

**INVLOED VAN GRONDTEMPERATUUR OP GROEI EN
SITOKINIENMETABOLISME BY WINGERD (VITIS)**

deur

L. J. JOOSTE

Tesis ingelewer vir die graad van

MAGISTER IN LANDBOU (WINGERDKUNDE)

aan die Universiteit van Stellenbosch



STELLENBOSCH

DESEMBER 1983

Oppedra aan
my vrou en my ouers
vir hulle onderskraging
en aanmoediging deur die jare.

DANKBETUIGINGS

Graag wil ek my dank en waardering uitspreek teenoor die volgende persone en instansies:

Prof. C.J. Orffer as promotor vir sy leiding en opbouende kritiese beoordeling.

Prof. J.A. de Bruyn as mede-promotor vir sy aanmoediging en opbouende kritiese beoordeling.

Dr. J.E. Davey vir haar hulp by die aanleer, beplanning en deurvoer van die ontledingswerk.

Mnr. J.H. van der Westhuizen vir sy hulp by die aanvanklike beplanning van die navorsing.

Mnr. C.J. Smit vir sy aanmoediging en sy hulp by die beplanning en deurvoer van die navorsing.

Mnr. E. Archer vir sy hulp by die beplanning en aanpassing van die navorsing.

Lede van die Wingerdkunde-afdeling van die NIWW wat met die inwin van die oorspronklike gegewens behulpsaam was.

My vrou, Alet, vir die netjiese tik van hierdie tesis.

Die Departement van Landbou, in wie se diens hierdie navorsing onderneem is.

LYS VAN TABELLE

Bladsy

1	Verskillende biotoetse en die beginsels waarop dit berus.	40
2	Voedingsmedium vir sojaboonkallus-biotoets.	51
3	Variansie-analise van groeieresultate.	53
4	Effek van grondtemperatuur en cultivar op die persentasie toename in lootlengte, lootmassa, wortelmassa en blaaroppervlakte per plant.	56
5	Invloed van grondtemperatuur (A) en cultivar (B) op "lootdikte" ($\text{cm} \cdot \text{g}^{-1}$).	58
6	Invloed van grondtemperatuur (A) en cultivar (B) op die lootmassa tot wortelmassa-verhouding.	59
7	Korrelasiekoëffisiënt van die groeiparameters by vier verskillende cultivars.	61
8	Groei- en assimilasietempo by vier verskillende cultivars en drie verskillende temperature.	62
9	Gaschromatografiese resultate van (A) isopentenielen-adenosien, (B) zeatienribosied en (C) etielasetaat.	73
10	Variansie-analise van biotoetsresultate.	82

LYS VAN FIGURE

Bladsy

1	Verskillende simptome van die groeistilstandverskynsel by Sultana-stokke.	2.1
2	Invloed van grondtemperatuur op lootlengte van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestris du Lot (C) en Constantia Metallica (D).	54
3	Invloed van grondtemperatuur op lootmassa van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestris du Lot (C) en Constantia Metallica (D).	55
4	Invloed van grondtemperatuur op wortelmassa van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestris du Lot (C) en Constantia Metallica (D).	60
5	Invloed van grondtemperatuur op blaarmassa van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestris du Lot (C) en Constantia Metallica (D).	65
6	Invloed van grondtemperatuur op aantal blare van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestris du Lot (C) en Constantia Metallica (D).	66
7	Invloed van grondtemperatuur op oppervlakte per blaar van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestris du Lot (C), en Constantia Metallica.	67
8	Invloed van grondtemperatuur op blaaroppervlakte per plant van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestris du Lot (C) en Constantia Metallica (D).	68
9	Invloed van cultivar en grondtemperatuur op lootlengte (A), lootmassa (B), wortelmassa (C) en blaarmassa (D).	69

- 10 Invloed van cultivar en grondtemperatuur op aantal blare (A), oppervlak per blaar (B) en blaaroppervlakte per plant (C). 70
- 11 Invloed van grondtemperatuur (A) en cultivar (B) op lootlengte, lootmassa, wortelmassa en blaarmassa. 71
- 12 Invloed van grondtemperatuur (A) en cultivar (B) op aantal blare, oppervlak per blaar en blaaroppervlakte per plant. 72
- 13 Gaschromatografiese bepaling van isopentenielenadenosien, zeatienribosied en etielasetaat-oplosmiddel. 74
- 14 Invloed van beligtingstyd op die komkommersaadlob-biotoets. 76
- 15 Invloed van dimetielsulfoksied (DMSO) in die buffer-oplossing op chlorofilvorming in die komkommersaadlob-biotoets. 77
- 16 Standaardkromme van (A) zeatienribosied - 7h, (B) kinetien - 7h, (C) isopentenielenadenosien - 7h, (D) isopentenielenadenosien - 7h, (E) kinetien - 3h en (F) isopentenielenadenosien + 2% DMSO - 4h, soos bepaal met behulp van die komkommersaadlob-biotoets. 78
- 17 Invloed van α -naftaleenasynsuurbyvoegings tot die voedingsmedium op die sojaboonkallus-biotoets. 80
- 18 'n Tipiese kinetienstandaardkromme soos bepaal met behulp van die sojaboonkallus-biotoets. 81
- 19 Invloed van grondtemperatuur op sitokinienkonsentrasie in wortels van *V. vinifera* cv. Sultana na een- (A), drie- (B), vyf- (C) en sewe weke (D) groeiperiode. 85

- 20 Invloed van grondtemperatuur op sitokinienkonsentrasie in lote van *V. vinifera* cv. Sultana na een- (A), drie- (B), vyf- (C), en sewe weke (D) groeiperiode. 87
- 21 Invloed van grondtemperatuur op sitokinienkonsentrasie in blare van *V. vinifera* cv. Sultana na een- (A), drie- (B), vyf- (C) en sewe weke (D) groeiperiode. 90
- 22 Invloed van cultivar op sitokinienkonsentrasie in xileemsap (A), jong somerlote (B) en blomtrosse (C) van *Vitis*. 93

INHOUDSOPGAWE

Bladsy

HOOFSTUK 1	INLEIDING	1
HOOFSTUK 2	LITERATUUROORSIG	
2.1	Invloed van lugtemperatuur op die groei van plante	3
2.2	Invloed van grondtemperatuur op die groei van plante	4
2.2.1	Uitbot, blomtros- en vrugontwikkeling	6
2.2.2	Loot- en wortelontwikkeling	7
2.2.3	Worteldruk en groeistofsintese	9
2.3	Sitokiniene	10
2.3.1	Identifisering	11
2.3.2	Biosintese	12
2.3.3	Metabolisme	13
2.3.4	Voorkoms en werking	15
2.3.4.1	Xileemsap	15
2.3.4.2	Wortels	18
2.3.4.3	Knoppe en botsels	21
2.3.4.4	Winterlote, botsels en somerlote	23
2.3.4.5	Blare	27
2.3.4.6	Blomtrosse en vrugte	31
2.4	Kwantitatiewe en kwalitatiewe bepaling van sitokiniene	37
2.4.1	Ekstraksie van sitokiniene uit plantmateriaal	37
2.4.2	Ontleding vir sitokiniene	39
HOOFSTUK 3	PROSEDURE	
3.1	Materiaal	44
3.2	Metodes	45
3.2.1	Ekstraksie en suiwering uit plantmateriaal	46
3.2.2	Toetse vir die kwantitatiewe en/of kwalitatiewe bepaling van sitokiniene	48
3.2.2.1	Gaschromatografie	48
3.2.2.2	Komkommersaadlob-biotoets	49
3.2.2.3	Sojaboonkallus-biotoets	50

3.2.2.4	Statistiese analise	51
HOOFSTUK 4 RESULTATE EN BESPREKING		
4.1	Invloed van grondtemperatuur op groei	52
4.1.1	Lootgroei	52
4.1.2	Wortelgroei	59
4.1.3	Blaargroei	63
4.2	Toetse vir bepaling van sitokiniene	73
4.2.1	Gaschromatografiese bepaling	73
4.2.2	Komkommersaadlob-biotoets	75
4.2.3	Sojaboonkallus-biotoets	79
4.3	Biotoetsresultate op Sultana verbou onder beheerde toestande	83
4.3.1	Sitokinienaktiwiteit in die wortels	84
4.3.2	Sitokinienaktiwiteit in die lote	88
4.3.3	Sitokinienaktiwiteit in die blare	91
4.4	Biotoetsresultate op volwasse plante verbou onder veldtoestande	92
4.4.1	Sitokinienaktiwiteit in die xileemeksudaat	94
4.4.2	Sitokinienaktiwiteit in die jong somerlote	95
4.4.3	Sitokinienaktiwiteit in die blomtrosse	95
HOOFSTUK 5 GEVOLGTREKKINGS EN AANBEVELINGS		97
HOOFSTUK 6 OPSOMMING		102
HOOFSTUK 7 LITERATUURVERWYSINGS		104

HOOFSTUK 1

INLEIDING

Die abnormale groei wat in die Sultanawingerde van die Laer-Oranjeriviergebied voorkom en as die groeistilstandverskynsel bekend staan, is vir die eerste keer in 1955 beskryf. 'n Kenmerk van die verskynsel is dat dit in kleiner of groter kolle in 'n wingerd voorkom. Op aangetaste stokke bot die oë swak uit, word lootgroei tydens blomtyd gestrem, vorm swart vlekke op die trosstele en sterf die blomtrosse af; dit word gevolg deur 'n hervatting van sterk lootgroei en die afspeen van die blommetjies. As gevolg van blomtros-afsterwing en die afspeen van die blommetjies kan tot meer as 80 persent oesverliese op aangetaste stokke voorkom. Hierdie verskynsel kom jaarliks op 25 tot 60 persent van die plase in die Laer Oranjeriviergebied voor en kan vir oesverliese van tot 60 persent verantwoordelik wees. Indien hierdie syfers met die waarde van die totale jaarlikse Sultana-oes in verband gebring word, kan 'n geraamde jaarlikse verlies van tot R1 miljoen voorkom.

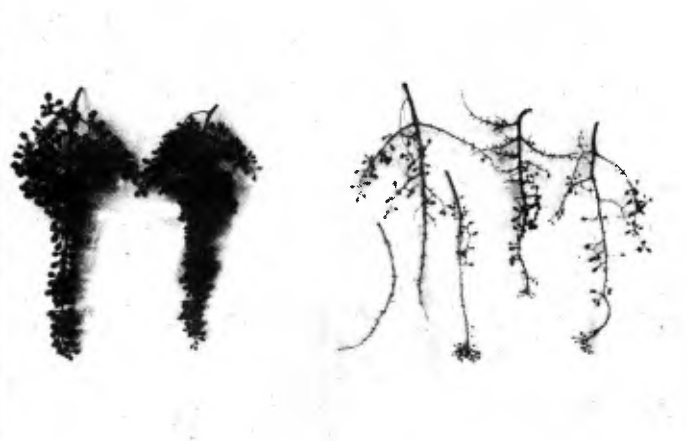
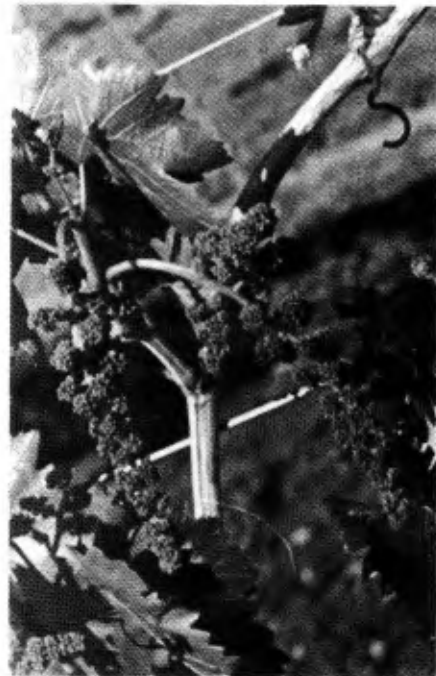
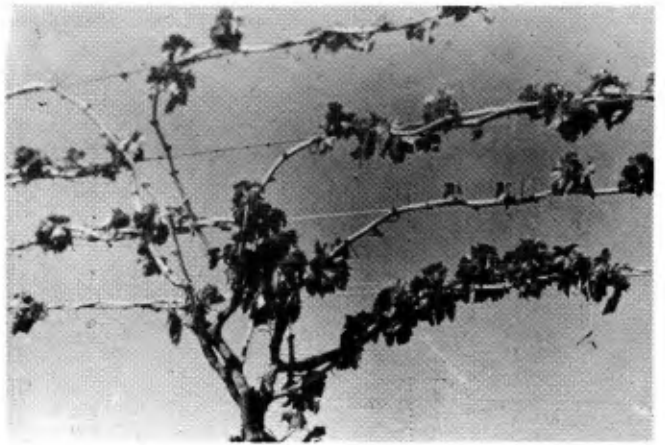
Gedurende die jare 1970 tot 1973 is 'n omvattende veldopname i.v.m. hierdie probleem gedoen. 'n Intensiewe navorsingsprogram, waarin wingerdkundige, insektekundige, mikrobiologiese, grondkundige en chemiese aspekte daarvan ondersoek is, is reeds deurgevoer. Die probleem skyn fisiologies van aard te wees; die klimaat van veral die grond mag 'n rol hierin speel. Baie min aandag is aan die fisiologie van die wingerdstok geskenk. Tot dusver is nog geen spesifieke navorsing met betrekking tot die invloed van grondtem-

peratuur en die daarmee gepaardgaande hormoonmetabolisme op die groei en ontwikkeling van die stok gedoen nie. By *Vitis vinifera*-stokke wat by 'n worteltemperatuur van 30°C gekweek is, het heelwat meer oë uitgebrot en aansienlik beter lootgroei, wortelgroei en vrugset voorgekom as by stokke met 'n worteltemperatuur van 11°C (Woodham & Alexander, 1966). Sintetiese sitokiniene het ook die wortels by *Vitis vinifera*-steggies suksesvol vervang in die handhawing van die groei van jong blomtrossies (Mullins, 1967). Die groot verskille in bogrondse groei van wingerdstokke gekweek by verskillende worteltemperature (Woodham & Alexander, 1966) kan dus moontlik ten dele aan die invloed van die temperature op hormoonproduksie deur die wortels toegeskryf word.

Hierdie ondersoek het as uitgangspunt die hipotese dat wortelaktiwiteit by grondtemperature benede 15°C tot so 'n mate gestrem mag word, dat die produksie van sitokiniene deur die wortelpunte nie voldoende is om bogrondse groei te inisieer en te onderhou nie en dus tot die groeistilstandverskynsel aanleiding gee.

Die spesifieke oogmerke van hierdie studie was om vas te stel:

- Tot watter mate grondtemperatuur die groei en ontwikkeling van die wingerdstok beïnvloed;
- Hoe verskillende grondtemperature die sitokiniënepeile in die wortels, lote en blare van Sultana verbou onder beheerde toestande, beïnvloed;
- Tot watter mate kultivars kort na uitbrot ten opsigte van die sitokiniënepeile in die xilemsap, jong somerlote en blomtrosse van wingerdstokke verbou onder veldtoestande, van mekaar verskil.



Figuur 1. Verskillende simptome van die groeistilstandverskynsel by Sultana-stokke.

HOOFSTUK 2

LITERATUUROORSIG

2.1 Invloed van lugtemperatuur op die groei van plante

Die invloed van lugtemperatuur op die groei en ontwikkeling van die wingerdstok is reeds goed nagevors. By wingerdsteggies gekweek by lugtemperatuur vanaf 15°C tot 35°C by verskillende ligintensiteite (Buttrose, 1969) het die grootste toename in loot-groei en droë massa by temperatuur van 25°C tot 30°C in kombinasie met 'n ligintensiteit van 3600 vt-kers voorgekom. Maksimum fotosintese tempo kom by Sultanastokke by 'n lugtemperatuur van 25°C tot 30°C voor (Kriedemann, 1968) wat ook die optimum lugtemperatuur vir netto assimilasie tempo (Kliwer, Lider & Ferrari, 1972), vrugset en knopvrugbaarheid is (Tukey, 1958; Buttrose & Hale, 1973).

Vir die induksie van die maksimum aantal blomtrosprimordia is die kritiese periode van gevoeligheid vir die hoë lugtemperatuur prikkel, die drie weke voor die vorming van preprimordia by die apikale meristeem van latente knoppe (Buttrose, 1970). Vrugset word grootliks deur lae- (tussen 10°C en 18°C) en hoë dagtemperatuur (33°C en hoër) gedurende die blomperiode verminder (Buttrose & Hale, 1973).

Oor die invloed van lugtemperatuur op die samestelling van die dop en die korrel het Kliwer (1968, 1970), Kliwer & Lider (1970), Buttrose, Hale & Kliwer (1971) en Kliwer & Torres (1972) gerapporteer dat koel nagtemperatuur (15°C teenoor 25°C en hoër) en

matige dagtemperatuur (20°C teenoor 30°C en hoër) die vlakke van antosianiene, totale titreerbare suur en appelsuur verhoog en die vlakke van pH, arginien, prolien en totale stikstof verlaag het. Hierteenoor het hulle wel 'n klein toename (1,5°B) in totale oplosbare vaste stowwe in die sap by hoër temperatuur waargeneem.

Die meganisme waardeur lugtemperatuur blomtrosontwikkeling by *Vitis* beïnvloed is onbekend, maar Steward (1976) het voorgestel dat die invloed van klimaat op blomvorming by plante deur die modifisering van die vlakke van endogene groeireguleerders geskied. Srinivasan & Mullins (1979) het aanduidings gekry dat die vorming van blomtrosse uit preprimordia en jong rankies by *Vitis* deur sitokiniene beheer word. Die wortelpunte is 'n belangrike bron van sitokiniene in plante (Skene, 1975) en die hormone word deur middel van die xileemsap na die bopgrondse dele van die plant vervoer.

2.2 Invloed van grondtemperatuur op die groei van plante

Oor die invloed van grondtemperatuur op stok- en druifontwikkeling en oor hoe grondtemperatuur tot lugtemperatuur interaksies die groei en ontwikkeling van die stok beïnvloed, is min bekend. Een moontlike rede hiervoor is die probleme wat met die regulering van grondtemperatuur by gewenste peile in die veld ondervind word. Publikasies wat reeds oor die invloed van grondtemperatuur op die wingerdstok verskyn het, is dié deur Woodham & Alexander (1966), Skene & Kerridge (1967), Kliewer (1975), Zelleke (1977), Zelleke & Kliewer (1979), Kubota, Tanaka & Shimamura (1980) en Obando-Rodriguez (1980).

Woodham & Alexander (1966) het bevind dat lootmassa, wortelmassa, loot : wortelmassa verhouding, blomtrosontwikkeling en vrugset by Sultana met 'n toename in worteltemperatuur, vanaf 11°C tot 30°C toegeneem het. Kliewer (1975) het die invloed van 'n grondtemperatuurgebied van 11°C tot 35°C op Cabernet Sauvignon-stokke ondersoek. Alhoewel min trosse by 11°C voorgekom het, het by hierdie temperatuur betekenisvol meer korrels geset as by 20°C en hoër en het korrelset in direkte verhouding tot die blaaroppervlakte per tros gestaan. Stokke by worteltemperatuur van 25°C tot 30°C het drie tot agt dae vroeër as by 11°C uitgebort en geblom. Die aantal knoppe wat uitbort, die droë lootmassa en totale blaaroppervlakte per plant het by toenemende grondtemperatuur tot 'n maksimum van 30°C toegeneem, waarna dit skerp afgeneem het. Zelleke (1977) het ook bevind dat 'n toename in worteltemperatuur vanaf 12°C tot 25°C uitbort en lootgroei van Cabernet Sauvignon, geënt op vier verskillende onderstokke, verhoog het. Hy kon egter nie by verskillende grondtemperatuur 'n effek op korrelset per tros aantoon nie.

In teenstelling met bogenoemde kon Obando-Rodriguez (1980) geen invloed van grondtemperatuur op die tyd van uitbort of die bortpersentasie per stok by *Vitis rupestris* cv. St George-onderstokke aantoon nie. Hy het wel 'n naastenby logaritmiese toename in loot- en wortelgroei met 'n toename in grondtemperatuur vanaf 12°C na 22°C, gevolg deur 'n skerp afname by 32°C, waargeneem. Kubota, Tanaka & Shimamura (1980) het die invloed van 'n grondtemperatuurgebied van 12°C tot 35°C op eenjarige Muscat d' Alexandria-stokke in potte ondersoek. Hulle het bevind dat die lootgroei en die toename in droë massa die hoogste was waar grond-

temperature by 25°C of 30°C gehandhaaf is, terwyl groei by al die ander behandelings aanmerklik vertraag is. Die totale hoeveelheid van die elemente, N, P, K, Ca en Mg in die plante het geneig om 'n maksimum te bereik by 30°C, waarna dit skerp afgeneem het tot 'n minimum by 35°C (Kubota *et al.*, 1980).

2.2.1 Uitbot, blomtros- en vrugontwikkeling

Die verskille in die invloed van grondtemperatuur op uitbot in bogenoemde eksperimente toon aan dat die knoppe in verskillende stadia van rus verskillend deur worteltemperatuur beïnvloed word - Kliever (1975) en Zelleke (1977) se eksperimente het in Januarie (noordelike halfrond) 'n aanvang geneem; 'n betekenisvol stimulerende invloed van worteltemperatuur op uitbot is waargeneem. Hierteenoor kon Zelleke (1977) in 'n tweede eksperiment wat in Maart en Obando-Rodriguez (1980) met een wat in Junie (na koel-opberging van plante sedert Maart) 'n aanvang geneem het, geen invloed van grondtemperatuur op uitbot aantoon nie. Die uitbot van wingerde wat reeds hulle winterrusperiode voltooi het, word skynbaar nie opvallend deur grondtemperatuur beïnvloed nie.

Hierdie invloed van grondtemperatuur op uitbot hou moontlik met die hormoonstatus van die plant in die periode voor uitbot en met die invloed van grondtemperatuur op die sintese en afbreking van groeistimuleerders en -inhibeerders verband (Obando-Rodriguez, 1980). Verskeie navorsers (Skene & Kerridge, 1967; Engelbrecht, 1972; Henson & Wareing, 1976) het aangetoon dat wortels 'n belangrike bron van sitokiniene is en dat hierdie hormoon net voor uitbot in wingerdweefsels toeneem. 'n Toename in grondtemperatuur laat die persentasie korrelset en die tros massa toeneem. Die

korrels op stokke by 'n grondtemperatuur van 30°C is ook groter as dié op stokke by 20°C (Woodham & Alexander, 1966). Saam hiermee is die lengtegroei van die blomtrosse by 11°C stadig, terwyl dit by 30°C betekenisvol langer as by beide die ander temperature is.

2.2.2 Loot- en wortelontwikkeling

Lootlengte, lootmassa en droë materiaal per eenheid lootlengte, word sterk beïnvloed deur grondtemperatuur. Verskeie navorsers (Woodham & Alexander, 1966; Atkin, Barton & Robinson, 1973; Kliever, 1975) het vasgestel dat 25°C tot 30°C die optimale grondtemperatuur vir lootgroei en die akkumulering van droë lootmassa by wingerdstokke is. Die groter hoeveelheid droë materiaal per stok by plante gekweek by 'n grondtemperatuur van 25°C as by 12°C, dui aan dat die balans tussen fotosintese en respirasie meer ten gunste van die opbou van droë materiaal by die hoër grondtemperatuur is (Zelleke, 1977). 'n Grondtemperatuur van 35°C het in al die studies geblyk supra-optimaal en nadelig vir plantegroei te wees.

Die totale blaaroppervlakte per stok en die chlorofilinhoud van die blaar word opvallend deur hoër temperature, tot 'n sekere maksimum, bevorder. Die tempo en doeltreffendheid van fotosintese word dus ook deur grondtemperatuur beïnvloed. Supra-optimale temperature verlaag die peil van sitokinien (Gur, Bravdo & Mizraki, 1972) en meeste van die belangrike voedingselemente, veral K, in die plant se blare (Samish, Gur & Shulman, 1968; Obando-Rodriguez, 1980). In skerp kontras met bogenoemde was die Ca- en Mg-peile in die blare van plante gekweek by temperature onder 20°C en bo

30°C hoër as by dié plante gekweek by die optimale grondtemperatuur (Obando-Rodriguez, 1980). Bogenoemde stem ooreen met die bevindings verkry by stokke onderhewig aan die groeistilstand-verskynsel (Smit, C.J., 1983, persoonlike mededeling). Bevindings deur Carlson (1965) dat appelbome (*Malus*) by ca. 13°C 'n lae K en 'n hoë Ca- en Mg-inhoud in die blare gehad het, met presies die omgekeerde patroon by 24°C, sluit by bogenoemde aan. Die peil van totale stikstof is by hoë lugtemperatuur beduidend hoër in die druiwe van stokke wat by 'n grondtemperatuur van 12°C as by 25°C gekweek is (Zelleke, 1977). Laasgenoemde is moontlik omdat by plante gekweek by 12°C 'n kleiner behoefte aan stikstof vir wortel- en lootgroei is en dat gevolglik meer stikstof beskikbaar mag wees vir opberging in die trosse.

Wortelgroei, asook die morfologie van die wortels, word ook deur grondtemperatuur beïnvloed. Stokke wat by 'n temperatuur van 11°C gekweek is, het geen nuwe wortels gedurende die aanvanklike ses weke periode van hul eksperiment gevorm nie (Woodham & Alexander, 1966). Hierteenoor is nuwe wortels binne vier dae by stokke by grondtemperatuur van 20°C en 30°C waargeneem. Die vertraging van wortelgroei by lae temperatuur dra sonder twyfel by tot die swak lootgroei by hierdie temperatuur (Obando-Rodriguez, 1980). Dit is opvallend dat sekere houtagtige plantsoorte by lae grondtemperatuur, nuwe wortels ontwikkel wat wit, kruidagtig en dik is met baie sywortels terwyl by hoër grondtemperatuur bruin, verkurkte, dunner wortels ontwikkel (Barr & Pellett, 1972). Die wortels van wingerdstokke gekweek by 'n grondtemperatuur van 30°C is gevind om langer en dunner in deursnee as by 20°C te wees met meer wit, groeikragtige wortelpunte,

terwyl by 10°C byna geen nuwe wortelgroei plaasgevind het nie (Woodham & Alexander, 1966; Skene & Kerridge, 1967).

2.2.3 Worteldruk en groeistofsintese

Grondtemperatuur is 'n belangrike faktor by waterabsorpsie en laasgenoemde neem toe tot by 'n sekere maksimum temperatuur (Gur *et al.*, 1972). Lae grondtemperatuur kan lootgroei beïnvloed deur die wateropname (O'Leary, 1966; Cox & Boersma, 1967), voedingstofopname en -vervoer (Sutton, 1969) en hormoonsintese in die wortels te beïnvloed. Die absorpsie en translokasie van voedingstowwe is afhanklik van die beskikbaarheid van water, maar dit word direk deur grondtemperatuur beïnvloed (Epstein, 1972). Dit is vasgestel dat 'n toename in grondtemperatuur vanaf 25°C na 35°C die eksudasietempo deur afgesnyde apikale wortelsegmente van verskillende plantsoorte variërend beïnvloed (O'Leary, 1966). Daar is skynbaar 'n verband tussen die vermoë van wortels om worteldruk op te bou en die reaksie op 'n temperatuurstyging. Hoe laer die inherente eksudasietempo, des te groter is die toename in eksudatie in reaksie op 'n toename van 10°C in worteltemperatuur.

Dit is bekend dat wortels hormone produseer wat vir volgehoue lootmetabolisme en lootgroei (Carr & Reid, 1968), en vir blom-trosontwikkeling nodig is (Mullins, 1968). Uitruiing van groeistowwe tussen floëem en xileem *in vivo* kom wel tot 'n mindere mate voor (Wareing & Saunders, 1971), maar die hoë sitokinien- (Weiss & Vaadia, 1965) en gibberellienpeile (Skene, 1967) in wortelpunte ondersteun die hipotese dat groeireguleerders in die xileemsap hoofsaaklik in die wortels gevorm word. In grond kom

baie potensiële veranderlikes soos temperatuur, minerale voeding, wortelsnoei en deurlugting voor, wat die tempo en hoeveelheid van groeistowwe gesintetiseer kan beïnvloed. Die peile van hierdie groeireguleerders kan ook deur bogenoemde faktore eksperimenteel gewysig word (Itai & Vaadia, 1965; Zelleke, 1977).

Grondtemperatuur kan 'n invloed op plantgroei uitoefen deur óf die sintese van die groeistowwe deur die wortels, óf die translokasie daarvan vanaf die wortels na die lote beïnvloed (Cooper, 1973). Lae grondtemperatuur verminder sitokinienuitvoer en plantgroei dramaties, terwyl die uitvoer van inhibeerders toeneem (Atkin *et al.*, 1973). Dit wil dus voorkom asof 'n lae grondtemperatuur die groeipatroon van bogrondse organe beïnvloed deur die hoeveelheid en balans van groeireguleerders wat na die lote uitgevoer word, te verander (Atkin *et al.*, 1973; Cooper, 1973; Kliewer, 1975).

Die ontleding van die eksudasiesap van verskeie plante het aangetoon dat sitokiniene (Weiss & Vaadia, 1965; Skene & Kerridge, 1967), gibberelliene (Skene, 1967), ouksiene (Luckwill & Whyte, 1968) en inhibeerders (Bowen & Hoad, 1968; Lenton, Bowen & Saunders, 1968) daarin voorkom. Hierdie bespreking sal egter tot sitokinien beperk word.

2.3 Sitokiniene

Hierdie is 'n groep planthormone wat nie net seldeling bevorder nie, maar ook by die regulering van 'n wye reeks van fisiologiese prosesse betrokke is. Volgens Hall (1973) word die naam sitokinien gebruik vir alle sintetiese en natuurlike verbindings

wat groei en differensiasie by plantweefselkulture induseer.

2.3.1 Identifisering

Die vinnige isolering, identifisering en kwantifisering van planthormone soos sitokiniene is 'n belangrike voorvereiste tot die bestudering van hul werkingsmeganisme en metabolisme. Sitokiniene word as een van die groepe van planthormone beskou wat die moeilikste is om te kwantifiseer. Vrye sitokiniene wat met polêre oplosmiddels geëkstraheer kan word is deur chromatografiestudies in 'n wye verskeidenheid van laer en hoër plante aangetoon, nl. in mikorriza en swamme (Crafts & Miller, 1974), sonneblom (Klämbt, 1968) en wingerd (Skene, 1972; Skene & Antcliff, 1972; Pool, 1975; Zelleke, 1977). Alhoewel 'n groot hoeveelheid literatuur oor die teenwoordigheid van sitokiniënagtige verbindinge in die xileemsap van plante beskikbaar is, is slegs beperkte inligting oor die identiteit van hierdie verbindinge bekend. In die xileemsappe van meeste plante word twee pieke van sitokiniën-aktiwiteit waargeneem (Van Staden & Dimalla, 1980). Meeste van hierdie aktiwiteit is gewoonlik met die nie-polêre piek ($R_f 0,6 - 0,8$) wat met zeatien en isopentenieladenien en hul ribosied- en dihidro-derivate ko-chromatografeer, geassosieer. Hierdie verbindinge word as die aktiewe vrye-basisvorme van die sitokiniene beskou (Miller, 1968; Andonova, Lilov, Kotseva, 1980; Van Staden & Dimalla, 1980). In die polêre piek ($R_f 0,1 - 0,3$) is 'n gefosforileerde verbinding, vermoedelik 'n zeatiennukleotied, en sitokiniënglukosiede en hulle dihidro-derivate aangedui (Miller, 1968; Dimalla, Van Staden & Smith, 1977; Van Staden & Dimalla, 1980). Na hierdie sitokiniene word dikwels verwys as die opbergings- of

gebonde vorme van die hormoon.

Vir die kwalitatiewe bepaling en identifisering van sitokiniene is gaschromatografie-massaspektrometrie 'n sleuteltegniek (Letham, 1978; Summons, Entsch, Parker & Letham, 1979). Laasgenoemde is egter nog slegs in 'n paar gevalle gebruik om natuurlike sitokiniene te identifiseer, hoofsaaklik a.g.v. die koste daaraan verbonde. Vir 'n opsomming van identifiserings- en kwantifiseringsmetodes word verwys na Tabel 1 in Hoofstuk 2.4.

2.3.2 Biosintese

Plantselle het vir die handhawing van hul fisiologiese prosesse 'n gebalanseerde voorsiening van sitokinien nodig. Daar moet dus meganismes vir die handhawing van voldoende peile van sitokiniene in die selle bestaan (Chen, 1981). Die huidige kennis oor die sintetiese weë van vrye sitokiniene in plantweefsels is egter nog baie gebrekkig.

Twee denkrigtings bestaan oor die moontlike weg waarlangs sitokiniene gesintetiseer kan word. Barnes *et al.* (1980) en Maass & Klämbt (1981) sien dit via die hidrolise van polinukleotiede soos t-RNA. Eersgenoemde het bevind dat tot 40 persent van die vrye sitokiniene in aartappelselle van die afbraak van t-RNA afkomstig is. Heelwat ander bewyse dui daarop dat vrye sitokiniene in plante langs 'n weg wat nie die degradering van t-RNA insluit nie, gesintetiseer word (Letham, 1978). Hierteenoor staan Chen & Petschow (1978a) die gedagte van *de novo* sintese van sitokiniene uit adenien monomere voor. Chen (1981) het bevind dat daar belangrike kompeterende ensimatiese weë bestaan waardeur sitoki-

niene en hul afgeleides in plantselle gesintetiseer, omvorm en afgebreek word. Hiervolgens werk die mees fundamentele beheer-meganismes waarskynlik op die vlak van ensimatiese regulering van sitokinienmetabolisme.

Die aanwesigheid van sitokiniene in 'n plantorgaan op enige tyd-stip is nie slegs van self-sintese afhanklik nie, maar ook van die vervoer van hierdie verbindings tussen organe. Skene (1975) en Chen (1981) beweer dat alhoewel daar bewyse voor bestaan dat sitokiniene in die eksudasiesap van die wortels afkomstig is, daar nie uitsluitel daaroor bestaan of die intakte wortelpunte en/of ander plantdele as primêre gebied van sitokinien biosintese dien nie. Beskikbare inligting bied sterk ondersteuning daarvoor dat wortelpunte gebiede van sitokiniensintese is (Short & Torrey, 1972; Feldman, 1975; Henson & Wareing, 1976). In geassosieerde mikorrisas, soos *Rhizopogon roseolus* en *Amanita rubescens*, is hoë peile van sitokinien aangetoon en indien teenwoordig, kan hierdie swamme moontlik ook die sitokinienproduksie deur die wortels aanvul (Crafts & Miller, 1974).

2.3.3 Metabolisme

Die werkingsmeganisme van sitokiniene moet nog vasgestel word. Dit is veral nog onbekend hoe hierdie aktiewe verbindings as 'n prikkel deur die plantselle waargeneem word. Onsekerheid bestaan ook oor hoe hierdie waarnemingsproses die reeks biochemiese prosesse, wat by die uitdrukking van hulle biologiese aktiwiteit betrokke is, in hierdie selle aan die gang sit (Laloue, Terrine & Guern, 1981). Alhoewel sitokiniensintese gelokaliseerd

in sekere plantweefsel mag plaasvind, kan die metabolisme van vrye-basis sitokiniene waarskynlik op enige plek in die plant plaasvind (Davey, 1978).

Die bestudering van sitokiniënmetabolisme is eerstens belangrik omdat dit tot die herkenning van die aktiewe vorm(e) van 'n sitokiniën mag lei - dit is nog onbekend of 'n verbinding soos zeatien as sulks aktief is en of die metaboliete die funksionele molekulêre komponente is (Letham, 1978). Tweedens is daar bewyse vir die bestaan van gebonde vorme van sitokiniene (Gazit & Blumenfeld, 1970; Andonova, Lilov & Kotseva, 1980) - die identiteit van hierdie swak- tot onaktiewe verbindings is onbekend, maar die bestudering van sitokiniënmetabolisme kan tot 'n kennis van die struktuur van hierdie potensieel belangrike verbindings, wat met hidrolise hoogs aktiewe sitokiniene lewer, lei (Letham *et al.*, 1978).

