

WAT IS 'N VIRUS?

HORTGRO 
Growing Fruit IQ



HOE TOETS JY DAARVOOR? | HOEKOM IS DIT BELANGRIK?



6 virusse en 'n viroïed

'n Vereenvoudigde illustrasie van 'n virus soortgelyk aan apple chlorotic leafspot virus. Die blou struktuur is die proteïenomhulsel en die pienk struktuur is die genetiese materiaal.

'n Samevatting vir steen- en kernvrugprodusente wat verliese wil vryspring.

Die eerste plek waar produsente tekens van virus- en viroïedinfeksies sien is gewoonlik in hulle finansies. Suid-Afrikaanse steenvrugprodusente is onlangs deur die verskyning van pruimvermarmering hieraan herinner. Pruimvermarmering word deur 'n viroïed veroorsaak en aangetaste vrugte is onbemarkbaar as gevolg van die impak op eksterne voorkoms en interne kwaliteit.

Daarenteen word virusinfeksies meer algemeen met verminderde groei en oeste in beide steen- en kernvrugbome geassosieer. Navorsers in Nieu-Seeland en Duitsland het gevind dat appelbome met apple mosaic virus-infeksies ongeveer 40% minder groeikragtig is as bome sonder infeksies. 'n Suid-Afrikaanse studie het gewys dat oeste in appelbome met apple mosaic virus-infeksies met 'n derde verlaag is. Soortgelyke – en erger – gevolge is vir sommige virusinfeksies in steenvrugte berig.

So wat presies is virusse en viroïede? En wat kan produsente doen om hulle boorde te beskerm?

Virusse en viroïede verduidelik

'n Basiese viruspartikel bestaan uit 'n stel gene binne-in 'n proteïenomhulsel. Hierdie

gene is instruksies om die virus te maak. Virusse kaap die sellulêre masjinerie van hulle gasheer en omskep gasheerselle in fabriek wat nuwe virusse vervaardig. Soms word die gasheersel in die proses beskadig of vernietig wat lei tot die ontwikkeling van siektetekens.

Viroïede is soortgelyk maar baie meer eenvoudig as virusse – hulle bevat nie gene met instruksies om proteïene te maak nie en het ook nie proteïenomhulsels nie. 'n Viroïed is net 'n kort lussie genetiese materiaal wat binne die gasheersel gekopieer word. Navorsers probeer nog uitvind hoe viroïede siektes veroorsaak.

Meeste virusse en viroïede is patogeen. Die woord patogeen beteken letterlik siekteveroorsakend. Die naam van 'n patogeen verskil dikwels van die siekte wat dit veroorsaak. Byvoorbeeld word die coronavirus wat COVID-19 veroorsaak SARS-CoV-2 genoem. Die trichovirus wat blomappellynpatroon, pruimpseudopokke en ander siektes veroorsaak word apple chlorotic leafspot virus genoem.

Viruspartikels is piepklein. Hulle word in nanometers gemeet – 'n nanometer is 'n miljoenste van 'n millimeter. Apple chlorotic

leafspot virus-partikels is ongeveer 700 nanometer lank en 12 nanometer wyd.

'n Mens sou byna 1 500 van hulle op 'n speldekop kon pas as jy hulle in die lengte rangskik en baie geduld het.

Bakterieë en swamme is ander voorbeelde van patogene. Bakteriese selle is ongeveer 10–100 maal groter as viruspartikels en swamme is nog groter. Beide bakterieë en swamme het hulle eie sellulêre masjinerie en is gevolglik baie meer kompleks as virusse.

Die ses grotes

Ses virusse word onder die Sagtevrugte-plantsertifiseringskema getoets: apple chlorotic leafspot virus, apple mosaic virus, apple stem pitting virus, apple stem grooving virus, prune dwarf virus, en Prunus necrotic ringspot virus. Plum viroid 1 – die oorsaak van pruimvermarmering – is onlangs bygevoeg.

Hierdie patogene is deel van die Skema omdat hulle 'n ekonomiese impak het. Sekere ander virusse en viroïede kom ook in Suid-Afrika voor maar word nie ingesluit nie omdat daar geen bewys is dat hulle finansiële verliese veroorsaak nie. Die Skema dek ook nie gevaarlike siektes en plae wat nie in Suid-Afrika voorkom nie. Ingevoerde plantmateriaal word getoets en onder kwarantyn geplaas om hierdie probleme uit te hou.





Opsomming van die ses groot virusse en die viroïed waarvoor plantmateriaal onder die Sagtevrugteplantsertifiseringskema getoets word.

