur die driedimensionele struktuur van die plastiede van *Hygrophila difformis* te ondersoek, het Rohr et al. (1980) bevind dat die morfologiese veranderinge wat die plastiede ondergaan van 'n eenvoudige vorm by jong, onaktiewe trigome tot komplekse, gelobte plastiede by sekreterende trigome, bo alle twyfel daarop dui dat die organelle direk betrokke is by die sintese en akkumulering van sekreet. Die gelobte vorm van die plastiede kan dus toegeskryf word aan die beskikbaarstelling van 'n vergrote oppervlak vir stofuitruiling tussen die plastied en veral die periplastidale TER.

'n Plastied wat lipofiliese stowwe sekreter, word gekenmerk deur die teenwoordigheid van TER (Fahn, 1988). Die

kliertrigome van *Beyeria viscosa* (Dell & McComb, 1974), *Arctrium* en *Calceolaria* (Schnepf 1969a) het TER wat die plastied omring, soortgelyk aan dié wat by blaartrigome van *N. tabacum* voorkom. Die belang van die plastied-ER assosiasie wat prominent is in die sekreterende selle net voor sekreetvorming begin, lê volgens Galatis & Apostolakos (1977) in die betrokkenheid van die ER by die vervoer van oplosbare koolhidrate of ander produkte van en na die plastiede óf daarin dat die ER betrokke is by die vervoer van stowwe wat nodig is vir plastieddifferentiasie. Die ER kan, behalwe vir intersellulêre vervoer van lipofiliese stowwe, ook deelneem aan die sintese daarvan (Fahn, 1988). Benayoun & Fahn (1979) en Mikulska & Zolnierowicz (1976) het verbindings tussen die buitenste membraan van die plastiede en die TER waargeneem.

'n Verdere kenmerk van selle wat lipofiliese stowwe sekreter, is die teenwoordigheid van plastoglobule in die plastiede (Fahn, 1988). Die geleidelike verandering in elektron=deurlatenheid van die plastoglobule van elektrondig by die trigome van jong tabakblare tot medium of selfs heeltemal elektrondeurlatend by die trigome van verkleurde blare, is 'n moontlike aanduiding dat van die lipiede gebruik word in die sintese van sekreetvoorlopers. Dit is ook moontlik dat dit vir ander chemiese reaksies gebruik word. Elektrondigte plastoglobule is ook in die chloroplaste van die kliertrigome van *Psychotria* (Horner & Lersten, 1968) en *Nicotiana* (Akers et al., 1978) waargeneem.

Volgens Dell & McComb (1977), Akers et al. (1978) en Swanson et al. (1980) kan membraanvesikels of tubule op die periferie of 'n goed ontwikkelde membraansisteem in die stroma van die plastiede voorkom. Hierdie membraansisteem het soms 'n kort lewensduur en ontwikkel aan die begin of aan die einde van die sekresiesiklus (Maron & Fahn, 1979). Volgens laasgenoemde outeurs is dit moontlik dat die elektrondeurlatende vesikels of tubule voor fiksering moontlik ook met lipiede of lipiedvoorlopers gevul kon gewees het. Dieselfde afleiding kan ook gemaak word in die geval van die plastiede van blaartrigome van *N. tabacum*. Alhoewel die verskynsel by al drie blaarposisies waargeneem is, het dit nie by al die sneë voorgekom nie wat moontlik aan verskille te wyte aan tyd van versameling of ander eksterne faktore, toegeskryf kan word.

Die plastiede wat in die blaartrigome van *N. tabacum* voorkom, is hoofsaaklik verantwoordelik vir lipiedsintese wat 'n kontinue proses is en plaasvind gedurende die ontwikkeling van die blaar. Die resultate stem grootliks met die literatuur oor lipiedsekreterende trigome se plastiede ooreen. Die afwesigheid van stysel in die chloroplaste van *N. tabacum* dui daarop dat hierdie plastiede betrokke is by die sintese van lipiede. In ander genusse is die funksie van die plastiede die sintese van lipiede of die sintese van lipofiliese produkte of om lipiede te berg of te vervoer (Schnepf, 1974). Vervoer van sekreet of sekreetvoorlopers na

en van die plastiede is waarskynlik die belangrikste funksie van die TER by die lang blaartrigome van *N. tabacum*. Volgens Harris (1986) is die endoplasmiese retikulum die punt van oorsprong van die meeste membraansisteme in die sel, asook die punt van oorsprong van die meeste proteïene en lipiede wat betrokke is by óf intersellulêre neerlegging óf ekstrasellulêre sekresie. Volgens hierdie outeur het selle wat betrokke is by die vervoer of sekresie van lipiede, 'n uitgebreide netwerk van TER.

Volgens Cresti et al. (1986) gaan die aanvang van sekreetvorming by die stempel van *Nicotiana* gepaard met die verskyning van lipieddruppels in die sitoplasma en later in die selwand. Terselfdertyd verander die ER van grof na glad en die plastiede verander in voorkoms. Volgens hierdie outeurs is bogenoemde verskynsel kenmerkend van lipofiliese sekreetvormende selle. Dit is moontlik dat intersellulêre lipiede in assosiasie met die gladde ER vorm. Tubule wat vanaf die ER afkomstig is, kom voor in die klierselle van *Phaseolus vulgaris* L. (Steer & Newcomb, 1969) en die ER is ook geassosieer met die sekreetkanaalselle van *Acer* en *Pinus* (Wooding & Northcote, 1965).

In die geval van die trigome van *Hygrophila difformis* het Rohr et al. (1980) bevind dat dit oor 'n uitgebreide stelsel gladde ER beskik, soortgelyk aan dié wat by lang trigome van *Nicotiana tabacum* voorkom. Die ER vertoon as verlengde strukture of as klein ronde vesikels wat nou met die plastiede geassosieer is. Die gladde ER rangskik parallel aan

die plastiedoppervlak, soos ook die geval is by die trigome van *N. tabacum*, maar is nooit in direkte verbinding met die plastiede nie.

Mitochondrions speel, behalwe vir hul respiratoriese funksie, 'n rol by energievoorsiening tydens die intersellulêre vervoer van sekreetvoorlopers asook tydens die vrystelling van sekreet.

Sferosome by angiosperme bestaan volgens Weaire & Keckwick (1975) en Porra (1979) uit lang vetsuurkettings. Sferosome, oleosome en/of lipieddruppels ontstaan gewoonlik in die omgewing van die plastiede (Rest & Vaughan, 1972; Bergfeld et al., 1978). Sferosome ontstaan uit die ER en word omsluit deur 'n halwe eenheidsmembraan (Bergfeld et al., 1978; Wanner & Theimer, 1978). Oleosome wat in die pêrelkliere van *Urtica dioica* L. voorkom, word deur 'n elektrondigte membraan omgrens en is veral in die omgewing van die ER en die plastiede waargeneem (Mathwieser et al., 1987). Hierdie outeurs gaan dus van die standpunt uit dat beide die ER en die plastiede betrokke is by die sintese van bergingslipiede en die produksie van oleosome. Die lipieddruppels wat in die lang trigome van *N. tabacum* voorkom, is nie in die direkte omgewing van 'n spesifieke organel waargeneem nie en dit is dus nie duidelik waar hulle oorsprong is nie. In uitsonderlike gevalle wil dit voorkom asof hulle in verbinding is met van die TER. Die verskil in elektrondeurlatenheid van die druppels mag wees óf as gevolg

van die verskil in die snyvlak, óf as gevolg van die verskil in chemiese samestelling, óf as gevolg van die stadium van ontwikkeling of afbreking van die lipieddruppel.

By *N. tabacum* neem vakuolering toe in die trigome van die boonste na die onderste blare. Dit is moontlik 'n aanduiding van die fisiologiese ouderdom van die sel, aangesien meristematische selle oor klein ronde vakuole beskik, terwyl die vakuole van ouer selle feitlik die hele sel mag vul. Volgens Lüttge (1971) kom daar gewoonlik nie groot vakuole in sekreterende selle voor nie. Sulke selle beskik in die meeste gevalle oor 'n groot aantal kleiner vakuole, terwyl in sommige gevalle geen vakuole in die sekreterende selle voorkom nie. Hierdie outeur skryf hierdie tipe vakuolering toe aan die aktiewe metabolisme van sekreterende selle. Kliertrigome van *Eremophila* (Dell & McComb, 1977), *Abutilon* (Kronstedt, et al., 1986) en albei tipes trigome van *Solanum tuberosum* L. (Lyshede, 1980) het egter groot vakuole. In die geval van *Eremophila* kan die vakuool tot 85% van die sel se volume inneem (Dell & McComb, 1977).

Die nukleus van klierselle is gewoonlik relatief groot in vergelyking met die totale volume van die sel. Die volume van die nukleus van 'n kliersel is egter nie groter as dié van 'n gewone parenchiemsel nie, wat beteken dat die kliersel kleiner is (Lüttge, 1971).

'n Moontlike volgorde in die vervoer van sekreet is volgens Fahn (1979) die vrystelling van elektrondigte globule uit

die plastiede tot in die sitoplasma en hulle daaropvolgende beweging deur die sitoplasma na die vakuole en latere beweging uit die vakuole na die sekreetruimte. Volgens Kandasamy & Kristen (1987) versamel die sekreet van die stempel van *N. sylvestris* in die intersellulêre ruimtes wat vorm tussen selle nadat die middellamella gedisintegreer het. Dit word aanvanklik as klein druppeltjies neergelê maar later word die hele intersellulêre ruimte deur massas sekreet gevul.

Vrystelling van sekreet sluit onder andere in aktiewe vervoer of diffusie oor die plasmalemma (ekriene sekresie); oordrag van sekreet deur middel van vesikels wat met die plasmalemma versmelt (granulokriene sekresie) en vrystelling van die sekreet deur die hele trigoom se inhoud saam met die sekreet (holokriene sekresie) (Schnepf, 1974). Ekriene sekreetvrystelling vind plaas in die geval van die lang trigome. Sekreet is reeds op die jong blare se oppervlak waargeneem, alhoewel die ultrastrukturele ondersoek daarop dui dat sekreetvrystelling slegs by die ouer blare se trigome plaasvind. Dit is moontlik dat eksterne faktore en die tyd van versameling moontlik hier 'n rol mag speel.

6.2.2 KORT KLIERTRIGOME

Goodspeed (1954) en Johnson et al. (1985) klassifiseer die kort trigome wat op tabakblare voorkom, as trigoomhidatodes, terwyl Barrera & Wernsman, (1966) hulle beskryf as kort kliertrigome. 'n Trigoomhidatode sekreteer water tesame met

ander stowwe. Schnepf (1974) het bevind dat die sekreet wat deur trigoomhidatodes gesekreter word, soveel voedingstowwe bevat dat klein mikroörganismes daarin kan oorleef. Die sitoplasma van sulke trigoomhidatodes vertoon dig met min plastiede (leukoplaste), 'n groot aantal vesikels met osmiofiliese inhoud, swak ontwikkelde diktiosome en growwe ER in die vorm van vesikels. Die ultrastruktuur van die kort trigome van *N. tabacum* stem hiermee ooreen maar dit alleen dien nie as bewys dat die kort trigome wel hidatodes is nie.

Die sekreet wat op die blaaroppervlak van tabak voorkom kan verdeel word in 'n lipofiliese komponent wat oplosbaar is in organiese oplosmiddels en 'n hidrofiliese komponent wat nie oplosbaar is in organiese oplosmiddels nie, maar wel in water. Dit is dus moontlik dat hierdie hidrofiliese komponent afkomstig is van die kort trigome. Hierdie afleiding kan egter nie met sekerheid gemaak word nie, voordat die twee tipes trigome se sekreetsamestelling afsonderlik bepaal is nie.

In teenstelling met die lang trigoomplastiede beskik dié van die kort trigome nie oor chlorofil nie en kan dus hier na leukoplaste verwys word. Die elektrondigte gebiede in die leukoplaste is moontlik tannienagtige verbindings, wat ooreenstem met dié wat in die vakuole voorkom. Die moontlikheid bestaan dus dat die plastiede 'n rol in die sintese van die sekreet speel.

Mitochondrions is een van die mees uitstaande kenmerke van

sekreetselle, ongeag die tipe klier of die aard van die sekreet. Die groot aantal mitochondrions in aktief sekreterende kliere word deur die verhoogde respiratoriese suurstofopname van die weefsel gereflekteer, in vergelyking met nie-sekreterende weefsel (Lüttge, 1971). Dell & McComb (1977) het 'n hoë konsentrasie mitochondrions in die omgewing waar sekreetvrystelling by *Eremophila* plaasvind, waargeneem. Die kliertrigome van *Abutilon* (Kronstedt et al., 1986) beskik oor groot hoeveelhede mitochondrions gedurende die pre-sekreterende en sekreterende fases. Hierdie outeurs ag mitochondrions belangrik by sekreterende trigome om twee redes. Eerstens moet aanvaar word dat energie beskikbaar moet wees vir aktief sekreterende sisteme en tweedens is mitochondrions betrokke by die intrasellulêre Ca^{++} -ioon pompmodel. Nieteenstaande die feit dat die presiese roete en meganisme van sekresie nog nie heeltemal bekend is nie, is dit waarskynlik dat die intrasellulêre Ca^{++} vlakke tydelik deur die mitochondrions gebruik word om sekresie te beheer (Kronstedt et al., 1986). Die opgeswelde kristas in die geval van die mitochondrions van die kort trigome by *N. tabacum* kan moontlik toegeskryf word aan die vrye vetsure en die fosfolipiede wat in die sekreetvoorlopers teenwoordig is. Volgens Hitchcock & Nichols (1971) dui die opgeswelde toestand van mitochondrions op energie-oordrag, waarby vetsure en fosfolipiede baie nou betrokke is.