Sitokiniën-glukosiede is uit 'n verskeidenheid van plantweefsels geëkstraheer en is in besonder hoë konsentrasies in verouderende blare en in sade aanwesig. In blare bou sitokiniën-glukosiede met die tyd op; dit is blykbaar die resultaat van die metabolisme van zeatien en zeatienribosied wat die blare met die transpirasietroom binnedring (Letham *et al.*, 1976). Die vermoë van blare om sitokiniën-glukosiede te vorm, bring mee dat blare as 'n effektiewe poel vir hierdie verbindings optree (Wareing, Horgan, Henson & Davis, 1976).

Dit is goed bekend dat eksogeen toegediende sitokiniene soos zeatien en 6-bensielaminopurien na hulle onderskeie ribonukleo-

siede, ribonukleosied-5'-fosfate, 7- en 9-glukosiede asook na verskeie konjugate, waarin die aard afhang van die aard van die biologiese sisteem, gemetaboliseer word (Parker & Letham, 1973; Letham, 1978).

Sitokinien 7- en 9-glukosiede besit 'n baie swakker aktiwiteit as vrye sitokiniene en eersgenoemdes blyk uiters stabiele metaboliete te wees (Parker & Letham, 1973). Sitokinien-glukosiede is waarskynlik die opbergingsvorm van sitokiniene en mag moontlik ook die gebonde sitokiniene, wat hoofsaaklik onaktief is, wees (Letham, 1978). Seldeurdringbaarheid vir sitokiniene en hulle metaboliete speel 'n kritiese rol in die beheer van hul konsentrasies binne-in die selle. Selle is skynbaar ondeurdringbaar vir sitokinien-ribosied 5'-fosfate en sitokinien 7-glukosiede, wat moontlik die wyse is waardeur hierdie verbindings onaktief gemaak word. Hierteenoor is die selle skynbaar baie deurdringbaar vir sitokinien-basisse en -ribosiede.

Dit wil voorkom asof verskeie ensiensisteme by die metabolisme van sitokiniene betrokke kan wees, bv. sitokinien oksidase (Whitty & Hall, 1974) en kinase (Doree & Terrine, 1973). 'n Belangrike faktor wat die lot van sitokiniene bepaal, is die relatiewe aktiwiteite van die metaboliserende ensieme, wat weer op hulle beurt deur die relatiewe konsentrasies en verspreiding van die hormone en hul voorlopers in die plantselle beïnvloed word (Chen, 1981).

2.3.4 Voorkoms en werking

2.3.4.1 Xileemsap

Die stelling deur Davey (1978) dat sitokiniene in die xileemsap

bloot vanuit die wortelsisteem hersirkuleer nadat dit in 'n ander gebied in die plant gesintetiseer is, staan in kontras met vroeëre bevindings. Skene (1972a) kon byvoorbeeld nie daarin slaag om 'n verhoging in die peil van ekstraheerbare sitokiniene in 'n loot distaal van 'n basringelingswond waar te neem nie. Wortels, en veral die meristematie se weefsel van die wortelpunte, is tans die een weefsel wat onteenseglik as 'n sintesegebied beskou kan word (Engelbrecht, 1972; Pool & Powell, 1975; Henson & Wareing, 1976). Sitokiniënaktiwiteit van die xileemsap word dus algemeen aanvaar as 'n maatstaf van die bydrae van die wortels tot die sitokiniënhoud van die lote.

Die hoeveelheid sitokiniene wat in die xileemsap vervoer word, word deur 'n verskeidenheid van faktore beïnvloed. Volgens verskeie navorsers (Van Reenen, 1946; Skene & Kerridge, 1967; Atkin *et al.*, 1973) is die aanvang en tempo van eksudasie by wingerd oorewegend van die grondtemperatuur afhanklik. Oor die algemeen is die sitokiniënaktiwiteit in die xileemsap relatief hoog, wat meebring dat 'n aansienlike hoeveelheid sitokiniene daagliks na die bogrondse dele van die plant beweeg.

In die xileemsap van wingerd kom 'n aantal verbindings met sitokiniënaktiwiteit voor. Dit sluit verbindings wat ko-chromatografeer met zeatien, zeatienribonukleosied en -ribonukleotied in (Nitsch & Nitsch, 1965; Skene, 1971; Pool, 1975). Bykomstig tot bogenoemde het Zelleke & Kliewer (1981) in plante by 'n grondtemperatuur van 25°C ook isopenteniëladenien en die ribonukleosied van hierdie purien aangetoon. Zeatienribonukleosied is vir die meeste aktiwiteit verantwoordelik en is dan ook die

belangrikste vorm van sitokinien wat in die xileemsap vervoer word (Gordon, Letham & Parker, 1974; Pool, 1975; Henson & Wareing, 1976).

Die kwalitatiewe patroon van aktiwiteit in wingerdeksudasiesap is nie konstant nie. Die verhouding van sitokinien-nukleotiede tot totale sitokinienaktiwiteit neem met tyd na afsnyding van 'n loot toe (Skene, 1972a) en die teenwoordigheid daarvan hang waarskynlik van grondtemperatuur en die aard van die groeimedium af. Nukleotiede kom dikwels in die eksudasiesap voor en dit is moontlik dat gedeeltelike of volledige hidrolise van die meer komplekse vorme gedurende suiwing van die ekstrakte (Tegley *et al.*, 1971) of selfs tydens die insameling van die sap voorkom. In teenstelling met eksudasiesap wat vorm a.g.v. die plant se worteldruk is geen vrye-basis sitokiniene in eksudasiesap wat onder vakuum versamel is, waargeneem nie (Skene 1972a).

'n Verhoging van die eksudasietempo gaan met 'n verhoging van die sitokinienaktiwiteit gepaard. Vanaf die begin van eksudatie in die lente, neem die sitokinienaktiwiteit in die xileemsap toe om 'n maksimum tydens die bot van die knoppe te bereik. Daarna neem die aktiwiteit vinnig af, totdat dit 2 tot 3 weke na bot nie meer waargeneem kan word nie (Vollmer, 1976). Die aktiwiteite in die xileemsap neem effe toe tot blom, om 30 dae na antese weer af te neem tot 'n laagtepunt by véraison en weer toe te neem met vrugrypwording (Chacko, Saidha, Swamy, Reddy & Kohli, 1976; Zelleke & Kliewer, 1981).

'n Verandering in die sitokinienaktiwiteit van die xileemsap

kan deur 'n verskeidenheid van uitwendige faktore geïnduseer word. Hierdie faktore is in 'n vorige gedeelte reeds bespreek. Cultivars met 'n inherent hoër eksudasietempo het 'n laer sitokiniënkonsentrasie in die xileemsap as cultivars met 'n laer eksudasietempo (Vollmer, 1976); hierdie verskynsel is onafhanklik van die verloop van eksudasie.

Die wisselende vermoëns van die wortels om óf die hormone te produseer, óf dit in die xileemvate akropetaal te vervoer, speel 'n belangrike rol in die metaboliese beheer van die bopgrondse dele en in die vegetatiewe groei en opbrengs van die plant (Kende & Sitton, 1967; Skene & Antcliff, 1972).

2.3.4.2 Wortels

Dit is deur vroeëre navorsing (Weiss & Vaadia, 1965) aangetoon en deur meer onlangse navorsing (Henson & Wareing, 1976) bevestig dat wortels 'n belangrike bron van sitokiniën vir die bopgrondse dele van die plant is en dat die meristematiese streek van die wortelpunt die primêre gebied van sitokiniënsintese is. Hierteenoor het ekstrakte van fisiologies-ouer wortels min of geen sitokiniën-aktiwiteit getoon nie. Short & Torrey (1972) beweer dat die oormaat vrye sitokiniëne in vergelyking met dié in t-RNA aantoon dat sitokiniëne in die wortelpunte langs biosintese-weë, onafhanklik van die katabolisme van t-RNA, geproduseer word.

Die moontlikheid dat sitokiniëne na die meristematiese gebiede vervoer word, daar ophoop en later weer deur omsetting uit die opbergingsvorm vrygestel kan word, kan nie heeltemal uitgeskakel word nie (Skene, 1975). Sitokiniëne kan in die wortels van

intake plante ophoop indien 'n oormaat sitokinien geproduseer word. Wortels besit gevolglik die vermoë om sitokiniene te metaboliseer en die teenwoordigheid van gebonde vorme van sitokinien in die wortels impliseer dus nie noodwendig dat hierdie verbindings in die lote ontstaan het nie (Davey, 1978). Alhoewel die fisiologiese belang van sitokinien-glukosiede nog vasgestel moet word, wil dit voorkom asof dit 'n opbergingsvorm is (Skene, 1975; Letham, 1978).

Deur middel van chromatografiestudies is vasgestel dat zeatien, zeatienribosied en zeatienribotied in wortels voorkom (Skene, 1975) terwyl ook sitokinien-glukosiede in die wortelpunte van ertjie-saailinge aangetoon is (Short & Torrey, 1972). Hierdie sitokinien-glukosiede kan na die vrye-basisvorme soos zeatien en zeatienribosied omgesit word in die lente wanneer aktiewe groei hervat word (Lorenzi, Horgan & Wareing, 1975).

Short & Torrey (1972) beweer dat zeatien die mees aktiewe sitokinien in wortels is. Interessante verskille is dan ook deur Henson & Wareing (1976) in die sitokiniensamestelling van die wortels en die xileemsap van *Xanthium* gevind. Ekstrakte van beide die wortels en die xileemsap het twee sitokiniene bevat wat in hulle eienskappe soortgelyk aan zeatien en zeatienribosied was, maar die verhoudings waarin die sitokiniene in die twee gevalle voorgekom het, het grootliks verskil. In die wortels het die aktiwiteit in die zeatien-piek dié in die zeatienribosied-piek oorskry of naastenby daarmee ooreengestem. In teenstelling hiermee het die zeatienribosied-piek in die xileemsap meer as 90 persent van die totale sitokinienaktiwiteit verteenwoordig.

Dit wil dus voorkom asof laasgenoemde by voorkeur die vorm van sitokinien is wat deur die wortels uitgevoer word.

Die verandering in die sitokinienaktiwiteit van die wortels tydens die vegetatiewe groeisyklus van die wingerdstok, is deur Andonova & Lilov (1975) nagegaan. Hulle het bevind dat die aktiwiteit in die wortels toegeneem het namate die plant groei om 'n maksimum met korrelswel (middel Junie - noordelike halfrond) te bereik, waarna dit vinnig afgeneem het om 'n minimum met blaarval te bereik. Bogenoemde korreleer relatief goed met die bevinding van Zelleke & Kliewer (1981).

'n Hele aantal faktore kan die sitokinienaktiwiteit in die wortels beïnvloed, onder andere minerale voeding en besmetting deur nematodes. Salama & Wareing (1979), het vasgestel dat 'n lae stikstof-, fosfor- of kaliumpeil in die voedingsmedium tot 'n skerp afname in die sitokinienaktiwiteit wat uit die wortels geëkstraheer is, gelei het. In gevalle waar wortels met nematodes besmet is, is ook 'n skerp afname in die sitokinienaktiwiteit van die wortels en xileemsap waargeneem (Brueske & Bergeson, 1972; Epstein, 1972). Vanweë die anatomiese veranderinge wat tydens infeksie waargeneem is, het bogenoemde skrywers die aanname gemaak dat die nematodes die geleidingsweefsels in die wortel versteur en sodoende sitokiensintese en -uitvoer belemmer het. In wese wil dit voorkom asof aktiwiteit in wortels en xileemsap deur dieselfde faktore beïnvloed word.

Wortelgevormde sitokiniene beïnvloed 'n verskeidenheid van aspekte in plantontwikkeling. Hierdie hormone mag betrokke wees by sekere

van die effekte van onderstokke op bostokontwikkeling (Skene & Antcliff, 1972). Dit het ook 'n algemene effek op die beweging van verskillende tipes verbindings. So byvoorbeeld het die toediening van bensieladenien aan die wortels van 'n wingerdstok daartoe gelei dat die wortels 'n sterker poel as die lootpunte vir fotosintetiese produkte geword het (Shindy, Kliewer & Weaver, 1973). Sitokinien kan dus óf alleen, óf in kombinasie met oksien en gibberellien (Chacko *et al.*, 1976) 'n invloed uitoefen op die vervoer van voedingstowwe. Op sellulêre vlak bevorder sitokiniene die proteïen- en vetmetabolisme, die ontwikkeling van endoplasmiese retikulum en mitochondria en die ontwikkeling van proplastiede tot chloroplaste (Skoog & Ghani, 1981).

2.3.4.3 Knoppe en botsels

In die studie deur Henson & Wareing (1977) is aangetoon dat afgesnyde knoppe van *Xanthium*-plante nie in staat is om die sitokinienepeile wat in intakte knoppe voorkom, te handhaaf nie. Die sitokiniene in hierdie knoppe ontstaan dus nie as gevolg van selfsintese nie, maar is heel waarskynlik uit die wortels afkomstig. Bogenoemde is skynbaar nie die geval by wingerd nie. Sitokiniene toevoer vanuit die wortels tot en met die aanvang van eksudatie is onwaarskynlik. Nogtans word 'n toename in aktiwiteit in die na-rus periode waargeneem. Slegs 'n aktivering of sintese van sitokiniene in die knoppe of in die nabye omgewing daarvan kan dus tot hierdie toename lei. As bewys dat sitokiniensintese in die knoppe plaasvind, het Vollmer (1976) asook Nakano, Yuda & Nakagawa (1980) aangetoon dat die sitokinieneaktiwiteit in die knoppe van onbewortelde steggies én bewortelde plante gedurende die na-rus periode toeneem.

Wanneer eksudasie 'n aanvang neem is, naas sintese, 'n toevoer van sitokiniene uit die wortels ook moontlik. Wortelgevormde sitokiniene word dan met die xileemsap na die lote vervoer waar dit tot beskikking van die knoppe kom. Die sitokinienvoorsiening vanuit die wortels kan ook met behulp van afgesnyde lote aange-
toon word. Die sitokinienaktiwiteit neem in onbewortelde steg-
gies inderdaad 'n soortgelyke patroon as in intakte plante aan. Die enigste verskil is dat die maksimum hoogte wat bereik word, verskil. Die sitokinienaktiwiteit in die knoppe van intakte plante bereik hoër waardes as in die onbewortelde steggies (Hewett & Wareing, 1973). Hierdie verskil kan ten minste gedeeltelik na die voorsiening van sitokiniene vanuit die wortels in intakte plante terugvoer word.

Knoppe wat begin uitbot bevat aansienlike hoeveelhede sitokiniene. Lilov & Andonova (1976) het bevind dat die meer apikale knoppe op 'n loot meer sitokiniene bevat as die basale knoppe. Dit kan daar-
aan toegeskryf word dat die meer apikale oë eerste begin uitbot. Dit is bekend dat knoppe wat uitbot meer sitokinien bevat as die knoppe in rus of dié wat besig is om uit te bot (Domanski & Kozlowski, 1968; Nakano, Yuda & Nakagawa, 1980).

Sitokinienaktiwiteit in die knoppe is laag tydens die rusperiode, moontlik as gevolg van 'n afname in, of 'n staking van seldeling en knopdifferensiëring. In die na-rusperiode neem die aktiwiteit vinnig toe om teen bottyd 'n maksimum te bereik. Daarna neem dit weer af namate die groei van die botsels toeneem (Vollmer, 1976; Nakano *et al.*, 1980; Jákó, 1981).

In rustende wingerdknoppe is 'n verandering in sitokinienaktiwiteit

waargeneem en dit wil voorkom asof hierdie sitokiniene aan 'n endogene ritme onderwerp word (Vollmer, 1976). In die voor-rus en endogene russtadiums is die sitokiniënaktiwiteit in die knoppe laag maar terselfdertyd is die absisiensuurgehalte in die node hoog. Dit wil dus voorkom asof 'n hoë absisiensuur-tot-sitokiniën verhouding die induksie van knoprus beheer (Düring & Alleweldt, 1974). In aansluiting by die endogene ritme speel eksogene faktore ook 'n rol. Die interessante waarneming is gemaak dat 'n chloorholienchloried (CCC) behandeling voor uitbot, die sitokiniënaktiwiteit in die plant verhoog. In die knoppe van behandelde plante het 17,3 persent meer aktiwiteit as by die kontrole-plante voorgekom. Hierdie hoër aktiwiteit kan met die hoër botpersentasie geassosieer word (Skene & Antcliff, 1972; Lilov & Andonova, 1976).

Die sitokiniënaktiwiteit in die knoppe is met die temperatuursiklus vergelyk (Vollmer, 1976; Jákó, 1981). Hulle het vasgestel dat 'n skommeling in aktiwiteit in die periode voor bot na die temperatuurskommelings teruggevoer kan word. Die vinnige toename in sitokiniënaktiwiteit tussen die aanvang van eksudasie en uitbot kan nie slegs aan 'n sintese in die knoppe nie, maar ook aan 'n toevoer vanuit die wortels, toegeskryf word. Uit die ondersoek van Woolley & Wareing (1972), Sebanek & Obhlidalova (1975) en Nakano *et al.*, (1980), is dit duidelik dat die funksie van sitokiniene in die knoppe is om uitbot te stimuleer.

2.3.4.4 Winterlote, botsels en somerlote

Dit word algemeen aanvaar dat sitokiniene in organe en weefsels met 'n hoë sitokiniënhoud of waar aktiewe seldeling in plaasvind,

gesintetiseer word (Vollmer, 1976). Sitokiniene kom relatief volop in jong somerlote en botsels voor en dit is dus logies dat hierdie organe in staat sou wees om sitokiniene te sintetiseer (Vollmer, 1976; Chen, 1981). Min eksperimentele gegewens is egter hieroor beskikbaar. Chen (1981) het sitokiniensintese in lote met tabakplante aangetoon. Hy het ook bevind dat ensiemsisteme in die plantselle 'n gebalanseerde voorsiening van sitokiniene vir hul groei reguleer. Verder het Engelbrecht (1972) bevind dat sitokinien-nukleotied en -glukosied wat tydens die groeiseisoen opgehoop het, in die lente wanneer aktiewe groei hervat, na vrye-basisvorme soos zeatien en zeatienribosied omvorm kan word. Hierdie omvorming kan dan weer die sitokiniene beskikbaar stel vir benutting.

Skene (1972) het 'n toename in sitokinienaktiwiteit tydens koelopberging waargeneem, onafhanklik van die aanwesigheid van 'n wortelsisteam. Hierdie outeur beweer dat bogenoemde beskou moet word as 'n ophoping van sitokiniene, wat moontlik deur stadig-delende kambiumselle in die loot gevorm word. Deur die gebruik van radio-aktiefgemerkte zeatien, het Van Staden (1982) bevind dat baie min van die zeatien tussen verskillende organe en weefsels van koelopgebergte wingerdsteggies vervoer word. Na aanleiding van bogenoemde is dit dus onwaarskynlik dat die hoë vlak van natuurlike sitokiniene, wat in die knoppe waargeneem is, aan die vervoer uit die xileem of floëem toegeskryf kan word. Omgekeerd skyn die ophoping van sitokiniene in die xileemsap van wingerdsteggies ook nie die gevolg te wees van 'n vervoer vanuit die knoppe nie (Van Staden, 1982).

Verskeie navorsers kon buiten die akropetale vervoer van sitoki-

niene, ook 'n basipetale vervoer vasstel. Hierdie basipetale vervoer word verhoog indien oksien saam met die sitokiniene toegedien word (Black & Osborne, 1965; Seth, Davies & Wareing, 1966; Radin & Loomis, 1974). Wanneer sitokiniene aan die xileem en floëem toegedien word, beweeg die toegediende sitokiniene en die metaboliëte wat daaruit gevorm word, in beide 'n akropetale en basipetale rigting (Van Staden, 1982). Die belangwekkende ontdekking dat sitokiniene in die floëemsap voorkom, impliseer dat die sitokiniënverspreiding in die bogrondse plantdele beheer mag word deur sitokiniene wat oorspronklik in die xileemsap akropetaal vervoer is. Sitokiniene in die floëemsap verteenwoordig egter nie noodwendig die eindprodukte van xileemsap-vervoerde sitokiniene nie (Davey, 1978).

Die sitokiniënaktiwiteit in die jong somerlote en botsels ontstaan nie net deur self-sintese nie, maar ook deur die toevoer vanaf ander plantorgane soos byvoorbeeld die wortels, blare en druiwe (Waitz, 1975; Henson & Wareing, 1976; Hoad, Loveys & Skene, 1976). Wortelgevormde sitokiniene kan in die lote ophoop waar dit die groei van organe soos die bloeiwyses, kan aanhelp, onafhanklik van die wortellengte (Mullins, 1967).

Die sitokiniënaktiwiteit in die winterlote neem vinnig toe tot net voor, of met uitbot (Nakano *et al.*, 1980). Hierdie ophoping word toegeskryf aan 'n gebrek aan lootgroei, met 'n gepaargaande verbruik van sitokiniene, terwyl sitokiniëntoevoer vanaf die wortels reeds plaasvind (Lilov & Andonova, 1976). Die aktiwiteit neem weer af sodra die jong somerlote begin groei en sitokiniene verbruik. Tot net voor volblom is die sitokiniënaktiwiteit in die somerlote

laag. Daarna neem dit aansienlik toe, om gedurende die korrel-groei-periode 'n maksimum te bereik. Die periode na korrelgroei word gekenmerk deur 'n afname in die sitokienaktiwiteit, en tydens blaarval bereik dit 'n minimumwaarde (Lilov & Andonova, 1976; Andonova, Lilov & Kotseva, 1980).

Die ritme van sitokiniënaktiwiteitsverandering in die lote stem met die ritme van die biosintese en vervoer daarvan vanuit die wortels ooreen. Lilov & Andonova (1976) het ook 'n hoë positiewe korrelasie tussen verandering van die aktiwiteit in die lote en lootgroei aangetoon. Maksimale sitokiniënaktiwiteit het saamgeval met die mees aktiewe groei en die minimum aktiwiteit met die algehele beëindiging van die groeiproses. In 'n vergelyking van die veranderinge tussen die vrye- en gebonde vorme van die sitokiniene, is aangetoon dat tydens aktiewe groei, 'n maksimum van eersgenoemde saamval met 'n minimum van laasgenoemde. Na die beëindiging van lootgroei is die afname in vrye vorme geassosieer met 'n toename in gebonde sitokiniene (Andonova, Lilov & Kotseva, 1980). Die vrye vorme kom egter deurgaans in groter hoeveelhede as die gebonde sitokiniene voor.

Die lootpunte stel naas die wortels en die rypwordende korrels 'n verdere deur sitokiniën-geïnduseerde aantrekkingspoel vir voedingstowwe daar. Die meristematische weefsel van die lootpunte word dus tot 'n dominante groei gestimuleer en verhinder daardeur die uitbot en/of lengtegroei by sylote. Bevindings deur Skene & Kerridge (1967), dat wingerdlote vir normale ontwikkeling 'n voorsiening van sitokiniene benodig, word deur Pool & Powell (1975) ondersteun. Aan hierdie behoefte kan in die af-

wesigheid van 'n wortelsisteem, deur die eksogene toediening van sitokiniene, voldoen word. Die beweging van fotosintetiese produkte word deur die toediening van bensieladenien aan die somerlote beïnvloed (Shindy & Weaver, 1970). Bensieladenien tree hier op as 'n sterk mobiliseringsmiddel en kan beweging van ^{14}C -assimilate na die lootpunte verhoog (Shindy & Weaver, 1967).

Vinniggroeiende apikale groeipunte het 'n hoë sitokinienmetabolisme (Davey & Van Staden, 1978a). Sitokiniene word in die periode van seldeling en proteïenmetabolisme vinnig in die weefsels ingebou (Engelbrecht, 1971) waar dit binne 'n kort tydjie na 'n onaktiewe vorm omgeskakel word. Manos & Goldthwaite (1975) kom tot die gevolgtrekking dat 'n voortgesette voorsiening van sitokiniene vanuit die wortels vir die instandhouding van lootgroei belangrik is.

2.3.4.5 Blare

Wanneer die waterverbruik van die plant versteur word en die voglobeging afneem, is bevind dat die sitokinienaktiwiteit in die blare ook afneem. Sitokiniene in die blare ontstaan waarskynlik in die wortels (Itai & Vaadia, 1965; Henson & Wheeler, 1977). Die verbindings wat in die xileemsap voorkom, nl. zeatien en zeatienribosied, ondergaan in die blaar 'n verandering na die glukosiedvorme (Letham *et al.*, 1976). Hierdie siening stem ooreen met die bevinding deur Hewett & Wareing (1973) dat, nadat die groeiaktiwiteit in die lootpunt tot stilstand gekom het, sitokiniene wat in die eksudasiesap is, in die blare in beweeg waar dit na die glukosiedvorm gemetaboliseer word. Vollmer (1976) beweer dat sitokiniensintese moontlik in jong blare kan plaasvind omdat die

sitokiniene hoofsaaklik in die vrye basis- en ribosiedvorm daarin voorkom.

'n Hele verskeidenheid van sitokiniene kom in die blare voor. Die hoogste totale sitokiniënaktiwiteit en die grootste verskeidenheid van sitokiniene kom in die jong, groeiende blare voor. Namate die blare volwasse raak en verouder, neem die aantal, asook die aktiwiteit van die beweeglike sitokiniene af. Hewett & Wareing (1973) het ten minste sewe sitokiniene in ekstrakte van volwasse populierblare geïdentifiseer. Drie hiervan was zeatien met sy ribosied en glukosied. Die sitokiniene wat in die jong, aktief-groeiende blare voorkom, is hoofsaaklik in die vrye basis- en/of ribosiedvorm. Hierteenoor kan 'n groot gedeelte van die sitokiniënaktiwiteit in die volwasse en verouderde blare aan die nukleotied- en glukosiedvorme van die betrokke sitokiniene toegeskryf word (Engelbrecht, 1971); Van Staden & Wareing, 1972; Van Staden, 1976; Henson & Wareing, 1976). Die kapasiteit vir glukosidering van sitokiniene neem tydens die vergroting en volwassewording van die blare toe (Henson, 1978).

In jong somerlote is die transpirasietempo as gevolg van die klein blaaroppervlakte swak. Laasgenoemde het 'n laer sitokiniënaktiwiteit in die xileemsap tot gevolg, wat op sy beurt weer 'n uitwerking op die sitokiniënaktiwiteit in die blare het (Michael, Kouhsiahi-Tork & Willberg, 1969). 'n Daling word dus in die aktiwiteit van die jong blare waargeneem. Henson (1978) het aanduidings gevind dat in die geheel gesien die hoogste sitokiniënmetabolisme in die jonger blare plaasvind. 'n Toename in sitokiniënaktiwiteit volg sodra 'n sterk xileemsap- en sitokiniëntoevoer as gevolg van 'n toereikende blaaroppervlakte moontlik is.

Gedurende die volblomfase kom 'n relatief hoë sitokiniënaktiwiteit in die wingerdblare voor. Namate groei verder toeneem, neem die aktiwiteit af. Hierdie afname in aktiwiteit tydens korrelgroei is moontlik aan 'n mate van verdunning van hierdie verbindinge in die baie vergrote blaarmassa op daardie stadium te wyte. 'n Ander moontlike rede vir bogenoemde is die insluiting van die sitokiniene in die hoogs aktiewe metabolisme wat hierdie fase kenmerk. Teen die tyd van druifrypwording het die sitokiniënaktiwiteit in die blare reeds weer toegeneem (Lilov & Andonova, 1976; Vollmer, 1976). Die toename in aktiwiteit kan in die blare tot en met herfs waargeneem word. Saam hiermee styg die aktiwiteit in die ouer blare vinniger as in die jonger blare. Hierdie toename in sitokiniënaktiwiteit in verouderde blare na beëindiging van lootgroei, kan aan 'n ophoping van sitokiniene toegeskryf word (Hewett & Wareing, 1973).

In die bestudering van die faktore wat sitokiniene in die blare beïnvloed, het Hoad, Loveys & Skene (1976) met vrugverwydering 'n toename in totale sitokiniënaktiwiteit waargeneem. Laasgenoemde is toegeskryf aan hoër vlakke van sitokiniën-glukosiede, terwyl die aktiwiteit van die vrye-basisse en -ribosiede in die blaarweefsel konstant gebly het. Daar bestaan skynbaar 'n baie sterk kompetisie tussen die blare en bloeiwyses vir die beskikbare sitokiniene. Op ongewortelde steggies inhibeer blare die groei van die bloeiwyses (Mullins, 1968). Hierdie skrywer beweer dat die blare van intakte plante sitokiniene ten koste van die bloeiwyses mag bekom en verbruik. Na ontblaring word die sitokiniene herkanaliseer na die bloeiwyses en die groei van laasgenoemde word gestimuleer. Hoë konsentrasies oplosbare soute in die

grond (Ben-Zioni, Itai & Vaadia, 1967) en 'n suurstoftekort in die wortelsone (Burrows & Carr, 1969) gee aanleiding tot 'n laer sitokiniënaktiwiteit in die blare. Van Staden (1973) beweer dat sitokiniënverbindings in die blaar onder 'n bepaalde ligintensiteit en daglengte tot sitokiniën-nukleotiede gefosforileer word. Hoë konsentrasies sitokiniën-glukosiede word in volwasse, verouderde blaarweefsels aangetref. Hierdie glukosiede is moontlik afgeleides van zeatien en zeatienribosied wat deur die xileemsap ingevoer is (Wareing *et al.*, 1976). Blaarweefsels besit wel die vermoë om zeatien en sy ribosied na die onderskeie glukosiede om te sit (Letham *et al.*, 1976).

Blaar van verskillende ouderdomme reageer verskillend op toegediende sitokiniëne. Vollmer (1976) het tussen die basale blare, in die trosgebied, en die apikale blare net agter die lootpunt, verskille in sitokiniënaktiwiteit waargeneem. Hy beweer dat vir die basale blare, wat reeds in die voorjaar gevorm word, 'n langer tyd verloop waartydens sitokiniëne opgebou en neergelê kan word. As gevolg hiervan kan in die basale blare 'n hoër sitokiniënaktiwiteit as in die jonger apikale blare aangetoon word. Toegediende sitokiniëne beïnvloed die meganisme van chlorofil- en proteïensintese (Richmond & Lang, 1957; Osborne, 1962) en verhoog die beweging van voedingstowwe na die blare (Shindy & Weaver, 1970). In die blare hoop sitokiniëne vanaf die wortels op (Hewett & Wareing, 1973; Davey & Van Staden, 1978a) en hierdie hormone word deur die vinniggroeiende apikale groeipunt en die jong, ontwikkelende blare gemetaboliseer.

Die feit dat sitokiniëne in volwasse, verouderde blare in die

nukleotied- en glukosiedvorme voorkom, dien as 'n manier van hormoon preserving of -inaktivering (Henson & Wareing, 1976; Vollmer, 1976). Alhoewel hierdie sitokiniene in relatief hoë konsentrasies in geel, verouderde blare voorkom, kon dit teen die verwagting in nie die vernietiging van chlorofil, en dus vergeling van die blare, teenwerk nie. Hierdie sitokiniene kon skynbaar ook nie seldeling of voedingstofmobilisasie stimuleer nie (Lilov & Andonova, 1976; Davey, 1978). Sitokinien-glukosiede in verouderende blare het dus opvallend nie dieselfde effek op blare as toegediende zeatien nie.

2.3.4.6 Blomtrosse en vrugte

Die sitokiniene wat in die wortels gesintetiseer en in die xileem-sap vervoer word, speel 'n belangrike rol in die beheer van blomvorming en die groei van die blomorgane en blomtrosse (Mullins, 1968; Pool, 1975; Chacko *et al.*, 1976; Niimi & Torikata, 1978b). Wanneer die sitokinienvoorsiening vanuit die wortels egter begin afneem, word 'n nuwe punt van sitokinienbiosintese in die ontwikkelende blomtrosse gevorm (Sitton, Itai & Kende, 1967; Lilov & Andonova, 1976). Die hoë sitokinienaktiwiteit in ontwikkelende vrugte en pitte ondersteun hierdie hipotese.

In die blomtrosse is sitokinienaktiwiteit in beide die vervoervorm en die nukleotied- of opbergingsvorm aangetoon (Niimi & Torikata, 1978b). Die aktiwiteit van bogenoemde vorme verander wel, maar hierdie twee vorme kom by alle stadiums van vrugontwikkeling voor (Chacko *et al.*, 1976). In die vroeë stadiums van vrugontwikkeling is die sitokinienaktiwiteit volgens Davey & Van Staden (1978c) hoofsaaklik geassosieer met verbindings wat ko-elueer

met zeatien en zeatienribosied (vervoervorm). In die later stadia van ontwikkeling het naas bogenoemde ook 'n toename in sitokinien-glukosiede (opbergingsvorm) voorgekom. In aansluiting hierby het Waitz (1975) bevind dat beide partenokarpiese en pitbevattende korrels 'n lae sitokinienaktiwiteit in die opbergingsvorm bevat, terwyl die meeste aktiwiteit in die vervoervorm voorkom. Die aktiwiteitsverdeling in die trossteel stem met dié in die korrels ooreen.

Sitokinien word benodig vir die ontwikkeling van vroulike vrug-organe by 'n wingerdstok. Hashizume & Iizuka (1971) en Pool (1975) het vasgestel dat die toediening van die drie natuurlike sitokiniene, nl. zeatienribosied, zeatien en dihidro-zeatien in vergelyking met sintetiese sitokiniene by manlike plante van 'n verskeidenheid van *Vitis* spesies, die induksie van vroulike organe meer opmerklik gestimuleer het. Dit dui moontlik daarop dat genoemde hormone in intakte blomtrosse mag voorkom. Die sitokinienaktiwiteit in ontwikkelende korrels ondergaan oor 'n seisoen kwantitatiewe veranderinge. Hierdie veranderinge toon 'n basiese patroon wat onafhanklik van cultivar of jaar van ondersoek is (Waitz, 1975). Oor hoe die sitokinienaktiwiteit tydens blomtrossvorming en -ontwikkeling verander, bestaan nie eenstemmigheid onder navorsers nie. Outeurs soos Chacko *et al.* (1976) en Niimi & Torikata (1978b) rapporteer dat die maksimale sitokinienaktiwiteit in die blomtrosse tydens volblom voorgekom het. Die meerderheid van navorsers is dit eens dat die ontwikkelende blomknoppe voor blom min sitokinien bevat. Met ontwikkeling van die blomweefsel neem die aktiwiteit verder af, om 'n minimum waarde teen blomtyd te bereik (Alleweldt, Düring & Waitz, 1975; Waitz, 1975; Inaba, Ishida, Sobajima, 1976;

Lilov & Andonova, 1976; Naito & Kawashima, 1980).

Tydens die eerste fase van vinnige korrelgroei, waartydens aktiewe seldeling plaasvind, neem die aktiwiteit vinnig toe om 'n maksimum aan die begin van die sloerfase (ca. 40 dae na volblom) te bereik. Hierna neem die aktiwiteit in die trosse geleidelik af om 'n minimum waarde gedurende die tweede fase van korrelgroei en die daaropvolgende rypwording te bereik (Alleweldt, Düring & Waitz, 1975; Chacko *et al.*, 1976; Inaba *et al.*, 1976; Niimi & Torikata, 1978b).

Die toename in sitokininaktiwiteit tydens die eerste vinnige korrelgroEIFase val blykbaar saam met die fase van intensiewe seldeling in die jong vruggies. Na die beëindiging daarvan neem die sitokininaktiwiteit vinnig af, wat weer gepaard gaan met 'n verhoogde suiker-akkumulasietempo. Die hoë sitokininaktiwiteit tydens die eerste vinnige groEIFase is 'n sterk aanduiding van die moontlike betrokkenheid van sitokiniene, hetsy alleen of in kombinasie met ander natuurlike hormone, in die vervoer van voedingstowwe asook in korrelvergroting (Chacko *et al.*, 1976). Die tweede fase van korrelgroei en -rypwording geskied opvallend onafhanklik van die aan- of afwesigheid van sitokiniene.

In onbevrugte blommetjies kon Letham & Williams (1969) geen styging in sitokininaktiwiteit waarneem nie, maar wel na bevrugting van die blommetjies. Inaba *et al.* (1976) het bevind dat die maksimale aktiwiteit ongeveer een week vroeër in pitbevattende, as in pitlose korrels voorkom. In ryp vrugte toon die dop die hoogste aktiwiteit, dan die pit, en is dit die laagste in die pulp (Waitz, 1975).

