

Jellievise, korale en biotegnologie – die padkaart na plantsiektes

Dr Aneen Schoeman, LNR-Instituut vir Graangewasse, Potchefstroom

Plantsiektes kan die gehalte van voedsel nadelig beïnvloed. Swakker gehalte voedselprodukte lei tot ekonomiese verliese vir die produsent. Somtyds kan die voedsel so erg besmet wees dat dit nie eetbaar is nie. Plantsiektes kan ook die voortbestaan van 'n gewas in gevaar stel en gevolglik voedselsekerheid en die ekonomiese welvaart van produsente en werkers bedreig.

Deur navorsing op plantsiektes te doen, kan die patogeen (swam, bakterie of virus) wat die siekte veroorsaak beter verstaan word. Daar kan vasgestel word op watter tydstip die patogeen die plant binnedring, hoe lank dit die patogene neem om plantselle te koloniseer en ook of die plant dalk interne verdedigingsmeganismes teen die patogene toon. Verder kan 'n 'profiel' van die patogeen se voorkeure vir besmetting, koloniserings- en verspreiding in die plant opgestel word. Veld- en/of glashuisproewe kan sekere omgewingstoestande wat deur die patogeen verkies word, naboots. Sodoende kan verskillende plantvarieteite beoordeel word vir 'n mate van weerstand teen die patogene.

Een van die metodes om die infeksieproses waar te neem, is deur die patogeen te 'transformeer' met die toevoeging van 'n proteïen wat fluoresseer. Sodoende kan die infeksieproses onder 'n mikroskoop gevolg word.

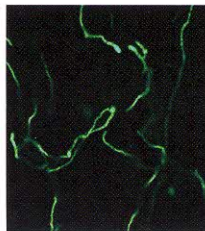
Aanwending van biotegnologie vir navorsing

'n Swam kan getransformeer word deur gebruik te maak van biotegnologie. Organismes word gebruik om 'n produk te lewer of te ontwikkel. In hierdie geval sal die produk 'n swam wees wat kan fluoresseer. 'n Fluoresseerende proteïen word by die swam se DNS gevoeg sodat die swam duidelik onder 'n mikroskoop waargeneem kan word. Sodoende kan die swam se beweging suksesvol in die plant gevolg word. Twee fluoresseerende proteïene word gebruik: groen

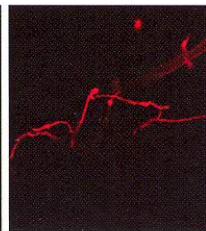
fluoresseerende proteïen (GFP), afkomstig van die *Aequorea victoria*-jellievise en 'DsRed', 'n rooi fluoresseerende proteïen, geïsoleer van 'n *Discosoma*-koraalspesie.

Panama-siekte

Die outeur se MSc-studie het gefokus op die biologiese beheer van *Fusarium oxysporum f.sp. cubense* wat Panama-siekte in piesangs veroorsaak. Sekere *Fusarium oxysporum*-isolate wat plante kan binnedring is nie siekteveroorsoekend nie (nie-patogenies), terwyl ander patogenies is. Tydens die projek is nie-patogeniese *Fusarium oxysporum* geïsoleer vanuit grond waarin piesangs gegroei het en in gebiede waar Panama-siekte nie in Suid-Afrika voorkom nie. Die patogeniese *Fusarium oxysporum f.sp. cubense*-isolaat (ook geïsoleer van *Fusarium*-verwelksimptome in Suid-Afrika) is met GFP getransformeer (Figuur 1) en die nie-patogeniese *Fusarium oxysporum*-isolaat is met DsRed getransformeer (Figuur 2).



Figuur 1: Die groen fluoresseer-kleur van die GFP-getransformeerde piesangpatogeen *Fusarium oxysporum f.sp. cubense*



Figuur 2: Die rooi fluoresseer-kleur van die DsRed-getransformeerde nie-patogeniese *Fusarium oxysporum*-isolaat op piesangs

Glashuisproewe is uitgevoer om 'n ondersoek te loods rakende die interaksie tussen die twee isolate en om moontlike kompetisie vir worteltoegang en nutriënte wat *Fusarium*-verwelksiekte mag verminder, te identifiseer.