Mitochondrions speel ook 'n belangrike rol in plantmetabolisme en is betrokke by baie aspekte van

lipiedmetabolisme (Hitchcock & Nichols, 1971). Die mitochondrions bevat onder andere fosfolipiede en vrye vetsure wat hoofkomponente is van suurlipiede. Hieruit kan dus afgelei word dat die suurlipiede wat veral by die kort trigome van tabak voorkom, moontlik gekorreleer is met die groot aantal mitochondrions wat hier teenwoordig is.

Die skynbare aansluiting van die GER by die mitochondrions dui daarop dat die GER betrokke is by die vervoer van die sekreet= voorlopers na en van die mitochondrions.

Plasmatubule is 'n spesiale vorm van die plasmalemmasoom (Harris et al. 1982; Chaffey & Harris, 1985 en Kandasamy et al., 1988), en kom veral by plante voor waar hoë tempo's van stofoordrag plaasvind. Hieruit kan afgelei word dat die plasmatubule as 'n oordrag-ekwivalent dien om sodoende die plasmalemma se oppervlak te vergroot (Chaffey & Harris, 1985). Dit is nie duidelik wat die oorsprong van die tubule is wat in die ekstraplasmiese ruimte by die kort trigome voorkom nie. Dit kan egter aanvaar word dat hulle 'n rol speel tydens sekreetoordrag na die subkutikulêre ruimte. Hierdie strukture is veral opvallend waar massas sekreet in die subkutikulêre ruimte versamel.

Behalwe vir die bydrae van bogenoemde plasmatubule kan die sekreetvrystelling ook plaasvind deur die GER wat by die plasmalemma aansluit, alhoewel Steer (1981) dié moontlikheid verwerp vanweë die verskil in samestelling van die ER membraan en dié van die plasmalemma. Andersins beweeg die

sekreet deur die gegolfde plasmalemma tot in die ekstrasellulêre ruimte waar dit as elektrondigte druppels verskyn (ekriene sekresie). Van hier beweeg dit skynbaar in die selwand, waar dit onderskei word as elektrondeurlatende wandinsluitings. Die sekreet beweeg tot in die subkutikulêre ruimte waar dit vrygestel word deur die beskadiging van die kutikula.

FIGURE 39 - 44. Transmissie-elektronmikrograwe van sneë deur die kopselle van lang trigome van Nicotiana tabacum kultivars

FIGUUR 39. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Corolla Elite Turks. Skaalmerker = 10 μm

FIGUUR 40. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. TL 33. Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 41. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Groot Swazi 46. Skaalmerker = 2 μm

FIGUUR 42. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Groot Swazi 46. Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 43. Trigoom op die onderste blaar van N. tabacum cv. Corolla Elite Turks. Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 44. Trigoom op die onderste blaar van N. tabacum cv. Coker 411. Skaalmerker = 0,5 μm

ch - chromoplast
li - lipieddruppel
p - plastied
pdm - plasmodesmas
pg - plastoglobule
◀ - tubulêre endoplasmiese retikulum
vs - vesikels

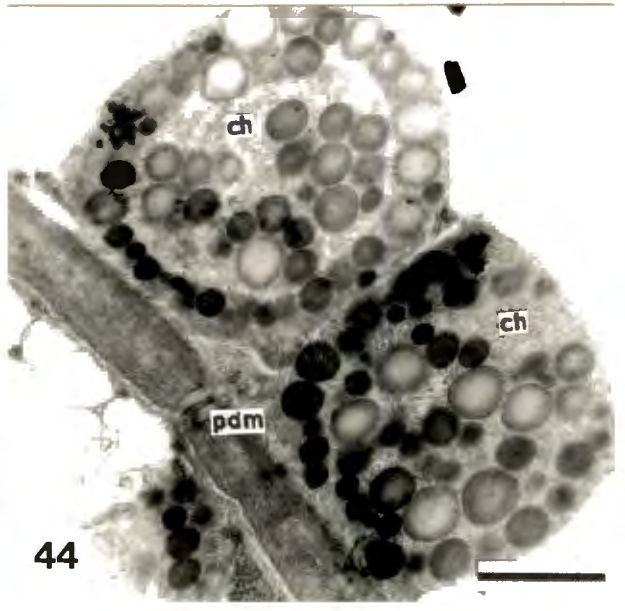
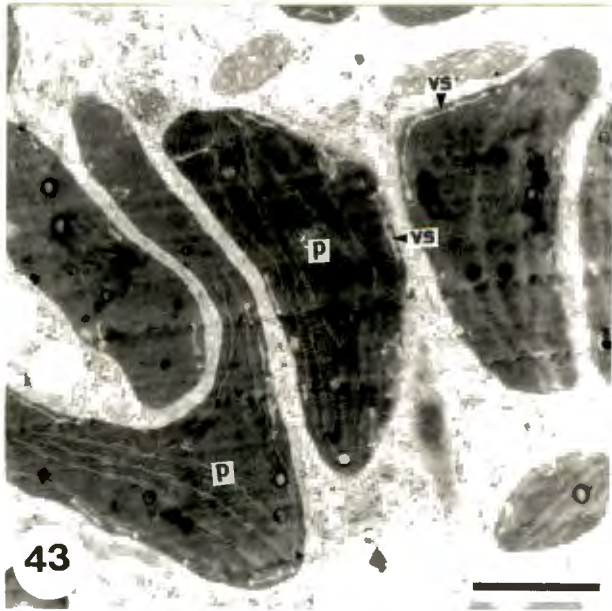
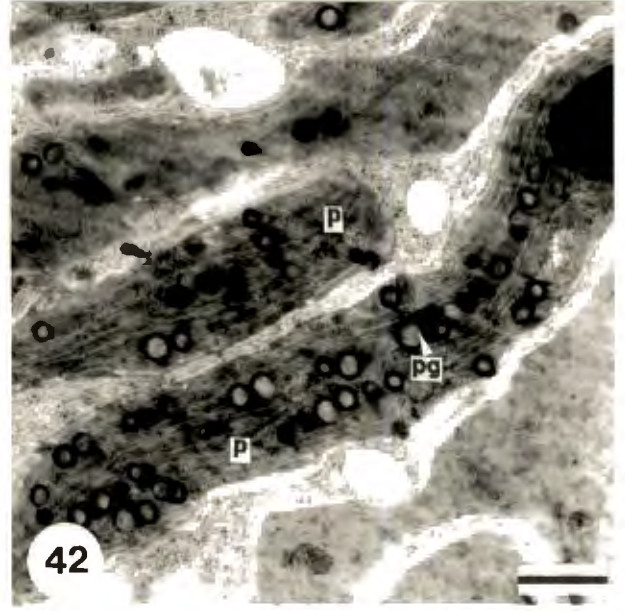
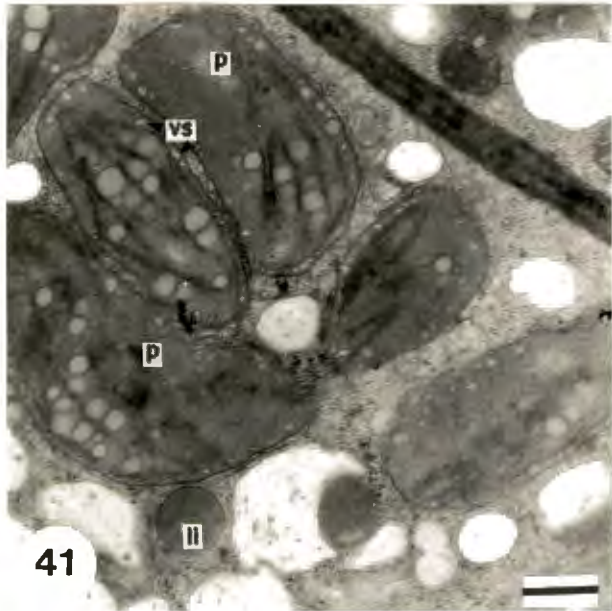
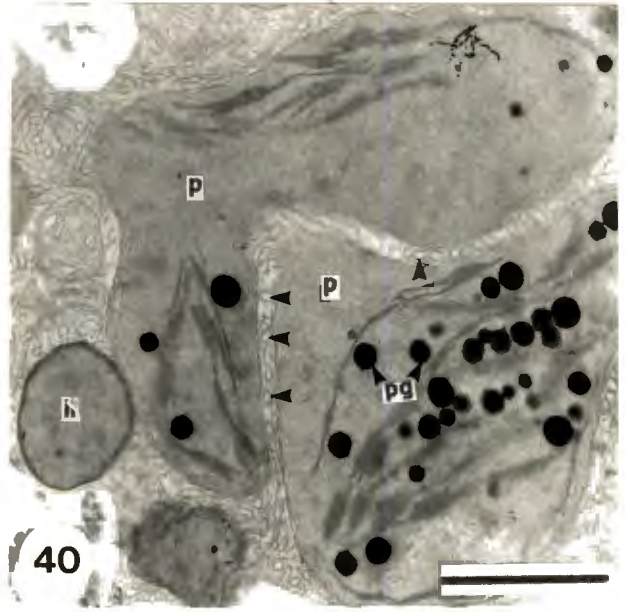
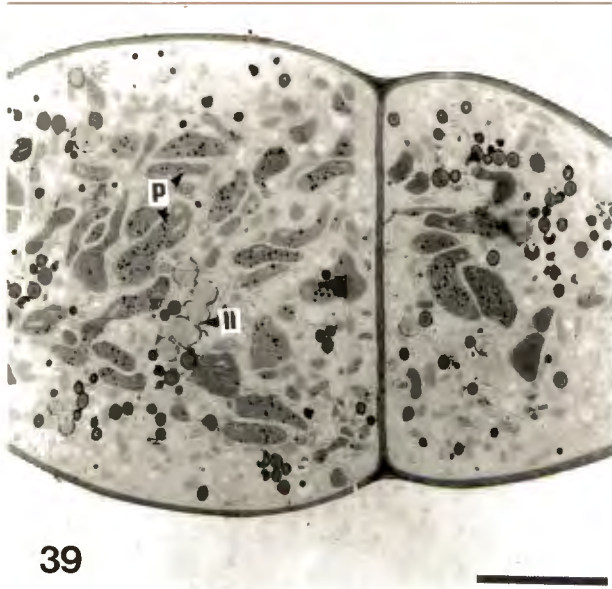


FIGURE 45 - 50. Transmissie-elektronmikrograwe van sneë deur die kopselle van die lang trigome van Nicotiana tabacum kultivars.

FIGUUR 45. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Elsenburg Soulouk. Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 46. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Groot Swazi 46. Skaalmerker = 0,5 μm

FIGUUR 47. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Burley 21-52. Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 48. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Burley 21-52. Skaalmerker = 0,5 μm

FIGUUR 49. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Burley 21-52. Skaalmerker = 0,2 μm

FIGUUR 50. Trigoom op die onderste blaar van N. tabacum cv. Russian Burley. Skaalmerker = 3 μm

edg - elektrondigte globule
ger - growwe endoplasmiese retikulum
m - mitochondrion
p - plastied
sw - selwand
ter - tubulêre endoplasmiese retikulum
← - versmelting van tubulêre endoplasmiese retikulum met plastiede en mitochondrions