Laasgenoemde navorser het ook waargeneem dat 'n aktiwiteitskomme-
ling in pitbevattende korrels na 'n verandering in die sitokinien-
aktiwiteit van die pitte teruggevoer kan word. Aansluitend hier-
by het hy vasgestel dat die groei van partenokarpiese korrels oor-
eenstem met die sitokinienaktiwiteit van die korrelpulp.

Die sitokinienaktiwiteit in die korrels tydens rypwording, verskil
van dié in die trossteel. In laasgenoemde is die aktiwiteit laag
maar neem geleidelik toe en kan teen die einde van korrelrypwording
hoër as dié van die korrels wees (Waitz, 1975).

Temperature tydens differensiasie van die latente knoppe is volgens
Srinivasan & Mullins (1980b) die hoof faktor wat die aard van pre-
primordiale ontwikkeling reguleer. Die meganisme waarvolgens
temperatuur blomvorming by die wingerstok beïnvloed is onbekend,
maar Steward (1976) het voorgestel dat klimaat sy invloed uitoefen
deur die peile van die groeireguleerders te beïnvloed. Sterk aan-
duidings bestaan dat blomtrosvorming deur sitokinien beheer word.
Chacko *et al.* (1976) het bevind dat hoë sitokinienaktiwiteit in
die xileemsap tydens uitbot en blomvorming voorkom. Aansluitend
hierby het Mullins (1968) bevind dat blomtros groei verminder is
deur die verwydering van die wortels. Blomtros groei het dus ook
'n behoefte aan sitokinien. Mullins (1968) het bevind dat af-
snoering voorkom word wanneer sintetiese sitokiniene aan die blom-
trosse net na hul verskyn het, of aan die basisse van ongewortelde
steggies in voedingsmedium, toegedien word.

Vollmer (1976) en Jákó (1981) het albei 'n verband tussen die sito-
kinienaktiwiteit en die vrugbaarheid van rustende knoppe aange-

toon. Hulle beweer dat weens 'n te lae aktiwiteit in die knoppe voor die aanvang van sapsvloei, die omstandighede vir die ontwikkeling van rudimentêre blomtrosse nie gunstig is nie. Jákó (1981) het bevind dat die blomtrosprimordia tot niet gegaan het en dat die vrugbaarheid van die knoppe gedurende die periode voor sapsvloei afgeneem het.

Tussen blare en blomtrosse bestaan 'n baie sterk kompetisie vir die beskikbare sitokiniene (Mullins, 1968). By ongewortelde steggies inhibeer blare die groei van die blomtrosse terwyl dit die afsnyding daarvan stimuleer. Indien die jong blare, wat basaal van die blomtros gevorm is, net na uitbot verwyder word, verhoog dit skynbaar die poelkapasiteit van die blomtrosse vir sitokinien, en die blomtrossies ontwikkel normaal (Mullins, 1968). Laasgenoemde outeur beweer dat blare ook by intakte plante sitokinien mag bekom en verbruik ten koste van die blomtrosse.

Die sitokinienaktiwiteit in die blomtrosse word deur die tip van die lote asook deur suksiensuur-2,2-dimetielhidrasied (SADH) toediening verhoog (Naito & Kawashima, 1980). Die vroeë toediening van hierdie groeireguleerder aan die trosse bevorder die set van pitbevattende korrels. Dit geskied moontlik deur die stimulerende werking van SADH op bevrugting, maar ook op die voedingstoestand van die vrugbeginsel (Naito, Kawashima & Fujimoto, 1981).

Blomtrosse en rankies is homoloë organe en word beide uit die blomtrospreprimordium gevorm. Wingerdrankies kan dus beskou word as swak gedifferensieerde blomtrosse (Srinivasan & Mullins, 1978). By intakte wingerdstokke en gedeeltelik ontblaaarde stokke

het die herhaaldelike toediening van 6-(bensielamino)-9-(2 tetrahidropiraniel)-9H purien (PBA) aan lootpunte veroorsaak dat blomtrosse in die plek van rankies gevorm is. Hierdie sitokiniengeïnduseerde blomtrosse het ryp vrugte met lewensvatbare pitte geproduseer (Srinivasan & Mullins, 1979).

Negi & Olmo (1970) beweer dat sitokinien 'n vroulike geslagsinhibeerder teenwerk. Rankies van sitokinienbehandelde plante is na blomtrosse omgesit, ongeag die geslag van die stok (Srinivasan & Mullins, 1980c). Mengsels van chloorcholiënchloried en sitokinien het blomvorming selfs by nie-induktiewe lugtemperatuur geïnduseer (Srinivasan & Mullins, 1980b). Manlike stokke was egter meer ontvanklik vir die sitokiniengeïnduseerde omsetting van rankies na blomtrosse as vroulike stokke. Die herhaalde sitokinienbehandeling van spuitpunte en jong rankies van saailinge het blomvorming en die ontwikkeling van trosse met lewensvatbare pitte binne agt maande na ontkieming geïnduseer (Srinivasan & Mullins, 1980b). Die vorming van die blomprimordium uit die preprimordium, asook die differensiasie van blomtrosse uit die blomprimordium, is beide sitokinienbeheerde prosesse. Srinivasan & Mullins (1980a) beweer dat blomvorming deur 'n interaksie tussen gibberelliënsuur en sitokinien beheer word.

Sitokinientoediening het 'n opvallende invloed op vrugset en ontwikkeling (Weaver, Van Overbeek & Pool, 1966; Negi & Olmo, 1966). Pool (1975) het aangetoon dat blomme van 'n tweeslagtige stok sitokinien vir stamperontwikkeling benodig. Tussen 'n minimale aktiwiteit in die eksudasiesap gedurende blom en die afval van jong korreltjies het Waitz (1975) 'n sterk korrelasie gekry.

Hierdie resultate dui daarop dat sitokiniene wat in die wortels gesintetiseer word, 'n belangrike rol in die beheer van die groei van blomorgane en blomtrosse speel. Indien sitokinien toegedien word op die stadium wat blommetjies afspeen, veroorsaak dit korrelsteelverdikking en verhouting van gedeeltes van die tros (Weaver *et al.*, 1966). Aansluitend hierby het Rao (1970) bevind dat 'n sitokinienbehandeling van die trosse een week voor oes 'n stewiger korrelaanhegting veroorsaak en na-oes korrelstorting verminder. Sitokinientoediening tydens volblom en weer met korrelset, lewer die grootste trosmassa en die minste pitlose korrels (Nelson & Sharples, 1974; Brar, Dhaliwal & Dhillon, 1980). Sitokinien is waarskynlik betrokke by die bron-poel meganisme vir die aantrekking van assimilate en minerale elemente na die ontwikkelende trosse (Seth & Wareing, 1967; Weaver, Shindy & Kliewer, 1969), maar het geen invloed op die rypwording van die druiwe nie (Waitz, 1975; Inaba *et al.*, 1976).

2.4 Kwantitatiewe en kwalitatiewe bepaling van sitokiniene

2.4.1 Ekstraksie van sitokiniene uit plantmateriaal

Sitokinien kom in uiters lae konsentrasies in meeste plantweefsels voor en is min oplosbaar in meeste organiese oplosmiddels. Die probleem met analise is basies dié van isolering van nanogram hoeveelhede sitokiniene in die teenwoordigheid van 'n oormaat van koolhidrate, terpenoïede, polifenole, ensovoorts, wat die primêre ekstrak van 'n plant uitmaak (Morris, Regier & MacDonald, 1981). 'n Verdere probleem is die onvermydelike verlies van sitokiniene tydens die suiweringsstappe.

Die ekstraksietegnieke berus gewoonlik op 'n verskeidenheid van

stappe wat die volgende insluit: die maserasie en ekstraksie van die weefsel in metanol of etanol vir lang periodes, die deeglike suiwering van die ekstrak om belemmerende verbindings te verwyder, en die kwantifisering met behulp van biotoetse of fisies-chemiese tegnieke.

Alhoewel hierdie reeks stappe redelik effektief is vir ekstraksie, skiet dit tekort wat kwantifisering betref (Dekhuijzen & Gevers, 1975) en skep dit ook probleme vanweë artefakte. Plantweefsels bevat sekere nie-spesifieke fosfatases wat nie volledig geïnaktiveer word in bogenoemde ekstraksieproses nie, wat wisselende peile van sitokinien-nukleotiede tot gevolg het. Indien mens in hierdie nukleotiede belangstel, moet die fosfatases voor ekstraksie geïnaktiveer word (Letham, 1978). Yskoue perchloorsuur is reeds dikwels hiervoor gebruik (Horgan, 1978).

Die gebruik van organiese oplosmiddels kan vermy word deur spoorverryking vanaf 'n waterige oplossing na 'n hidrofobe silikamatriks (Morris, Zaerr & Chapman, 1976). Die sitokiniene kan kwantitatief vanaf die matriks herwin word deur eluering met etanol.

'n Stap waarin van ionuitruiling gebruik gemaak word, is gewoonlik nodig vir voorlopige suiwering, omdat dit een van die mees bruikbare tegnieke is om inhibeerders en onsuiverhede uit plantekstrakte te verwyder. Wanneer met sterk katioonuitruilharse, soos Dowex 50 gewerk word, moet streng gelet word op die ioniese vorm wat gebruik word. Harse in die NH_4^+ vorm lewer volgens Horgan (1978) beter resultate as dié in die H^+ vorm. Zeatienribonukleosied kan na vrye zeatien afbreek indien die temperatuur gedurende uitruiling

op laasgenoemde hars styg maar hierdie verhitting kan voorkom word deur versigtige eluering met die ammoniakoplossing by lae temperature (Miller, 1974). Alhoewel katioonuitruilharse baie bruikbaar is vir die bereiding van 'n sitokinienryke fraksie, kan sitokinienfraksionering nie daarmee gedoen word nie. Dit het daartoe gelei dat alternatiewe vir hierdie polistireen katioonuitruilharse daargestel is (Dauphin, Teller & Durand, 1977). Vir kolomfraksionering is die mees algemene pakkingsmateriaal Sephadex LH-20 (Armstrong, Burrows, Evans & Skoog, 1969).

Beide papierchromatografie en dunlaagchromatografie is reeds dikwels gebruik by sitokinienanalise. Indien slegs klein hoeveelhede sitokinien beskikbaar is, is chromatografering op goedgepaste papier 'n baie wenslike finale suiweringsstap (Parker & Letham, 1973). Hierteenoor besit dunlaagchromatografie 'n goeie skeidingsvermoë vir sitokiniene met byna dieselfde struktuur. Horgan (1978) beweer dat die goeie analitiese eienskappe van dunlaagchromatografie deur die swak en wisselvallige herwinning van mikrogram hoeveelhede sitokiniene uit die silikajellae oorheers word.

2.4.2 Ontleding vir sitokiniene

Die vinnige isolering, kwantifisering en identifisering van sitokiniene is volgens MacDonald, Akiyoshi & Morris (1981) 'n noodsaaklike voorvereiste vir fisiologiese studies wat met hierdie hormoongroep se werkingsmeganisme en metabolisme gemoeid is. Sitokiniene word beskou as een van die moeilikste fitohormoongroepe om te kwantifiseer.

Biotoetse word as gevolg van die eenvoud van die tegnieke op groot-

Tabel 1. Verskillende biotoetse en die beginsels waarop dit berus.

<u>Biotoetsmetode</u>	<u>Minimum waarneembare kinetiese konsentrasie</u> $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	<u>Beginsel waarop toets berus</u>	<u>Verwysings</u>
1. Sojaboonkallus	1		Miller (1963; 1965; 1968)
2. Tabakkallus	3×10^{-1}	Seldelingstoets - die vermoë van sitokiniene om seldeling in weefselkulture te induseer.	Murashige & Skoog (1962)
3. Tabakstingelmurg	40		Bottomley, Kefford, Zwar & Goldacre (1963)
4. Wortelfloëem eksplant	5×10^{-1}		Letham (1967)
5. Komkommersaadlob	1	Pigmentvormingstoets - sitokiniene-geinduseerde pigmentvorming in die saadlobbe of hipokotiele.	Fletcher & McCullagh (1971)
6. <i>Amaranthus</i> -betasianien	20		Biddington & Thomas (1973)
7. Radysaadlob	10		Letham (1971)
8. <i>Xanthium</i> -saadlob	20		Esashi & Leopold (1969)
9. Geëtioleerde boontjieblaarskyf	200	Selvergrotingstoets - die vermoë van sitokiniene om die vergroting van afgesnyde blaar- of saadlobweefsel te stimuleer.	Miller (1956; 1963)
10. Radysblaarskyf	2 - 10		Kuraischi & Yamaki (1967)
11. Radio-immunologie	1×6^{-6}	Immunologietoets - kompetisie tussen gemerkte en ongemerkte antigene vir die beperkte aantal bindingsposisies van die teenliggame.	Weiler & Ziegler (1981)
			MacDonald; Akiyoshi & Morris (1961)
12. Koringkoleoptiel	20 - 100	Diktegroeistoets - op stimulering van die diktegroei van koleoptiel- of stingelsegmente.	Rothwell & Wright (1967)
13. Geëtioleerde ertjiesegment	10		Sommer (1961)
14. <i>Lemna minor</i> donkergroei	60	Die stimulering van die groei van Duckweed-species.	Hillman (1957)
15. <i>Spirodela</i>	10		McCombs & Ralph (1972)
16. <i>Funaria</i> knopvorming	10	Differensiasietoets - die indusering van knopdifferensiasie in die protonemata.	Whitaker & Kende (1974)
17. Gortblaarveroudering	3		Carr & Burrows (1966)
18. Hawerblaarveroudering	3 - 10		Varga & Bruinsma (1973)
19. Koringblaarveroudering	100	Chlorofil preserveringstoets - die vertraging van blaarveroudering en die afbreek van chlorofil.	Rothwell & Wright (1967)
20. Radysblaarveroudering	-		Kefford, Zwar & Bruce (1968)
21. Chinese koolblaarveroudering	150		Letham (1967)
22. Hawerblaartranspirasie	5	Die indusering van die transpirasie van afgesnyde blare van 'n <i>Avena</i> -species.	Luke & Freeman (1967)
23. Blaarslaaisaadontkieming	200	Ontkiemingstoets - die bevordering van saadontkieming.	Miller (1958)
24. <i>Achlya</i> -opname	30	Opnametoets - die aktivering van IAA opname deur ontkiemende spore van die waterswam, <i>Achlya</i> .	LéJohn (1975)

skaal gebruik om die hormooninhoud van plantekstrakte te bepaal. Verskeie biotoetse vir sitokiniene is deur die jare opgestel. In Tabel 1 word 24 van die beskikbare toetssisteme en die beginsels waarop hulle berus, saamgevat.

Die weefselkultuurtoetse (1 tot 4) besit die verlangde eienskappe van hoë sensitiwiteit, steriele toestande en spesifisiteit. Die sojaboonkallustoets is die mees populêre weefselkultuurtoets. 'n Aantreklike eienskap van dié toets is die wye konsentrasiereeks waaroor 'n liniêre verband tussen konsentrasie en reaksie bestaan. By die sojaboonkallustoets is die konsentrasiegebied 4 tot $10000 \text{ ug} \cdot \ell^{-1}$ vir kinetien, terwyl dit vir die tabakkallustoets ongeveer 1 tot $100 \text{ ug} \cdot \ell^{-1}$ is.

'n Onbevredigende eienskap van die weefselkultuur-biotoets is die lang ontledingstye. Gevolglik is heelwat aandag geskenk aan die ontwikkeling van vinnige biotoetse. Meeste van die vinnige toetse is ongelukkig nie spesifiek nie en kan gewoonlik ook nie onder steriele toestande deurgevoer word nie. Dit het tot gevolg dat nie een van die bekende sisteme algeheel vry van interaksie met ekstrakonsuiwerhede is nie. Die komkommersaadlob- en *Amaranthus*-betasianien-biotoetse vertoon beide hoë spesifisiteit en sensitiwiteit wat dit naas die radio-immunologietoets, wat later bespreek sal word, die mees bruikbare van die vinnige biotoetse maak.

Die fisies-chemiese metodes wat tans beskikbaar is vir die bepaling van sitokiniene, besit 'n relatief lae sensitiwiteit en benodig ekstraksie en suiwering tot byna ug -hoeveelhede van die sitokiniene voor analise. Die gevolg hiervan is dat met groot monsters

gewerk moet word en dat baie voorbereidingstyd in beslag geneem word met 'n uiteindelijke herwinning van soms nie meer as 10 persent nie (Monselise, Varga, Knecht & Bruinsma, 1978). Gaschromatografiese tegnieke het die verdere nadele dat die hormone eers ver-vlugtig moet word en dat die analisetegniek, waar van hoë kolom-temperature en vlamionisasie-detektors gebruik gemaak word, vernietigend op sitokiniene inwerk.

Hoë druk vloeistof chromatografering (HDVC) van sitokiniene is 'n waardevolle tegniek wat in die nabye toekoms in belangrikheid kan toeneem. Thomas, Carroll, Isenberg, Pendergrass & Howell (1975) het met hierdie tegniek vinnige skeidings met mengsels van suiwer sitokiniene verkry. In kombinasie met massaspektrometrie sal die HDVC-tegniek baie nuttig ingespan kan word vir die identifikasie van sitokiniene (Letham, 1978).

Die klein hoeveelhede waarin sitokiniene uit meeste plantweefsels verkry word, beperk die identifiseringstegniek tot ultra-violet spektroskopie en massaspektrometrie (Horgan, 1978). In alle gevalle waar die struktuurformule van natuurlike sitokiniene met sekerheid bepaal is, is van massaspektrometrie gebruik gemaak. Volgens Hashizume, Sugiyama, Imura, Cory, Scott & McCloskey (1979) is die massaspektrometriese isotoopverduunningstegniek die mees sensitiewe en akkurate metode. Die apparaat wat benodig word is ongelukkig net tot enkele navorsers se beskikking.

'n Kwantifiseringstegniek wat meeste van die probleme wat tydens ontledings ontstaan, naamlik:

- die lae konsentrasies van die hormone in plantweefsel ($10^{-6}M$)

en laer),

- die onvermydelike verliese tydens die suiwingstappe,
- die lae sensitiviteit van die fisies-chemiese metodes,
- die lae akkuraatheid van biotoetse, en
- die omvangryke behoefte aan tyd en chemikalieë by hierdie metodes,

ophef, is die radio-immunologiese toets (RIA). Hierdie is 'n baie spesifieke en uiters sensitiewe ontledingstegniek vir planthormone. Die mees sensitiewe van hierdie toetse is in die meeste gevalle met verskeie grootte ordes meer sensitief as die mees gevorderdste fisies-chemiese metodes (Weiler, 1980). So byvoorbeeld besit RIA 'n minimum waarneembaarheidskonsentrasie van $3 \times 10^{-14}M$ teenoor $3 \times 10^{-12}M$ met massaspektrometrie. 'n Omvattende bespreking van die algemene beginsels betrokke by radio-immunologiese toetse word deur Van Vunakis (1980) gegee.

Die RIA-tegniek is deur MacDonald *et al.* (1981) een stap verder geneem deur dit met HDVC te kombineer. Hulle beweer dat hierdie metode vinnig, sensitief en baie spesifiek is en dat dit die direkte identifisering en kwantifisering van die verskeidenheid van sitokiniene wat in die plant aanwesig is, toelaat.

Ten spyte van die gebruik van bogenoemde gesofistikeerde tegnieke en apparaat, bly die akkurate kwantifisering van planthormone nog steeds een van die mees uitdagende probleme van plantontleding.

HOOFSTUK 3

PROSEDURE

3.1 Materiaal

Die een gedeelte van die eksperiment is gedurende 1979 onder veldtoestande op die Uppington-proefplaas van die Departement Landbou deurgevoer. Vir die ondersoek is 11-jaar oue stokke van twee *Vitis vinifera* cultivars, nl. Sultana (ooreenstemmend met Sultanina) en Chenin blanc, en van Sultana geënt op twee *Vitis* onderstokcultivars, nl. 420-A Mgt (*V. berlandieri* x *V. riparia*) en Rupestris du Lot (*V. rupestris*) gebruik. By elke cultivar is vyf eenstokherhalings gebruik. Die grondtemperatuur, gemeet op 30cm gronddiepte, het op die dag van monsterneming, ca. een week na uitbot, van 12,0° tot 13,5°C gewissel.

Die ander gedeelte van die eksperiment is vanaf 1979 tot 1982 onder beheerde toestande in 'n glashuis op Nietvoorbij, Stellenbosch, deurgevoer. Die proefmateriaal is verkry deur een-oog steggies uit eenjarige lote van die cultivars Sultana, Chenin blanc, Rupestris du Lot en Constantia Metallica (hierna C. Metallica genoem) te sny. Die steggies is met behulp van die kartoneringsmetode, met basisverhitting bewortel en daarna direk in die glashuis in drie plantbakke, elk by 'n ander grondtemperatuur, uitgeplant. Plante van dieselfde cultivar het gelyktydig by drie verskillende grondtemperature gegroei. In elke bak is vier rye met 46 plante elke uitgeplant; homogene, suurgewaste sand is as wortelmedium gebruik. Voldoende isolasie is verkry deur die

ruimtes tussen die bakke met sand op te vul en die sandoppervlakte in die bakke met 6mm dik polistireenstroke te bedek.

3.2 Metodes

Vir die insameling van die eksudasiesap in die veldproef is op elke stok afsonderlik 'n draerloot gesny en 20cm³ sap met behulp van 'n suigpomp daaruit onttrek. Die wonde is met tussenposes vars aangesny om sapvloei te vergemaklik. Die sap is in polipropileenhouers gegooi en by -20°C gebêre. By die blomtros- en jong somerlootmonsterneming is gepoog om ten minste 20g vars materiaal per monster in te samel. Die blomtrosse is eers verwyder en daarna is die jong somerlote gelyk met die eenjarige lote afgesny. Hierdie monsters is ook by -20°C gebêre. Al drie bogenoemde monsters is by al vier cultivars, voor 10h00, op 1979-09-17 ingesamel.

In die geval van die eksperiment in die glashuis is die plante onder beheerde toestande verbou. Vir die eerste vier weke is die lugtemperatuur op 24,0° ± 1,9°C gehandhaaf om aanvanklike groei te stimuleer; daarna is dit vir die res van die groeiperiode op 20,9° ± 1,8°C gehandhaaf. Die grondtemperatuur in die drie bakke is op onderskeidelik 11,0° ± 1,6°C, 20,0° ± 0,3°C en 29,9° ± 0,9°C gereguleer. Die plante is daaglik aan 'n 18-uur ligperiode onderwerp. Die plante is twee keer per week met kraanwater besproei en het twee-weeklik 'n gebalanseerde Hoaglandvoedingsoplossing ontvang. Saam met laasgenoemde is 'n oplossing van Protiokarb (Dynone) en Benomiel (Benlate), teen onderskeidelik 150cm³ en 50g·100ℓ⁻¹ water, toegedien om wortelverrottingswamme teen te werk. Een keer elke vier weke is die sand met 'n oormaat skoon

kraanwater uitgeloog om die opbou van soute te voorkom.

Vanaf vier weke na die uitplant van die plante in die glashuis het die onderskeie worteltemperatuurbehandelings 'n aanvang geneem, en is 28 plante tweeweekliks uit elk van die bakke geoes. Al die plantmateriaal is gedurende die voormiddag ingesamel en die lootlengtes, blaaroppervlaktes en -getalle is gemeet. Die materiaal is in blare, lote, wortels en wortelpunte verdeel, geweeg, in polipropileenhouers geplaas en by -20°C gebêre. Die wortelpuntmateriaal het uit die voorste geelkleurige 0,5 tot 1,0cm van die hoof- en sywortels bestaan.

3.2.1 Ekstraksie en suiwering uit plantmateriaal

Xileemsapekstraksie vir sojaboonkallus-biotoets:

Ten minste 10cm^3 ongesuiwerde xileemsap is per plant versamel. Die sap is deur Whatman nr. 1 filtreerpapier gefiltreer en onder verminderde druk by 40°C ingedamp tot dit byna droog was. Die residu is dadelik in 10cm^3 80 persent etanol opgeneem; hierdie volume is gehalveer vir 'n duplikaat biotoets. Die ekstrak is in 'n streep op Whatman nr. 1 chromatografiepapier aangebring en geskei soos later beskryf.

Xileemsapekstraksie vir gaschromatografie:

Sitokininagtige verbindings is uit die xileemsap geëkstraheer volgens die metode beskryf deur Zelleke, Martin & Labavitch (1980). Tien cm^3 xileemsap is gevriesdroog en twee keer met 50cm^3 80 persent metanol vir 24 uur by kamertemperatuur geëkstraheer. Onoplosbare materiaal is deur sentrifugering by $1000 \times g$ vir 5 minute verwyder. Die metanoliese ekstrakte is by 30°C tot ca. 20cm^3

ingedamp. Die pH van die waterige oplossing is na 8,5 met 0,1 N NaOH aangepas, waarna dit vyf keer met 25cm³ etielasetaat opgeskud is en toegelaat is om te skei. Die etielasetaat is drooggedamp, die droë residu is in 1cm³ etielasetaat opgelos en onder stikstof gedroog. In plaas van permetilering is die preparaat gederivatiseer met N,0 bis(trimetielseiel)asetamied (BSA) by 80°C vir een uur, waarna dit vir kwantifisering op die gaschromatograaf gereed was.

Jong somerloot-, blomtros-, loot-, blaar- en wortelmateriaal-ekstraksie vir sojaboonkallus-biotoets:

Sitokinienagtige verbindings is uit hierdie materiaal geëkstraheer deur die beskikbare hoeveelheid van die materiaal in 80 persent etanol (15cm³ etanol per gram vars materiaal) te homogeniseer en oornag by 5°C te laat staan. Hierdie ekstrakte is dan deur Whatman nr. 1 filtreerpapier gefiltreer en onder verminderde druk by 40°C ingedamp tot byna droog. Die residu is weer in 70cm³ 70 persent etanol opgelos en die pH van die etanoliese ekstrak is na 2,5 met 0,1N HCl aangepas. Die aangesuurde ekstrak is deur Dowex 50W-X8 katioonuitruilhars (H-vorm, 20-50 maas, teen twee gram hars per gram plantmateriaal) gestuur, teen 'n vloeitempo van 20cm³ per uur. Die kolom is met 100cm³ van die 80 persent etanol gespoel en die eluate is weggegooi. Die sitokinienagtige verbindings is daarna met 100cm³ 5N ammoniumhidroksied uit die kolom geëlueer. Die ammoniumhidroksied-eluate is gehalveer vir duplikaat biotoetse en onder verminderde druk ingedamp tot byna droog. Die residu is in 5cm³ 95 persent etanol opgeneem en in 'n streep op Whatman nr. 1 chromatografiepapier aangebring.

Kationuitruilharse word reeds algemeen vir die suiwing van etanoliese ekstrakte van sitokiniene gebruik (Wang, Thompson & Horgan, 1977). Alhoewel Dekhuijzen & Gevers (1975) beweer dat die glukosiede van zeatien en zeatienribosied deur 'n sterk suur ioonuitruilingshars gehidroliseer mag word, het Van Staden (1976) aangetoon dat hierdie glukosiede nie tydens die gebruik van só 'n hars gehidroliseer word nie.

Papierchromatografie:

Die ekstrakte is aangebring in 'n een sentimeter breë strook, op velle van Whatman nr. 1 chromatografiepapier. Die komponente is deur afwaartse vloei geskei met iso-propanol : ammoniumhidrosied : water (10 : 1 : 1 v/v) as vloeimiddel. Die chromatogramme is in 'n droogoond, by 30°C vir 24 uur gedroog voordat elkeen in 10 gelyke Rf-stroke verdeel is en aan die sojaboonkallus-biotoets (Miller, 1965; 1968) onderwerp is.

3.2.2 Toetse vir kwantitatiewe en/of kwalitatiewe bepaling van sitokiniene

Die geskiktheid van drie metodes, nl. gaschromatografie, komkommer-saadlob-biotoets en sojaboonkallus-biotoets ten opsigte van hoë sensitiwiteit, spesifisiteit, eenvoudige proefprosedure en die gemak van meting van resultate, is uitgetoets. Hiervoor is standarde van kinetien (K), isopentenielen (2iP), isopentenielenadenosien (IPA) en zeatienribosied (ZR) gebruik.

3.2.2.1 Gaschromatografietoestande

Die metode soos beskryf deur Zelleke *et al.* (1980) is toegepas. Die bepaling is gedoen met behulp van 'n Varian 3700 gaschromato-

graaf, toegerus met 'n N-P detektor en 'n Vista 401 dataverwerker. Kalibrasie is gedoen deur van zeatienribosied ($1,10$ en $100\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) en isopentenielenadenosien ($1,10$ en $100\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) afsonderlik en as 'n mengsel ($100\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ van elk) gebruik te maak. Die kolom ($50\text{cm} \times 0,3\text{cm}$, binnemaat) is gepak met 5 persent OV-101 op 100/120 maas Chromosorb GHP stasionêre fase.

Die vloeitempo van die stikstof (draergas), lug en waterstof, was 30ml , 175ml en $4,5\text{ml}$ per minuut onderskeidelik. 'n Inspuitvolume van $4\mu\text{l}$ is gebruik. Die detektortemperatuur is by 248°C en die inspuitpoort by 228°C gehandhaaf. Retensietye is by 'n kolomtemperatuur van 173°C bepaal.

3.2.2.2 Komkommersaadlob-biotoets

Hierdie biotoets, beskryf deur Fletcher & McCullagh (1971) is op chlorofilvorming gebaseer. *Cucumis sativus* var. Special Rust Resistant-saad is op vooraf klamgemaakte perliet in glashouers geplant. Die sade is in die donker ontkiem by 28°C . Na ses dae is die saadlobbe onder dowwe groen lig afgesny en in 10cm petribakkies, met 5cm^3 sitokiniestandaarde wat van 1 tot $10000\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ gewissel het, geplaas. Die standarde is in twee millimol kaliumfosfaatbuffer (pH 5,8) opgelos en in triplikaat gebiotoets. Die saadlobbe is toegelaat om die oplossings in die donker by 28°C vir 15 uur te absorbeer voordat hulle op 'n glasplatform met koel-wit fluoresserende lig van bo en onder, met 'n intensiteit van ca. 3000 lux , belig is. Na sewe uur in die lig is die chlorofil uit die saadlobbe geëkstraheer deur homogenisering van die weefsel in 10cm^3 aseton, gevolg deur sentrifugering by $1000 \times g$ vir drie minute. Die bo-vloeistof is oorgedra na 'n proefbuis en die

chlorofilinhoud is bepaal deur meting van die absorbansie by 665nm in 'n Bausch & Lomb Spectronic 20 spektrofotometer. Die sitokinienkonsentrasie ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ kinetien ekwivalente) is vanaf 'n standaardkromme bereken.

3.2.2.3 Sojaboonkallus-biotoets

Dié biotoets is op groot skaal in hierdie ondersoek gebruik vir die bepaling van endogene sitokiniene in die plantekstrakte en om standaardkrommes mee op te stel. Die kallus is uit die saadlobbe van *Glycine max* L. var Acme verkry volgens die prosedure beskryf deur Miller (1965) en is deur middel van drie-weeklikse subkulture in stand gehou. Vier voorraadoplossings is voorberei en die voedingsmedium is daaruit opgemaak soos uiteengesit in Tabel 2. In 50cm³ flesse wat reeds 0,4 gram agar en die ekstrakfraksie op chromatografiepapier bevat, is 30cm³ van die medium gegooi. Die flesse is met watteproppe afgedig, met dik aluminiumfoelie bedek en by 'n druk van 1,05atm. vir 20 minute geoutoklaveer. Hierna is die flesse na 'n "steriele" laminêre vloekabinet oorgeplaas waar die agarmedium toegelaat is om te stol.

Die stukkies kallus (ongeveer 20mg elk) is op die basale medium geplaas. Die flesse is daarna in 'n groeikamer by konstante temperatuur ($26^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) en ononderbroke beligting van lae intensiteit (verskaf deur koel-wit fluoresserende lig van ca. 130 lux) geïnkubeer. Na 28 dae is die drie stelle kallus in elke fles gesamentlik geweeg. Die hoeveelheid kallusgroei in elke fraksie is op 'n histogram relatief tot dié van die kontrole, aangedui. Die gebied van beduidendheid by die 5 persent-vlak is bereken en as 'n stippellyn op die histogramme aangedui. Kinetien is in die standaardreeks gebruik. Om kwantitatief 'n skatting van die vlakke van

sitokiniënaktiwiteit op 'n gegewe tydstip te maak, is die resultaat as kineties-ekwivalente uitgedruk.

Tabel 2: Voedingsmedium vir sojaboonkallus-biotoets (aangepas vanuit Miller, 1965; 1968)

Voorraad-oplossing	Verbinding	Konsentrasie in $g \cdot l^{-1}$ van voorraad-oplossing	Voorraad-oplossing - $ml \cdot l^{-1}$ medium
1	KH_2PO_4	3,00	
	KNO_3	10,00	
	NH_4NO_3	10,00	
	$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	5,00	100
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,715	
	KCl	0,65	
	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0,14	
2	Na Fe-EDTA	1,32	
	$ZnSO_4$	0,38	
	H_3BO_3	0,16	
	KI	0,08	10
	$Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$	0,035	
	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	0,01	
3	i-Inositol	10,00	
	Nikotiensuur	0,20	
	Pirotoksien-HCl	0,08	10
	Tiamien	0,08	
4	NAS	0,02	10
Bykomstig	Sukrose	$30g \cdot l^{-1}$ medium	
	Agar	$13g \cdot l^{-1}$ medium	
pH	na 5,8 aangepas met 0,1 N NaOH		

3.2.2.4 Statistiese analise

'n Variansie-analise is uitgevoer soos beskryf deur Snedecor & Cochran (1969).

HOOFSTUK 4

RESULTATE EN BESPREKING

4.1 Invloed van grondtemperatuur op groei4.1.1 Loogroei

Die netto assimilasië- en relatiewe groeitempo-data word in Figure 2 tot 12 en Tabela 4 tot 8 aangetoon. Plante van al vier kultivars het by 10°C die swakste en by 30°C die beste geprester ten opsigte van die meeste van die gemete eienskappe. Die gegewens in Figure 2 en 3 toon duidelik dat lootgroei by Chenin blanc en Sultana by 'n grondtemperatuur van 10°C gedurende die verloop van die groeiperiode betekenisvol toegeneem het, terwyl dit nie by Rupestris du Lot of C. Metallica die geval was nie. Indien bogenoemde toename in lootlengte en -massa in syferwaardes uitgedruk word, word gesien dat by die bostokkultivars ten minste 20 persent meer lootgroei as by die onderstokkultivars voorgekom het (Tabel 4). Bogenoemde groeiverskille kan moontlik daarop dui dat die ondersoekte bostokkultivars meer koue-verdraagsaam as die onderstokkultivars is. Daar dien op gewys te word dat *V. vinifera* in warmer streke as *V. rupestris* inheems is. 'n Natuurlike aanpassing van *V. rupestris* by koue toestande is om stadiger te groei en sodoende minder aan lenteryp onderhewig te wees. Die oor die algemeen swak lootgroei by 'n grondtemperatuur van 10°C mag met swak wateropname (O'Leary, 1965), hormoonsintese (Skene & Kerridge, 1967) en die balans tussen groei-stimuleerders en -inhibeerders, wat vanaf die wortels na die lote uitgevoer word (Atkin *et al.*, 1973), verband hou.

Tabel 3. Variansie-analise van groeieresultate.