Die swamme is gelyktydig op wortels geïnkuleer en swaminfeksie is waargeneem deur

gebruik te maak van die epifluoresseer mikroskoop en 'n CLSM ('confocal laser scanning microscope') wat dit moontlik maak om foto's in 3D te neem (Figuur 3). Figuur 4A wys hoe die spore vasheg aan die wortelhare en hoe die swamhifas die wortels koloniseer (Figuur 4B) en oorgroei (Figuur 4C).

Na 'n paar dae se groei kom daar geen kompetisie voor tussen die nie-patogeniese isolaat (DsRed) en die patogeen (GFP) nie en beide koloniseer en groei saam op die wortels van piesangs. Daar kan hieruit afgelei word dat die nie-patogeniese swam nie gebruik kan word as 'n beheermaatreël teen die patogeniese swam nie en verdere ondersoek sal geloods moet word om moontlike chemiese prosesse te identifiseer wat weerstand in piesangplante induiseer om *Fusarium*-verwelksiekte te bekamp.

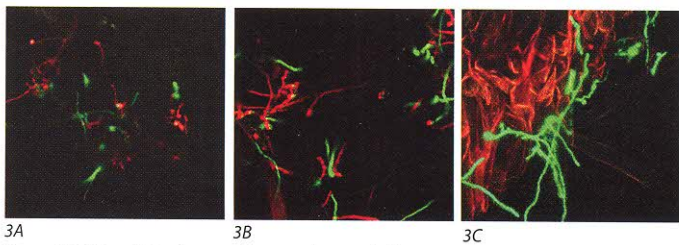
As dit nie vir die fluoresseerende proteïen was nie sou die swamgroei nie met die blote oog waargeneem kon word nie (Figuur 5), en ander tegnieke soos kleuring van die swamdrade sou moes plaasvind om die swam-interaksie met die piesangwortels te ondersoek. Die proses vereis verdere navorsing.

Navorsing wat gebruik maak van GFP- of DsRed-getransformeerde isolate moet in fasiliteite plaasvind wat daarvoor toegerus en geregistreer is om te verhoed dat die isolate 'ontsnap'. Die isolate wat getransformeer is, word bewaar in die isolaatbank by die plantpatologie-afdeling van Stellenbosch Universiteit, waar navorsingswerk op piesangs onder leiding van prof Altus Viljoen voortgesit word.

Rig navrae aan Aneen Schoeman by BelgroveA@arc.agric.za.



Shutterstock

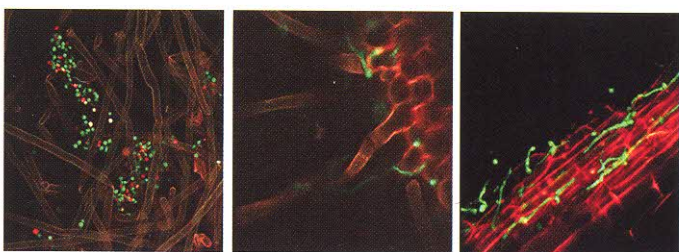


3A

3B

3C

Figuur 3: GFP- en DsRed-getransformeerde swamisolate groei op piesangwortels (A) en 'n 3D-foto is geneem in B. C is nog 'n voorbeeld van 'n 3D-voorstelling van die GFP-Fusarium oxysporum f.sp. cubense op piesangwortels (foto's met CLSM geneem).



4A

4B

4C

Figuur 4: Die spore van die patoogeen en nie-patoogeen heg vas aan die piesangwortelhare (A), na 'n paar uur dring die patoogeen die wortel binne (B). Na twee dae is die hele piesangworteloppervlak met swamgroeï bedek (C). Na 14 dae is beide patoogeen- en nie-patoogeen-groeï steeds teenwoordig op die oppervlak van die piesangwortel en kompetisie kom nie voor nie (foto's met CLSM geneem).



5A



5B



5C



5D

Figuur 5: Foto's is geneem met 'n epi-fluoresensie-mikroskoop. In die linkerkantste foto's (A en C) kan die swamgroeï nie maklik raakgesien word nie. Met die filters in die epi-fluoresensie-mikroskoop kan die DsRed (B)- en GFP (D)-getransformeerde Fusarium oxysporum maklik bestudeer word.