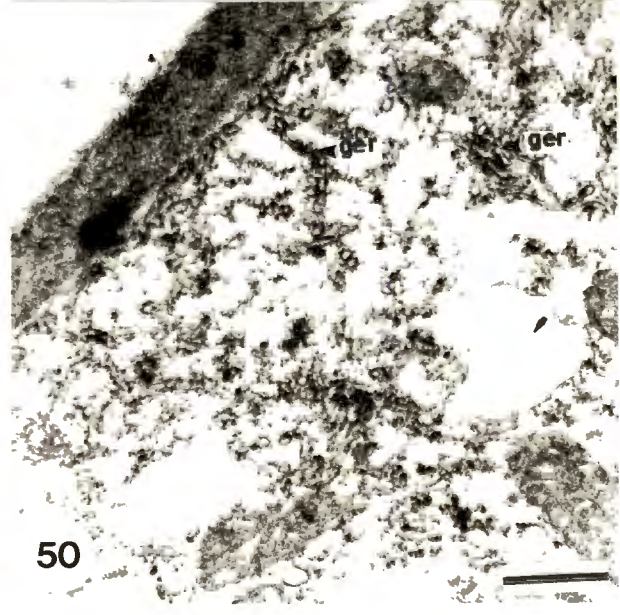
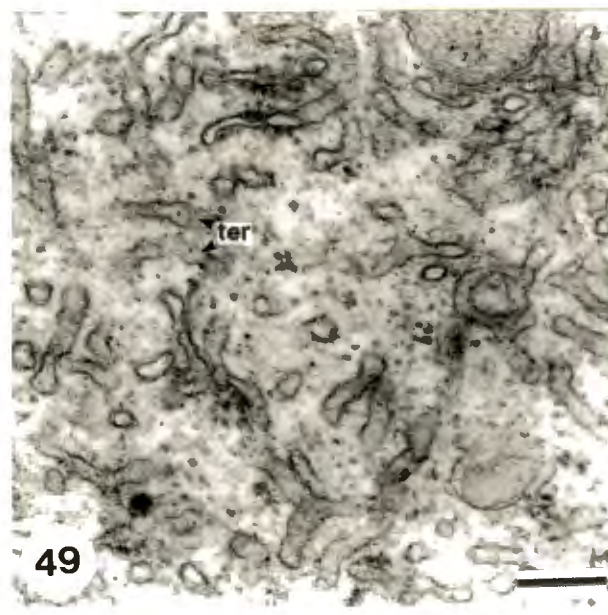
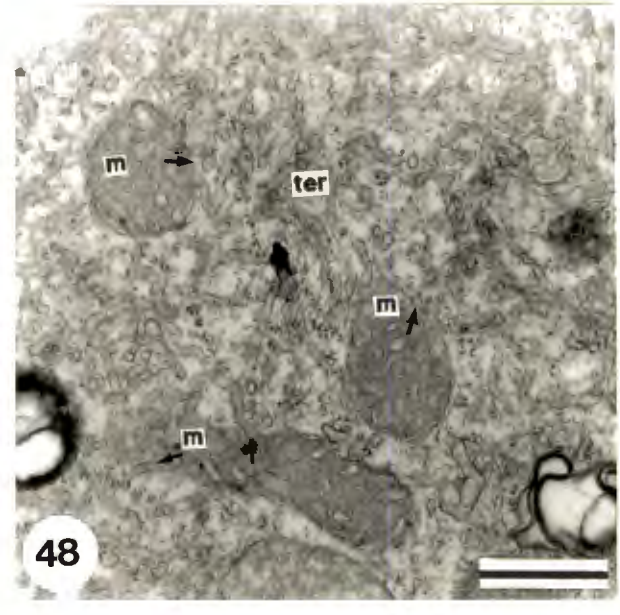
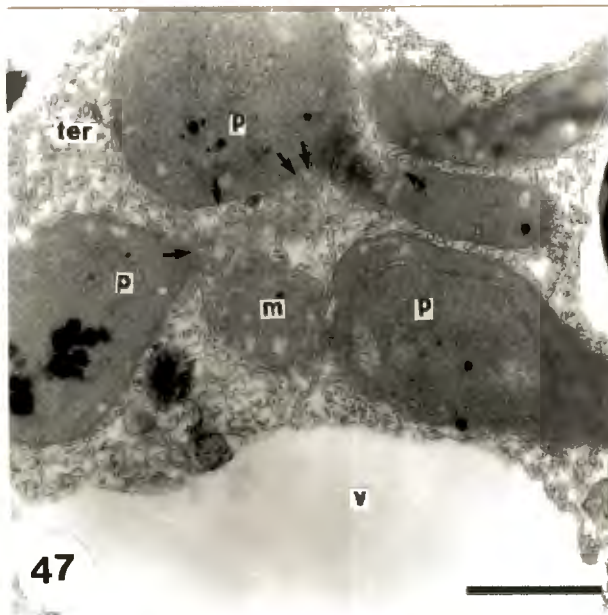
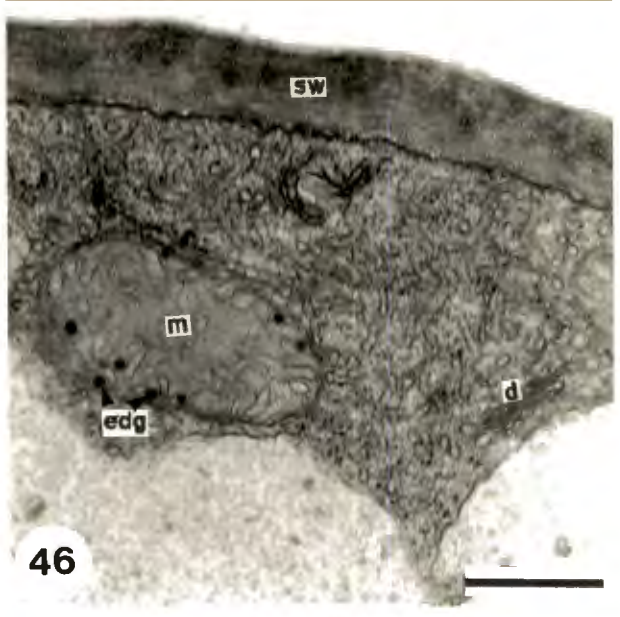
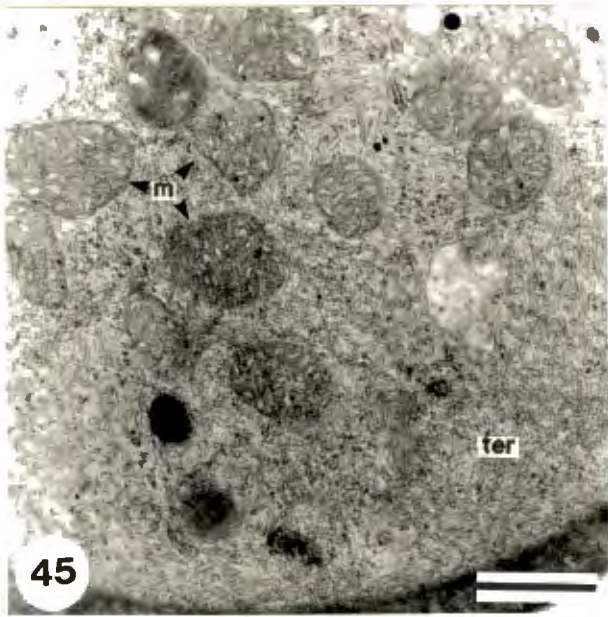


FIGURE 51 - 56. Transmissie-elektronmikrograwe van sneë deur die kopselle van die lang trigome van Nicotiana tabacum kultivars.

FIGUUR 51. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. TL33. Skaalmerker = 3 μm

FIGUUR 52. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. TL33. Skaalmerker = 2 μm

FIGUUR 53. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Coker 411. Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 54. Trigoom op die onderste blaar van N. tabacum cv. Samsun Turks. Skaalmerker = 0,5 μm

FIGUUR 55. Trigoom op die onderste blaar van N. tabacum cv. Hicks. Skaalmerker = 0,5 μm

FIGUUR 56. Trigoom op die onderste blaar van N. tabacum cv. Coker 411. Skaalmerker = 0,25 μm

gr - granulêre materiaal
kp - kopsel
li - lipieddruppel
m - mitochondrion
n - nukleus
p - plastied

pdm - plasmodesma
plm - plasmalemma
stl - steelsel
sw - selwand
v - vakuool
vs - vesikel

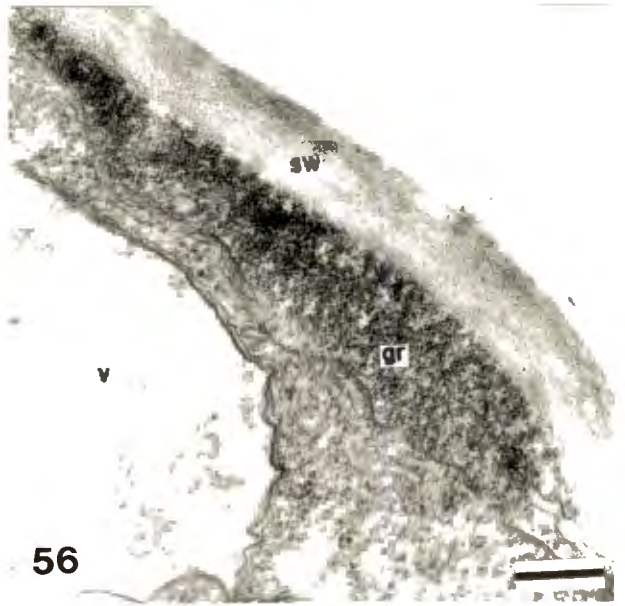
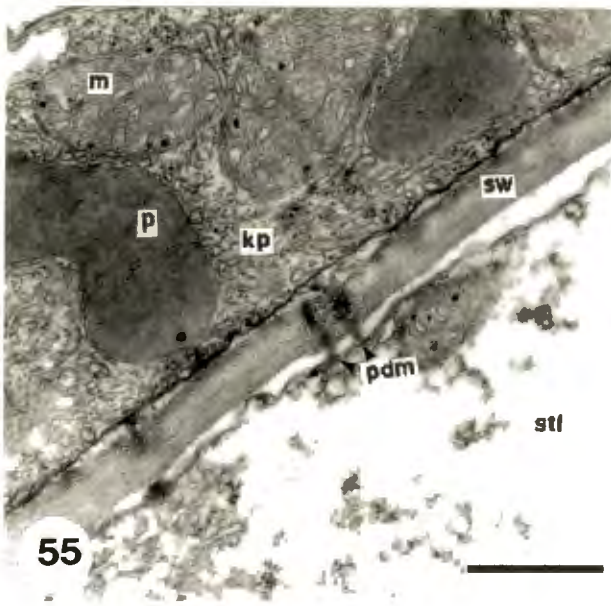
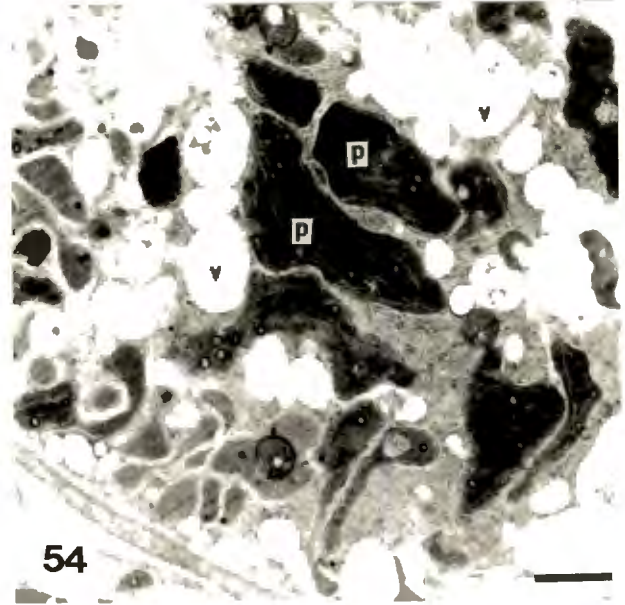
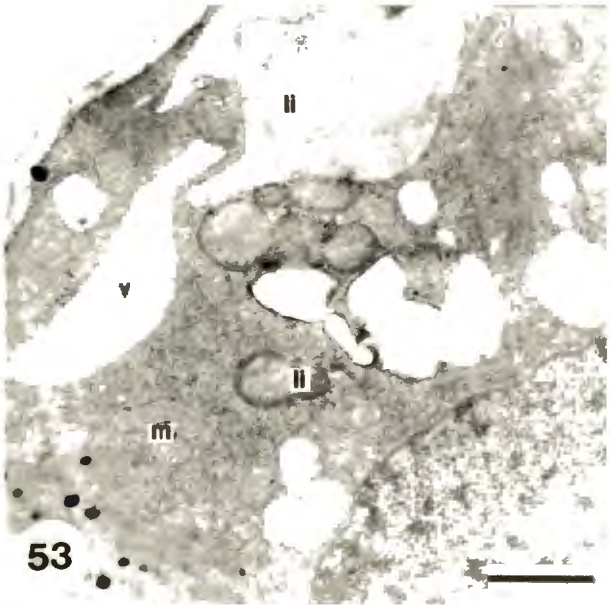
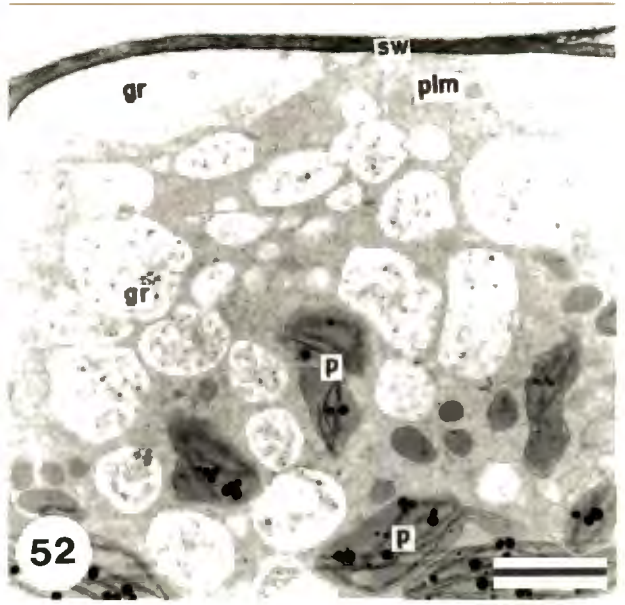
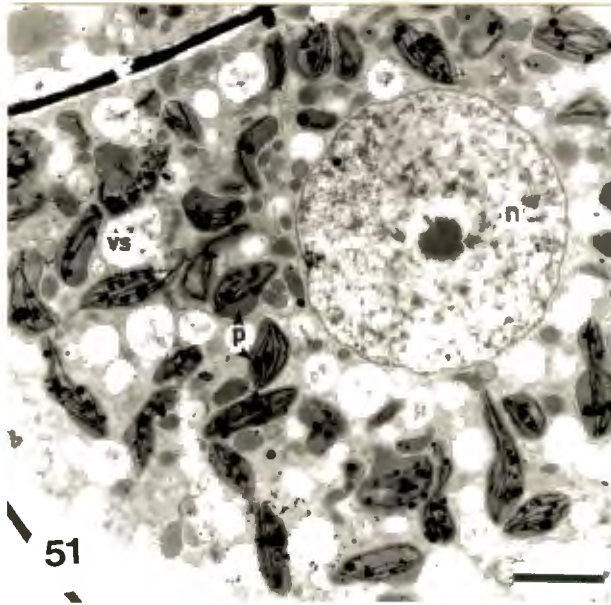


FIGURE 57 - 62. Transmissie-elektronmikrograwe van sneë deur die kopselle van die lang trigome van Nicotiana tabacum kultivars.