Vrheidsgrade		Gemiddelde som van kwadrate							
Cultivar : Chenin blanc		Looflengte	Loofmassa	Wortelmasa	Blaarmasa	Aantal blare	Oppv. per blaar	Oppv. per plant	
Temperatuur	T	2	202,15**	1,35**	11,96**	7,41**	34,55**	106,87**	64967,6**
Groeiperiode	G	5	296,70**	1,31**	25,67**	13,93**	81,91**	201,12**	113709,9**
	TG	10	32,34**	0,91**	1,83**	1,25**	4,24**	45,04**	12092,5**
Herhalings	H	3	3,27	0,01	-0,41	0,05	0,72	1,37	281,5
Fout		51	2,09	0,01	0,20	0,05	0,32	2,55	398,1
Cultivar : Sultana									
	T	2	38,92**	0,33**	0,91*	4,73**	9,90**	226,29**	53932,5**
	G	5	104,06**	0,38**	9,94**	9,61**	58,33**	281,80**	109719,1**
	TG	10	7,95**	0,04**	1,53**	0,57**	1,16	45,77**	5937,3**
	H	3	1,19	0,02	0,09	0,14	1,24	1,30	1295,7
Fout		51	0,56	0,01	0,20	0,05	0,64	1,55	433,2
Cultivar : Rup. du Lot									
	T	2	1128,42**	0,95**	28,81**	3,23**	140,81**	32,98**	30592,9**
	G	5	344,67**	0,22**	26,90**	0,73**	15,34**	21,19**	7740,6**
	TG	10	75,29**	0,05**	2,28**	0,14**	7,22**	1,37**	1750,1**
	H	3	5,49	0,01	0,10	0,08	2,98*	0,64	475,6*
Fout		51	4,00	0,01	0,14	0,03	0,83	0,29	137,7
Cultivar : C. Metallica									
	T	2	3100,76**	5,38**	3,65**	38,64**	164,89**	203,07**	184686,8**
	G	5	1915,37**	2,27**	25,05**	31,36**	194,16**	204,35**	148448,9**
	TG	10	676,76**	1,03**	0,77**	6,71**	28,55**	42,79**	36593,8**
	H	3	7,04	0,01	0,06	0,07	0,79	0,32	607,0
Fout		51	8,18	0,01	0,11	0,08	0,67	0,48	512,9

** Betekenisvol by P = 0,01

* Betekenisvol by P = 0,05

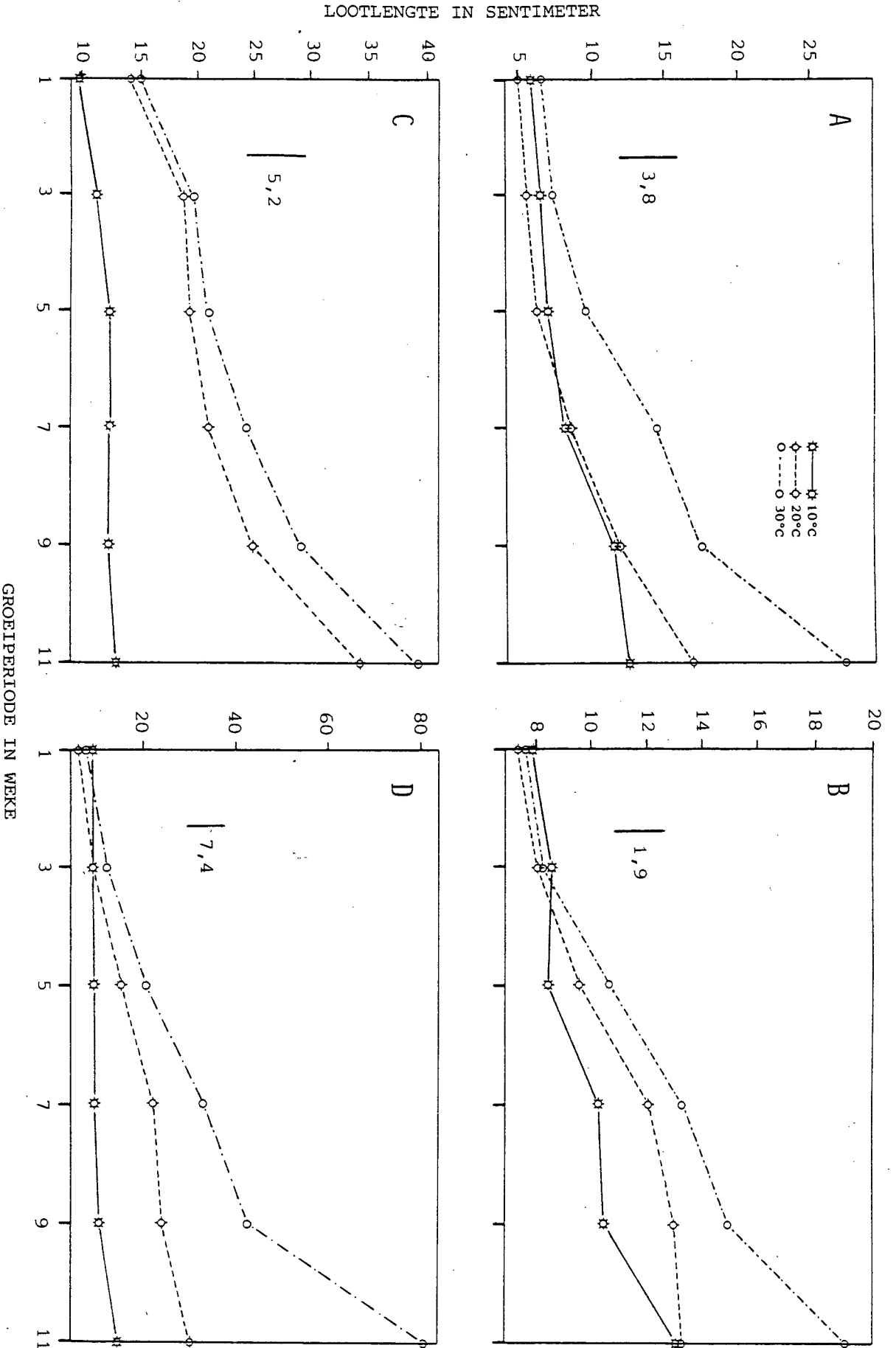


Fig. 2. Invloed van grondtemperatuur op lootlengte van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestris du Lot (C) en Constantia Metallica (D). Vertikale lyn = KBV (P = 0,05).

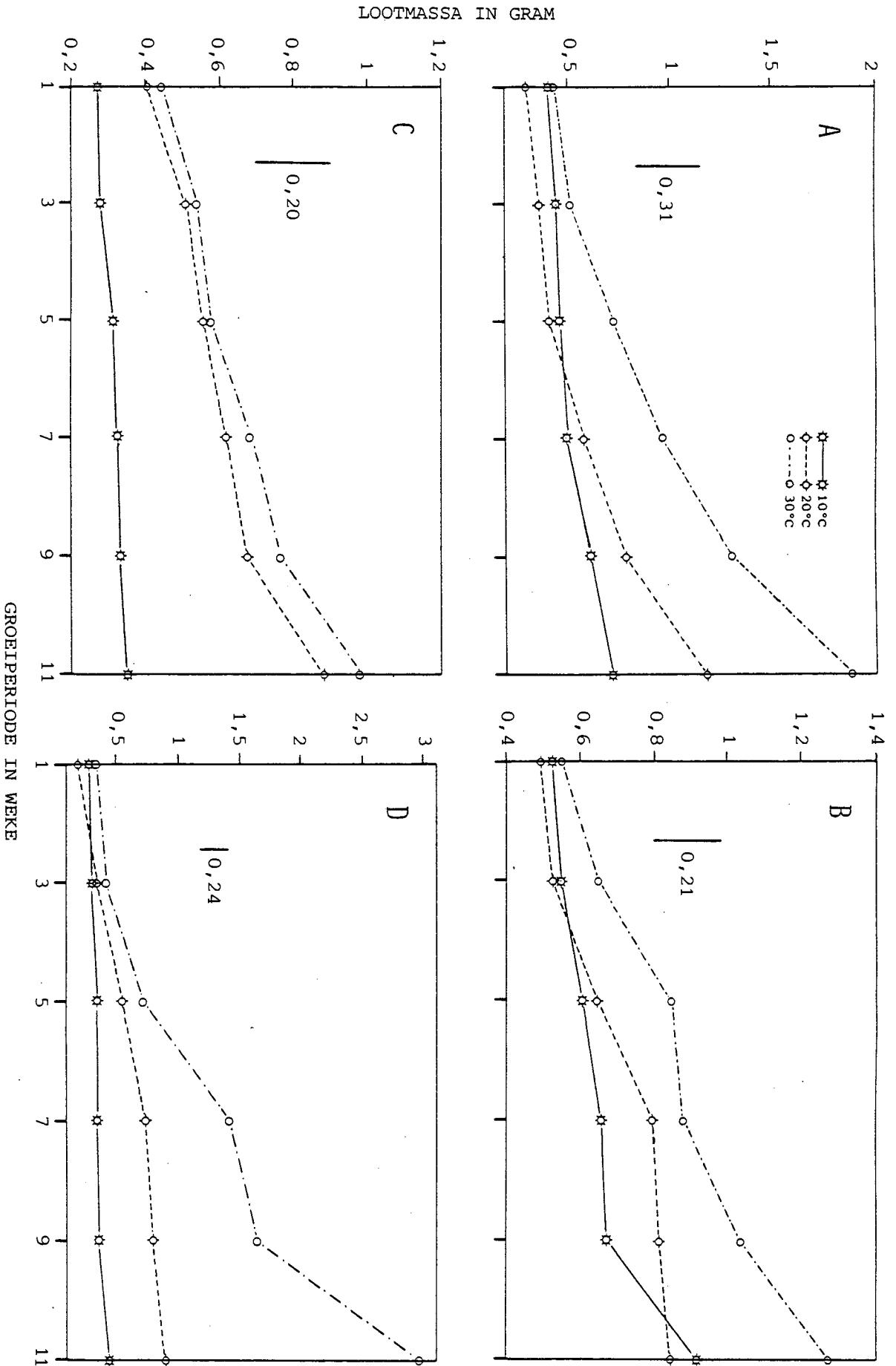


Fig. 3. Invloed van grondtemperatuur op lootmassa van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestrus du Lot (C) en Constantia Metallica (D). Vertikale lyn = KBV (P = 0,05).

Tabel 4. Effek van grondtemperatuur en cultivar op die persentasie toename in lootlengte, lootmassa, wortelmassa en blaaroppervlakte per plant.

	Lootlengte	Lootmassa	Wortelmassa	Oppv. per plant
<u>10°C</u>				
Chenin blanc	114	70	291	100
Sultana	80	75	217	170
Rupestris du Lot	29	30	229	37
C. Metallica	60	54	231	91
<u>20°C</u>				
Chenin blanc	238	297	411	426
Sultana	78	73	122	239
Rupestris du Lot	139	117	224	144
C. Metallica	350	374	415	693
<u>30°C</u>				
Chenin blanc	309	320	249	446
Sultana	147	133	131	334
Rupestris du Lot	163	140	452	101
C. Metallica	882	831	315	1146

Uit die gegewens in Figure 2 en 9A kan duidelik gesien word dat by 'n verhoging in grondtemperatuur, lootlengte by die onderstokcultivars oor tyd vinniger toeneem tot groter uiteindelijke waardes as by die bostokcultivars. Plante van al vier cultivars besit by 'n grondtemperatuur van 30°C 'n hoë lootgroeipotensiaal. Dit stem ooreen met bevindings deur Woodham & Alexander (1966). Bogenoemde stelling word ook ondersteun deur die feit dat die sterkste lootgroei by die 30°C behandeling voorgekom het en dat die hoogste relatiewe lootgroeitempo by elk van die onderskeie cultivars aan die einde van die groeiperiode voorgekom het. Uit Figure 9A & 9B blyk ook dat die twee bostokcultivars, Chenin blanc en Sultana, met betrekking tot lootlengte en -massa eers by 30°C betekenisvol meer groei as by 10°C getoon het. Hierteenoor het Rupestris du Lot en C. Metallica reeds by 20°C hoogs betekenisvol ($P = 0,01$) meer as by 10°C gegroei. Dit kan 'n aanduiding wees dat, in vergelyking met die onderstokcultivars, ca. 30°C die beste grondtemperatuur vir lootlengte en -massatoename vir Chenin blanc en Sultana is. Dit stem dan ook ooreen met bevindings deur Kliewer (1975) en Obando-Rodriguez (1980). Hierdie lootgroeieresultate, tesame met die moontlikheid wat in paragraaf 4.1.1 bespreek is dat die onderstokcultivars minder koue-verdraagsaam as die bostokcultivars mag wees, kan 'n aanduiding wees dat Rupestris du Lot oor 'n kleiner temperatuurgebied as die bostokcultivars aangepas is. Daar kan egter geen verduideliking vir die uitermatige sterk lootgroei wat by C. Metallica aan die einde van die groeiperiode voorgekom het, gegee word nie.

By Sultana en C. Metallica, cultivars wat onderhewig is aan, of wat die groeistilstandverskynsel induseer, het lootgroei by 'n grond-

temperatuur van 20°C na 'n sewe weke groeiperiode byna tot stilstand gekom. Hierdie onvermoë van laasgenoemde twee cultivars om volgehoue lootgroei by genoemde temperatuur te onderhou, mag moontlik met hul gevoeligheid vir die groeistilstandverskynsel verband hou. 'n Aanduiding van lootdikte is verkry deur gemiddelde lootlengte deur lootmassa te deel; hierdie resultate word in Tabel 5 saamgevat.

Tabel 5. Invloed van grondtemperatuur (A) en cultivar (B) op "lootdikte" ($\text{cm} \cdot \text{g}^{-1}$).

A.	Grondtemperatuur		
	10°C	20°C	30°C
"Lootdikte"	22,39	24,13	22,30

B.	Cultivars			
	Chenin blanc	Sultana	Rup. du Lot	C. Metallica
"Lootdikte"	14,67	14,85	36,70	28,77

By al drie temperatuurbehandelings het die "dunste" lote by Rupestris du Lot voorgekom, terwyl die "dikste" lote by Chenin blanc en Sultana voorgekom het. Uit hierdie gegewens wil dit voorkom asof lootdikte 'n cultivargebonde eienskap is. Dat grondtemperatuur eerder lootlengte as "-dikte" beïnvloed, blyk daaruit dat in teenstelling met lootlengte, geen noemenswaardige verskille in "-dikte" tussen die drie temperatuurbehandelings voorgekom het nie (Figuur 11A en Tabel 5A). Die gemiddelde wortelmassa van stokkies gekweek by 20°C was 34 persent hoër as by 10°C, terwyl dié by 30°C, 42 per-

sent hoër as dié by 10°C was. Laasgenoemde was moontlik 'n belangrike rede vir die groot (104 persent) toename in lootgroei (Figuur 11A). Dit stem ooreen met die bevindings deur verskeie ander navorsers (Woodham & Alexander, 1966; Kliewer, 1975; Obando-Rodriguez, 1980) dat die optimale grondtemperatuur vir netto toename in lootmassa, 25° tot 30°C is. Hierdie stelling word ook deur die gegewens in Tabel 6 ondersteun.

Tabel 6. Invloed van grondtemperatuur (A), en cultivar (B) op die lootmassa tot wortelmassa-verhouding.

A.	Grondtemperatuur		
	10°C	20°C	30°C
Lootmassa : wortelmassa-verhouding	0,181	0,182	0,262

B.	Cultivar			
	Chenin blanc	Sultana	Rup. du Lot	C. Metallica
Lootmassa : wortelmassa-verhouding	0,228	0,232	0,160	0,231

4.1.2 Wortelgroei

Die wortelmassa-gegewens word in Figure 4, 9C en 11 aangetoon. Grondtemperatuur oefen ook op wortelgroei 'n betekenisvolle invloed uit. Oor die algemeen het, met die uitsondering van Rupestris du Lot, die hoogste tempo van wortelmassatoename, by 20°C voorgekom met geen betekenisvolle toe- of afname by 'n temperatuurverhoging na

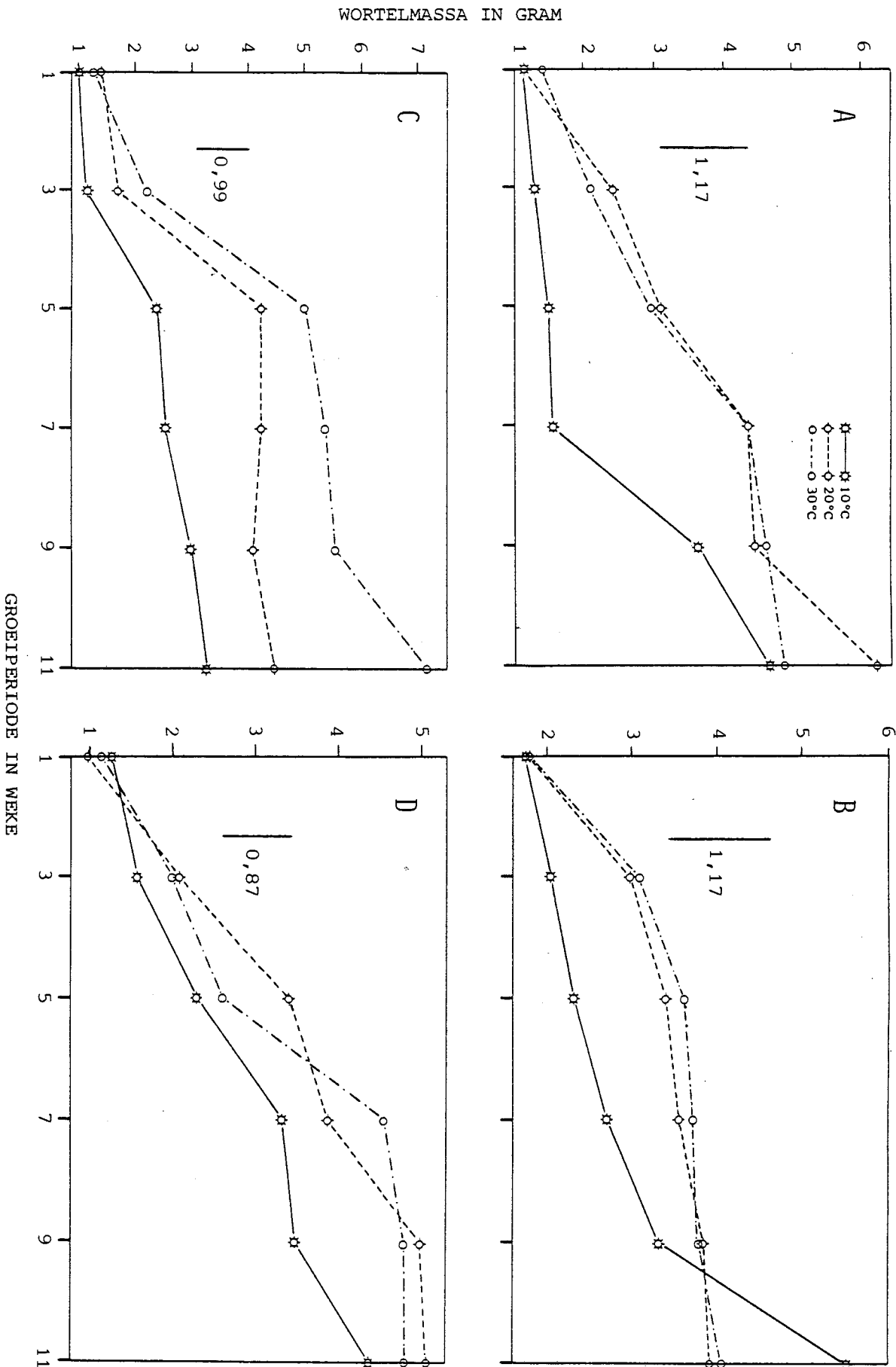


Fig. 4. Invloed van grondtemperatuur op wortelmasse van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestris du Lot (C) en Constantia Metallica (D). Vertikale lyn = KBV (P = 0,05).

Tabel 7. Korrelasiekoëffisiënt van die groeiparameters by vier verskillende cultivars.

Parameters	Steen	Sultana	Rup. du Lot	C. Metallica
Lootlengte/ Lootmassa	0,9874	0,9741	0,9944	0,9925
Blaarmassa/ Aantal blare	0,9709	0,9205	0,9534	0,9896
Blaarmassa/ Lootlengte	0,9241	0,9876	0,9104	0,9687
Blaaroppv./ Aantal blare	0,9797	0,9149	0,9713	0,9876
Blaaroppv./ Lootlengte	0,9745	0,9888	0,9603	0,9739
Blaaroppv./ Blaarmassa	0,9703	0,9979	0,9789	0,9989
Wortelmasa/ Lootmassa	0,7410	0,7645	0,8385	0,6725

Tabel 8. Groei- en assimilasietyempo by vier verskillende kultivars en drie verskillende temperature.

	Lootlengte (mm/dag)	Lootmassa (mg/dag)	Wortelmasa (mg/dag)	Blaarmassa (mg/dag)	Aant. blare	Opp./blaar (nm ² /dag)	Opp./plant (cm ² /dag)	
Chenin blanc	0,43	2,14	7,14	2,14	0,01	1,3	0,00	
	10 °C	0,37	1,43	36,43	4,29	0,09	27,8	0,42
		0,82	2,14	1,43	0,71	0,02	0,4	0,42
		2,39	7,86	147,86	78,57	0,14	9,0	5,31
		0,74	7,86	77,86	15,71	0,02	5,7	0,57
		0,36	5,71	85,71	25,00	0,06	14,3	2,16
	20 °C	0,55	2,86	46,43	7,14	0,06	10,2	0,67
		1,57	11,43	92,86	56,43	0,14	25,4	5,35
		2,31	15,71	10,71	43,57	0,12	8,1	3,50
		3,68	27,86	119,29	82,86	0,12	45,2	7,90
		0,37	5,00	51,43	12,14	0,04	8,4	1,13
	30 °C	1,70	15,00	64,29	39,29	0,16	0,1	3,44
		3,41	17,86	95,00	77,14	0,14	51,9	7,69
		2,18	24,29	19,29	15,71	0,13	26,2	6,47
		7,09	40,71	18,57	54,29	0,18	15,4	7,74
Sultana	0,39	1,43	22,86	9,29	0,11	3,1	1,39	
	10 °C	0,01	4,29	17,86	13,57	0,05	1,3	1,30
		1,29	3,57	27,86	33,57	0,09	6,1	3,66
		0,11	1,43	45,00	7,86	0,09	22,4	0,77
		2,07	17,86	159,29	60,00	0,08	15,6	5,76
		0,54	2,86	87,14	20,71	0,14	2,3	2,56
	20 °C	1,02	5,71	29,29	23,57	0,09	7,8	2,54
		1,75	10,71	11,43	47,86	0,01	27,9	4,89
		0,64	1,43	19,29	43,57	0,03	26,5	3,36
		0,20	2,14	8,57	16,43	0,06	7,7	2,56
		0,38	7,14	94,29	26,43	0,06	27,6	2,93
	30 °C	1,68	14,29	37,14	49,29	0,21	7,1	5,05
		1,89	2,14	7,14	65,00	0,01	55,6	7,83
		1,14	11,43	5,00	12,86	0,06	18,6	0,00
		3,11	17,14	22,14	80,71	0,09	44,4	10,23
Rup. du Lot	0,96	0,71	10,71	11,43	0,01	0,4	0,77	
	10 °C	0,68	2,14	90,00	1,43	0,03	8,7	0,01
		0,07	1,43	11,43	10,71	0,02	0,8	0,33
		0,08	0,00	30,71	0,71	0,01	1,9	0,17
		0,31	1,43	20,71	5,00	0,06	1,1	0,29
		3,16	7,86	23,57	24,29	0,10	8,5	1,79
	20 °C	0,52	2,86	170,71	14,29	0,01	7,6	1,03
		1,19	4,29	9,29	17,86	0,04	10,2	1,91
		2,93	4,29	0,71	2,86	0,09	1,6	0,72
		6,48	15,00	19,29	15,00	0,18	3,6	2,88
		3,32	6,43	63,57	29,29	0,04	4,4	1,83
	30 °C	0,99	2,86	202,14	1,43	0,14	14,4	0,49
		2,30	7,86	25,71	15,00	0,02	2,2	1,30
		3,52	5,71	8,57	2,14	0,06	1,7	1,22
		7,43	22,14	120,00	12,86	0,06	4,6	1,67
C. Metallica	0,04	2,14	20,71	5,00	0,04	11,3	1,34	
	10 °C	0,38	2,14	52,14	17,86	0,02	1,0	0,25
		0,29	0,00	74,29	15,71	0,02	0,5	0,57
		0,66	0,71	10,71	22,86	0,13	2,1	1,42
		2,81	5,71	53,57	12,86	0,11	1,9	0,85
		2,11	10,71	76,43	50,71	0,14	20,2	2,52
	20 °C	4,09	13,57	97,14	75,71	0,23	37,0	6,10
		5,01	15,00	32,14	66,43	0,18	12,9	4,52
		1,63	5,00	81,43	57,86	0,09	16,4	3,89
		4,14	6,43	6,43	23,57	0,08	0,4	1,56
		2,82	6,43	60,00	43,57	0,11	23,4	2,60
	30 °C	6,45	22,86	43,57	102,86	0,32	29,1	7,27
		8,84	50,00	140,71	165,71	0,29	42,6	11,13
		6,82	16,43	16,43	30,00	0,04	12,1	3,00
		27,38	94,29	2,14	215,00	0,52	13,1	15,37

30°C nie (Figuur 9C). Die gegewens in Figuur 4 toon, met die uitsondering van die 10°C behandelings by Chenin blanc en Sultana, duidelik dat die maksimum tempo van wortelmassatoename by al vier cultivars gedurende die eerste vyf tot sewe weke van die groei-periode voorgekom het. Indien bogenoemde resultate vergelyk word met byvoorbeeld die lootgroeitempo in Figuur 2 en Tabel 8, waar die maksimum groei hoofsaaklik tussen die vyfde en elfde week van die groeiperiode voorgekom het, word 'n opvallend verskuifde korrelasie tussen wortel- en lootgroeï waargeneem. Hierdie korrelasie ondersteun die algemene opvatting dat sterk lootgroeï eers 'n aanvang kan neem nadat aktiewe wortelgroeï tot stilstand gekom het. Die gegewens in Tabel 7 toon aan dat by Rupestris du Lot, 'n cultivar wat gesonde sterk groei in 'n Sultana-bostok induseer, 'n goeie en by C. Metallica, 'n relatief swak korrelasie tussen wortel- en lootmassa bestaan. Daar kan dus verwag word dat by Rupestris du Lot geassosieerd met die sterk wortelgroeï, 'n sterk lootgroeï sal voorkom. Alhoewel tussen die korrelasiekoëffisiënte van Chenin blanc en Sultana geen noemenswaardige verskil voorgekom het nie, mag die verband tussen loot- en wortelmassa moontlik met die voorkoms van die groeistilstandverskynsel verband hou (Smit, C.J., 1969; ongepubliseerde verslag).

4.1.3 Blaargroeï

Die gemiddelde blaarmassa en blaaroppervlakte per stok vir die onderskeie cultivars, is in hierdie ondersoek hoofsaaklik deur lootlengte en aantal blare per stok bepaal (Figure 5 tot 10). Die baie hoë korrelasiekoëffisiënte tussen die genoemde eienskappe wat in Tabel 7 aangetoon word, rugsteun bogenoemde stelling. 'n Toename in grondtemperatuur vanaf 10° tot 30°C het 'n hoogs beteke-

nisvolle ($P = 0,01$) toename in die gemiddelde aantal blare per stok gehad, terwyl betekenisvolle cultivarverskille ook voorgekom het (Figuur 12). Die oppervlakte per blaar het by *Rupestris du Lot* reeds by 20°C byna 'n maksimum waarde bereik, terwyl dit by die ander drie cultivars met elke temperatuurstyging betekenisvol toegeneem het om by 30°C 'n maksimum te bereik (Figuur 10). Hierdie resultaat dien ook as verdere ondersteuning vir die stelling op bladsy 57 dat *Rupestris du Lot* oor 'n kleiner temperatuurgebied as die bostokcultivars aangepas mag wees. Volwasse blare van gevestigde *Rupestris du Lot* stokke is kleiner as die van die ander drie cultivars. Die blare van *Rupestris du Lot* is vroeg reeds relatief groot en bereik volwassenheid op 'n vroeë stadium wanneer grondtemperatuur nog relatief laag is.

Die hoë korrelasiekoëffisiënt tussen blaaroppervlakte en lootlengte (Tabel 7) dui aan dat blaaroppervlakte per plant, direk toegeneem het soos die lote langer geword het en die blaaraantalle toegeneem het. Dit toon dat die stokkies blykbaar nie gekompenseer het deur oor tyd meer, maar kleiner blare te vorm nie. Die blaaroppervlakte van stokkies wat by 30°C gekweek is, was 91 persent groter as dié by 10°C (Figuur 12A). Hierdie groter blaar- en gevolglik fotosintetiese oppervlakte kan in volwasse stokke 'n beter algemene trosvoeding tot gevolg hê, waardeur vrugset en druifgehalte verbeter kan word.

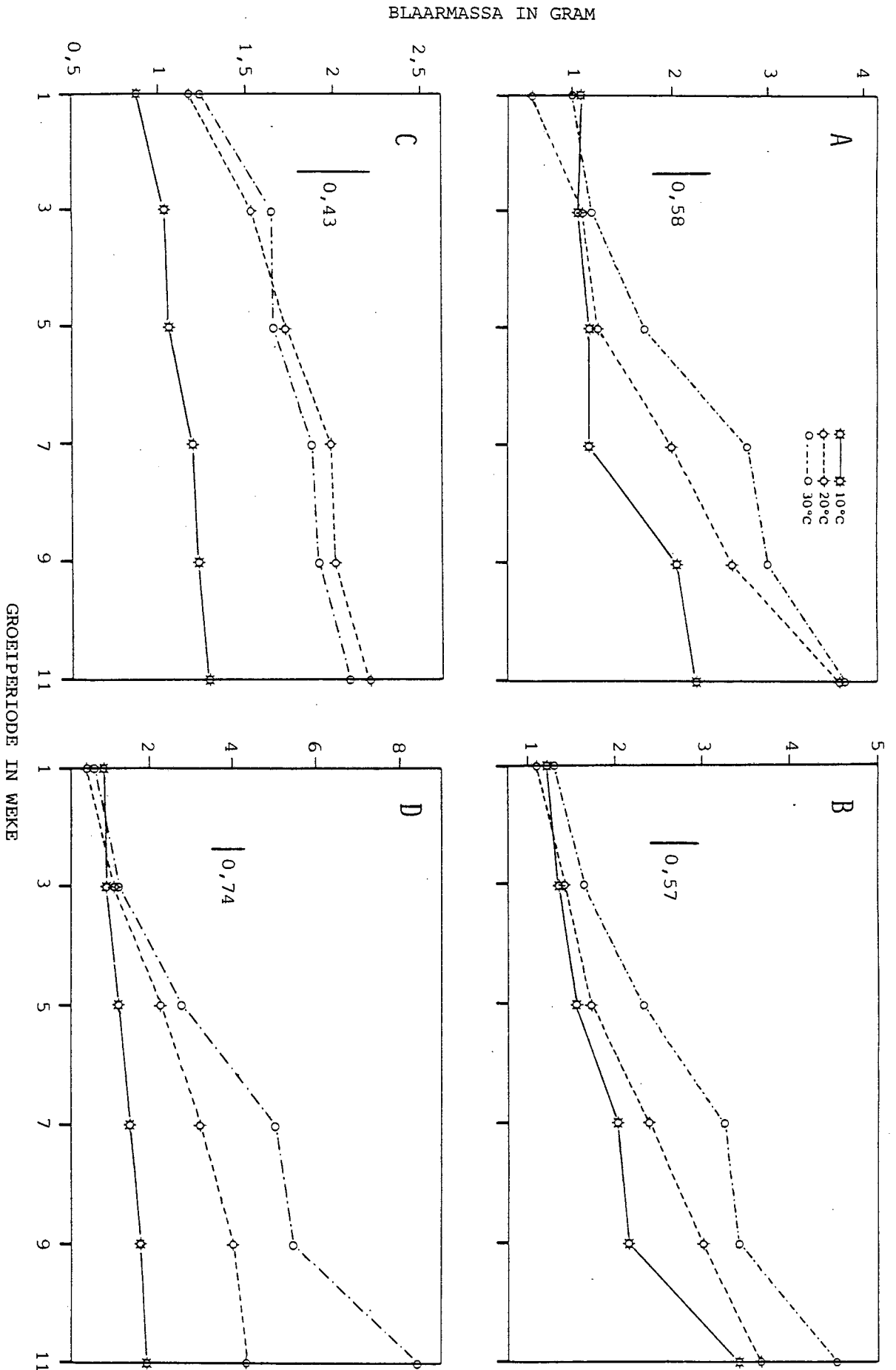


Fig. 5. Invloed van grondtemperatuur op blaarmassa van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestris du Lot (C) en Constantia Metallica (D). Vertikale lyn = KBV ($P = 0,05$).

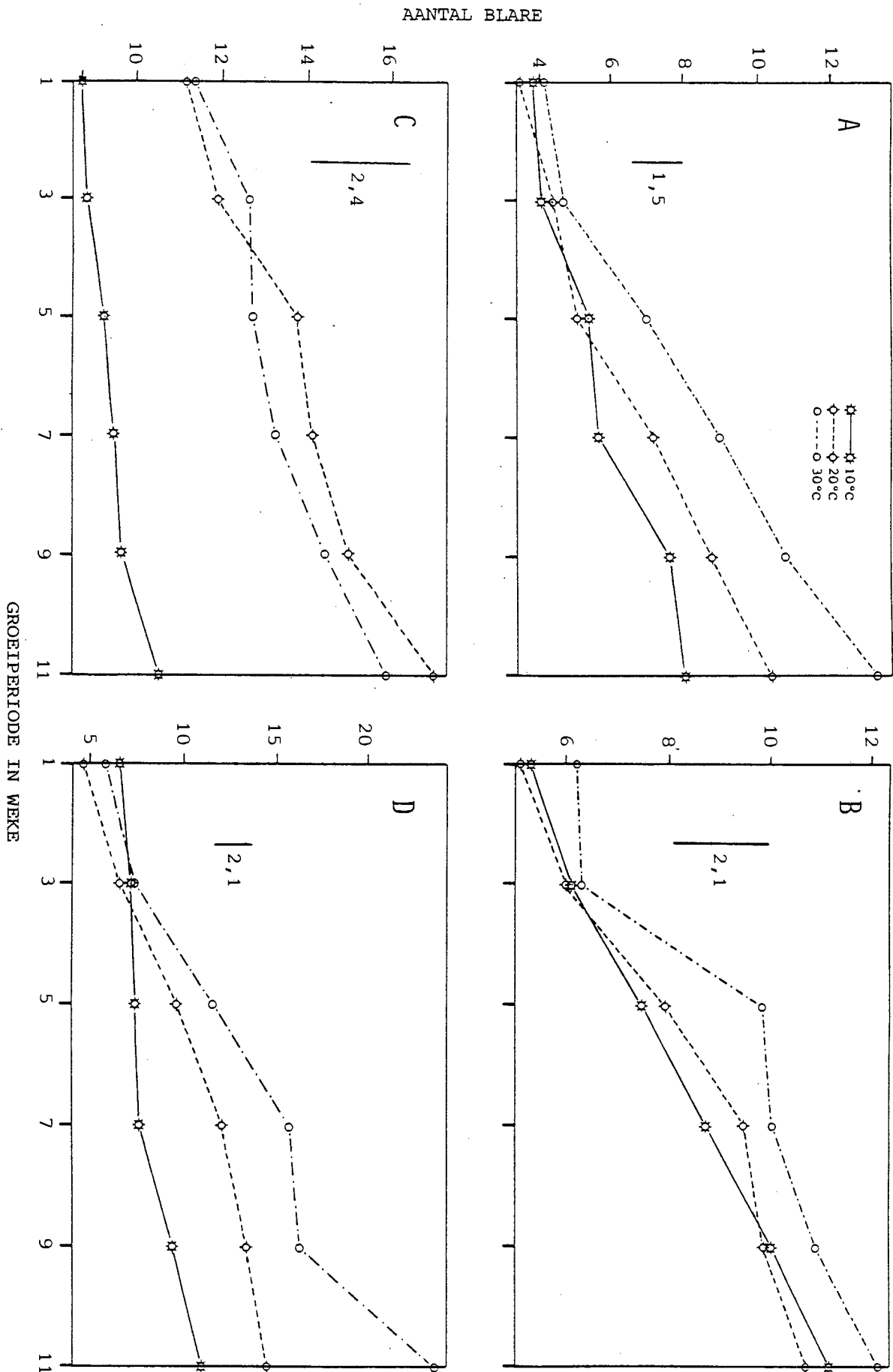


Fig. 6. Invloed van grondtemperatuur op aantal blare van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestris du Lot (C) en Constantia Metallica (D). Vertikale lyn = KBV ($P = 0,05$).