FIGUUR 57. Trigoom op die onderste blaar van N. tabacum cv. Coker 411. Skaalmerker = 0,25 μm

FIGUUR 58. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. TL 33 Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 59. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Corolla Elite Turks. Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 60. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Burley 21-52. Skaalmerker = 0,25 μm

FIGUUR 61. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Western Dark Nyassa. Skaalmerker = 0,5 μm

FIGUUR 62. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Western Dark Nyassa. Skaalmerker = 0,5 μm

epr - ekstraplasmiëse ruimte
ku - kutikula
li - lipieddruppel
m - mitochondrion
plm - plasmalemma
pt - plasmatubule
sw - selwand
vs - vesikel

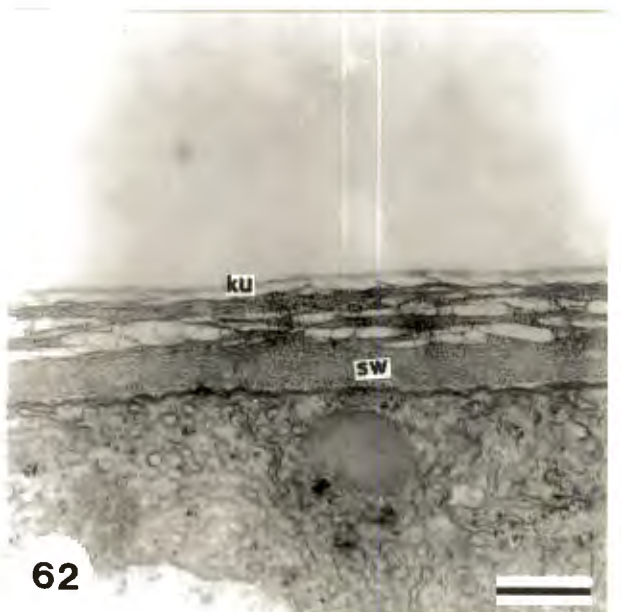
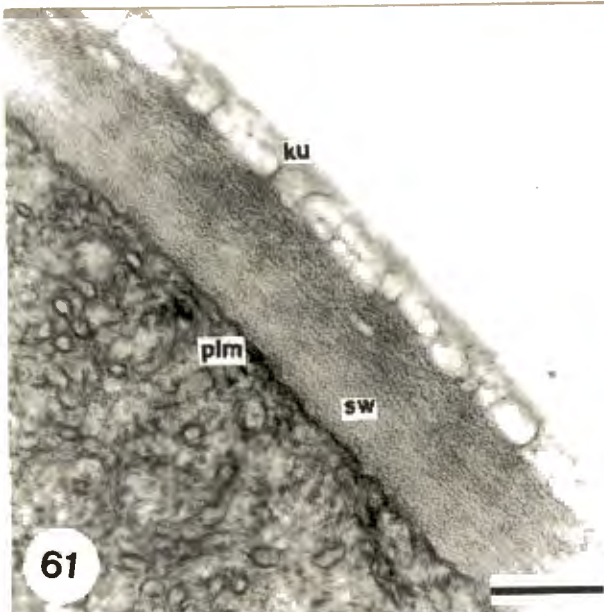
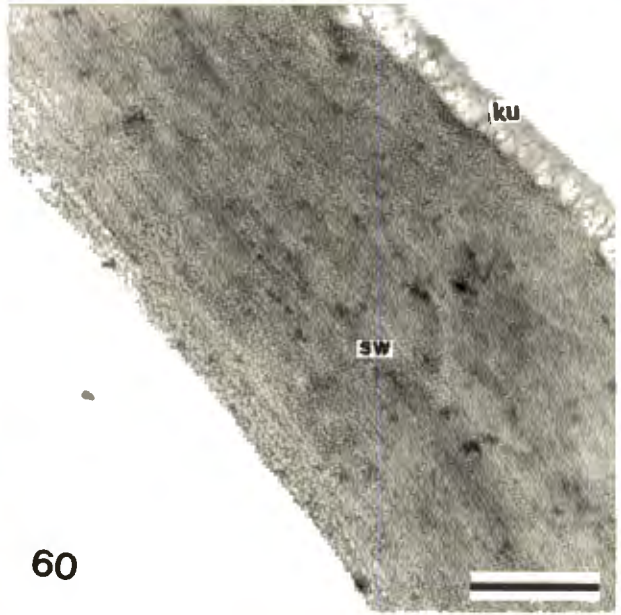
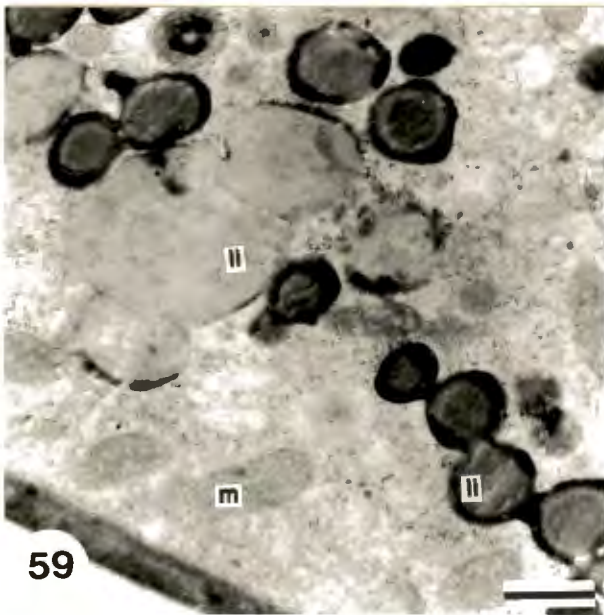
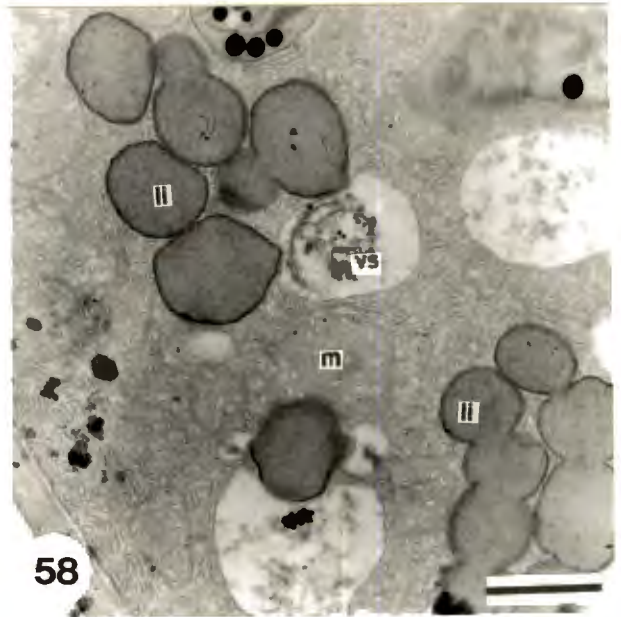
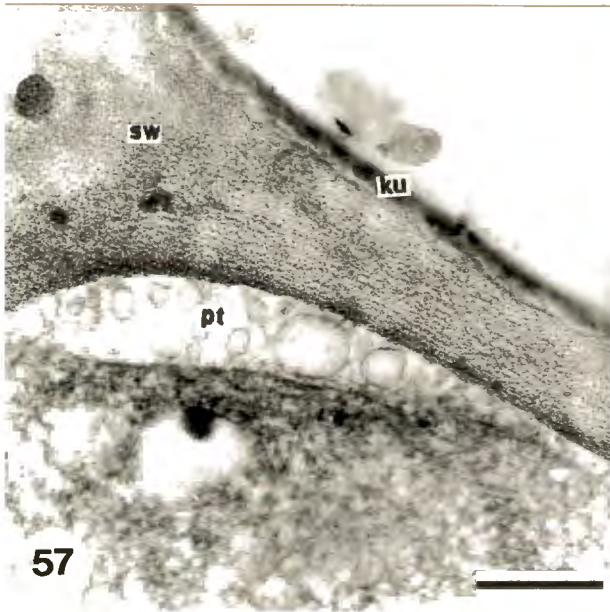


FIGURE 63 - 68. Transmissie-elektronmikrograwe van sneë deur die kopselle van kort trigome van Nicotiana tabacum kultivars.

FIGUUR 63. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Coker 411. Skaalmerker = 2 μm

FIGUUR 64. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Burley 21-52. Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 65. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Corolla Elite Turks. Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 66. Trigoom op die onderste blaar van N. tabacum cv. Coker 411. Skaalmerker = 0,5 μm

FIGUUR 67. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Groot Swazi 46. Skaalmerker = 0,25 μm

FIGUUR 68. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Russian Burley. Skaalmerker = 0,5 μm

d	- diktiosoom	pdm	- plasmodesma
eds	- elektrondigte areas	pg	- plastoglobule
epr	- ekstraplasmiese ruimte	plm	- plasmalemma
ger	- growwe endoplasmiese retikulum	pr	- polisoom
ku	- kutikula	skd	- sekreetdruppels
lp	- leukoplast	sk	- sekreet
m	- mitochondrion	sw	- selwand
n	- nukleus		
←	- versmelting van die growwe endoplasmiese retikulum met die mitochondrion		

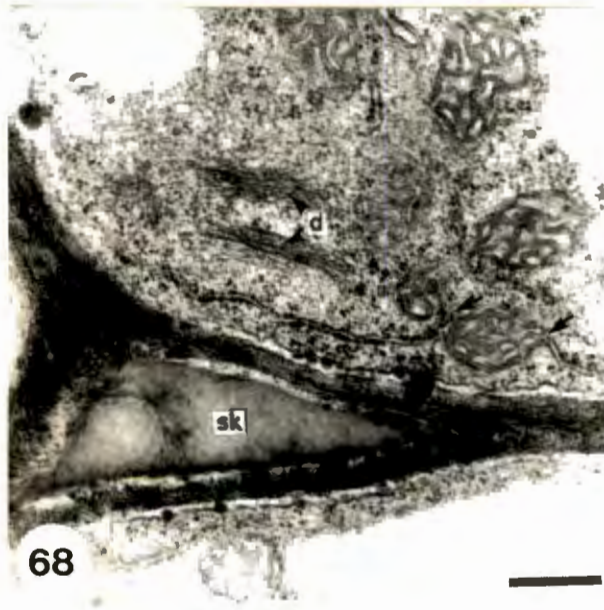
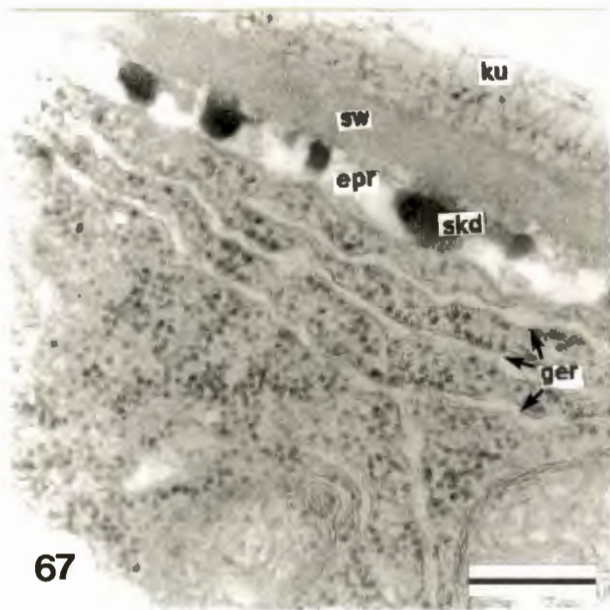
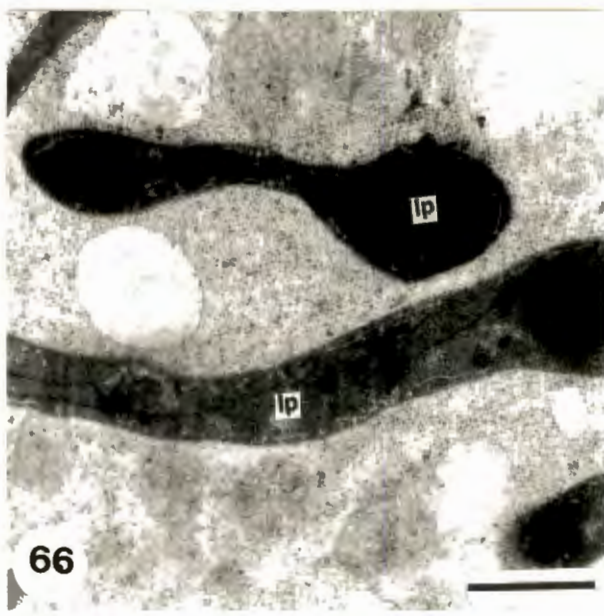
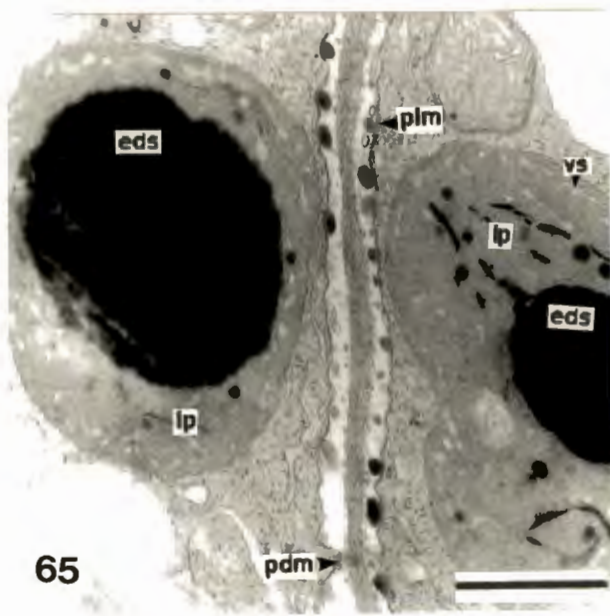
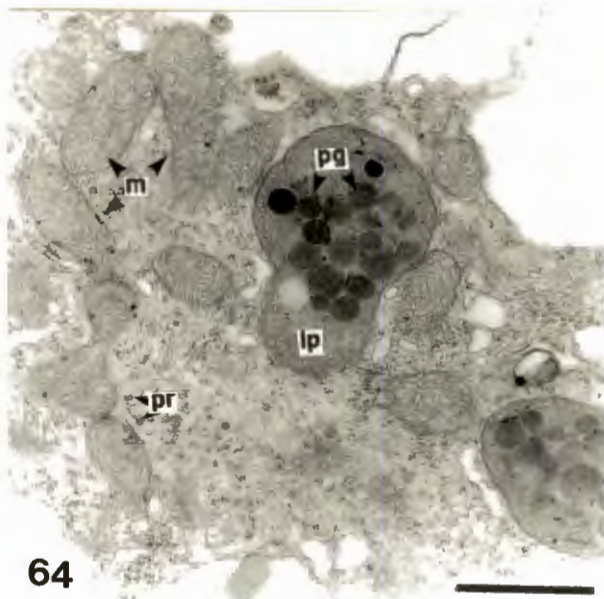
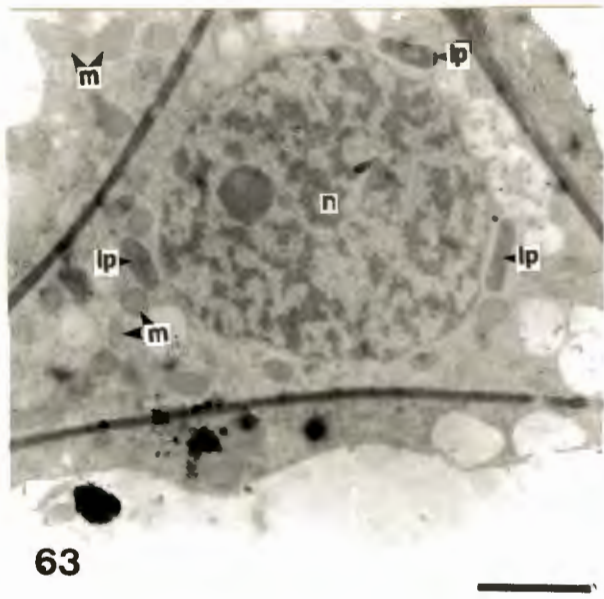