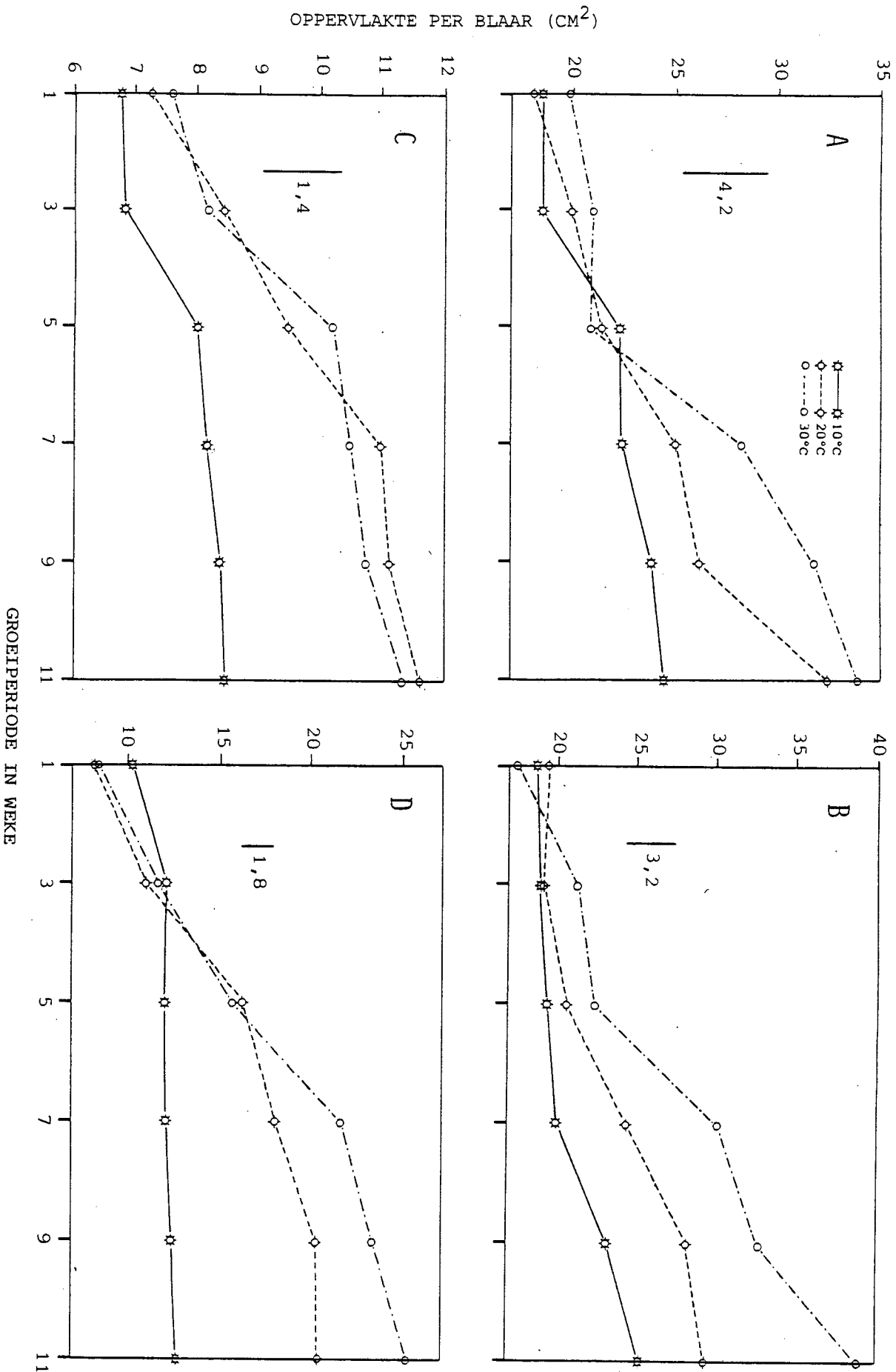


Fig. 7. Invloed van grondtemperatuur op oppervlakte per blaar van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestrus du Lot (C) en Constantia Metallica (D). Vertikale lyn = KBV (P = 0,05).

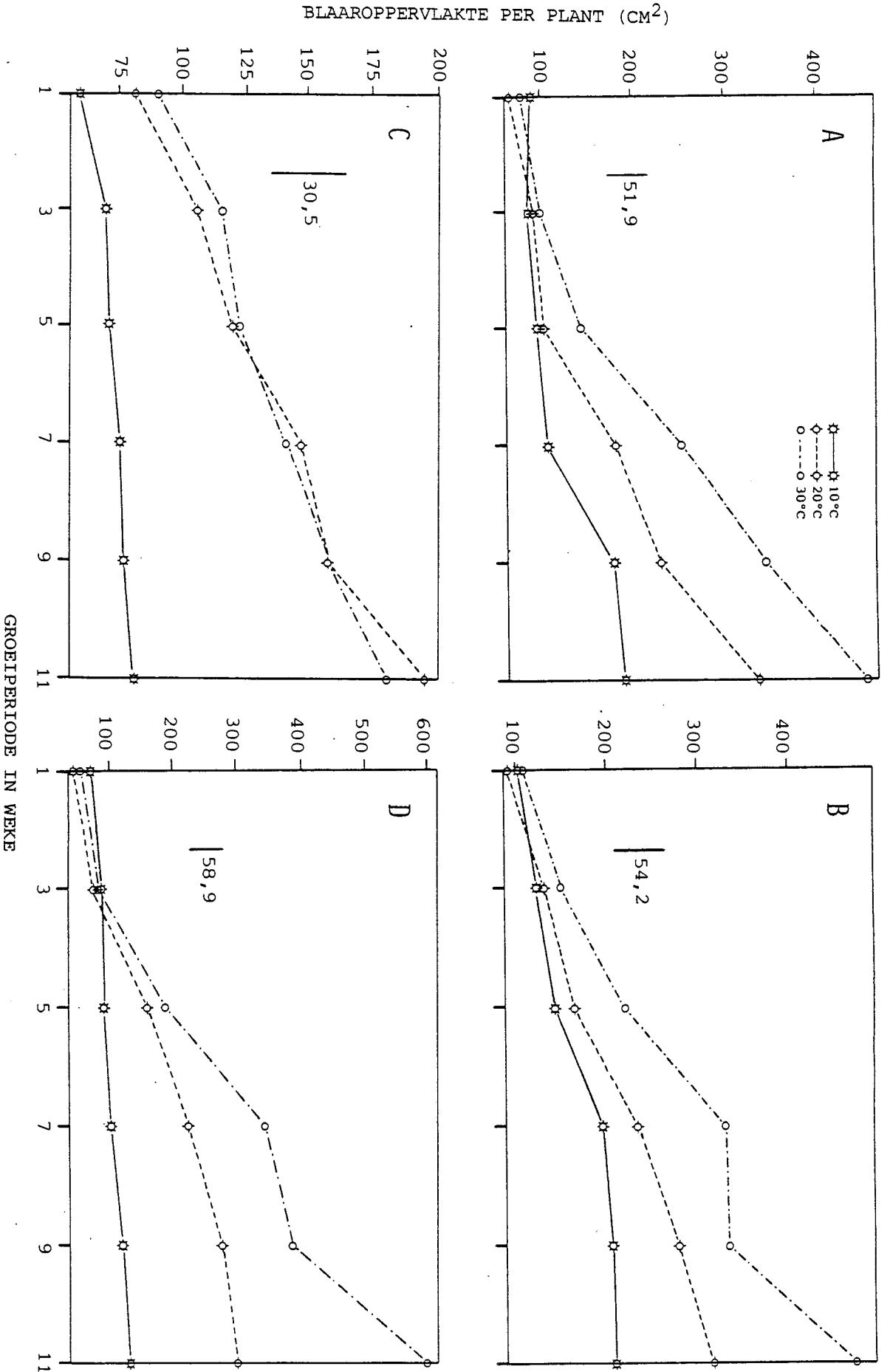


Fig. 8. Invloed van grondtemperatuur op blaaroppervlakte per plant van Chenin blanc (A), Sultana (B), Rupestris (C) en Constantia Metallica (D). Vertikale lyn = KBV (P = 0,05).

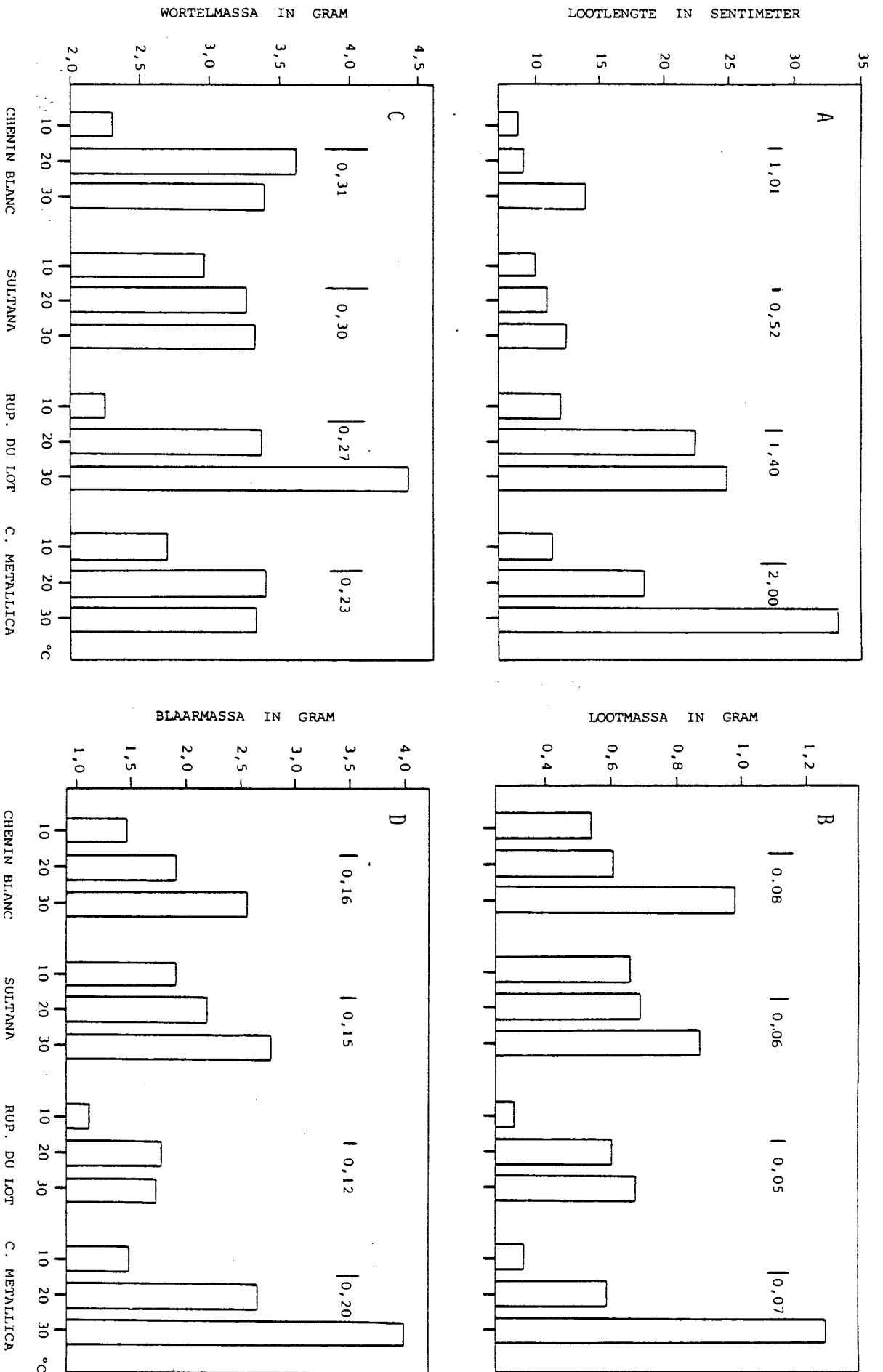


Fig. 9. Invloed van kultivar en grondtemperatuur op lootlengte (A), lootmassa (B), wortelmassa (C) en blaarmassa (D). Vertikale lyn = KBV (P = 0,05).

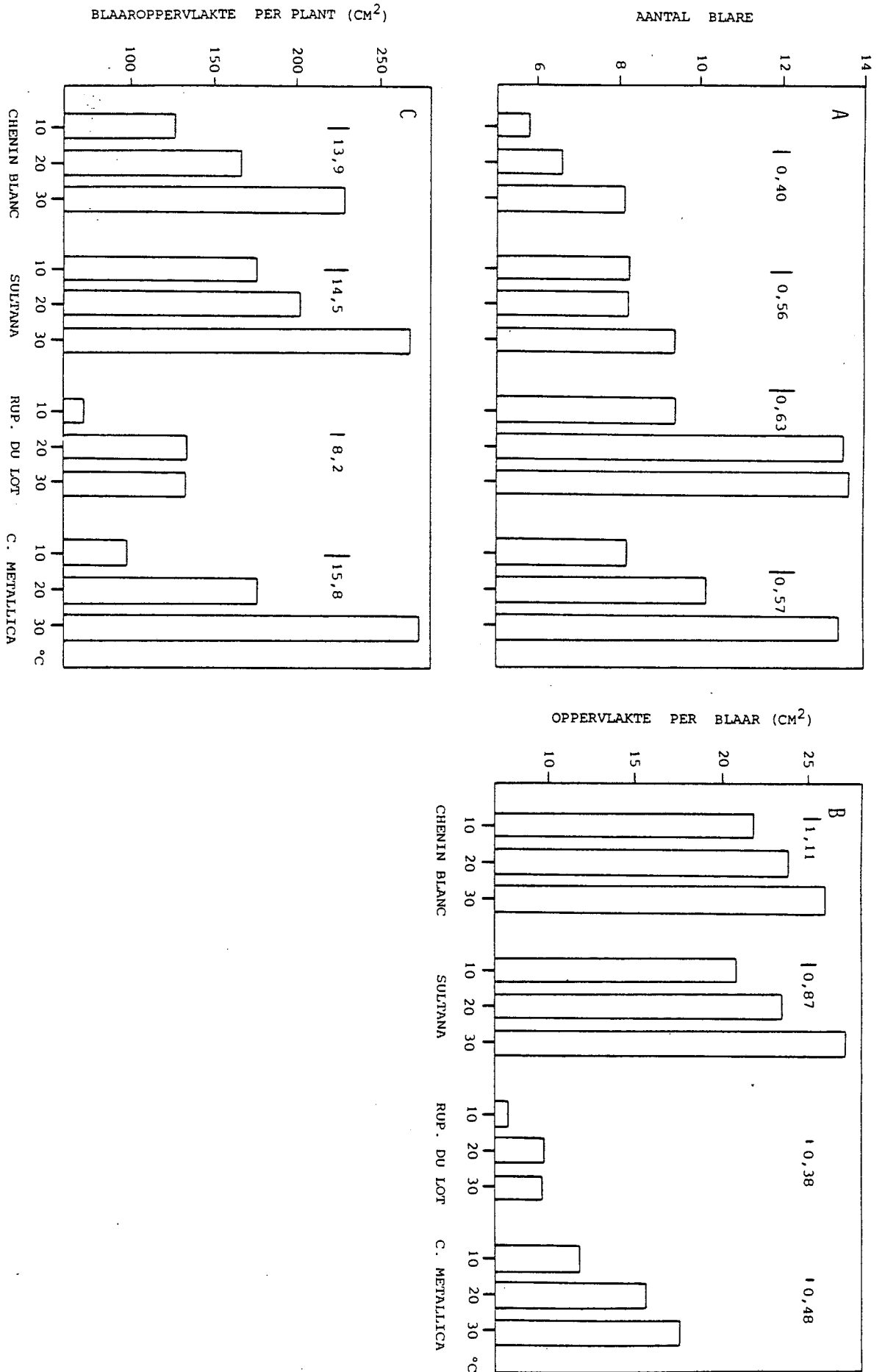


Fig. 10. Invloed van cultivar en grondtemperatuur op aantal blare (A), oppervlakte per blaar (B) en blaaroppervlakte per plant (C). Vertikale lyn = KBV ($P = 0,05$).

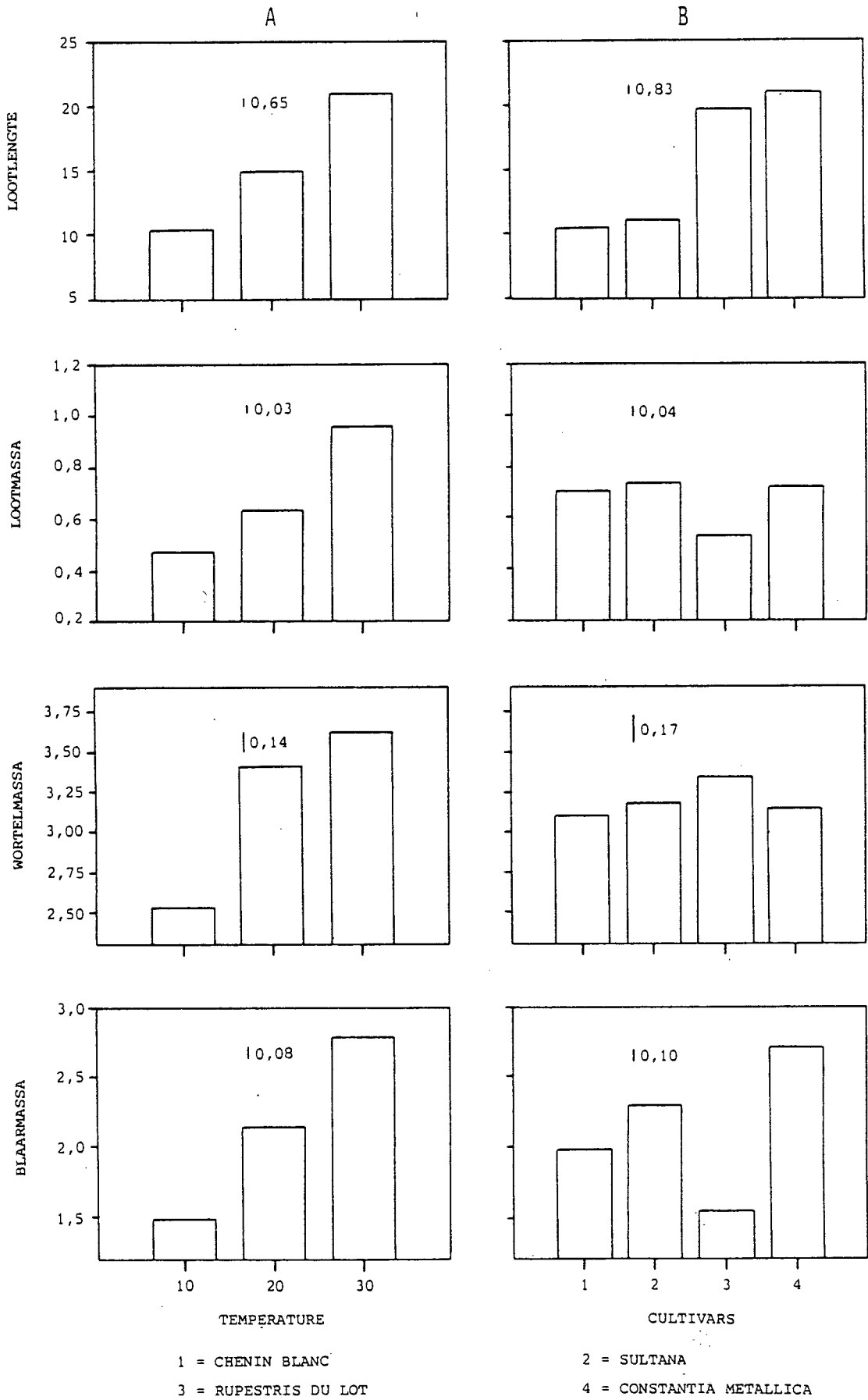


Fig. 11. Invloed van grondtemperatuur (A) en cultivar (B) op lootlengte, lootmassa, wortelmassa en blaarmassa. Vertikale lyn = KBV ($P = 0,05$).

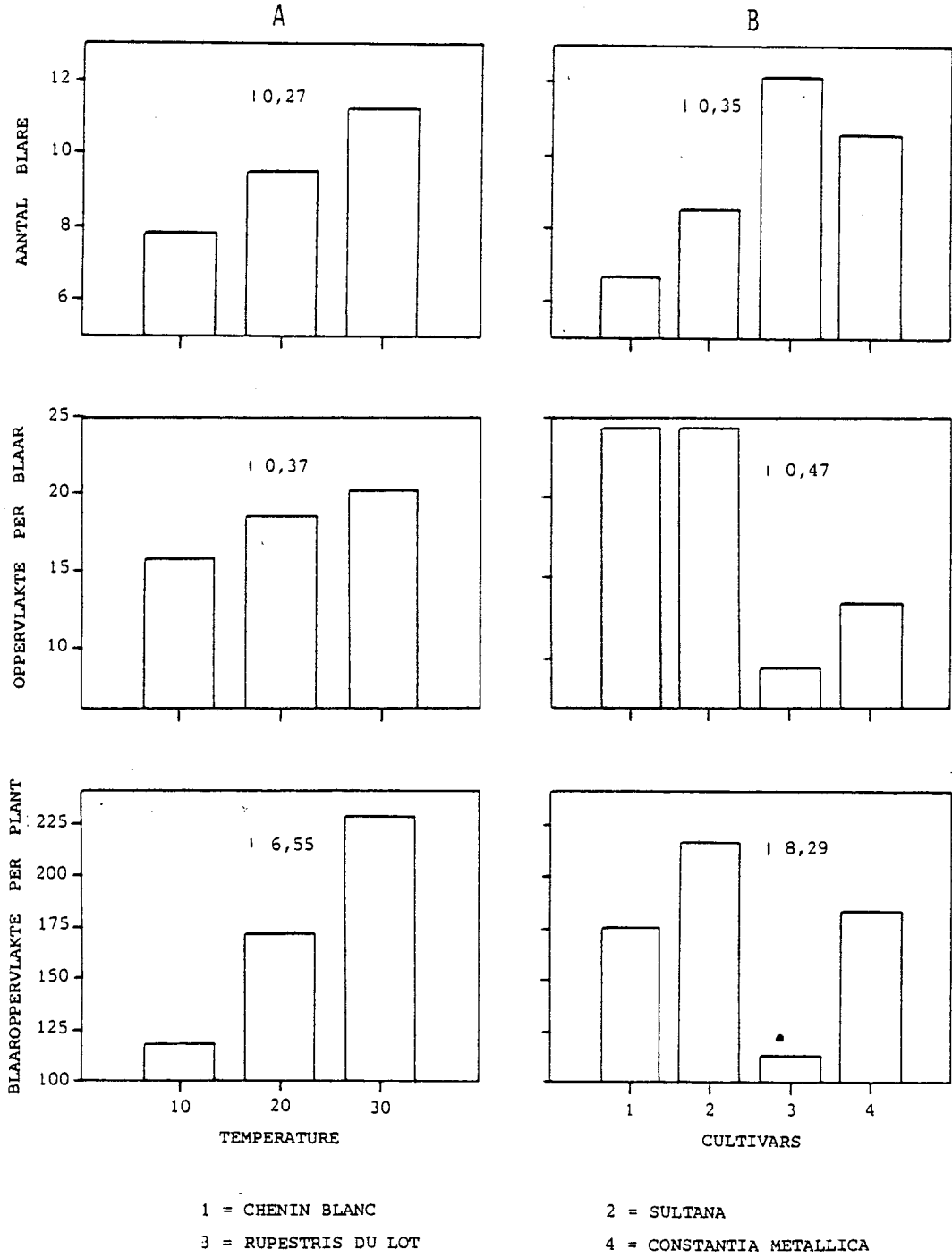


Fig. 12. Invloed van grondtemperatuur (A) en cultivar (B) op aantal blare, oppervlakte per blaar en blaaroppervlakte per plant. Vertikale lyn = KBV (P = 0,05).

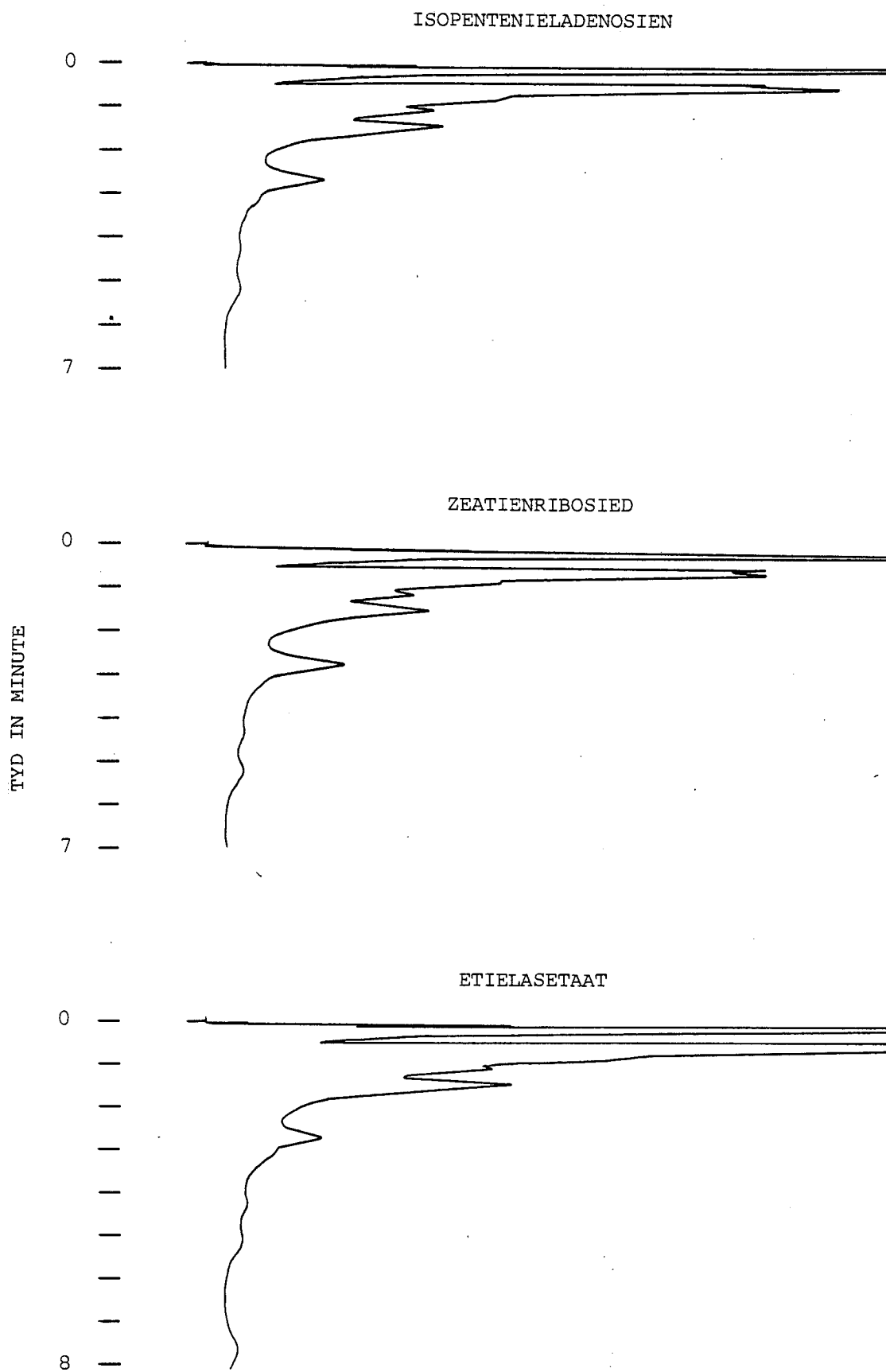
4.2 Toetse vir bepaling van sitokiniene

4.2.1 Gaschromatografiese bepaling

Tabel 9. Gaschromatografiese resultate van (A) isopentenielaadensien, (B) zeatienribosied en (C) etielasetaat.

Piek Nommer	Retensietyd (min)			Area %		
	A	B	C	A	B	C
1	0,047	0,052	0,048	0,081	0,111	0,175
2	0,102	0,107	0,102	4,342	4,568	4,244
3	0,153	0,157	0,150	63,218	65,483	61,185
4	0,615	0,619	0,541	12,765	7,028	2,799
5	1,132	0,842	0,615	3,312	3,763	13,168
6	1,499	1,138	1,121	7,914	2,954	3,060
7	2,735	1,503	1,497	5,933	7,377	8,152
8	4,339	2,756	2,735	1,129	6,410	4,858
9	5,238	4,339	4,311	1,305	1,091	1,038
10		5,259	5,170		1,214	1,046
11			7,758			0,274
Totaal				99,999	99,999	99,999

Die resultate in Figuur 13 en Tabel 9 is verteenwoordigend van wat met behulp van die gaschromatograaf verkry is op die $100\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ behandeling van die standaardreeks wat in paragraaf 3.2.2.1 beskryf is. Uit hierdie data blyk dat beide hormone negatief getoets het. So het ook die xileemsap-ekstrakte (paragraaf 3.2.1) negatief getoets. Buiten die moontlikheid dat die derivatisering met BSA nie suksesvol verloop het nie, kan geen rede gevind word waarom geen piek vir sitokiniënaktiviteit aangetoon kon word met hierdie tegniek, wat suksesvol deur Zelleke *et al.* (1980) toegepas is nie. Die waargenome patroon op al drie die chromatogramme kan aan die oplosmiddel, etielasetaat, toegeskryf word. Die pieke is moontlik te wyte aan



Figuur 13. Gaschromatografiese bepaling van isopentenielenosien, zeatiens-
ribosied en etielasetaat-oplosmiddel.

* Kaartspoed = $1,0\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$; Attenuasie = 1024

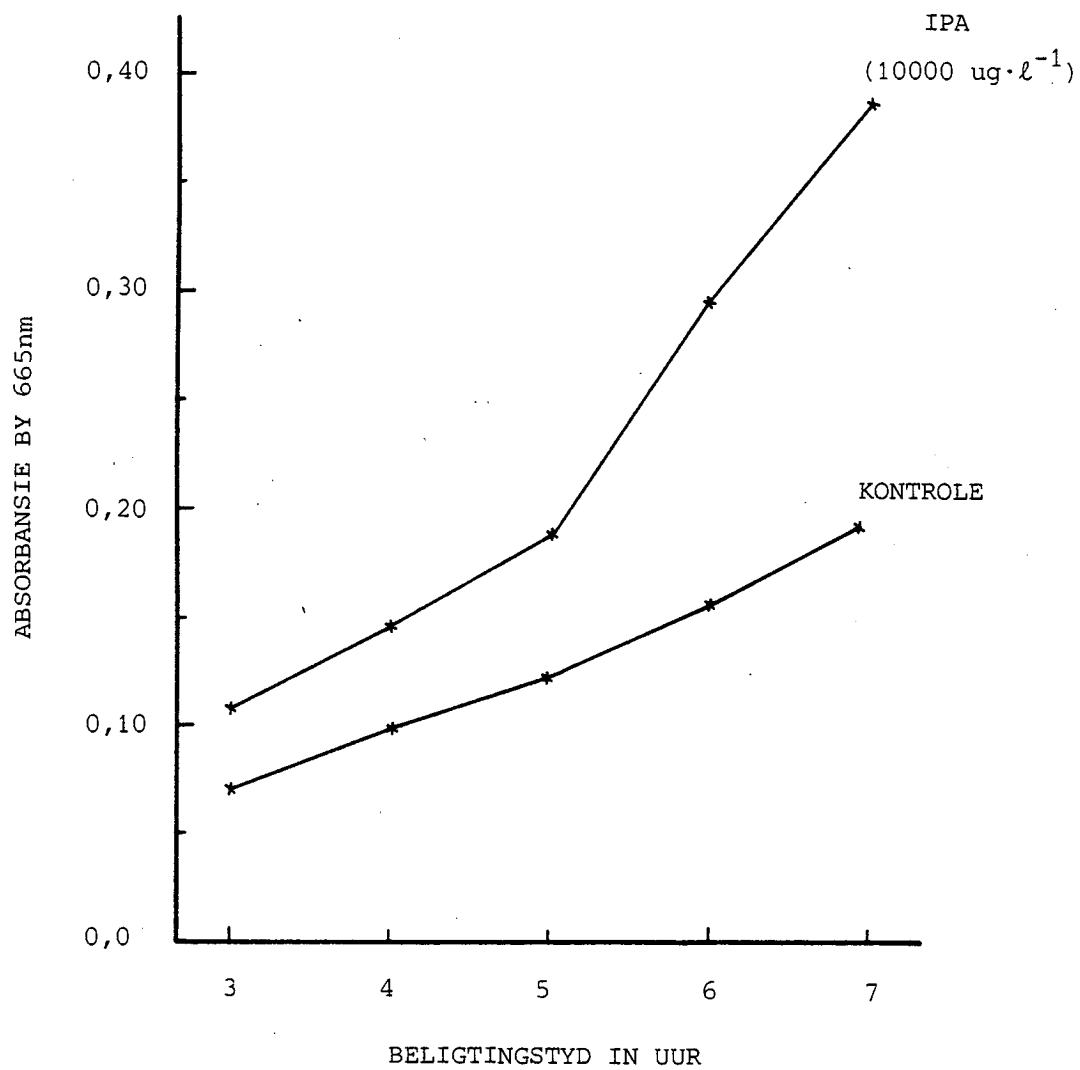
die teenwoordigheid van enkele onsuiverhede in die oplosmiddel. By gebrek aan tyd is hierdie tegniek nie verder ontwikkel nie.

4.2.2 Komkommersaadlob-biotoets

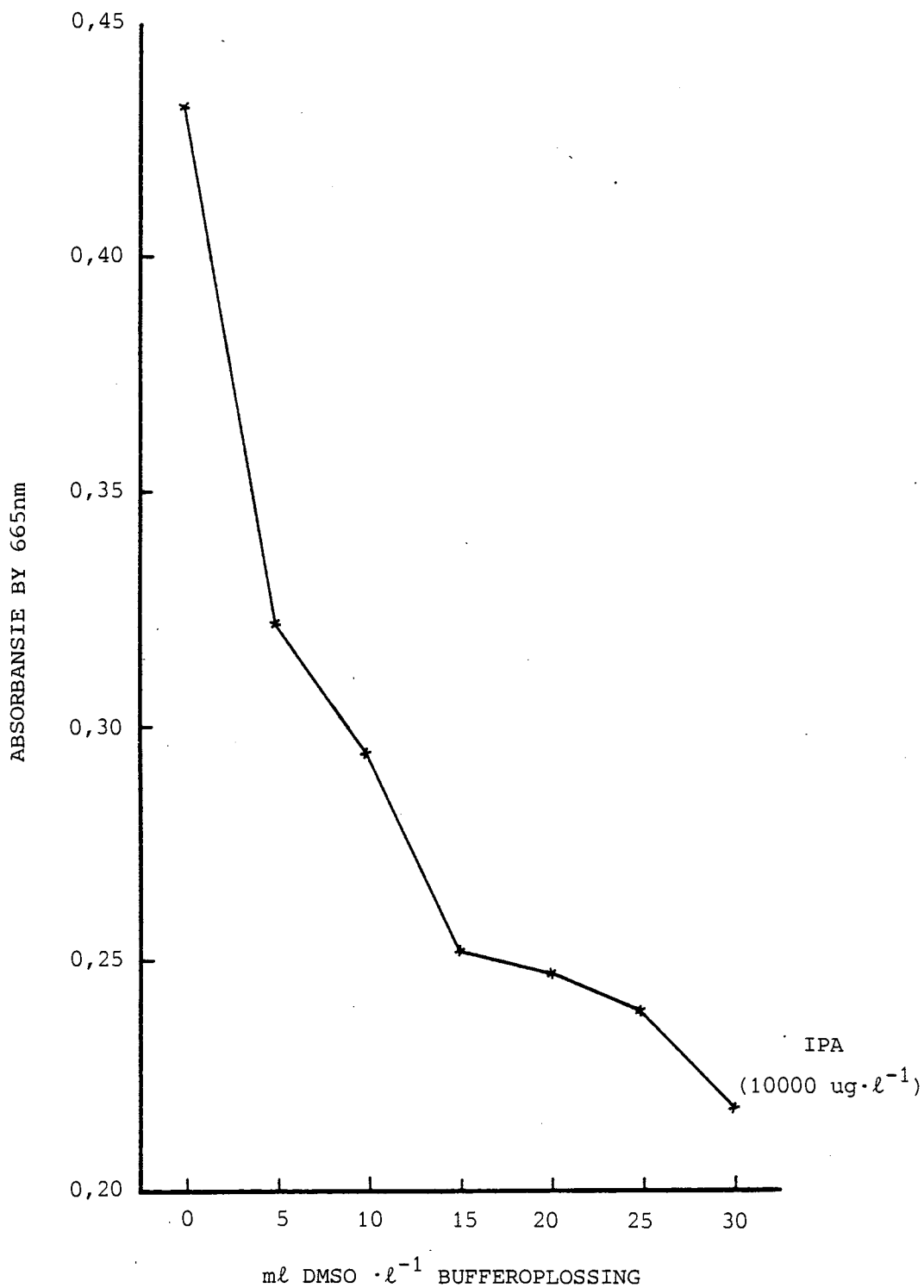
Hierdie biotoets, beskryf deur Fletcher & McCullagh (1971), het onder plaaslike omstandighede by die aanbevole beligtingstyd van drie uur variërend gereageer. Die optimale beligtingstyd is ondersoek waarin isopenteniëladensien teenoor 'n onbehandelde kontrole vergelyk is (Figuur 14) en dit blyk duidelik dat hierdie biotoets na sewe uur beligtingstyd die beste resultate gelewer het.

'n Tweede moontlike rede vir die variasie is gesoek in die mate waartoe die sitokinien gedurende inkubasietyd deur die saadlobbe geabsorbeer word. Dimetiëlsulfoksied (DMSO), 'n uitstekende oplosmiddel vir sitokiniene, is teen verskillende konsentrasies by die bufferoplossing gevoeg. 'n Toenemend negatiewe uitwerking is, met 'n toename in DMSO-konsentrasie, op die effektiwiteit van die biotoets verkry (Figuur 15). Hierdie behandeling is gevolglik weggelaat by die latere toepassing van die biotoets op sitokinienstandaardreekse.

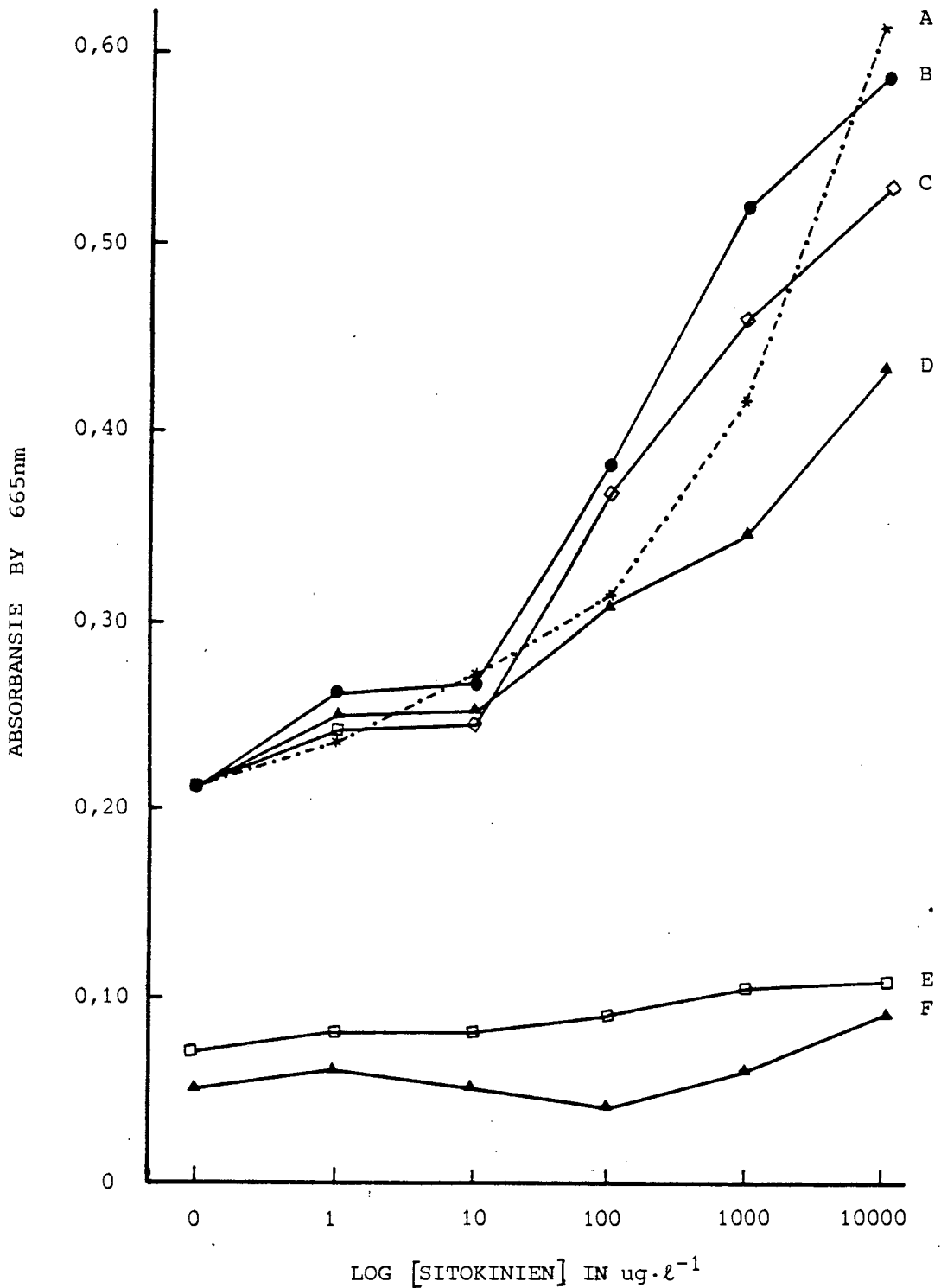
Soos dit die geval by ander biotoetse is, is ook by die komkommersaadlob-biotoets verwag dat verskillende vorms van sitokinien chlorofilproduksie verskillend sou indueer. Om bogenoemde te toets, is die aktiwiteit van vier sitokiniene, by 'n beligtingstyd van sewe uur en sonder DMSO-byvoeging, met mekaar vergelyk (Figuur 16). Die hormone isopenteniëladensien (IPA), isopenteniëladensien (2iP) en kinetien het oor die konsentrasiegebied 10



Figuur 14. Invloed van beligtingstyd op die komkommersaadlob-biotoets.



Figuur 15. Invloed van dimetielsulfoksied (DMSO) in die bufferoplossing op chlorofilvorming in die komkommersaadlob-biotoets.



Figuur 16. Standaardkromme van (A) zeatienribosied - 7h, (B) kinetien - 7h, (C) isopentenielenadenien - 7h, (D) isopentenielenadenosien - 7h, (E) kinetien - 3h en (F) isopentenielenadenosien + 2% DMSO - 4h, soos bepaal met behulp van die komkommersaadlob-biotoets.

tot $10000\mu\text{g}\cdot\ell^{-1}$ 'n byna reglynige verband gegee. Hierteenoor het zeatienribosied, wat 'n natuurlike sitokinien in die wingerdstok is, reeds vanaf $1\mu\text{g}\cdot\ell^{-1}$ 'n konstante toename in chlorofilproduksie begin toon en het dit met 'n hiperboliese verband toegeneem om by $10000\mu\text{g}\cdot\ell^{-1}$ die hoogste produksie te lewer.

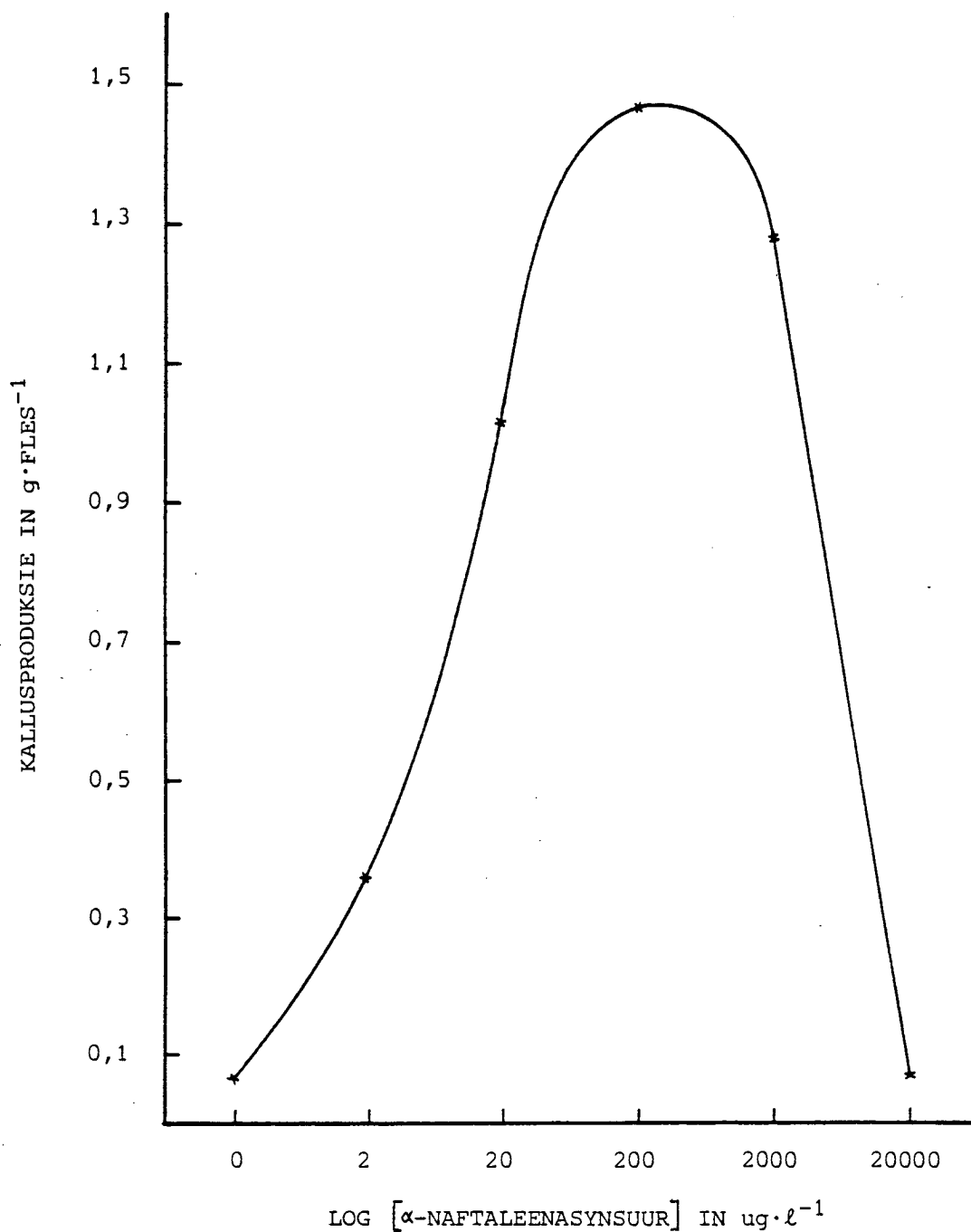
Alhoewel hierdie 'n vinnige, sensitiewe en spesifieke toets vir sitokiniene is (Letham, 1978) en heelwat tyd bestee is aan die uittoetsing en aanpassing van die tegniek, kon geen betekenisvol herhaalbare resultate daarmee verkry word nie. Hierdie tegniek kon gevolglik nie vir roetine-analises gebruik word nie.

4.2.3 Sojaboonkallus-biotoets

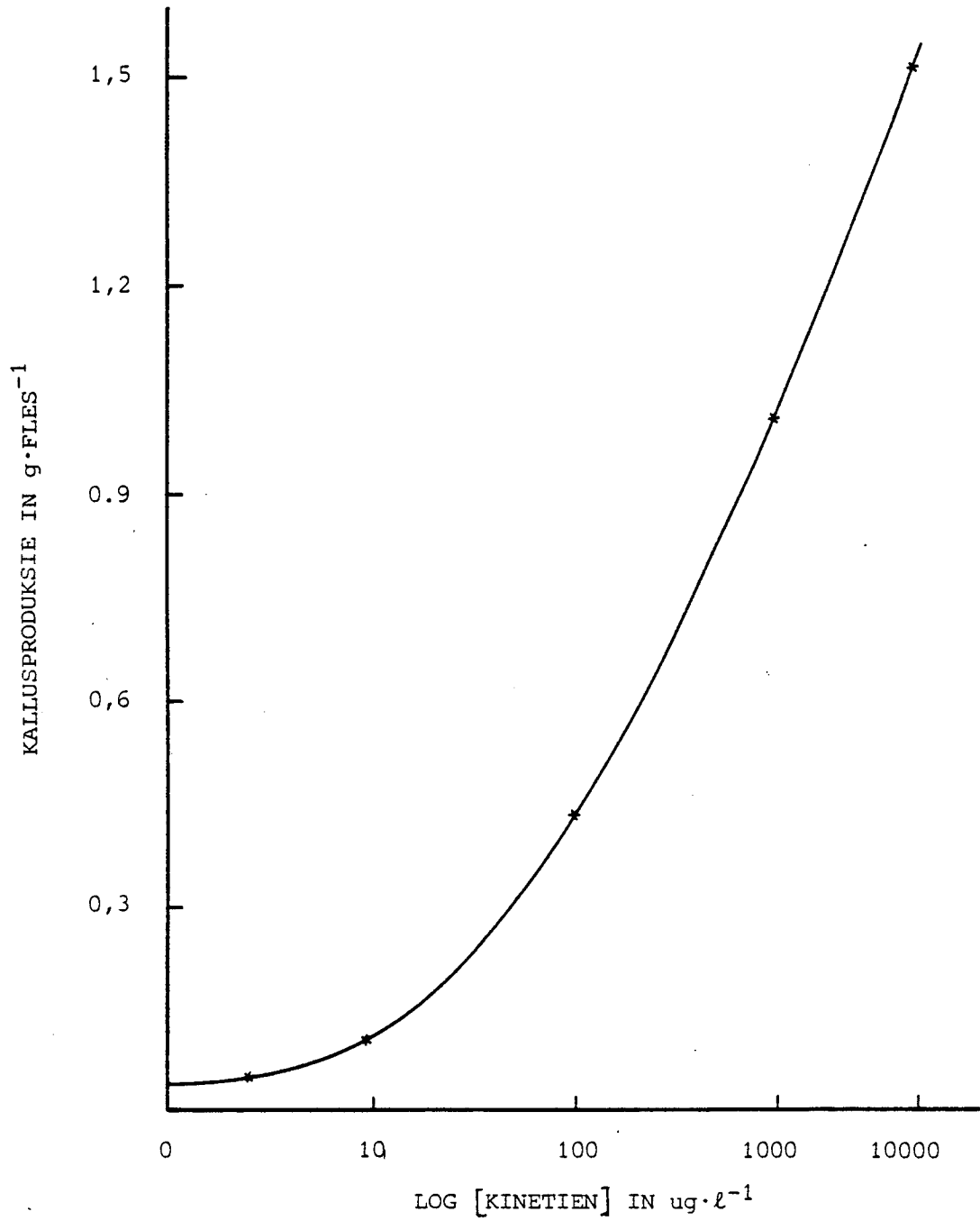
Met hierdie tegniek, beskryf deur Miller (1965), waarin 'n oksienkonsentrasie van $200\mu\text{g}\cdot\ell^{-1}$ gebruik word, het die kallusweefsel lig-groen en die punte van die weefselblokkies bruin verkleur.

Linsmaier & Skoog (1965) het $2000\mu\text{g}\cdot\ell^{-1}$ oksien as die optimale konsentrasie vir die tabakkallus-biotoets aangetoon. Miller (1968) het ook van $2000\mu\text{g}\cdot\ell^{-1}$ oksien gebruik gemaak by die instandhouding van die sojaboonkallusvoorraad. Laasgenoemde outeur het ook berig dat by laer kinetienkonsentrasies in die voedingsmedium, die optimale oksienkonsentrasie hoër is as by hoër kinetienkonsentrasies. Met $2000\mu\text{g}\cdot\ell^{-1}$ oksien in die voedingsmedium het die sojaboonkallus vir die volle 28 dae inkubasietyd wit en gesond vertoon, maar die kallus was minder groeikragtig as met $200\mu\text{g}\cdot\ell^{-1}$ oksien.

'n α -Naftaleenasynsuur-konsentrasiereeks is tot die voedingsmedium wat $1\text{mg}\cdot\ell^{-1}$ kinetien bevat het, bygevoeg. Dit is bevind dat



Figuur 17. Invloed van α-naftaleenasynsuurbyvoegings tot die voedingsmedium op die sojaboonkallus-biotoets.



Figuur 18. 'n Tipiese kinetienstandaardkromme soos bepaal met behulp van die sojaboonkallus-biotoets.

Tabel 10. Variansie-analise van biooetsresultate.

Vryheidsgrade		Gemiddelde som van Kwadrate						
Groei-periode	Wortels	Lote	Blare	Vryheidsgrade	Xilemsap	Jong somerlote	Blomtrousse	
Na 1 week								
Temperatuur T	208583,67**	161080,52**	84,87**	Chenin Blanc	714,00**	52,25**	27,41**	
Rf-waarde R	23051,28**	33754,23**	17,23*	Rf-waarde R	23,54	1,06	0,66	
TR	8417,58**	14474,90**	9,74	Herhaling H	9,02	0,75	0,25	
Herhaling H	898,91	1514,77	13,08	Fout				
Fout	332,93	631,20	4,88					
Na 3 weke								
T	381,45**	1000,50**	525,21**	Sultana	290,29**	57,09**	32,43**	
R	463,55**	1246,41**	1320,69**	R	9,99	0,68	1,69	
TR	95,33**	218,78**	257,66**	H	3,84	0,54	0,65	
H	3,44	8,15	23,98	Fout				
Fout	3,41	6,00	8,99					
Na 5 weke								
T	6,05**	1646,51**	5133,86**	Rupestris du Lot	1918,34**	4,99**	66,11**	
R	31,71**	22187,86**	3355,27**	R	37,12	0,52*	2,84	
TR	2,52**	2347,58**	416,72**	H	14,18	0,19	1,10	
H	0,99	497,89	58,46	Fout				
Fout	0,56	211,00	22,19					
Na 7 weke								
T	599,63**	99,10**	190,14**	420-A	79,36**	2,06**	32,71**	
R	553,18**	1520,07**	132,89**	R	1,04	0,38	1,71	
TR	217,36**	52,92**	31,99**	H	0,41	0,15	0,66	
H	6,40	33,09	0,52	Fout				
Fout	2,38	12,26	1,37					

** Betekenisvol by P = 0,01

* Betekenisvol by P = 0,05

200ug·ℓ⁻¹ die optimale konsentrasie vir kallusmassatoename is, terwyl by 20000ug·ℓ⁻¹ geen groei-induksie voorgekom het nie (Figuur 17). In die konsentrasiegebied 20 tot 2000ug·ℓ⁻¹ α-naftaleenasynsuur het die kallus opvallende morfologiese verskille getoon. By 20ug·ℓ⁻¹ was die kallusweefsel ferm van tekstuur en groen van kleur met bruin punte, terwyl dit by 200ug·ℓ⁻¹ ook ferm, maar wit tot liggroen van kleur was en verbruining van die punte van die weefselblokkies het nog steeds voorgekom. Hierteenoor het die kallus op 'n medium met 2000ug·ℓ⁻¹ α-naftaleenasynsuur 'n gesonde wit voorkoms gehad, maar as losgerangskikte selle voorgekom. In die roetine toepassing van hierdie biotoets-tegniek is gevolglik 200ug·ℓ⁻¹ α-naftaleenasynsuur tot die voedingsmedium bygevoeg.

Alhoewel kinetien 'n effens laer aktiwiteit as zeatienribosied in die sojaboonkallus-biotoets toon (Davey, 1978) is kinetien in hierdie ondersoek as standaard gebruik omdat dit geredelik verkrygbaar was, maklik was om mee te werk en goed herhaalbare resultate gelewer het. In Figuur 18 word 'n kinetienstandaardkromme aange-
toon.

4.3 Biotoetsresultate op Sultana verbou onder beheerde toestande

In plante kom hoofsaaklik drie tipes sitokiniene voor wat met etanol geëkstraheer en deur papierchromatografie effektief van mekaar geskei kan word. Hierdie tipes en hulle aktiwiteitsgebiede, soos deur middel van ko-chromatografering vasgestel, is die volgende:

- a) Sitokinien-basisse (aktiewe vorm) - R_f 0,5 tot 0,7 - byvoorbeeld zeatien en isopenteniëladien (Laloue *et al.*, 1981).
- b) Sitokinien-nukleotiede en -glukosiede (onaktiewe opbergingsvorm) - R_f 0,1 tot 0,3 - byvoorbeeld zeatienribosied-5'-fos-

faat (Letham, 1978).

- c) Sitokinien-nukleosiede (vervoervorm) - R_f 0,6 tot 0,8 - byvoorbeeld zeatienribosied en isopentenielenadenosien (Chen, 1981).

Die sitokinien-nukleotiede is net so aktief om groei te stimuleer as die sitokinien-basisse omdat laasgenoemde na ca. 24 uur na eersgenoemde omvorm word (Laloue *et al.*, 1981). Laasgenoemde twee tipes sal daarom vir die doel van hierdie bespreking as dieselfde sitokinientipe beskou word.

4.3.1 Sitokinienaktiwiteit in die wortels

Wortels is 'n belangrike bron van sitokinienvoorsiening aan die bogrondse dele van die plant, en die wortelpunte is die primêre gebied van sitokiniensintese (Henson & Wareing, 1976). Die resultate wat deur middel van die sojaboonkallus-biottoets verkry is, word grafies in Figuur 19 voorgestel. Omdat kinetien by die daarstelling van die standaardkromme gebruik is, sal sitokinienaktiwiteit as kinetienekwivalente (KE) uitgedruk word. Die gegewens toon duidelik dat daar in die wortels aanvanklik twee pieke of gebiede van sitokinienaktiwiteit voorgekom het. Hierdie pieke is geleë in die gebiede R_f 0,6 tot 0,8 (gebied 1) en R_f 0,1 tot 0,3 (gebied 2). Die hoogste aktiwiteit is in alle gevalle in gebied 1 aange-ton. Dit stem ooreen met bevindings deur Short & Torrey (1972) en Henson & Wareing (1976).

Een week na die aanvang van die onderskeie temperatuurbehandelings het in albei aktiwiteitsgebiede 'n hoë aktiwiteit voorgekom (Figuur 19A). Die hoogste sitokinienaktiwiteit ($269,7 \mu\text{g KE} \cdot 100\text{g}^{-1}$ vars materiaal) is by die 10°C behandeling waargeneem. Hierdie aktiwiteit was ca. 36 persent hoër as in wortels by die 30°C behandeling.

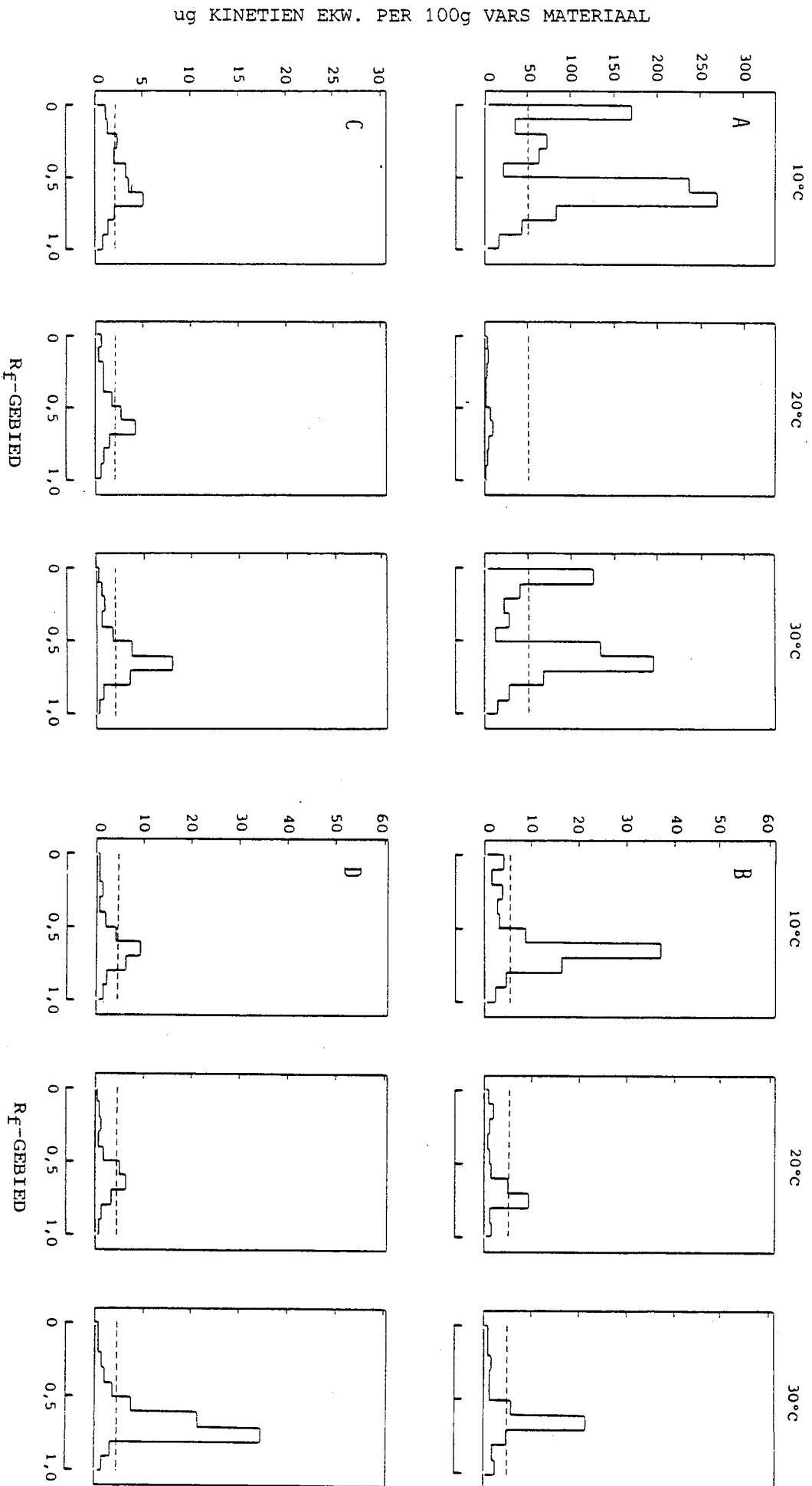


Fig. 19. Invloed van grondtemperatuur op sitokinienkonsentrasie in wortels van *V. vinifera* cv. Sultanina na een- (A), drie- (B), vyf- (C) en sewe weke (D) groeiperiode. Stippellyn = KBV (P = 0,05).

Geen aktiwiteit is in die wortels van stokkies by 'n grondtemperatuur van 20°C waargeneem nie omdat dit moontlik na onvolledige droging van die chromatogramme deur stremstofwerking oorskadu is. Die hoë aktiwiteit, veral ook in gebied 2, toon dat wortelaktiwiteit op hierdie stadium reeds voorgekom het. Omdat die plante klein was, met 'n klein blaaroppervlakte, kon meeste sitokiniene moontlik nie met die xileemsap vanaf die wortels weggevoer word nie en sou dit deur metabolisme na glukosied-sitokiniene vir opberging omgesit kon gewees het. Die aktiwiteit in die wortels het vinnig afgeneem om vyf weke na die aanvang van die temperatuurbehandelings 'n laagtepunt te bereik, waarna die aktiwiteit by die 30°C behandeling na sewe weke weer betekenisvol toegeneem het (Figuur 19D). Alhoewel wortels deur hulle eie metaboliese prosesse sitokiniene kan opgebruik, moet die bogenoemde betekenisvolle afname in aktiwiteit waarskynlik hoofsaaklik toegeskryf word aan 'n vinnige uitvoer na, en metaboliese verbruik deur die nuwe, ontwikkelende bogrondse dele. Die feit dat geen betekenisvolle aktiwiteit in gebied 2, wat 'n aanduiding van sitokiniënopberging is, voorgekom het nie ondersteun bogenoemde stelling. Hierdie tendens stem ook ooreen met bevindings deur Vollmer (1976).

Die gegewens in Figure 2B, 4B en Tabel 8 toon duidelik dat geen betekenisvolle lootlengte en wortelmassatoename onderskeidelik in die sewende tot negende week van die groeiperiode waargeneem is nie. 'n Lae sitokiniënaktiwiteit, soos in Figuur 19D vir die 10° en 20°C handelings aangetoon, sou dus op hierdie stadium in die wortels verwag word. 'n Moontlike verklaring vir die betekenisvolle toename (tot 34,1 µg KE·100g⁻¹ vars materiaal) in aktiwiteit by die 30°C behandeling, is dat sitokiniënsintese by

ug KINETIEN EKW. PER 100g VARS MATERIAAL

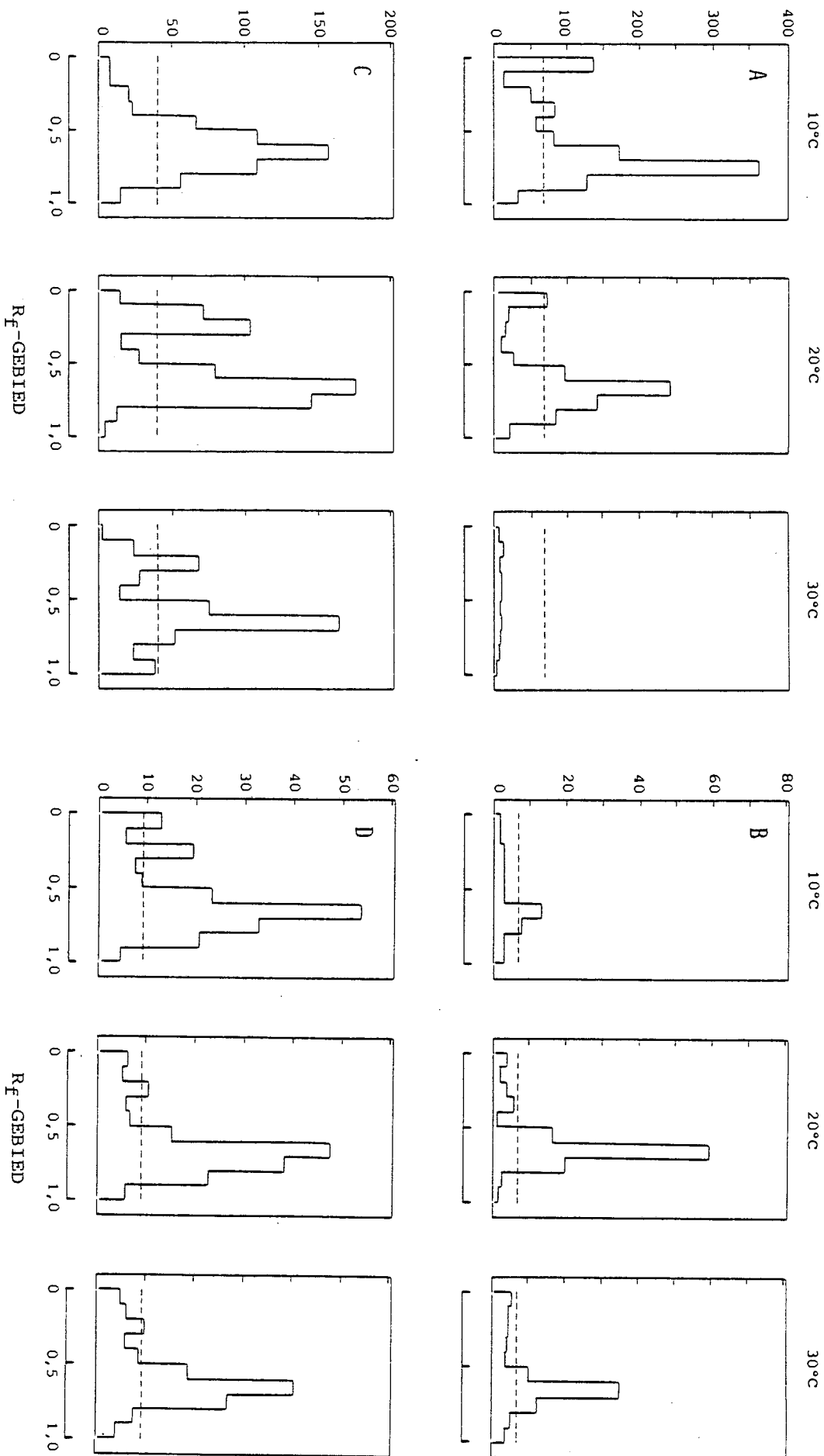


Fig. 20. Invloed van grondtemperatuur op sitokieniekonsentrasie in lote van *V. vinifera* cv. Sultana na een- (A), drie- (B), vyf- (C) en sewe weke (D) groeiperiode. Stippellyn = KBV ($P = 0,05$).

hierdie temperatuur nog steeds in die wortels plaasgevind het sonder enige geassosieerde loot- of wortelgroei.

4.3.2 Sitokinienaktiwiteit in die lote

Alle organe waarin aktiewe meristematische weefsels voorkom kan as sitokiniensintese-gebiede beskou word. Dit is algemeen bekend dat seldeling in die vaatkambium plaasvind, dus kan sitokinien-sintese wel in die lote voorkom (Vollmer, 1976). Die gegewens in Figuur 20 toon duidelik dat in die lote ook twee hoofaktiwiteitsgebiede aangetoon is. Die sitokinienaktiwiteit het met die verloop van die groeiperiode by al drie die temperatuurbehandelings 'n wisselende patroon vertoon. Na een en vyf weke is 'n hoë aktiwiteit waargeneem met hoogs betekenisvolle ($P = 0,01$) afnames na drie en sewe weke. Soos onder meer blyk uit die grafiese voorstelling in Figuur 20 kom sitokinienaktiwiteit in die lote, uitgesonderd na drie weke, ook in gebied 2 voor.

Die besonder hoë sitokinienaktiwiteit in die lote een week na die aanvang van die temperatuurbehandelings, is moeilik om te verklaar. Omdat die groeitempo van die bognondse plantdele, die blaaroppervlakte en moontlik ook die transpirasietempo, by die aanvang van die groeiperiode laag is, sal 'n lae sitokinienaktiwiteit in gebied 1 verwag word. Gewoonlik word sitokiniene vanaf die wortels deur middel van die xileemsap na die lote vervoer (Weiss & Vaadia, 1965) waar dit ophoop en dan later vir gebruik beskikbaar word. Gedurende die periodes wanneer die bydrae vanaf die wortels laag is, kan sitokiniene in die lote gesintetiseer word (Skene, 1972).

Die hoë sitokinienaktiwiteit in gebiede 1 en 2 by 10° en 20°C aan

die begin van die groeiperiode (Figuur 20A), kan verskillende moontlike verklarings voor gegee word. Omdat die sitokinienvoorsiening vanaf die wortels op hierdie tydstip laag was (paragraaf 4.3.1) kon sintese in die vaatkambium van die lote plaasgevind het. 'n Ander moontlike verklaring is dat, as gevolg van die lae lootgroeitempo (Tabel 8) en moontlike geassosieerde lae metaboliese aktiwiteit, 'n ophoping van sitokiniene in die lote kon plaasgevind het. Na 'n aanvanklik hoë sitokiniënaktiwiteit staan die afname in aktiwiteit na drie weke in noue verband met 'n moontlik hoë metaboliese afbraak en dus laer uitvoer deur die vinnig groeiende wortels (Figuur 4B), en met die toename in lootlengte en blaaroppervlakte per plant. Die afwesigheid van aktiwiteit in gebied 2 (Figuur 20B) is ondersteuning vir, en 'n aanduiding van aktiewe sitokiniënafbraak deur die groeiende bogrondse plantdele.