FIGURE 69 - 74. Transmissie-elektronmikrograwe van sneë deur die kopselle van kort trigome van Nicotiana tabacum kultivars.

FIGUUR 69. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Western Dark Nyassa. Skaalmerker = 0,1 μm

FIGUUR 70. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Groot Swazi 46. Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 71. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Burley 64. Skaalmerker = 2 μm

FIGUUR 72. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Russian Burley. Skaalmerker = 0,5 μm

FIGUUR 73. Trigoom op die onderste blaar van N. tabacum cv. Corolla Elite Turks. Skaalmerker = 0,5 μm

FIGUUR 74. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. TL 33. Skaalmerker = 2 μm

d	- diktiosoom	tg	- tannienagtige globule
ger	- growwe endoplasmiese retikulum	skd	- sekreetdruppel
m	- mitochondrion	sw	- selwand
n	- nukleus	v	- vakuool
p	- plastied	vs	- vesikel

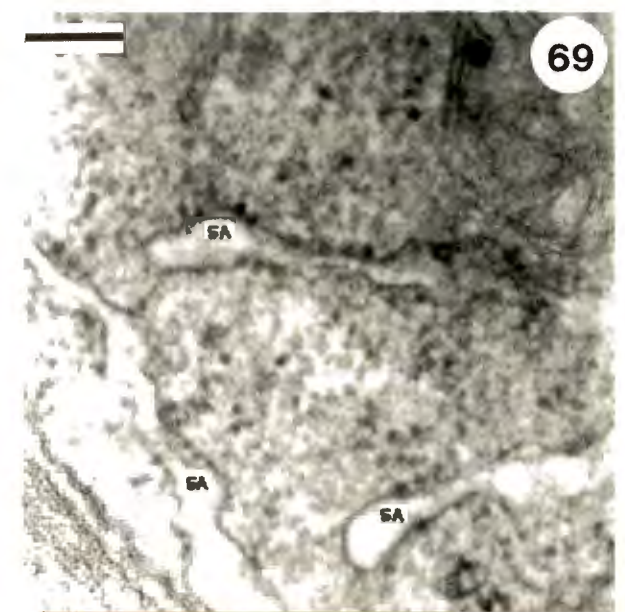
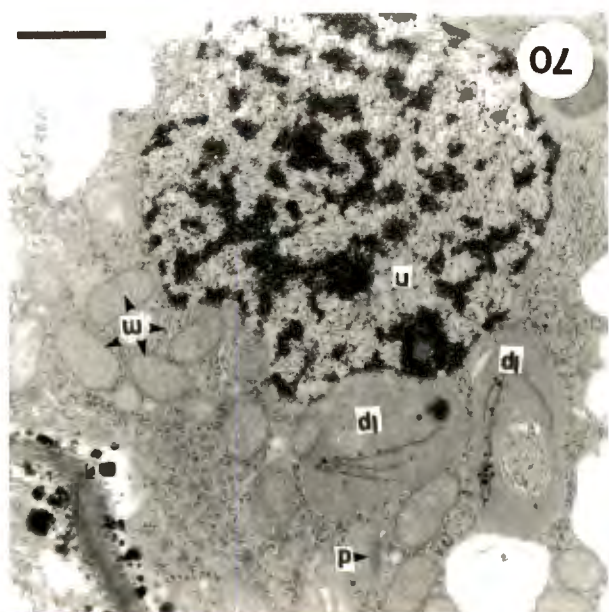
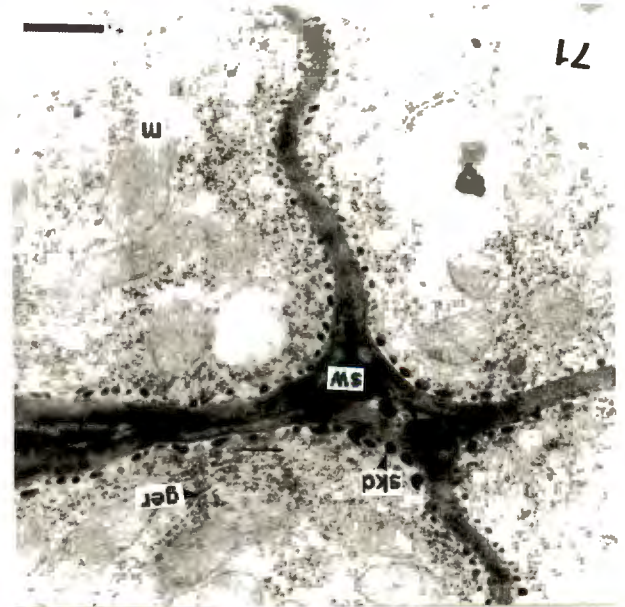
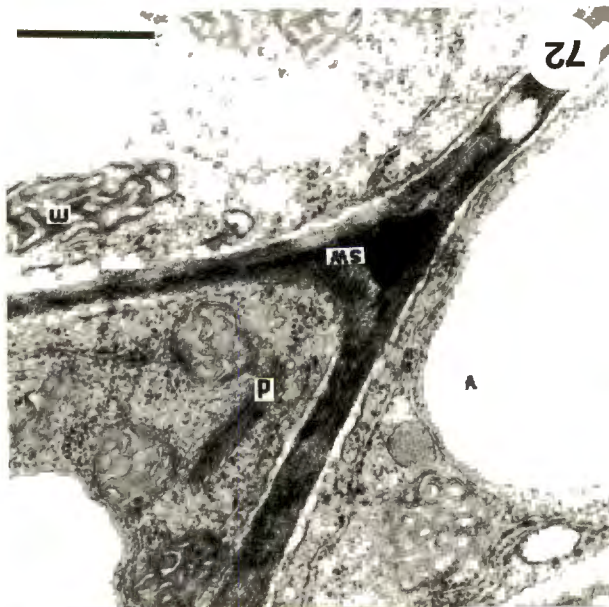
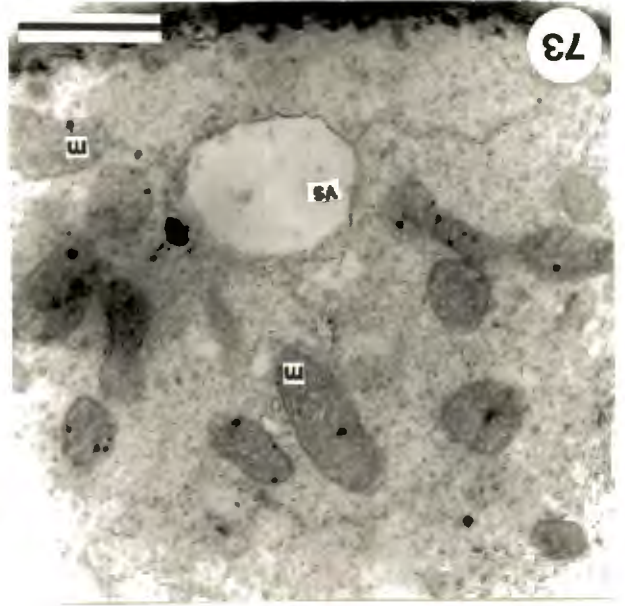
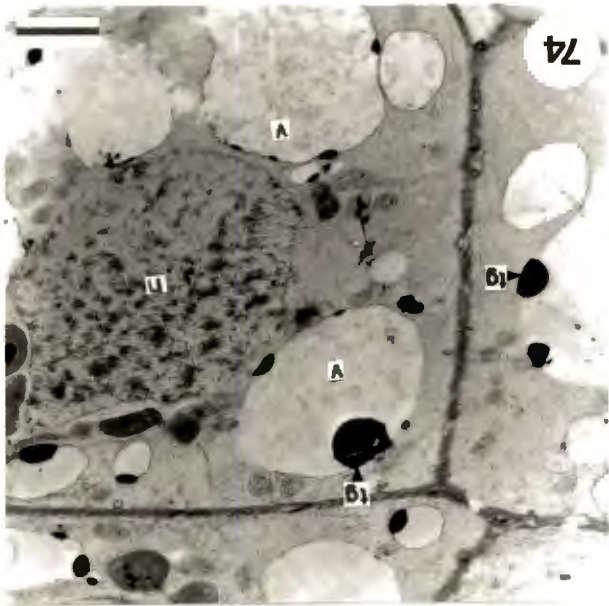


FIGURE 75 - 80. Transmissie-elektronmikrograwe van sneë deur die kopselle van kort trigome van Nicotiana tabacum kultivars.

FIGUUR 75. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Burley 64. Skaalmerker = 0,5 μm

FIGUUR 76. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Corolla Elite Turks. Skaalmerker = 0,5 μm

FIGUUR 77. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Coker 411. Skaalmerker = 0,25 μm

FIGUUR 78. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Coker.411. Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 79. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Coker 411. Skaalmerker = 0,5 μm

FIGUUR 80. Trigoom op die middelste blaar van N. tabacum cv. Groot Swazi 46. Skaalmerker = 0,25 μm

d	-	diktiosoom	plm	-	plasmalemma
epr	-	ekstraplasmiese ruimte	sk	-	sekreet
fwi	-	fibrillêre wandinsluitings	skd	-	sekreetdruppel
ger	-	growwe endoplasmiese retikulum	sw	-	selwand
ku	-	kutikula	vs	-	vesikel
lp	-	leukoplast	w	-	elektron= deurlatende globule

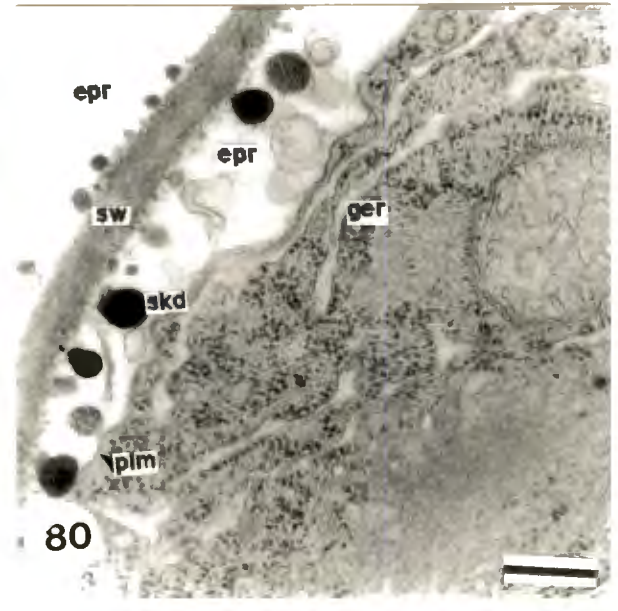
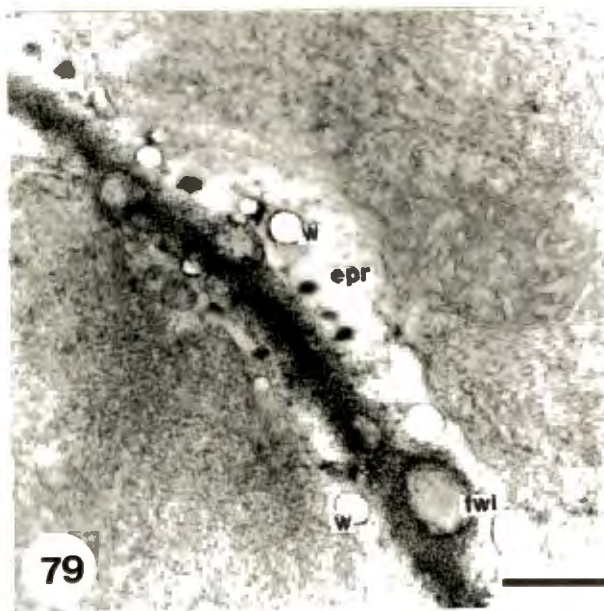
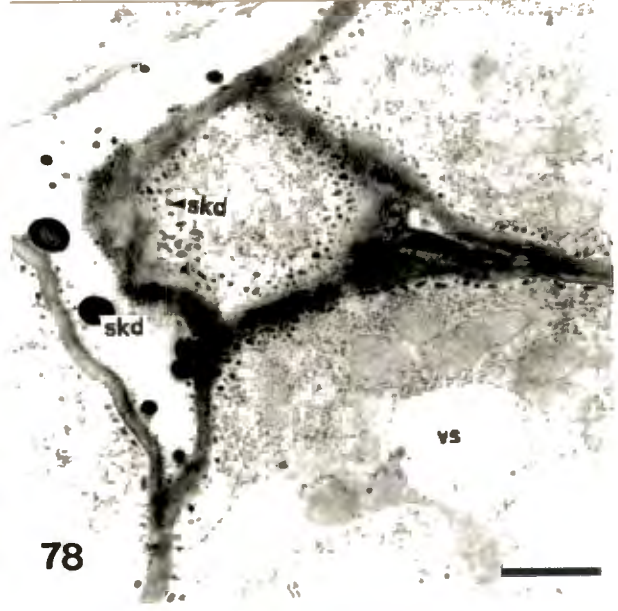
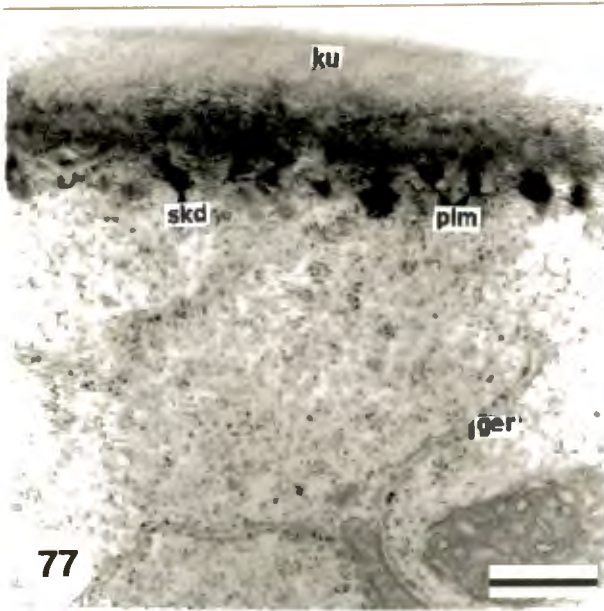
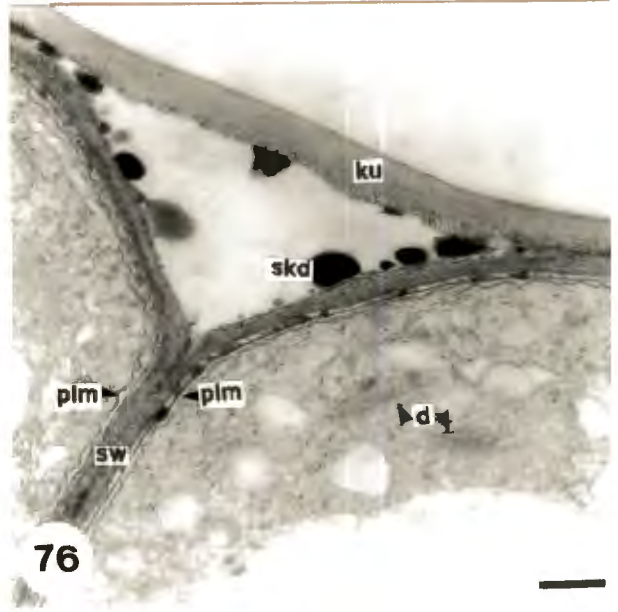
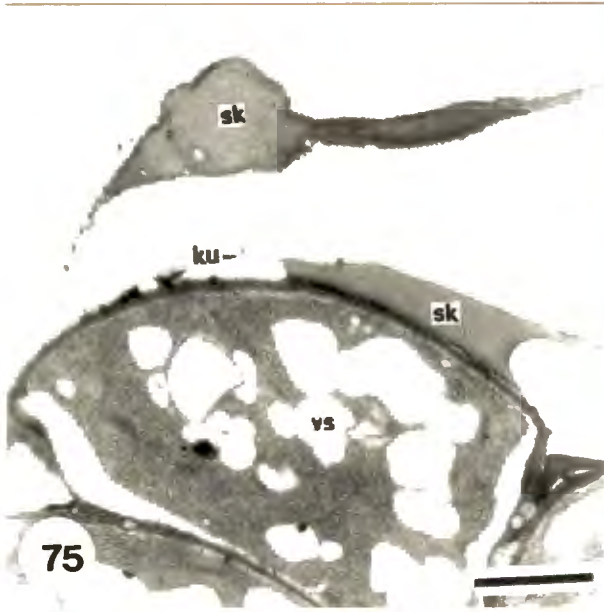


FIGURE 81 - 83. Transmissie-elektronmikrograwe van sneë deur die kopselle van kort trigome van Nicotiana tabacum kultivars.

FIGUUR 81. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Russian Burley. Skaalmerker = 0,25 μm

FIGUUR 82. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Russian Burley. Skaalmerker = 0,25 μm

FIGUUR 83. Trigoom op die boonste blaar van N. tabacum cv. Corolla Elite Turks. Skaalmerker = 0,1 μm

epr - ekstraplasmiese ruimte
fwi - fibrillêre wandinsluitings
ku - kutikula

plm - plasmalemma
sw - selwand
v - vakuool

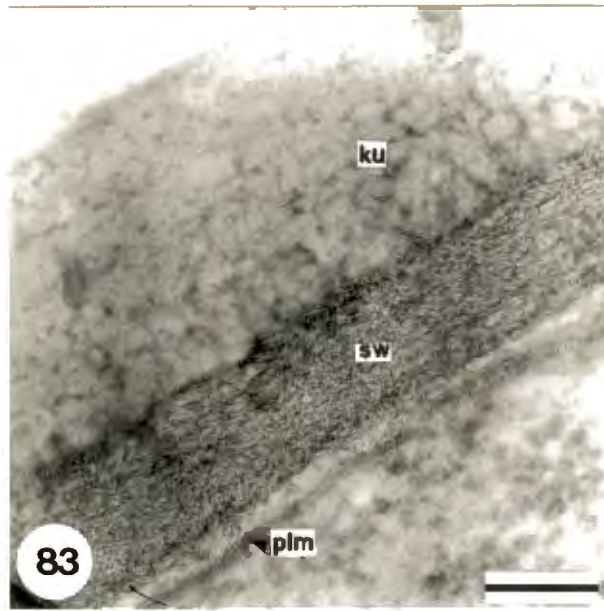
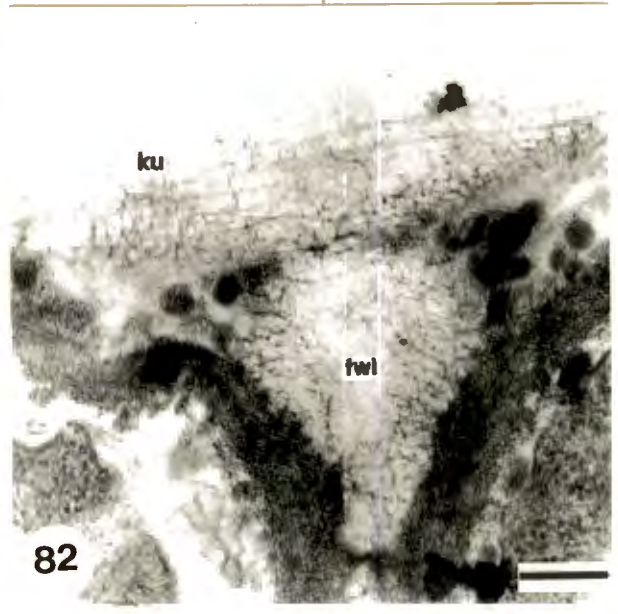
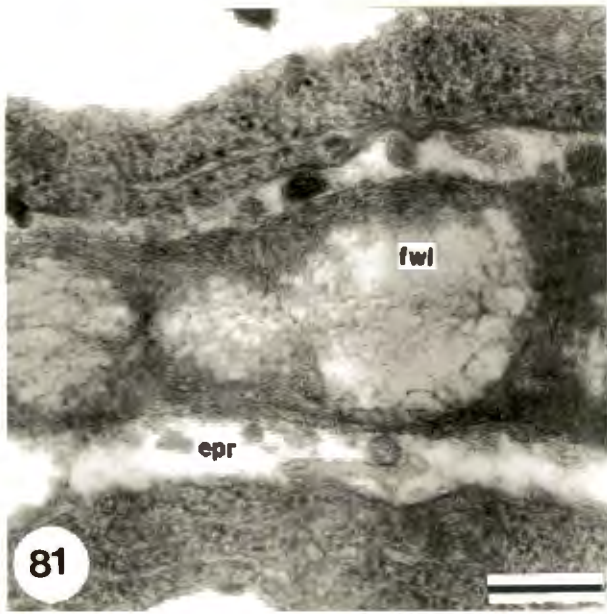


FIGURE 84 - 89. Transmissie-elektronmikrograwe van sneë deur die kopselle van kort trigome wat die verskillende stadiums van sekreetvrystelling aan dui

FIGUUR 84. Trigoom op die boonste blaar van *N. tabacum* cv. Burley 64. Skaalmerker = 0,1 μm

FIGUUR 85. Trigoom op die boonste blaar van *N. tabacum* cv. Burley 64. Skaalmerker = 0,1 μm

FIGUUR 86. Trigoom op die middelste blaar van *N. tabacum* cv. Coker 411. Skaalmerker = 0,5 μm