Die hoë sitokiniënaktiwiteit in die lote na vyf weke is 'n duidelike aanduiding dat die toevoer vanuit die wortels vinniger was as wat deur die groeifunksies verbruik kon word. Geen beduidende sintese in die lote word op hierdie tydstip verwag nie (Skene, 1972) en die aktiwiteit in gebied 2 kan deels toegeskryf word aan 'n vroeë veroudering van die lootweefsels (Van Staden, 1976). 'n Ander moontlikheid is dat die oormaat sitokiniën in die vervoervorm onder die invloed van die betrokke kombinasie van omgewingsfaktore gefosforileer is na die opbergingsvorm, en so minder aktief gemaak is (Van Staden, 1973). Die betekenisvolle afname in sitokiniënaktiwiteit in gebied 1 en 2 in die lote na sewe weke, kan beskou word as 'n weerspieëling van die hoë lootgroeï- en blaargroeïtempo's (Tabel 8) en gedeeltelik ook 'n swakker toevoer vanuit die wortels. Die waarneming by die 10°C behandeling dat aktiwiteit

ug KINETIEN EKW. PER 100g VARS MATERIAAL

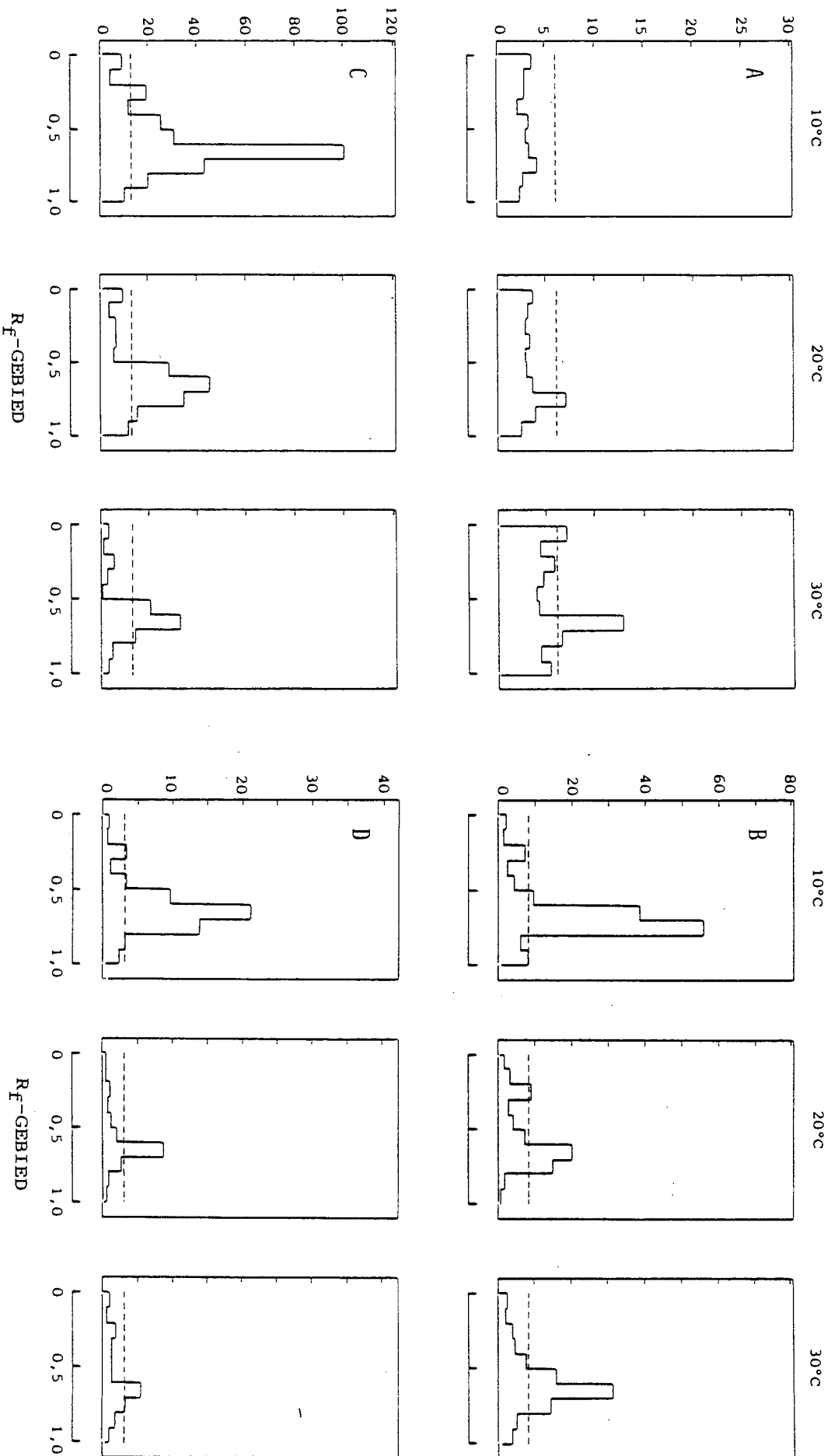


Fig. 21. Invloed van grondtemperatuur op sitokinienkonsentrasie in blare van *V. vinifera* cv. Sultana na een- (A), drie- (B), vyf- (C) en sewe weke (D) groeiperiode. Stippellyn = KBV (P = 0,05).

in gebied 2 eers weer na 'n sewe weke groeiperiode voorgekom het, is 'n duidelike aanduiding daarvan dat, ondanks die voorafgaande lae relatiewe loot- en blaargroei tempo's, geen sitokinien vroeër in oormaat aanwesig was nie. Dit is moontlik ook 'n weerspieëling van 'n oor die algemeen lae wortelaktiwiteit by bogenoemde grondtemperatuur.

4.3.3 Sitokinienaktiwiteit in die blare

Die gegewens in Figuur 21 toon duidelik dat sitokinienaktiwiteit hoofsaaklik in gebied 1 voorgekom het. Die algemene patroon wat die sitokinienaktiwiteit in die blare gevolg het was om vanaf 'n lae aktiwiteit by die aanvang van die temperatuurbehandelings, geleidelik toe te neem tot 'n maksimum na 'n vyf weke groeiperiode, waarna dit hoogs betekenisvol ($P = 0,01$) afneem tot na 'n sewe weke groeiperiode. Bogenoemde toename vind plaas sodra daar voldoende blare aanwesig is om 'n sterk xileemsapvloei en dus sitokinienbeweging moontlik te maak (Figuur 6B). Dit stem ooreen met bevindings deur Vollmer (1976).

Verbindings soos zeatien en zeatienribosied (gebied 1) is al in blare aangetoon en kan ook deur blare gemetaboliseer word (Davey, 1978). Die sitokinieninhoud van die xileemsap, en dus ook deels van die lote, het 'n direkte invloed op die sitokinieninhoud van die blare. Wanneer loot- en blaargroei tot stilstand kom word hierdie sitokiniene binne-in die blare na sitokiniene-glukosiede omgeskakel vir opberging (Engelbrecht, 1971).

Die lae sitokinienaktiwiteit wat een week na die aanvang van die behandelings in die blare aangetoon is, hang saam met die relatief

klein blaaroppervlakte (Figuur 8) en dus moontlik ook lae tempo van xileemsapvervoer. Soos onder meer uit die grafiese voorstelling in Figuur 20A blyk, het die metaboliese omsetting van sitokiniene na 'n opberginsvorm in die lote op hierdie stadium aktief verloop en is min sitokiniene dus na die blare deurgevoer. Die gegewens in Figuur 21 toon duidelik dat die sitokinientoevoer na, en lokale sintese in die blare, na vyf weke die hoogste was. Die benutting van die sitokiniene deur die blare by die 10°C behandeling is waarskynlik heelwat laer as by die 20° en 30°C handelings, wat moontlik die oorsaak kan wees vir die ophoping van die sitokiniene en die omsetting daarvan na 'n onaktiewe opbergingsvorm (Figuur 21C). Die betekenisvolle afname in sitokiniënaktiwiteit na 'n sewe weke groeiperiode moet aan 'n verdunningseffek deur die groter blaaroppervlakte (Figuur 8B) en moontlik 'n afname in voorsiening vanaf die wortels, toegeskryf word.

Dit is opvallend dat die sitokiniënaktiwiteit in die blare by die 10°C behandeling deurgaans die hoogste is, buiten na 'n een week se groei (Figuur 21). In hierdie gevalle is die sitokiniën prikkel vir groei wel aanwesig, maar eksogene en endogene faktore soos byvoorbeeld water, anorganiese- en organiese voedingstofvoorsiening vanaf die wortels en die beperkte blaaroppervlakte per plant, werk waarskynlik stremmend op die groeireaksies in (Zelleke, 1977).

4.4 Biotoetsresultate op volwasse plante verbou onder veldtoestande

Die resultate vir die ontleding van organe vanaf goedgevestigde wingerde op die landbounavorsingstasie te Upington, word in Figuur 22 aangetoon. Hierdie gegewens toon duidelik dat sitokiniënaktiwiteit in die xileemsap, jong somerlote en blomtrosse, in albei

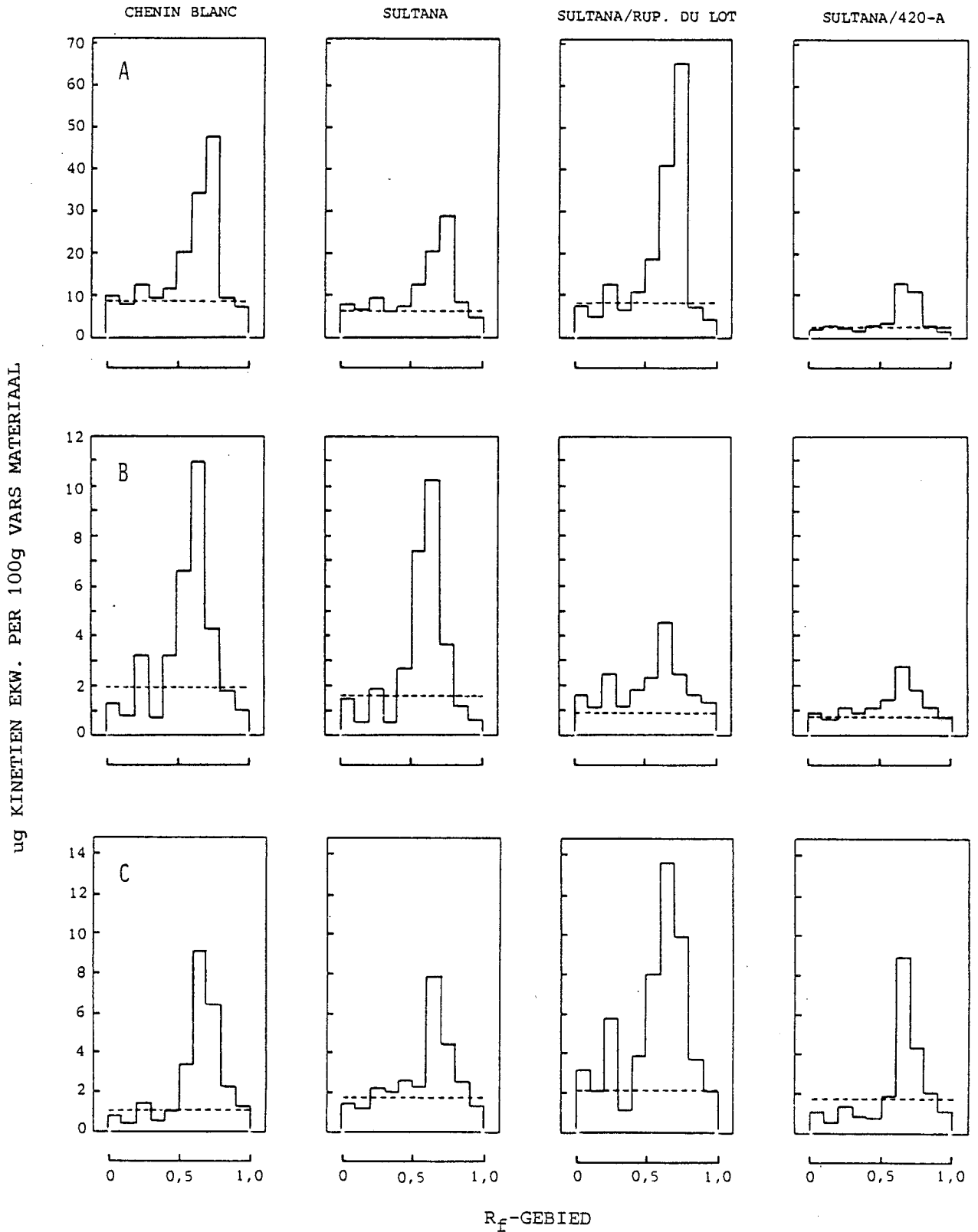


Fig. 22. Invloed van cultivar op sitokinienkonsentrasie in xileemsap (A), jong somerlote (B) en blomtrosse (C) van *Vitis*. Stippellyn = KBV (P = 0,05).

gebiede van die R_f -spektrum voorgekom het, met 'n hoogs betekenisvol ($P = 0,01$) hoër aktiwiteit in gebied 1.

4.4.1 Sitokiniënaktiwiteit in die xileemeksudaat

Dit is bekend dat sitokiniene in die xileemsap van wingerdstokke voorkom (Skene & Kerridge, 1967), asook hoe die sitokiniënaktiwiteit gedurende die verloop van die bloeiperiode verander (Vollmer, 1976). Alleweldt het in 1965 reeds aangetoon dat die aanvang van die bloeiperiode en die bloei-intensiteit oorwegend deur die grondtemperatuur bepaal word. Skene & Antcliff (1972) het die opvallende verskille in vegetatiewe groei en oesopbrengs van Sultana geënt op 1613 en Salt Creek (Ramsey), gekoppel aan die variërende vermoëns van die wortels om óf sitokiniene te produseer óf dit na die bgrondse dele van die plant te vervoer.

In die xileemsap van Chenin blanc-makstokke (nie onderhewig aan die groeistilstandverskynsel nie), is 'n sitokiniënaktiwiteit van $47,4 \mu\text{g KE} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ sap aangetoon wat hoogsbetekenisvol ($P = 0,01$) hoër was as in die xileemsap van Sultana makstokke ($28,8 \mu\text{g KE} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ sap). By Sultana geënt op die sterk groeiende onderstok *Rupestris du Lot*, het die hoogste aktiwiteit, nl. $64,5 \mu\text{g KE} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ sap voorgekom teenoor die relatief lae aktiwiteit van $12,4 \mu\text{g KE} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ sap by Sultana geënt op die groeistilstand-induserende onderstok 420-A (Figuur 22A). Die hoogste aktiwiteit in gebied 2 is by Chenin blanc en Sultana geënt op *Rupestris du Lot* aangetoon.

Die feit dat 'n betekenisvol hoër sitokiniënaktiwiteit in die xileemsap van Chenin blanc as dié van Sultana aangedui is, is baie insiggewend. Hierdie resultaat ondersteun die hipotese dat die groei-

stilstandverskynsel deur 'n onvoldoende voorsiening van sitokiniene deur Sultana-makstokke se wortels aan die bogrondse plantdele, veroorsaak mag word. Chenin blanc en Sultana/Rupestris du Lot is nie onderhewig aan die groeistilstandverskynsel nie, terwyl Sultana en Sultana/420-A gevoelig daarteenoor is. Die betekenisvol hoër sitokiniënaktiwiteit in die xileemsap van Sultana/Rupestris du Lot teenoor Sultana/420-A, rugsteun dus ook die hipotese.

4.4.2 Sitokiniënaktiwiteit in jong somerlote

Die gegewens in Figuur 22B toon duidelik dat die hoogste sitokiniënaktiwiteit by die makstokke en dan wel by Chenin blanc ($11,0 \mu\text{g KE} \cdot 100\text{ml}^{-1}$ sap) voorkom, met 'n effens laer -aktiwiteit by Sultana. Die sitokiniënaktiwiteit by Sultana/Rupestris du Lot ($4,4 \mu\text{g KE} \cdot 100\text{ml}^{-1}$ sap) was betekenisvol laer ($P = 0,05$) as by die Sultana. Aktiwiteit in gebied 2 was hier, net soos in die geval van die xileemsap, by Chenin blanc en Sultana/Rupestris du Lot die hoogste.

Knoppe van die Sultana/Rupestris du Lot- en Sultana/420-A-stokke het in 1979 effe vroeër (3 tot 4 dae) uitgebot as dié op Chenin blanc en Sultana. Die betekenisvol hoër sitokiniënaktiwiteit in die blomtrosse as in die jong somerlote van Sultana/Rupestris du Lot en Sultana/420-A in vergelyking met Chenin blanc en Sultana, kan moontlik aan die verskil in bottye toegeskryf word. Die rede hiervoor is dat by stokke wat vroeër bot, blomtrosontwikkeling op die monsternemingsdag reeds effe verder gevorder het as by die stokke wat later bot.

4.4.3 Sitokiniënaktiwiteit in die blomtrosse

Uit die gegewens in Figuur 22C blyk duidelik dat by die blomtrosse

dieselfde tendens as by die jong somerlote voorgekom het. Die sitokininaktiwiteit in gebied 1 het geneig om die hoogste by Chenin blanc en Sultana/Rupestris du Lot te wees. Die -aktiwiteit in die blomtrosse van die geënte Sultana-stokke was ook hoër as in dié van die makstokke.

Dit kan aanvaar word dat die relatief hoë sitokininaktiwiteit in die blomtrosse van die wortels afkomstig was (Vollmer, 1976). Hieruit wil dit dus voorkom asof daar geen blokkering bestaan in die vervoermeganisme vir sitokiniene vanaf die ondergrondse na die bopgrondse dele van enige van hierdie stokke nie.

Die swak uitbot, lootgroei en korrelset by groeistilstandverskynselgevoelige Sultana en Sultana/420-A-stokke, kan moontlik met hierdie stokke se swak vermoë tot sitokiniensintese en xileemsapproduksie verband hou. Sterk ondersteuning vir laasgenoemde word met die verskille in sitokininaktiwiteit in die xileemsap van die vier kultivars en/of entingskombinasies verleen. Dit is dan ook moontlik dat 'n minimale peil van sitokininaktiwiteit net na bot in die xileemsap nodig is om normale groeifunksies in die wingerdstok te onderhou.

HOOFSTUK 5

GEVOLGTREKKINGS EN AANBEVELINGS

Die omvang van huidige kennis rakende die invloed van grondtemperatuur op algemene plantgroei onder plaaslike omstandighede, is nog baie beperk. Uit hierdie studie blyk dat verskillende wingerdcultivars onder laboratoriumtoestande verskillend op grondtemperatuur reageer. Die twee bostokcultivars, Chenin blanc en Sultana, wat by 'n grondtemperatuur van 10°C gekweek is, het oor die duur van die groeiperiode 20 persent en meer lootgroei as die ondersoekte onderstokcultivars getoon. Hierdie groeiverskille dui moontlik deels daarop dat *V. vinifera* op eie wortels beter by laer temperature as *V. rupestris* en 420-A Mgt (*V. berlandieri* x *V. riparia*) aangepas is.

Die plante van al vier cultivars het oor die algemeen by 10°C die swakste, en by 30°C die beste presteer ten opsigte van meeste van die gemete eienskappe. By *Rupestris* du Lot het 'n gebrek aan 'n betekenisvolle effek op loot- en blaargroei, by 'n toename in grondtemperatuur vanaf 20°C tot 30°C voorgekom. Dit dui daarop dat laasgenoemde cultivar moontlik natuurlik by koeler toestande óf oor 'n klein temperatuurgebied aangepas mag wees. Omdat *Rupestris* du Lot by 'n relatiewe lae grondtemperatuur (20°C) bykans optimum lootgroei induseer, is dit waarskynlik 'n goeie onderstokkeuse vir gronde waarin bogenoemde relatiewe lae temperatuur algemeen voorkom.

'n Wetenskaplik-ondersteunde aanbeveling dat 'n betrokke cultivar óf in die koeler alluviale grond óf in die warmer buitegrond aange-

plant kan word, sal egter eers met sekerheid gemaak kan word nadat 'n breër veldondersoek deurgevoer is waarin stokprestasie en sitokinienaktiwiteit met grondtemperatuur gekorreleer is. Intensiewe worteltemperatuurstudies kan moontlik meer lig werp op die rede waarom sekere onderstokcultivars goed aard in een area maar swak in 'n ander. Om grondtemperatuur op worteldiepte doeltreffend te verhoog, is 'n praktiese probleem. Swart plastiekstroke kan ongeveer vier weke voor bot in die wingerdrye geplaas word. Plastiek is egter baie duur en dit sal eers eksperimenteel verder uitgetoets moet word.

In teenstelling met die onderstokke is ca. 30°C die beste grondtemperatuur vir lootlengte en -massatoename by Chenin blanc en Sultana. Sultana- en Constantia Metallica-stokke was nie in staat om nuwe groei by 20°C vir langer as sewe weke te onderhou nie. Bogenoemde mag moontlik verband hou met die twee cultivars se gevoeligheid vir die groeistilstandverskynsel.

Hierdie ondersoek het getoon dat 'n noue verband tussen wortelmasse en lootgroei bestaan. By 'n toename in grondtemperatuur is 'n sekere persentasie toename in wortelmasse waargeneem. Bogenoemde persentasie toename het met 'n nog groter lootlengte en -massa gepaard gegaan. Dit stem ooreen met bevindings deur Kliewer (1975). Tussen wortel- en lootgroei is 'n verskuifde korrelasie waargeneem wat ooreenstem met die algemene opvatting dat sterk lootgroei eers 'n aanvang neem nadat aktiewe wortelgroei tot stilstand gekom het. Uit die ondersoek blyk ook dat, met die uitsondering van Rupestris du Lot, die hoogste toename in wortelmasse by 20°C voorgekom het, met geen betekenisvolle toe- of afname by 'n temperatuurverhoging

na 30°C nie.

Die meting van die totale blaaroppervlakte per plant het getoon dat die plante oor tyd nie gekompenseer het deur meer maar kleiner blare te vorm nie. Die groter hoeveelheid vars materiaal wat by 30°C per stok voorgekom het, dui daarop dat die balans tussen fotosintese en respirasie by die hoër temperatuur gunstiger vir massa-akkumulاسie is.

Die direkte invloed wat grondtemperatuur op sitokiniënproduksie het, is gekompliseerd en die huidige resultate kan nie 'n absolute uitsluitel daaroor gee nie. Op grond van die aanname dat plant-organe met 'n hoë sitokiniënaktiwiteit sintesegebiede is (Vollmer, 1976), het hierdie ondersoek bevestig dat wingerdwortels 'n belangrike bron van sitokiniene is en dat dit hoofsaaklik deur die xileemsap na die bogrondse dele van die stok vervoer word.

'n Grondtemperatuur van 10°C het ongetwyfeld 'n beperkende invloed op sitokiniënsintese en veral die vervoer daarvan na bogrondse plantdele. Dit het geblyk dat indien sitokiniënsintese wel by 10°C voorkom, maar die uitvoer daarvan beperk word, daar 'n hoë aktiwiteit in die opbergingsvorm van sitokiniën voorkom.

Data oor die sitokiniënaktiwiteit in die lote toon dat sitokiniene nie net as 'n ko-faktor nodig is by bogrondse groei nie, maar dat dit ook gemetaboliseer word tydens groei. Die aan- of afwesigheid van sitokiniene in die blare van plante wat in die glashuis gekweek is, hou verband met die aktiwiteit wat in die lote voorkom en met blaargroei tempo. So byvoorbeeld het die afname in sito-

kinienaktiwiteit in die blare na sewe weke saamhang met 'n afname in aktiwiteit in die lote en 'n moontlike verdunningseffek in die groter-wordende blaaroppervlakte.

Die data oor aktiwiteit in die blomtrosse van gevestigde stokke toon dat daar geen blokkering in die vervoermeganisme van sitokiniene vanaf die wortels na die bognondse dele van enige van die ondersoekte stokke bestaan nie. Die waarneming dat betekenisvol hoër sitokiniënaktiwiteit in die xileemsap van Chenin blanc en Sultana/Rupestris du Lot, as van Sultana en Sultana/420-A aangetoon is, rugsteun die hipotese wat oor die groeistilstandverskynsel in die inleidende hoofstuk gemaak is.

Daar bestaan waarskynlik 'n kritiese peil van sitokiniënaktiwiteit waaronder probleme met betrekking tot uitbot, die onderhou van lootgroei en die set van korrels voorkom. 'n Sitokiniënaktiwiteitsmodel behoort vir gesonde stokke daargestel te word waarteen die aktiwiteit in aangetaste stokke vergelyk kan word.

Uit die voorafgaande bespreking is dit duidelik dat die ontleding vir sitokiniene 'n besliste bydrae tot die soeke na 'n oorsaak vir die groeistilstandverskynsel maak. Laasgenoemde is nog steeds 'n groot probleem vir die Sultanaprodusente in die Laer-Oranjeriviergebied en verdere doelgerigte navorsing op hierdie gebied is vir die droogdruwebedryf van die allergrootste belang.

'n Omvattende onderwerp is slegs aangeraak en verdere navorsing kan nuwe feite aan die lig bring wat lig kan werp op verskeie aspekte.

Moontlike riglyne vir toekomstige navorsing:

1. Om groter sekerheid te kry oor die verband tussen sitokinien-aktiwiteit en die groeistilstandverskynsel, moet huilsapmonsters in die periode van vier weke voor en tot en met bot geneem en ontleed word vir 'n hele aantal stokke wat vermoedelik verskillende grade van die verskynsel sal toon.
2. Die huilsapmonster behoort ook vir gibberelliene ontleed te word omdat hierdie hormoon ook in die wortels geproduseer word en 'n belangrike rol by die stimulering van lootgroei speel.
3. Hierdie ontledings moet jaarliks, vir 'n aantal seisoene, op dieselfde stokke deurgevoer word om te kan vasstel hoe die sitokinienaktiwiteit tussen seisoene varieer en om ook 'n korrelasie tussen die verskynsel en sitokinienaktiwiteit oor 'n aantal seisoene daar te stel.
4. Verskillende onderstokcultivars en entingskombinasies kan gemonster en ontleed word vir sitokinien en gibberelliene om die invloed van onderstokke op die hormoonvoorsiening aan die bostok vas te stel.
5. In veldproewe moet die grondtemperatuur en voginhoud in die wortelzone van die stokke gemeet word omdat hierdie twee faktore huilsapvorming grootliks kan beïnvloed.
6. Die volume vrye sapvloei oor 'n bepaalde monsternemingstyd moet gemeet word omdat dit saam met die sitokinienkonsentrasie 'n rol mag speel in die hoeveelheid sitokiniene wat die knoppe en die jong, ontwikkelende somerlote bereik.
7. Vanweë die noue verband wat tussen sitokinienaktiwiteit en korrelset bestaan, kan die trosse van aangetaste stokke net na volblom met sitokinien behandel word, of kan sitokinien onder druk in die stam toegedien word.

HOOFSUK 6

OPSOMMING

1. Die invloed van grondtemperatuur op die groei en sitokiniën-metabolisme by wingerd, en die moontlike verband wat dit met die groeistilstandverskynsel mag hê, is ondersoek.
2. As proefmateriaal is, in die gedeelte van die eksperiment onder beheerde toestande, van eenjarige, gewortelde een-oog steggies van die cultivars Chenin blanc, Sultana, Rupestris du Lot en Constantia Metallica gebruik gemaak. In die gedeelte van die eksperiment onder veldtoestande is van elf-jaar oue stokke van Sultana, Chenin blanc en Sultana geënt op die onderstok-cultivars Rupestris du Lot en 420-A Mgt gebruik gemaak.
3. Toetse vir die kwantitatiewe bepaling van sitokiniene is ondersoek. Die beste resultate is met die sojaboonkallus-biotoets verkry.
4. Die meting van plantgroei het getoon dat verskillende wingerd-cultivars onder laboratoriumtoestande verskillend op grondtemperatuur reageer.
5. Plante van al vier cultivars het oor die algemeen die swakste by 'n grondtemperatuur van 10°C en die beste by 30°C presteer.
6. Sultana- en Constantia Metallica-stokke was, in teenstelling met die ander twee ondersoekte cultivars, nie in staat om nuwe lootgroei vir langer as sewe weke by 'n grondtemperatuur van 20°C te onderhou nie.

7. Hierdie ondersoek het bevestig dat wingerdwortels 'n belangrike bron van sitokiniene vir die bopgrondse dele van die plant is.
8. 'n Grondtemperatuur van 10°C het 'n beperkende invloed op sitokiniensintese en die vervoer daarvan na bopgrondse dele van die plant.
9. Data oor die sitokiniënaktiwiteit in die blomtrosse van gevestigde stokke het getoon dat daar geen blokkering van die vervoermeganisme van sitokiniene vanaf die wortels na die bopgrondse dele van enige van die ondersoekte stokke, bestaan nie.
10. Betekenisvol hoër sitokiniënaktiwiteit is in die xileemsap van Chenin blanc en Sultana/Rupestris du Lot, as van Sultana en Sultana/420-A Mgt aangetoon.
11. Die resultate wat met hierdie studie verkry is, is onvoldoende om absolute uitsluiting oor die oorsake van die groei-standverskynsel te gee.

LITERATUURVERWYSINGS

- ALEXANDER, D.M.E. & WOODHAM, R.C., 1963. The propagation of Sultana vines which bear fruit in their first year. *J. Hort. Sci.* 38, 307-309.
- ALEXANDER, D.M.E., 1965. The effect of high temperature regimes or short periods of water stress on development of small fruiting Sultana vines. *Austr. J. Agric. Res.* 16, 817-823.
- ALLEWELDT, G., DURING, H. & WAITZ, G., 1975. Untersuchungen zum Mechanismus der Zuckereinlagerung in die wachsenden Weinbeeren. *Angew. Botanik* 49, 65-73.
- ANDONOVA, T.A. & LILOV, D.T., 1975. Changes of the endogenous cytokinins in the roots of vines during the vegetation cycle. *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* 28, 395-398-
- ANDONOVA, T.A., LILOV, D.T. & KOTSEVA, E.I., 1980. Changes of bound cytokinins in shoots and leaves of vine plants differing in growth. *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* 30, 249-254.
- ARMSTRONG, D.J., BURROWS, W.J., EVANS, P.K. & SKOOG, F., 1969. Isolation of cytokinins from tRNA. *Biochim. Biophys. Acta* 37, 451.
- ATKIN, R.K., BARTON, G.E. & ROBINSON, D.K., 1973. Effect of root-growing temperature on growth substances in xylem exudate of *Zea mays*. *J. Exp. Bot.* 24, 475-487.
- BARNARD, C., 1932. The root system of Sultana. *C.S.I.R.O. Journal* 5, 89-93.
- BARNES, M.F., TIEN, C.L. & GRAY, J.S., 1980. Biosynthesis of cytokinins by potato cell cultures. *Phytochemistry* 10, 409-412.
- BARR, W. & PELLETT, H., 1972. Effect of soil temperature on growth and development of some woody plants. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 97, 632-635.
- BATJER, L.P., MAGNESS, J.R. & REGEIMBAL, L.O., 1940. The effect of root temperature on growth and nitrogen intake of apple trees. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 86, 41-45.

- BEN-ZIONI, A., ITAI, C. & VAADIA, Y., 1967. Water and salt stress, kinetin and protein synthesis in tobacco leaves. *Plant Physiol.* 42, 361-365.
- BIDDINGTON, N.L. & THOMAS, T.H., 1973. A modified *Amaranthus* betacyanin bioassay for rapid determination of cytokinins in plant extracts. *Planta* 111, 183-186.
- BLACK, K.M. & OSBORNE, D.J., 1965. Polarity of transport of benzyladenine, adenine and indole-3-acetic acid in petiole segments of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol.* 40, 676-680.
- BOTTOMLEY, W., KEFFORD, N.P., ZWAR, J.A. & GOLDACRE, P.L., 1963. Kinin activity from plant extracts. I. Biological assay and sources of activity. *Aust. J. Biol. Sci.* 16, 395-406.
- BOWEN, M.R. & HOAD, G.V., 1968. Inhibitor content of phloem and xylem sap obtained from willow (*Salix viminalis* L.) entering dormancy. *Planta* 81, 64-70.
- BRAR, S.S., DHALIWAL, G.S. & DHILLON, B.S., 1980. Response of gibberellic acid and kinetin applied at the prebloom and berry-set stages on grape cv. Perlette. *J. Res., India* 17, 135-139. (Abstr.: *Hort. Abstr.* 52, 704, 1982).
- BRUESKE, C.H. & BERGESON, G.B., 1972. Investigation of growth hormones in xylem exudate and root tissue of tomato infected with rootknot nematode. *J. Exp. Bot.* 23, 14-22.
- BURROWS, W.J., 1976. Mode of action of N,N'-diphenylurea: The isolation and identification of the cytokinins in the transfer RNA from tobacco callus grown in the presence of N,N'-diphenylurea. *Planta* 130, 313-316.
- BURROWS, W.J., 1978. Evidence in support of biosynthesis de novo of free cytokinins. *Planta* 138, 53-57.
- BURROWS, W.J. & CARR, D.J., 1969. Effect of flooding the root system of sunflower plants on the cytokinin content in the xylem sap. *Physiol. Plant.* 22, 1105-1112.
- BUTTROSE, M.S., 1969. Vegetative growth of grapevine varieties under controlled temperature and light intensity. *Vitis* 8, 280-285.

- BUTTROSE, M.S., 1970. Fruitfulness in grapevines: development of leaf primordia in buds in relation to bud fruitfulness. *Bot. Gaz.* 131, 78-83.
- BUTTROSE, M.S., HALE, C.R. & KLIEWER, W.M., 1971. Effect of temperature on the composition of 'Cabernet Sauvignon' berries. *Am. J. Enol. Vitic.* 22, 71-75.
- BUTTROSE, M.S. & HALE, C.R., 1973. Effect of temperature on development of the grapevine inflorescence after bud burst. *Am. J. Enol. Vitic.* 24, 14-16.
- CARLSON, R.F., 1965. Responses of Malling Merton clones and Delicious seedlings to different root temperatures. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 86, 41-45.
- CARNES, M.G., BRENNER, M.L. & ANDERSON, C.R., 1975. Comparison of reversed-phase high-pressure liquid chromatography with Sephadex LH-20 for cytokinin analysis of tomato root pressure exudate. *J. Chromatogr.* 108, 95-106.
- CARR, D.J. & BURROWS, W.J., 1966. Evidence of the presence in xylem sap of substances with kinetin-like activity. *Life Sci.* 5, 2061-2077.
- CARR, D.J. & REID, D.M., 1968. The physiological significance of the synthesis of hormones in roots and of their export to the shoot system. In: *Biochemistry and physiology of plant growth substances*, 1169-1185. Eds. F. Wightman & G. Setterfield. Runge Press, Ottawa.
- CHACKO, F.K., SAIDHA, T., SWAMY, R.D., REDDY, Y.N. & KOHLI, R.R., 1976. Studies on the cytokinins in fruits. 1. Occurrence and levels of cytokinin-like substances in grape berries at different developmental stages. *Vitis* 15, 221-226.
- CHAPMAN, R.W., MORRIS, R.O. & ZAER, J.B., 1976. Occurrence of trans-ribosyl-zeatin in *Agrobacterium tumefaciens* t-RNA. *Nature* 262, 153-154.
- CHEN, C.-M., 1981. Biosynthesis and enzymic regulation of the interconversion of cytokinins. In: *Metabolism and molecular activities of cytokinins*, 34-43. Eds. J. Guern & C. Péaud-Lenoël. Springer-Verlag, Berlin.
- CHEN, C.-M. & PETSCHOW, B., 1978a. Cytokinin biosynthesis in cultured rootless tobacco plants. *Plant Physiol.* 62, 861-865.

- CHEN, C.-M. & PETSCHOW, B., 1978b. Ribosylation of cytokinin base by adenosine phosphorilase from wheat germ. *Plant Physiol.* 62, 871-874.
- CHEN, C.-M. & KRISTOPEIT, S.M., 1981. Metabolism of cytokinin: Deribosylation of cytokinin ribonucleoside by adenosine nucleosidase from wheat germ. *Plant Physiol.* 68, 1020-1023.
- COOPER, A.J., 1973. Root temperature and plant growth. Research review no. 4. Commonwealth Bureau of Horticulture and Plantation Crops, East Malling, Maidstone, Kent.
- COX, L.M. & BOERSMA, L., 1967. Transpiration as a function of soil temperature and soil water stress. *Plant Physiol.* 42, 550-555.
- CRAFTS, C.B. & MILLER, C.O., 1974. Detection and identification of cytokinins produced by mycorrhizal fungi. *Plant Physiol.* 54, 586-588.
- CRANE, J.C. & VAN OVERBEEK, J., 1965. Kinetin induced parthenocarpy in the fig, *Ficus carica* L. *Science* 147, 1468-1469.
- CROSBY, K.E., AUNG, L.H. & BUSS, G.R., 1981. Influence of 6-benzylamino-purine on fruit-set and seed development in two soybean, *Glycine max*(L.) Merr. genotypes. *Plant Physiol.* 68, 985-988.
- DAUPHIN, B., TELLER, E. & DURAND, B., 1977. A new method for the purification, characterization and measurement of endogenous cytokinins extracted from *Mercurialis annua* shoots. *Physiol. Veg.* 15, 747-762.
- DAVEY, J.E., 1978. Cytokinin in *Lupinus albus*. Ph.D. Thesis, Univ. of Natal, Pietermaritzburg.
- DAVEY, J.E. & VAN STADEN, J., 1978a. Cytokinin activity in *Lupinus albus*. I. Distribution in vegetative and flowering plants. *Physiol. Plant.* 43, 77-81.
- DAVEY, J.E. & VAN STADEN, J., 1978b. Cytokinin activity in *Lupinus albus*. II. Distribution in fruiting plants. *Physiol. Plant.* 43, 82-86.
- DAVEY, J.E. & VAN STADEN, J., 1978c. Cytokinin activity in *Lupinus albus*. III. Distribution in fruits. *Physiol. Plant.* 43, 87-93.
- DEKHUIJZEN, H.M. & GEVERS, E.C.T., 1975. The recovery of cytokinins during extraction and purification of clubroot tissue. *Physiol. Plant.* 35, 297-302.