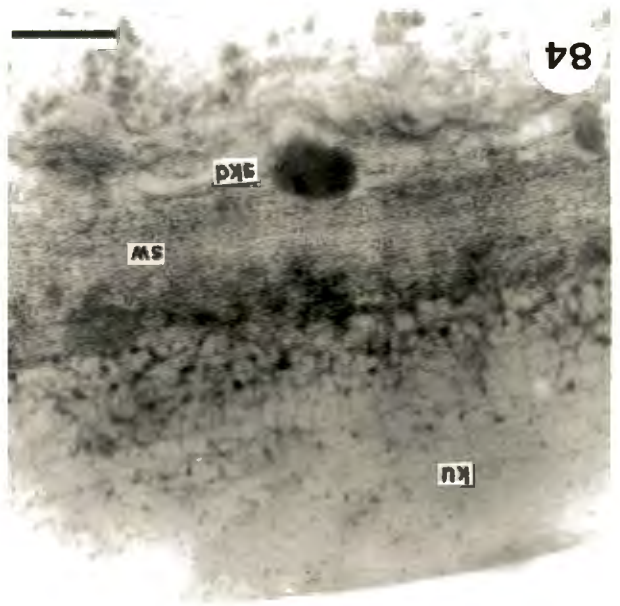
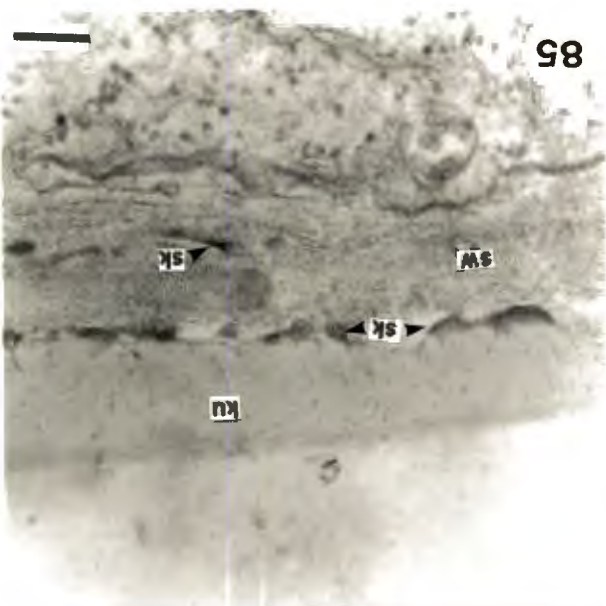
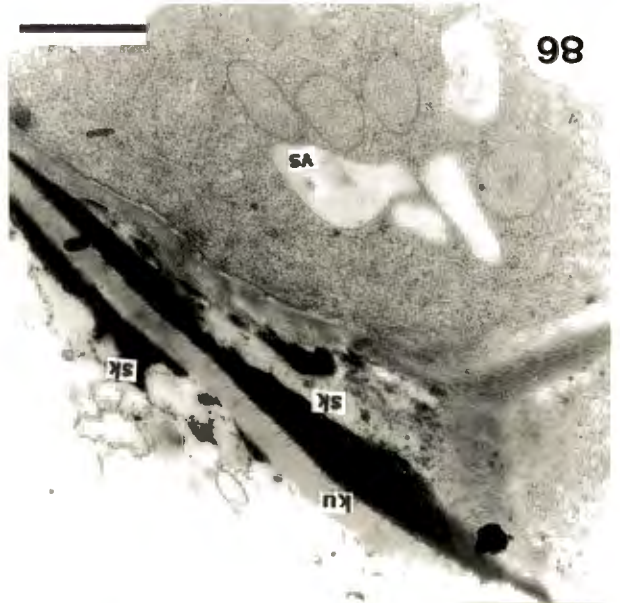
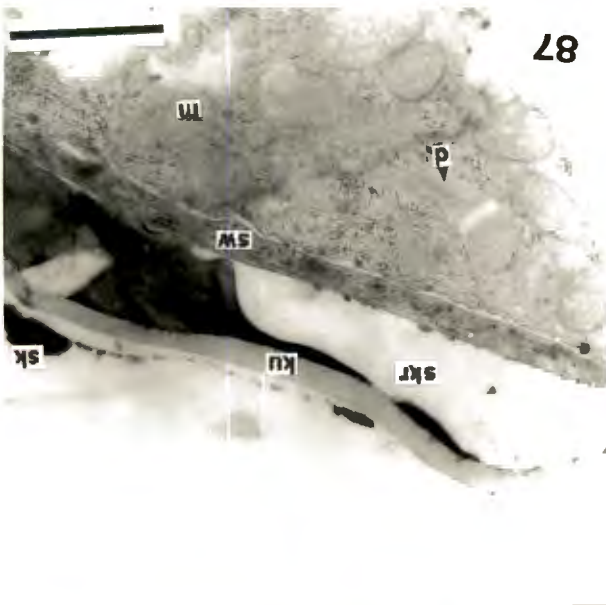
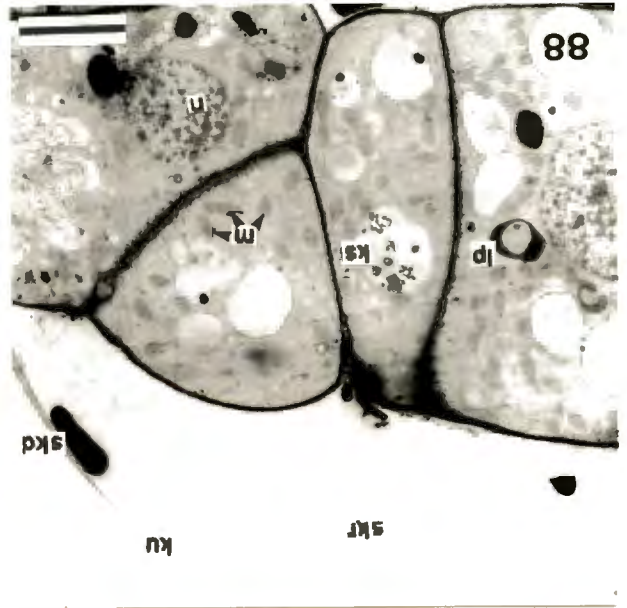
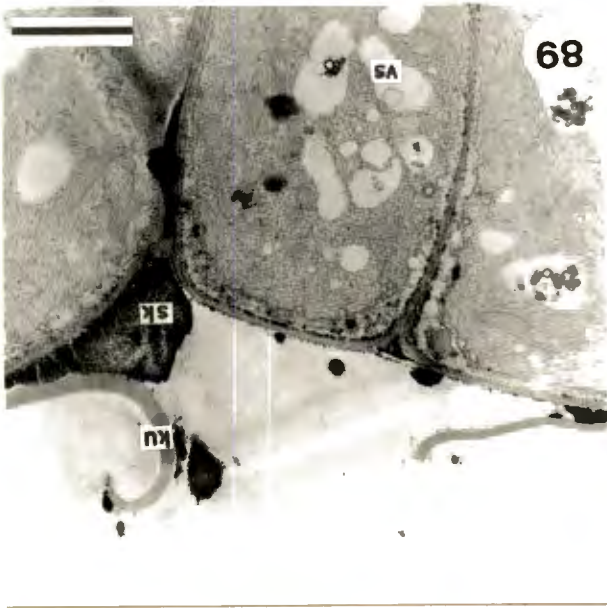
FIGUUR 87. Trigoom op die middelste blaar van *N. tabacum* cv. Burley 64. Skaalmerker = 1 μm

FIGUUR 88. Trigoom op die boonste blaar van *N. tabacum* cv. Elsenburg Soulouk. Skaalmerker = 5 μm

FIGUUR 89. Trigoom op die middelste blaar van *N. tabacum* cv. Burley. Skaalmerker = 2 μm

d - diktiosoom
ks - kristalsand
ku - kutikula
lp - leukoplast

m - mitochondrion
sk - sekreet
skd - sekreetdruppel
skr - subkutikulêre ruimte
sw - selwand
vs - vesikel



7. GEVOLGTREKKING

Twee hoofstipes trigome kom op die blare van tabak voor ongeag die fisiologiese ouderdom van die blaar, die oppervlak van die blaar (abaksiaal of adaksiaal), die kultivar of die spesifieke tabakklas. Hierdie twee trigoomtipes verskil in so 'n mate van mekaar dat dit duidelik is dat die een tipe nie 'n vroeë ontogenetiese fase van die ander is nie.

Die kliertigome op die blare is ongetwyfeld verantwoordelik vir die vorming en vrystelling van die lagie klewerige sekreet wat op die blaaroppervlak voorkom. Hierdie sekreet maak wel 'n bydrae tot die aromadiese kwaliteit van 'n spesifieke kultivar, maar dit moet in gedagte gehou word dat dit nie slegs die sekreet is wat bydra tot die aromadiese kwaliteit van die tabakblaar nie. Die chemiese samestelling van die blaar speel ook 'n belangrike rol, veral die suiker- en nikotieninhoud daarvan. Hierdie twee komponente speel só 'n belangrike rol dat hulle in die Amerikaanse tabakbedryf as indikatore vir aromadiese kwaliteit gebruik word.

Op ultrastrukturele vlak dui die aantal en posisie van die organelle op 'n moontlik onderlinge funksionele verwantskap. Indien 'n tegniek soos outoradiografie in die toekoms gebruik kan word om posisie van oorsprong van die sekreet te bevestig, kan die biochemiese weë betrokke by sekreetvorming moontlik bepaal word en mag die vorming van sekere sekreetkomponente moontlik beheer word, wat mag bydra tot die verbetering van die aromadiese kwaliteit.

Volgens die histochemiese kleuringsreaksies is die sekreet van die twee tipes kliertrigome lipofilies, maar die tipe lipiede wat in die sekreet voorkom, verskil. Die vraag wat nou ontstaan is naamlik hoe dit dan moontlik is dat sprinkelbesproeiing die aromatiese kwaliteit van die tabakblaar verlaag? Dit kan aan een van twee moontlikhede toegeskryf word, te wete dat die fisiese spat-aksie van die druppel op die blaar die sekreet verwyder of dat die sekreet moontlik ook 'n hidrofiliese komponent bevat en dat dit veroorsaak dat van die lipiede afgewas word. Indien die aromatiese kwaliteit van die kultivars wat tans verbou word ten volle benut word, sal veral aandag geskenk moet word aan die besproeiings- en bespuitingspraktyke wat aangewend word.

Kwantitatiewe bepalinge van die sekreet dui daarop dat die hoeveelheid sekreet moontlik bydra tot die kwaliteit van die aroma. Daar mag dus moontlik van 'n kwantitatiewe sekreet=indeks gebruik gemaak word om die aromatiese kwaliteit van 'n kultivar te voorspel.

Die trigoomkomplement kan nie alleen gebruik word om onderskeid tussen die kultivars waarvan die aromatiese kwaliteit verskil te tref nie. Daar kan ook nie van die trigoomverhouding gebruik gemaak word om die aromatiese kwaliteit van 'n kultivar of selfs van 'n spesifieke klas tabak te voorspel nie.

Die eksterne faktore is sover moontlik konstant gehou, maar omdat eksterne en edafiese faktore wel 'n invloed op

aromatiese kwaliteit uitoefen, behoort die invloed van eksterne faktore op sekreetvorming en vrystelling in die toekoms meer aandag te geniet.

Trigome mag wel moontlik gedurende seleksie van kultivars in telingsprogramme aangewend word, indien die samestelling van die sekreet deur middel van meer gevorderde tegnieke as dié wat gedurende hierdie ondersoek gebruik is, bepaal word. Slegs hierdeur kan die bydrae wat die verskil in die sekreetsamestelling van die kort en lang trigome maak tot die aromatiese kwaliteit van 'n kultivar, bepaal word.

8. UITTREKSEL

'n Lig- en elektronmikroskopiese ondersoek is op die blaartrigome van 'n aantal *Nicotiana tabacum* L. kultivars uitgevoer om te bepaal of 'n verband bestaan tussen die trigoomkomplement en die aromatiese kwaliteit van 'n kultivar.

Twee tipes trigome kom op die blare voor, naamlik lang en kort trigome. Hierdie trigome kom by al die ondersoekte kultivars voor, op blare van verskillende ouderdomme en op albei blaaroppervlakke. Die ontwikkelingspatrone van die twee tipes trigome verskil sodanig dat die trigome reeds op 'n vroeë stadium van mekaar onderskei kan word.

Die selwandsamestelling van die lang en kort trigome stem grootliks ooreen maar die sekreetsamestelling verskil, alhoewel albei lipofilies is. Die ultrastrukturele ondersoek het aan die lig gebring dat die oorsprong van die sekreet van die twee tipes trigome waarskynlik verskil. Die sekreet het in die geval van die lang trigome waarskynlik hulle oorsprong in die plastiede en die gladde endoplasmiese retikulum en word ook deur die gladde endoplasmiese retikulum tot by die selwand vervoer, waardeur dit beweeg om vrygestel te word. In die geval van die kort trigome is die growwe endoplasmiese retikulum geassosieer met die groot aantal mitochondrions waarskynlik betrokke by die vorming van die sekreet. Die sekreet word ook deur die growwe endoplasmiese retikulum vervoer, in die sub-kutikulêre ruimte oorgedra en vrygestel sodra die kutikula beskadig word.

ABSTRACT

Light- and electron microscopical studies were conducted on the leaf trichomes of a few *Nicotiana tabacum* L. cultivars to determine whether a correlation exists between the trichome complement and the aromatic quality of the cultivar.

Two major types of trichomes are distinguished, namely long and short trichomes. Both types are present on the abaxial and the adaxial leaf surfaces at different stages of leaf development. As the developmental patterns of the trichome types differ the two types can readily distinguished from one another at an early stage.

The cell wall composition of the long and short trichomes is similar but the composition of the secretory product differs, although lipophilic substances are secreted by both types. Different organelles are probably involved in the production of the secretory product of the two trichome types. The secretory product of the long trichomes is probably produced by the plastids and smooth endoplasmic reticulum, and is believed to be transported by the smooth endoplasmic reticulum to the cell wall where it is released. In the short trichomes the rough endoplasmic reticulum associated with the large number of mitochondria is probably involved with the production of the secretory product which is transported by the rough endoplasmic reticulum to the sub-cuticular space. It is released when the cuticle ruptures.

9. BEDANKINGS

Aan Hom wat alles toekom

My opregte dank aan almal wat betrokke was om hierdie studie suksesvol te voltooi, met 'n woord van spesiale dank aan die volgende persone en instansies:

- * My studieleier, Dr. Hester Kruger, vir haar geduld, ondersteuning, aanmoediging. Dankie ook vir die artikels wat sy vir my uit Duits vertaal het.
- * Mnr. Almero Steenkamp vir die tabakplante wat hy aan my afgestaan het, die periodieke gebruik van sy groeikamer. Dankie vir al die raad en hulp. Sy volgehoue belangstelling in my werk word opreg waardeer.
- * Aan die NITK te Rustenburg en veral aan Drs. Rossouw, Joubert en Steenkamp vir die finansiële hulp wat hulle aan my verleen het, waarsonder hierdie studie nie moontlik sou gewees het nie.
- * Aan die Departement Landbou (Potchefstroom) vir die beskikbaarstelling van hulle groeikamers, veral aan Mnr. Jerry Schoeman.
- * Die departementshoofde van die departement Plantwetenskappe, prof. Ockie Bosch en prof. Wouter Jooste, vir hulle belangstelling en hulp.
- * Aan mnr. Louwrens Tiedt vir die beskikbaarstelling van die elektronmikroskopiese fasiliteite en donkerkamer.

- * Mnr. Bert Ubbink en Koos Bezuidenhout vir die versorging van die tabakplante in die glashuis.
- * Mnr. Tjaart Kruger, vir die vertaal van enkele artikels uit Duits en Frans, asook vir die taalversorging.
- * Al die personeel van die departement Plantwetenskappe.
- * Aan my ouers vir hulle finansiële bystand, volgehoue belangstelling en vertrouwe wat hulle in my gestel het gedurende voorgraadse en nagraadse studie, waarsonder ek die studie nie suksesvol kon voltooi het nie.
- * Aan my broers en suster en hulle families, asook al my vriende, veral Muggie, Anine en Danie vir hulle morele ondersteuning.

10. LITERATUURVERWYSINGS

- ADAMS, C.W.M, ABDULLA, Y.H. & BAYLISS, O.B. 1967. Osmium tetroxide as a histochemical reagent. *Histochemie*, 9:68-77.
- AKERS, C.P., WEYBREW, J.A. & LONG, R.C. 1978. Ultrastructure of glandular trichomes of leaves of *Nicotiana tabacum* cv. xanthi. *American Journal of Botany*, 65:282-292.
- BARRERA, R. & WERNSMAN, E.A. 1966. Trichome type, density and distribution on the leaves of certain tobacco varieties and hybrids. *Tobacco Science*, 10:157-161.
- BENAYOUN, J. & FAHN, A. 1979. Intracellular transport and elimination of resin from epithelial duct-cells of *Pinus halepensis*. *Annals of Botany*, 43:179-181.
- BENTLEY, N.J. & WOLF, F.A. 1945. Glandular leaf hairs of oriental tobacco. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 72:345-360.
- BERGFELD, R., HONG, Y.N., KÜHNEL, T. & SCHOPFER, P. 1978. Formation of oleosomes (storage lipid bodies) during embryogenesis and their breakdown during seedling development in cotyledons of *Sinapsis alba*: *Planta*, 143:297-304.

- BOWMAN, D.R. & NICHOLS B.C. 1968. Composition of burley leaves in relation to stalk position and leaf position. *Tobacco Science*, 12:91-94.
- BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248-254.
- CAIN, A.J. 1947. Use of Nile blue in the examination of lipoids. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 88:383-392.
- CHAFFEY, N.J. & HARRIS, N. 1985. Plasmotubules: Fact or artefact? *Planta*, 165:185-190.
- CHANG, K.W., WEEKS, W.W. & WEYBREW, J.A. 1985. Changes in the surface chemistry of tobacco leaves during curing with particular emphasis on trichomes. *Tobacco Science*, 29:122-127.
- CORNELISSEN, A. 1989. Mondelinge mededeling aan die outeur. Navorsingsinstituut vir Tabak en Katoen. Rustenburg.
- CRESTI, M., KEIJZER, C.J., TIEZZI, A., CIAMPOLINI, F. & FOCARDI, S. 1986. Stigma of *Nicotiana*: Ultrastructural and biochemical studies. *American Journal of Botany*, 73:1713-1722.

- DELL, B. & McCOMB, A.J. 1974. Resin production and glandular hairs in *Beyeria viscosa* (Labill.) Miq. (Euphorbiaceae). *Australian Journal of Botany*, 25:195-210.
- DELL, B. & McCOMB, A.J. 1977. Glandular hair formation and resin secretion in *Eremophila fraseri* F. Meull. (Myoporaceae). *Protoplasma*, 92:71-86.
- DELL, B. & McCOMB, A.J. 1978. Biosynthesis of resin terpenes in leaves and glandular hairs of *Newcastelia viscida*. *Journal of Experimental Botany*, 29:89-95.
- ESAU, K. 1965. *Plant Anatomy*. 2nd ed. New York : Wiley.
- FAHN, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. London: Academic Press.
- FAHN, A. 1982. *Plant anatomy*. 3rd ed. Oxford : Pergamon Press.
- FAHN, A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist*, 108:229-257.
- FEDER, N. & O'BRIEN, T.P. 1968. Plant microtechnique: Some principles and new methods. *American Journal of Botany*, 55:123-142.

- FURR, M. & MAHLBERG, P.G. 1981. Histochemical analysis of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products*, 44:153-159.
- GAHAN, P.B. 1984. Plant histochemistry and cytochemistry. London : Academic Press.
- GALATIS, B. & APOSTOLAKOS, P. 1977. On the fine structure of differentiating mucilage papillae of *Marchantia*. *Canadian Journal Botany*, 55:772-795.
- GAMOU, K. & KAWASHIMA, N. 1979. Studies on leaf surface lipid of tobacco. I. Changes in leaf surface lipid and divatrienediol during growth, senescence and curing of tobacco leaves. *Agricultural and Biological Chemistry*, 43:2163-2168.
- GOODSPEED, T.H. 1954. The genus tobacco. USA: Chronica Botanica Company.
- HAMMOND, C.T. & MAHLBERG, P.G. 1973. Morphology of glandular hairs of *Cannabis sativa* from scanning electron microscopy. *American Journal of Botany*, 60:524-528.
- HARRIS, N. 1986. Organization of the endomembrane system. *Annual Review of Plant Physiology*, 37:73-92.

- HARRIS, N., OPARKA, K.J. & WALKER-SMITH, D.J. 1982.
Plasmatabules: An alternative to transfer cells? *Planta*,
156:461-465.
- HITCHCOCK, C. & NICHOLS, B.W. 1971. *Plant lipid biochemistry*.
London: Academic Press.
- HORNER, H.T. & LERSTEN, N.R. 1968. Development, structure and
function of secretory trichomes in *Psychotria*
bacteriophila (Rubiaceae). *American Journal of Botany*,
55:1089-1099.
- HUNTSBERGER, D.V. & BILLINGSLEY, P. 1977. *Elements of*
statistical methods. Boston : Allyn & Bacon.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical histochemistry*. London : W.H
Freeman.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. New York : McGraw-
Hill.
- JOHNSON, H.B. 1975. Plant pubescence: An ecological
perspective. *Botanical Review*, 41:233-258.
- JOHNSON, A.W., SEVERSON, R.F., HUDSON, J., CARNER, G.R. &
ARRENDALE, R.F. 1985. Tobacco leaf trichomes and their
exudates. *Tobacco Science*, 29:67-72.

KALLIANOS, A.G. 1976. Phenolics and acids in leaf and their relationships to smoking quality and aroma. *Recent Advances in Tobacco Science*, 2:61-79.

KANDASAMY, M.K., KAPPLER, R. & KRISTEN, U. 1988. Plasmatabules in the pollen tubes of *Nicotiana sylvestris*. *Planta*, 173:35-41.

KANDASAMY, M.K. & KRISTEN, U. 1987. Developmental aspects of ultrastructure, histochemistry and receptivity of the stigma of *Nicotiana sylvestris*. *Annals of Botany*, 60:427-437.

KEENE, C.K. & WAGNER, G.J. 1985. Direct demonstration of duvatrienediol biosynthesis in glandular heads of tobacco trichomes. *Plant Physiology*, 79:1026-1032.

KRONESTEDT, E.C., ROBARDS, A.W., STARK, M. & OLESEN, P. 1986. Development of trichomes in the *Abutilon* nectary gland. *Nordic Journal of Botany*, 6:627-639.

LILLIE, R.D. 1965. Histopathologic technic and practical histochemistry. 3rd ed. London : McGraw-Hill.

LÜTTGE, U. 1971. Structure and function of plant glands. *Annual Review of Plant Physiology*, 22:23-44.

- LYSHEDE, O.B. 1980. The ultrastructure of the glandular trichomes of *Solanum tuberosum*. *Annals of Botany*, 46:519-526.
- MARON, J. & FAHN, A. 1979. Ultrastructure and development of oil cells in *Laurus nobilis* L. leaves. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 78:31-40.
- MATHWIESER, M. THALER, I. & GAILHOFER, M. 1987. Die Perldrüsen von *Urtica dioica* L. *Phyton (Austria)*, 27:99-113.
- METCALFE, C.L. & CHALK, L. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons*. Volume 2. Oxford : Clarendon Press.
- METCALFE, C.L. & CHALK, L. 1983. *Anatomy of the Dicotyledons*. 2nd. ed. Volume 2. Oxford : Clarendon Press.
- MIKULSKA, E. & ZOLNIEROWICZ, H. 1976. Ultrastructure of plastids in differentiating epithelial cells of *Abies homolepis* SIB. and *ZUCC.* leaves. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 170:355-362.
- NETOLITSKY, F. 1932. Die Pflanzenhaare. (In Lindsbauer, K., red. *Handbuch der Pflanzenanatomie*. Berlin: Gebrüder Borntraeger.)

- O'BRIEN, T.P. & McCULLY, M.E. 1981. The study of plant structure. Principles and selected methods. Melbourne : Termarcarphi.
- OLIVEIRA, M.M. & PAIS, M.S.S. 1988. Glandular trichomes of *Humulus lupulus* var. Brewer's Gold: Ontogeny and histochemical characterization of the secretion. *Nordic Journal of Botany*, 8:349-359.
- OOSTHUIZEN, L. 1983. Ultrastruktuur en inisiëringsfaktore van trigome by *Pelargonium scabrum* (L.) L'Hérit. Stellenbosch (Tesis (M.Sc) - Universiteit van Stellenbosch.)
- PAYNE, W.W. 1978. A glossary of plant hair terminology. *Brittonia*, 30:239-255.
- PENN, P.T. & WEYBREW, J.A. 1958. Some factors affecting the content of the principal polyphenols in tobacco leaves. *Tobacco Science*, 2:68-72.
- PORRA, R.J. 1979. Formation of phospholipids from sn-glycerol-3-phosphate and free fatty acids or their derivatives by homogenates of soybean cotyledons. *Phytochemistry*, 18:1651-1656.
- PETERSON, R.L. & VERMEER, J. 1984. Histochemistry of trichomes. (In Rodriguez, E., Healey, P.L. & Mehta, I.,

- reds. Biology and chemistry of plant trichomes. New York: Plenum Press. p.71-94.)
- REEVE, R.M. 1951. Histochemical tests for polyphenols in plant tissue. *Stain Technology*, 26:91-96.
- REST, J.A. & VAUGHAN, J.G. 1972. The development of protein and oil bodies in the seed of *Sinapsis alba* L.. *Planta*, 105:245-262.
- REYNOLDS, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, 17:208-212.
- ROHR, R., DEXHEIMER, J. & KIEFFER, M. 1980. Etude tridimensionnelle du complexe sécréteur plastes-réticulum endoplasmique dans les poils glandulaires d'*Hygrophila difformis* (Acanthacées). *Canadian Journal of Botany*, 58:1859-1871.
- SCHEPARTZ, A.I., ELLINGTON, J.J., WILSON, R.L. & CHAPLIN, J.F. 1982. An analysis of the variation in the leaf lipids during the curing of flue-cured tobaccos. *Tobacco Science*, 26:47-50.
- SCHNEPF, E. 1965. Licht- und elektronmikroskopische Beobachtungen an den Trichom-Hydathoden von *Cicer arietinum*.

SCHNEPF, E. 1969a. Über den Feinbau von Öldrüsen. I. Die Drüsenhaare von *Arctium lappa*. *Protoplasma*, 58:185-194.

SCHNEPF, E. 1969b. Über den Feinbau von Öldrüsen. IV. Die Ölgänge von Umbelliferen *Heracleum sphondylium* und *Dorema ammoniacum*. *Protoplasma*, 67:375-390.

SCHNEPF, E. 1974. Gland cells. (In Robards, A.W., red. *Dynamic aspects of plant ultrastructure*. London : McGraw Hill. p.331-355.)

SEVERSON, R.F., JOHNSON, A.W. & JACKSON, D.M. 1985. Cuticular constituents of tobacco: factors affecting their role in insect and disease resistance and smoke quality. *Recent Advances in Tobacco Science*, 11:105-174.

SHEEN, S.J. 1971. The colometric determination of chlorogenic acid and rutin in tobacco leaves. *Tobacco Science*, 15:116-120.

SPURR, A.R. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructure Research*, 26:31-43.

SNYDER, J.C. & HYATT, J.P. 1984. Influence of daylight on trichome densities and leaf volatiles of *Lycopersicon* species. *Plant Science Letters*, 37:171-180.

STEER, M.W. 1981. Opmerkings oor die boek "Secretory tissues in plants" deur Fahn, A. *Annals of Botany*, 47: 177-178.

STEER, M.W. & NEWCOMB, E.H. 1969. Observations on tubules derived from endoplasmic reticulum in leaf glands of *Phaseolus vulgaris*. *Protoplasma*, 67:33-50.

SWANDSON, E.S., CUNNINGHAM, W.P. & HOLMAN, R.T. 1980. Ultrastructure of glandular ovarian trichomes of *Cypripedium calceolus* and *C. reginae* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 67:784-789.

TODD, W.J. 1986. Effects of specimen preparation on the apparent ultrastructure of micro-organisms. (In Aldrich, H.C. & Todd, W.J., eds. *Ultrastructure techniques for micro-organisms*. New York : Plenum Press. p. 87)

UPHOF, J.C.Th. 1962. Plant hairs. (In Uphof, J. C. Th. & Hummel, K., eds. *Encyclopedia of plant anatomy*. Berlin : Borntraeger)

WANNER, G. & THEIMER, R.R. 1978. Membranous appendices of spherosomes (oleosomes). *Planta*, 140:163-169.

WEAIRE, P.J. & KECKWICK, R.G.O. 1975. The fractionation of the fatty acid synthetase activities of avocado mesocarp plastids. *Biochemical Journal*, 146:439-445.

WERKER, E. & FAHN, A. 1981. Secretory hairs of *Inula viscosa* (L.) Ait. Development, ultrastructure and secretion. *Botanical Gazette*, 142:461-476.

WOLF, F.A. 1962. Aromatic or oriental tobaccos. Durham : Duke University Press.

WOODING, F.B.P. & NORTHCOLE, D.H. 1965. Association of the endoplasmic reticulum and the plastids in *Acer* and *Pinus*. *American Journal of Botany*, 52:526-531.

WRIGHT, H.E., BURTON, W.W & BERRY, R.C. 1964. Soluble browning reaction pigments of aged Burley tobacco. II. The dialysable fraction. *Phytochemistry*, 3:525-533.