- DIMALLA, G.G., VAN STADEN, J. & SMITH, A.R., 1977. A comparison of the endogenous hormone levels in stolons and sprouts of the potato *Solanum tuberosum*. *Physiol. Plant.* 41, 167-171.
- DOMANSKI, R. & KOZLOWSKI, T.T., 1968. Variations in kinetin-like activity in buds of *Betula* and *Populus* during release from dormancy. *Can. J. Bot.* 46, 397-403.
- DOREE, M. & TERRINE, C., 1973. Enzymatic synthesis of ribonucleoside-5'-phosphates from some N⁶-substituted adenosines. *Phytochemistry* 12, 1017-1023.
- DÜRING, H. & ALLEWELDT, G., 1974. Abscisinsäureuntersuchungen in Blättern, Sprossachsen und Beeren von Reben. *Wein-Wiss.* 29, 315-322.
- EL-BELTAGY, A-S., HEWETT, E.W. & HALL, M.A., 1976. Effect of ethephon (2-chloroethyl phosphonic acid) on endogenous levels of auxins, inhibitors and cytokinins in relation to senescence and abscission in *Vicia faba* L. *J. Hort. Sci.* 51, 451-465.
- ENGELBRECHT, L., 1971. Cytokinins in buds and leaves during growth, maturity and aging (with a comparison of two bio-assays). *Biochem. Physiol. Pflanzen* 162, 547-558.
- ENGELBRECHT, L., 1972. Cytokinins in leaf-cuttings of *Phaseolus vulgaris* L. during their development. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 163, 335-343.
- EPSTEIN, E., 1972. Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. John Wiley & Sons, Inc., N.Y.
- ESASHI, Y. & LEOPOLD, A.C., 1969. Cotyledon expansion as a bioassay for cytokinins. *Plant Physiol.* 44, 618-620.
- FELDMAN, L.J., 1975. Cytokinins and quiescent centre activity in roots of *Zea mays*. In: *The development and function of roots*, 55-72. Eds. J.G. Torrey & D.T. Clarkson. Academic Press, London.
- FLETCHER, R.A. & McCULLAGH, D., 1971. Cytokinin induced chlorophyll formation in cucumber cotyledons. *Planta* 101, 89-90.
- FOX, J.E., 1966. Incorporation of a kinin N⁶-benzyl-adenine into soluble RNA. *Plant Physiol.* 41, 75-82.
- FOX, J.E., 1969. The cytokinins. In: *Physiology of plant growth and development*, 85-123. Ed. M.B. Wilkins. McGraw-Hill, London.

- GAZIT, S. & BLUMENFELD, A., 1970. Cytokinin and inhibitor activities in the avocado fruit mesocarp. *Plant Physiol.* 46, 334-336.
- GORDON, M.E., LETHAM, D.S. & PARKER, C.W., 1974. The metabolism and translocation of zeatin in intact radish seedlings. *Ann. Bot.* 38, 809-825.
- GREGORINI, G. & LALOUE, M., 1980. Biological effects of cytokinin antagonists 7-(pentylamino) and 7-(benzylamino)- β -methylpyrazolo(4,3-d)pyrimidines on suspension cultured tobacco cells. *Plant Physiol.* 65, 1090-1095.
- GUR, A., BRAVDO, B. & MIZRAKI, Y., 1972. Physiological response of apple trees to supraoptimal root temperature. *Physiol. Plant.* 27, 130-138.
- HALL, R.H., 1973. Cytokinins as a probe of developmental processes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24, 415-444.
- HALL, S.M. & BAKER, D.A., 1972. The chemical composition of *Ricinus* phloem exudate. *Planta* 106, 131-140.
- HARADA, H., 1980. Cytokinin-binding protein in grape berries. *Vitis* 19, 216-225.
- HASHIZUME, T. & IIZUKA, M., 1971. Induction of female organs in male flowers of *Vitis* species by zeatin and dihydrozeatin. *Phytochemistry* 10, 2653-2655.
- HASHIZUME, T., SUGIYAMA, T., IMURA, M., CORY, H.T., SCOTT, M.F. & McCLOSKEY, J.A., 1979. Determination of cytokinins by mass spectrometry based on stable isotope dilution. *Anal. Biochem.* 92, 111-122.
- HENSON, I.E., 1978. Types, formation and metabolism of cytokinins in leaves of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *J. Exp. Bot.* 29, 935-951.
- HENSON, I.E. & WAREING, P.F., 1976. Cytokinins in *Xanthium strumarium* L. : Distribution in the plant and production in the root system. *J. Exp. Bot.* 27, 1268-1278.
- HENSON, I.E. & WAREING, P.F., 1977. Cytokinins in *Xanthium strumarium* L. : Some aspects of the photoperiodic control of endogenous levels. *New Phytol.* 78, 35-45.
- HENSON, I.E. & WHEELER, C.T., 1977. Hormones in plants bearing nitrogen fixing root nodules : Metabolism of (8-¹⁴C)zeatin in root nodules of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *J. Exp. Bot.* 28, 1087-1098.

- HEWETT, E.W. & WAREING, P.F., 1973. Cytokinins in *Populus x robusta*: Qualitative changes during development. *Physiol. Plant.* 29, 386-389.
- HILLMAN, W.S., 1957. Nonphotosynthetic light requirement in *Lemna minor* and its partial satisfaction by kinetin. *Science* 126, 165-166.
- HOAD, G.V., LOVEYS, B.R. & SKENE, K.G.M., 1975. Leaf cytokinins and photosynthesis. *Austr. J. Plant Physiol.* 2, 367-375.
- HOAD, G.V., LOVEYS, B.R. & SKENE, K.G.M., 1976. Studies on the hormonal physiology of *Vitis vinifera* L. leaf tissue. *J. Sci. Food Agric.* 27, 797.
- HOAD, G.V., LOVEYS, B.R. & SKENE, K.G.M., 1977. The effect of fruit removal on cytokinins and gibberellinlike substances in grape leaves. *Planta* 136, 25-30.
- HOLLAND, J.A., MCKERRELL, E.H., FUELL, K.J. & BURROWS, W.J., 1978. Separation of cytokinins by reversed phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 166, 545-553.
- HORGAN, R., 1978. Analytical procedures for cytokinins. In: *Isolation of plant growth substances*, 97-114. Ed. J.R. Hillman. Cambridge University Press, Cambridge.
- HORGAN, R. & KRAMERS, M.R., 1979. High performance liquid chromatography of cytokinins. *J. Chromatogr.* 173, 263-270.
- HORGAN, R., PALNI, L.M.S., SCOTT, I. & MCGAW, B., 1981. Cytokinin biosynthesis and metabolism in *Vinca rosea* crown gall tissue. In: *Metabolism and molecular activities of cytokinins*, 56-65. Eds. J. Guern & C. Péaud-Lenoël. Springer-Verlag, Berlin.
- INABA, A., ISHIDA, M. & SOBAJIMA, Y., 1976. Changes in endogenous concentrations during berry development in relation to the ripening of Delaware grapes. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 45, 245-252.
- ITAI, C. & VAADIA, Y., 1965. Kinetin-like activity in root exudate of water-stressed sunflower plants. *Physiol. Plant.* 18, 941-944.
- ITAI, C. & VAADIA, Y., 1971. Cytokinin activity in water-stressed shoots. *Plant Physiol.* 47, 87-90.
- IWAMURA, H., MASUDA, N., KOSHIMIZU, K. & MATSUBARA, S., 1979. Cytokinin-agonistic and antagonistic activities of 4-substituted-2-methylpyrrolo-(2, 3-d) pyrimidines, 7-deazo analogs of cytokinin active adenine derivatives. *Phytochemistry* 18, 217-222.

- JABLONSKI, J.R. & SKOOG, F., 1954. Cell enlargement and cell division in excised tobacco pith tissue. *Physiol. Plant.* 7, 16-24.
- JÁKÓ, N., 1981. Veränderung der Fruchtbarkeit und des Cytokininingehaltes in den Knospen der Sorte Welschriesling vom Beginn der Ruheperiode bis zum Austrieb. *Mitt. Klosterneuburg* 31, 98-102.
- KEFFORD, N.P., ZWAR, J.A. & BRUCE, M.I., 1968. Antagonism of purine and urea cytokinin activities by derivatives of benzylurea. In: *Biochemistry and physiology of plant growth substances*, 61-69. Eds. F. Wightman & G. Setterfield. Runge Press, Ottawa.
- KENDE, H., 1964. Preservation of chlorophyll in leaf sections by substances obtained from root exudate. *Science* 145, 1066-1067.
- KENDE, H., 1971. The cytokinins. *Int. Rev. Cytol.* 31, 301-338.
- KENDE, H. & SITTON, D., 1967. The physiological significance of kinetin- and gibberellin-like root hormones. *N.Y. Acad. Sci. Ann.* 144, 235-243.
- KLÄMBT, D., 1968. Cytokinine aus *Helianthus annuus*. *Planta* 82, 170-178.
- KLIEWER, W.M., 1968. Effect of temperature on the composition of grapes grown under field and controlled conditions. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 93, 797-805.
- KLIEWER, W.M., 1970. Effect of day temperature and light intensity on coloration of *Vitis vinifera* L. grapes. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 95, 693-697.
- KLIEWER, W.M., 1975. Effect of root temperature on budbreak, root growth and fruitset of Cabernet Sauvignon grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.* 26, 82-89.
- KLIEWER, W.M. & LIDER, L.A., 1970. Effect of day temperature and light intensity on growth and composition of *Vitis vinifera* L. fruits. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 95, 766-769.
- KLIEWER, W.M., LIDER, L.A., FERRARI, N., 1972. Effects of controlled temperature and light intensity on growth and carbohydrate levels of 'Thompson Seedless' grapevines. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 97, 185-188.
- KLIEWER, W.M. & TORRES, R.E., 1972. Effect of controlled day and night temperatures on coloration of grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 23, 71-77.

- KRAMER, P.J., 1942. Species difference with respect to water absorption at low temperature. *Am. J. Bot.* 29, 828-832.
- KRIEDEMANN, P.E., 1968. Photosynthesis in vine leaves as a function of light intensity, temperature and leaf age. *Vitis* 7, 213-220.
- KUBOTA, N., TANAKA, T. & SHIMAMURA, K., 1980. Effect of root temperature on shoot growth, root development and nutrient content of Muscat of Alexandria grapevines. *Scient. Rep. Fac. Agric., Okayama Univ. No. 56*, 11-20.
- KULAEVA, O.N., 1962. The effect of roots on leaf metabolism in relation to the action of kinetin on leaves. *Fiziol. Rast.* 9, 229-239.
- KURAIISHI, S. & YAMAKI, T., 1967. Cytokinin-like activities of 4-benzylaminobenzimidazole. *Physiol. Plant.* 20, 208-212.
- LALOUE, M., TERRINE, C. & GUERN, J., 1981. Uptake and metabolism of cytokinins in tobacco cells. Studies in relation to the expression of their biological activities. In: *Metabolism and molecular activities of cytokinins*, 80-96. Eds. J. Guern & C. Péaud-Lenoël. Springer-Verlag, Berlin.
- LÉ JOHN, H.B., 1975. A rapid and sensitive auxin binding system for detecting N⁶-substituted adenines, and some urea and thiourea derivatives, that show cytokinin activity in cell division tests. *Can. J. Biochem.* 53, 768-778.
- LENTON, J.R., BOWEN, M.R. & SAUNDERS, P.F., 1968. Detection of abscisic acid in the xylem sap of willow (*Salix viminalis* L.) by gas-liquid chromatography. *Nature* 220, 86-87.
- LETHAM, D.S., 1963. Zeatin, a factor inducing cell division from *Zea mays*. *Life Sci.* 8, 569-573.
- LETHAM, D.S., 1967. Regulators of cell division in plant tissues. V. A comparison of the activities of zeatin and other cytokinins in five bioassays. *Planta* 74, 228-242.
- LETHAM, D.S., 1968. A new cytokinin bioassay and the naturally occurring cytokinin complex. In: *Biochemistry and physiology of plant growth substances*, 19-31. Eds. F. Wightman & G. Setterfield. Runge Press, Ottawa.

- LETHAM, D.S., 1971. Regulators of cell division in plant tissues. XII. A cytokinin bioassay using excised radish cotyledons. *Physiol. Plant.* 25, 391-396.
- LETHAM, D.S., 1978. Cytokinins. In: *Phytohormones and related compounds: a comprehensive treatise*, Vol. 1, 205-251. Eds. D.S. Letham, P.B. Goodwin & T.J.V. Higgins. Elsevier, Amsterdam.
- LETHAM, D.S., SHANNON, J.S. & McDONALD, I.R., 1964. The structure of zeatin; a factor inducing cell division. *Proc. Chem. Soc. London*, July, 230-231.
- LETHAM, D.S. & WILLIAMS, M.W., 1969. Regulators of cell division in plant tissues. VIII. The cytokinins of the apple fruit. *Physiol. Plant.* 22, 925-936.
- LETHAM, D.S., PARKER, C.W., DUKE, C.C., SUMMONS, R.E. & MACLEOD, J.K., 1976. O-glucosylzeatin and related compounds - A new group of cytokinin metabolites. *Ann. Bot.* 41, 261-263.
- LETHAM, D.S., SUMMONS, R.E., ENTSCH, B., GOLLNOV, B.I., PARKER, C.W. & MACLEOD, J.K., 1978. Regulators of cell division in plant tissues. XXVI. Glucosylation of cytokinin analogues. *Phytochemistry* 17, 2053-2057.
- LILLOV, D. & ANDONOVA, T., 1976. Cytokinins, growth, flower and fruit formation in *Vitis vinifera*. *Vitis* 15, 160-170.
- LINSMAIER, E.M. & SKOOG, F., 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 18, 100-127.
- LOEFFLER, J.E. & VAN OVERBEEK, J., 1964. Kinetin activity in coconut milk. In: *Regulateurs de la Croissance Vegetale*, 77-82. C.N.R.S., Paris.
- LORENZI, R., HORGAN, R. & WAREING, P.F., 1975. Cytokinins in *Picea sitchensis* Carriere: Identification and relation to growth. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 168, 333-339.
- LUKE, H.H. & FREEMANN, T.E., 1967. Rapid bioassay for phytokinins based on transpiration of excised oat leaves. *Nature* 215, 874-875.
- LUKWILL, L.C. & WHYTE, P., 1968. Hormones in the xylem sap of apple trees. In: *Plant growth substances*, 33-45. Eds. F. Wightman & G. Setterfield. Runge Press, Ottawa.

- MAASS, H. & KLÄMBT, D., 1981a. On the biogenesis of cytokinins in roots of *Phaseolus vulgaris*. *Planta* 151, 353-358.-
- MAASS, H. & KLÄMBT, D., 1981b. Cytokinin biosynthesis in higher plants. In: *Metabolism and molecular activities of cytokinins*, 27-33. Eds. J. Guern & C. Péaud-Lenoël. Springer-Verlag, Berlin.
- MACDONALD, E.M.S., AKIYOSHI, D.E. & MORRIS, R.O., 1981. Combined high performance liquid chromatography-radioimmunoassay for cytokinins. *J. Chromatogr.* 214, 101-109.
- MANOS, P.J. & GOLDTHWAITE, J., 1975. A kinetic analysis of the effects of gibberellic acid, zeatin and abscisic acid on leaf tissue senescence in *Rumex*. *Plant Physiol.* 55, 192-198.
- MATSUI, S., NAKAMURA, M. & TORIKATA, H., 1979. Effects of topping at different times on the nitrogen and carbohydrate contents and growth regulator activity in sprouted lateral buds of Kyoho grapevines (*Vitis vinifera* L. x *V. labrusca* Bailey). *J. Hort. Sci.* 54, 121-127.
- MCCOMBS, P.J.A. & RALPH, R.K., 1972. Cytokinin control of growth of *Spirodela oligorrhiza* in darkness. *Planta* 107, 97-109.
- MICHAEL, G., KOUHSIAHI-TORK, K. & WILBERG, E., 1969. Einfluss unterschiedlicher Luftfeuchtigkeit auf Chlorophyll- und Eiweissabbau in Blättern von Tabakpflanzen. *Flora* 160, 186-195.
- MILLER, C.O., 1956. Similarity of some kinetin and red light effects. *Plant Physiol.* 31, 318-319.
- MILLER, C.O., 1958. The relationship of the kinetin and red-light promotions of lettuce seed germination. *Plant Physiol.* 33, 115-117.
- MILLER, C.O., 1963. Kinetin and kinetin-like compounds. In: *Modern methods of plant analysis*, Vol. VI, 194-202. Eds. H.F. Linskens & M.V. Tracey. Springer-Verlag, Berlin.
- MILLER, C.O., 1965. Evidence for the natural occurrence of zeatin and derivatives: Compounds from maize which promote cell division. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 54, 1052-1058.
- MILLER, C.O., 1968. Naturally occurring cytokinins. In: *Biochemistry and physiology of plant growth substances*, 33-45. Eds. F. Wightman & G. Setterfield. Runge Press, Ottawa.

- MILLER, C.O., 1974. Ribosyl-trans-zeatin, a major cytokinin produced by crown gall tumor tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 71, 334-338.
- MILLER, C.O., SKOOG, F., VON SALTZA, M.H. & STRONG, F.M., 1955. Kinetin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid. *J. Am. Chem. Soc.* 77, 1329.
- MISRAHI, V., BLUMENFELD, A. & RICHMOND, A.E., 1970. Abscisic acid and transpiration in leaves in relation to osmotic root stress. *Plant Physiol.* 46, 169-171.
- MONSELISE, S.P., VARGA, A., KNEGT, E. & BRUINSMA, J., 1978. Course of the zeatin content in tomato fruits and seeds developing on intact or partially defoliated plants. *Z. Pflanzenphysiol.* 90, 451-460.
- MORRIS, R.O., ZAERR, J.B. & CHAPMAN, R.W., 1976. Trace enrichment of cytokinins from Douglas-fir xylem extrudate. *Planta* 131, 271-274.
- MORRIS, R.O., REGIER, D.A. & MACDONALD, E.M.S., 1981. Analytical procedures for cytokinins: Application to *Agrobacterium tumefaciens*. In: *Metabolism and molecular activities of cytokinins*, 5-16. Eds. J. Guern & C. Péaud-Lenoël. Springer-Verlag, Berlin.
- MOTHES, K., 1964. The role of kinetin in plant regulation. In: *Regulateurs de la Croissance Vegetale*, 131-140. C.N.R.S., Paris.
- MULLINS, M.G., 1967. Morphogenetic effects of roots and some synthetic cytokinins in *Vitis vinifera* L. *J. Exp. Bot.* 18, 206-214.
- MULLINS, M.G., 1968. Regulation of inflorescence growth in cuttings of the grapevine (*Vitis vinifera* L.). *J. Exp. Bot.* 19, 532-543.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473-497.
- NAITO, R. & KAWASHIMA, T., 1980. Promotion of berry set in grapes by growth retardants. IV. Comparison of SADH, cluster dipping, shoot pinching and flower thinning with regards to their effects on berry set in Kyoho grape. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 49, 297-310.
- NAITO, R., KAWASHIMA, T. & FUJIMOTO, J., 1981. Promotion of berry set in grapes by growth retardants. V. Effects of cluster dipping with SADH or CCC at different times before anthesis on berry set in Kyoho and Muscat of Alexandria. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 49, 539-548.

- NAKANO, M., YUDA, E. & NAKAGAWA, S., 1980. Studies on rooting of the hardwood cuttings of grapevine, cv. 'Delaware'. II. Hormonal changes in the cuttings. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 48, 385-394.
- NEGI, S.S. & OLMO, H.P., 1966. Sex-conversion in a male *Vitis vinifera* L. by a kinin. *Science* 152, 1624-1625.
- NEGI, S.S. & OLMO, H.P., 1970. Studies on sex conversion in male *Vitis vinifera* L. (*sylvestris*). *Vitis* 9, 89-96.
- NELSON, J.M. & SHARPLES, G.C., 1974. Influence of chlormequat, SADH and a cytokinin on fruit set in seeded 'Cardinal' grape. *HortScience* 9, 598-600.
- NIGHTINGALE, G.T., 1935. Effects of temperature on growth, anatomy and metabolism of apple and peach roots. *Bot. Gaz.* 96, 581-639.
- NIIMI, Y., OHKAWA, M. & TORIKATA, H., 1977. Cytokinin activities in grape berries. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 46, 297-302.
- NIIMI, Y. & TORIKATA, H., 1978a. Changes in endogenous plant hormones in the xylem sap of grapevines during development. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 47, 181-187.
- NIIMI, Y. & TORIKATA, H., 1978b. Changes in cytokinin activities, photosynthesis and respiration of the grape flower clusters during their development. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 47, 301-307.
- NITSCH, J.P. & NITSCH, C., 1965. Présence de phytokinines et autres substances de croissance dans la sève d'*Acer saccharum* et de *Vitis vinifera*. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 112, 11-19.
- NIU, P., ZAPATA, J. & McCHESNEY, J.D., 1973. Formation, isolation and biological activity of cytokinin-7-glucoside. *Plant Physiol.* 52, 627-632.
- OBANDO-RODRIGUEZ, R.G., 1980. Effect of rootstock, nitrogen, and root temperature on growth, fruitfulness and nutrient content of Cabernet Sauvignon grapevines. Ph.D. Thesis, University of California, Davis.
- O'LEARY, J.W., 1965. Root-pressure exudation in woody plants. *Bot. Gaz.* 126, 108.
- O'LEARY, J.W., 1966. Temperature effects on root pressure exudation. *Ann. Bot.* 30, 419-423.

- OSBORNE, D.J., 1962. Effect of kinetin on protein and nucleic acid metabolism in *Xanthium* leaves during senescence. *Plant Physiol.* 37, 595.
- OSBORNE, D.J. & McCALLA, D.R., 1961. Rapid bioassay for kinetin and kinins using senescing leaf tissue. *Plant Physiol.* 36, 219-221.
- PARKER, C.W. & LETHAM, D.S., 1973. Regulators of cell division in plant tissues. XVI. Metabolism of zeatin by radish cotyledons and hypocotyls. *Planta* 114, 199-218.
- POOL, R.M., 1975. Effect of cytokinin on *in vitro* development of Concord flowers. *Am. J. Enol. Vitic.* 26, 43-46.
- POOL, R.M. & POWELL, L.E., 1975. The influence of cytokinins on *in vitro* shoot development of Concord grapes. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 100, 200-202.
- RADIN, J.W. & LOOMIS, R.S., 1974. Polar transport of kinetin in tissue of radish. *Plant Physiol.* 53, 348-351.
- RAO, M.M., 1970. Effect of benzyladenine on post-harvest berry drop in Enab-e-Shahi grapes (*Vitis vinifera* L.) *Vitis* 9, 126-129.
- REEVE, D.R. & CROZIER, A., 1980. Quantitative analysis of plant hormones. In: *Encyclopedia of plant physiology*, New Series, Vol. 9, 203-280. Ed. J. MacMillan. Springer-Verlag, Berlin.
- REID, D.M. & BURROWS, W.J., 1968. Cytokinin and gibberellin-like activity in the spring sap of trees. *Experimentia* 24, 189-190.
- RICHMOND, A.E. & LANG, A., 1957. Effect of kinetin on the protein content and survival of detached *Xanthium* leaves. *Science* 125, 650-651.
- ROTHWELL, K. & WRIGHT, S.T.C., 1967. Phytokinin activity in some new 6-substituted purines. *Proc. Royal Soc. B* 167, 202-223.
- SALAMA, A.M.S.A. & WAREING, P.F., 1979. Effects of mineral nutrition on endogenous cytokinins in plants of sunflower. *J. Exp. Bot.* 30, 971-981.
- SAMISH, R.M., GUR, A. & SHULMAN, Y., 1968. The effect of root temperature on the mineral composition of the apple leaf. In: *Control de la Fertilizacion de las Plantas Cultivadas*, 675-685. Sevilla.

- SCHMITZ, R.Y., SKOOG, F., HECHT, S.M., BOCK, R.M. & LEONARD, N.J., 1972. Comparison of cytokinin activities of naturally occurring ribonucleosides and corresponding bases. *Phytochemistry* 11, 1603-1610.
- SEBANEK, J. & OBHLIDALOVA, L., 1975. Gibberellin-cytokinin interaction in the correlation between the cotyledon and its axillary bud in pea (*Pisum sativum* L.). *Biolog. Plant.* 17, 150-153.
- SETH, A.K., DAVIES, C.R. & WAREING, P.F., 1966. Auxin effects on the mobility of kinetin in the plant. *Science* 151, 587-588.
- SETH, A.K. & WAREING, P.F., 1967. Hormone directed transport of metabolites and its possible role in plant senescence. *J. Exp. Bot.* 18, 65-77.
- SHINDY, W.W. & WEAVER, R.J., 1967. Plant regulators alter translocation of photosynthetic products. *Nature* 214, 1024-1025.
- SHINDY, W.W. & WEAVER, R.J., 1970. Export of photosynthate affected when leaves are pretreated with growth substances. *Nature* 227, 301-302.
- SHINDY, W.W., KLIEWER, W.M. & WEAVER, R.J., 1973. Benzyladenine-induced movement of ^{14}C -labeled photosynthate into roots of *Vitis vinifera*. *Plant Physiol.* 51, 345-349.
- SHORT, K.C. & TORREY, J.G., 1972. Cytokinins in seedling roots of pea. *Plant Physiol.* 49, 155-160.
- SITTON, D., ITAI, Ch. & KENDE, H., 1967. Decreased cytokinin production in the roots as a factor in shoot senescence. *Planta* 73, 296-300.
- SKENE, K.G.M., 1967. Gibberellin-like substances in root exudate of *Vitis vinifera*. *Planta* 74, 250-262.
- SKENE, K.G.M., 1970. The relationship between the effects of CCC on root growth and cytokinin levels in the bleeding sap of *Vitis vinifera* L. *J. Exp. Bot.* 21, 418-431.
- SKENE, K.G.M., 1971. Cytokinins in the bleeding sap of the grapevine. In: *Proc. 7th Int. Conf. Plant Growth Substances, Canberra*, 476-483.
- SKENE, K.G.M., 1972a. The effect of ringing on cytokinin activity in shoots of the grapevine. *J. Exp. Bot.* 23, 768-774.
- SKENE, K.G.M., 1972b. Cytokinins in the xylem sap of grape vine canes: Changes in activity during cold-storage. *Planta* 104, 89-92.

- SKENE, K.G.M., 1975. Cytokinin production by roots as a factor in the control of plant growth. In: *The development and function of roots*, 365-396. Eds. J.G. Torrey & D.T. Clarkson. Academic Press, London.
- SKENE, K.G.M. & KERRIDGE, G.H., 1967. Effect of root temperature on cytokinin activity in root exudate of *Vitis vinifera* L.. *Plant Physiol.* 42, 1131-1139.
- SKENE, K.G.M. & ANTCLIFF, A.J., 1972. A comparative study of cytokinin levels in bleeding sap of *Vitis vinifera* and the two grapevine root-stocks, Salt Creek and 1613. *J. Exp. Bot.* 23, 283-293.
- SKOOG, F. & TSUI, C., 1948. Chemical control of growth and bud formation in tobacco stem segments and callus cultured *in vitro*. *Am. J. Bot.* 35, 782-787.
- SKOOG, F. & LEONARD, N.J., 1968. Sources and structure: activity relationships of cytokinins. In: *Biochemistry and physiology of plant growth substances*, 1-18. Eds. F. Wightman & G. Setterfield. Runge Press, Ottawa.
- SKOOG, F. & ARMSTRONG, D.J., 1970. Cytokinins. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 21, 359-384.
- SKOOG, F. & GHANI, A.K.B., 1981. Relative activities of cytokinins and antagonists in releasing lateral buds of *Pisum* from apical dominance compared with their relative activities in the regulation of growth of tobacco callus. In: *Metabolism and molecular activities of cytokinins*, 140-150. Eds. J. Guern & C. Péaud-Lenoël. Springer-Verlag, Berlin.
- SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G., 1969. Statistical methods, 6th ed., Iowa State University Press, Ames.
- SOMMER, N.F., 1961. Longitudinal and lateral response of etiolated pea sections to indoleacetic acid, gibberellin, kinetin, sucrose and cobaltous chloride. *Physiol. Plant.* 14, 741-749.
- SRINIVASAN, C. & MULLINS, M.G., 1978. Control of flowering in the grapevine (*Vitis vinifera* L.). Formation of inflorescences *in vitro* by isolated tendrils. *Plant Physiol.* 61, 127-130.
- SRINIVASAN, C. & MULLINS, M.G., 1979. Flowering in *Vitis*: Conversion of tendrils into inflorescences and bunches of grapes. *Planta* 145, 187-192.
- SRINIVASAN, C. & MULLINS, M.G., 1980a. Flowering in *Vitis*: Effects of genotype on cytokinin-induced conversion of tendrils into inflorescences. *Vitis* 19, 293-300.

- SRINIVASAN, C. & MULLINS, M.G., 1980b. Effects of temperature and growth regulators on formation of anlagen, tendrils and inflorescences in *Vitis vinifera* L.. *Ann. Bot.* 45, 439-446.
- SRINIVASAN, C. & MULLINS, M.G., 1980c. Flowering in *Vitis*: Effects of genotype on cytokinin induced conversion of tendrils into inflorescences. *Vitis* 19, 293-300.
- STEWARD, F.C., 1976. Multiple interactions between factors that control cells and development. In: *Perspectives in experimental biology*, Vol. 2, 9-24. Ed. N. Sunderland. Pergamon Press.
- SUMMONS, R.E., ENTSCH, B., PARKER, C.W. & LETHAM, D.S., 1979. Mass spectrometric analysis of cytokinins in plant tissues. III. Quantitation of the cytokinin glycoside complex of lupin pods by stable isotope dilution. *FEBS Letters* 107, 21-25.
- SUMMONS, R.E., ENTSCH, B., LETHAM, D.S., GOLLNOW, B.I. & MACLEOD, J.K., 1980. Regulators of cell division in plant tissues. XXVIII. Metabolites of zeatin in sweet-corn kernels: purifications and identifications using high performance liquid chromatography and chemical-ionization mass spectrometry. *Planta* 147, 422-435.
- SUTTON, C.D., 1969. Effect of low soil temperature on phosphate nutrition of plants. *J. Sci. Food Agr.* 20, 1-3.
- TEGLEY, J.R., WITHAM, F.H. & KRASNUK, M., 1971. Chromatographic analysis of a cytokinin from tissue cultures of crown-gall. *Plant Physiol.* 47, 581-585.
- THOMAS, T.H., CARROLL, J.E., ISENBERG, F.M.R., PENDERGRASS, A. & HOWELL, L., 1975. A simple, inexpensive, high pressure liquid chromatographic method for separating cytokinins in plant extracts. *Plant Physiol.* 56, 410-414.
- TORREY, I.G., 1976. Root hormones and plant growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 27, 435-459.
- TUKEY, L.D., 1958. Effects of controlled temperatures following bloom on berry development of the 'Concord' grape (*Vitis labrusca*). *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 71, 157-166.

- VAN REENEN, C.F., 1946. Huil by die wynstok. M.Sc. Tesis, Universiteit van Stellenbosch.
- VAN STADEN, J., 1973. Changes in endogenous cytokinin levels during abscission and senescence of *Streptocarpus* leaves. *J. Exp. Bot.* 24, 667-673.
- VAN STADEN, J., 1976. The release of cytokinins by maize roots. *Plant Sci. Letters* 7, 279-283.
- VAN STADEN, J., 1982. Transport and metabolism of 8(¹⁴C)t-zeatin in dormant shoots of grape during cold storage. *S. Afr. J. Bot.* 1, 54-57.
- VAN STADEN, J. & WAREING, P.F., 1972. The effect of photoperiod on the levels of endogenous cytokinins in *Xanthium strumarium*. *Physiol. Plant.* 27, 331-337.
- VAN VUNAKIS, H., 1980. Radioimmunoassay: an overview. *Methods Enzymol.* 70, 201-209.
- VARGA, A. & BRUINSMA, J., 1973. Effects of different cytokinins on the senescence of detached oat leaves. *Planta* 111, 91-93.
- VOLLMER, W., 1976. Der Cytokiningehalt in den vegetativen Organen der Rebe. *Diss., Univ. Hohenheim*.
- WAITZ, G., 1975. Untersuchungen zur Physiologie der Beerenreife: Der Cytokiningehalt wachsender Weinbeeren. *Diss., Univ. Hohenheim*.
- WAREING, P.F. & SAUNDERS, P.F., 1971. Hormones and dormancy. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 22, 261-288.
- WAREING, P.F., HORGAN, R., HENSON, I.E. & DAVIS, W., 1976. Cytokinin relations in the whole plant. In: *Plant growth regulation*, 147-153. Proc. 9th Int. Conf. of Plant growth substances, Lausanne. Ed. P.E. Pilet. Springer-Verlag, Berlin.
- WEAVER, R.J., VAN OVERBEEK, J. & POOL, R.M. 1966. Effect of kinins on fruit set and development in *Vitis vinifera*. *Hilgardia* 37, 181-201.
- WEAVER, R.J., SHINDY, W.W. & KLIOWER, W.M., 1969. Effect of growth regulators on movement of photosynthetic products into fruits of 'Black Corinth' grapes. *Plant Physiol.* 44, 183-188.

- WEILER, E.W., 1980. Radioimmunoassay for trans-zeatin and related cytokinins. *Planta* 149, 155-162.
- WEILER, E.W. & ZIEGLER, H., 1981. Determination of phytohormones in phloem exudate from tree species by radioimmunoassay. *Planta* 152, 168-170.
- WEISS, C. & VAADIA, Y., 1965. Kinetin-like activity in root apices of sunflower plants. *Life Sci.* 4, 1323-1326.
- WHITAKER, B.D. & KENDE, H., 1974. Bud formation in *Funaria hygrometrica*. A comparison of the activities of three cytokinins with their ribosides. *Planta* 121, 93-96.
- WHITTY, C.D. & HALL, R.H., 1974. A cytokinin oxydase in *Zea mays*. *Canad. J. Biochem.* 52, 789-799.
- WOODHAM, R.C. & ALEXANDER, D.M.E., 1966. The effect of root temperature on development of small fruiting Sultana vines. *Vitis* 5, 345-350.
- WOOLLEY, D.J. & WAREING, P.F., 1972. The interaction between growth promoters in apical dominance. I. Hormonal interaction, movement and metabolism of a cytokinin in rootless cuttings. *New Phytol.* 71, 781-793.
- ZELLEKE, A., 1977. The effect and interactions of root temperature with rootstock, fertilization and air temperature on bud break, growth, and composition of grapevines (*Vitis vinifera* L.). Ph.D. Thesis, University of California, Davis.
- ZELLEKE, A. & KLIEWER, W.M., 1979. Influence of root temperature and rootstock on budbreak, shoot growth, and fruit composition of Cabernet Sauvignon grapevines grown under controlled conditions. *Am. J. Enol. Vitic.* 30, 312-317.
- ZELLEKE, A., MARTIN, G.C. & LABAVITCH, J.M., 1980. Detection of cytokinins using a gas chromatograph equipped with a sensitive nitrogen-phosphorus detector. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105, 50-53.
- ZELLEKE, A. & KLIEWER, W.M., 1981. Factors affecting the qualitative and quantitative levels of cytokinins in xylem sap of grapevines. *Vitis* 20, 93-104.