		Apple chlorotic leafspot virus	Apple mosaic virus	Apple stem grooving virus	Apple stem pitting virus	Prune dwarf virus	Prunus necrotic ringspot virus	Plum viroid 1
Afrikaanse naam		Blommappellynpatroonvirus	Appelmosaïekvirus	Appelgleufstamvirus	Appelstamverpockingvirus	Pruimedantverdwergingsvirus	Prunus nekrotiese-kringvlekvirus	Pruimviroïed 1
Afkorting		ACLSV	ApMV	ASGV	ASPV	PDV	PNRSV	PIVd-1
Familie		Betaflexiviridae	Bromoviridae	Betaflexiviridae	Betaflexiviridae	Bromoviridae	Bromoviridae	Pospiviroidae
Genus		Trichovirus	Ilarvirus	Capillovirus	Foveavirus	Ilarvirus	Ilarvirus	Apscaviroid
Mees algemeen in		Steen- en kernvrugte	Steen- en kernvrugte. Haselneute.	Steen- en kernvrugte. Sitrus.	Kernvrugte	Steenvrugte	Steenvrugte	Steenvrugte
Siektetekens	Abnormale blare	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Nee
	Abnormale vrugte	Meestal in steenvrugte	Nee	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
	Entlasmislukking	Ja	Nee	Ja	Ja	Ja	Ja	Nee
	Verminderde groei en oeste	Ja	Ja. Ook korter leeftyd.	Ja	Ja	Ja. Ook korter leeftyd.	Ja. Ook korter leeftyd.	Nee. Maar vrugte kan kleiner wees.
	Ander	Terugsterf en kankers	–	–	Terugsterf	Bas kraak	Terugsterf en kankers	–
Versprei deur	Plantmateriaal	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
	Wortelverbinding	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Onbekend
	Stuifmeel	Nee	Onbeslis	Ja	Nee	Ja	Ja	Onbekend
	Saad	Nee	Nee	Ja	Nee	Ja	Ja	Nee

Die ses groot virusse is ietwat verwant en het dus baie in gemeen. Apple mosaic virus, prune dwarf virus, en Prunus necrotic ringspot virus is almal in dieselfde genus. Die ander drie is in verskillende genera maar dieselfde familie. Al die lede van die twee families waaraan die ses grotes behoort is plantpatogene.

Plum viroid 1 is nie 'n virus nie, so dit is nie verwant aan die ses grotes nie. Maar dit deel wel 'n viroïedgenus met patogene van veral sitrus en wingerd.

Watter plante is in gevaar?

Die ses groot virusse infekteer hoofsaaklik houtagtige plante in die roosfamilie. Apple chlorotic leafspot virus en apple mosaic virus is van ekonomiese belang in beide steen- en kernvrugte. Apple stem grooving virus en apple stem pitting virus affekteer hoofsaaklik kernvrugte terwyl prune dwarf virus en Prunus necrotic ringspot virus meestal steenvrugte aantast.

Al hierdie virusse kan ook ander plante infekteer, insluitende kruidagtige spesies,

maar gewoonlik slegs onder eksperimentele toestande.

Plum viroid 1 is tot op hede slegs in Japanse pruime en appelkose gevind.

Die ses groot virusse kom almal wêreldwyd voor en is gewoonlik oral teenwoordig waar hulle gasheerplante kommersieel verbou word. Plum viroid 1 is sower slegs vanaf Suid-Afrika berig.

Hoe kry bome infeksies?

Die vermeerdering van geïnfecteerde plantmateriaal is die mees algemene manier waarop die ses groot virusse versprei – dis hoe hierdie patogene steen- en kernvrugbome op bykans elke kontinent geïnfecteer het. Plum viroid 1 word ook deur geïnfecteerde plantmateriaal versprei.

Die ses grotes en plum viroid 1 versprei so maklik deur plantmateriaal omdat geïnfecteerde bome dikwels gesond lyk. Net soos 'n mens nie kan sien of iemand 'n SARS-CoV-2- of HIV-infeksie onder lede het deur net na hulle te kyk nie, kan mens ook nie sien of bome virus- of viroïedinfeksies het deur net

na hulle te kyk nie. Die enigste manier om te weet is om te toets.

Geen van die ses grotes word deur insekdraers versprei nie. Insekte wat op geïnfecteerde bome voed sal dus nie die virus oordra wanneer hulle daarna op ongeïnfecteerde bome voed nie. Prune dwarf virus en Prunus necrotic ringspot virus kom wel in stuifmeel voor, en insekte kan besmette stuifmeel tussen bome dra.

Westelike blomblaaspootjies en heuningbye kan volgens berigte besmette stuifmeel rondra. Een navorser het gerapporteer dat die gebruik van heuningbye vir bestuiwing tot die gereelde verspreiding van verskillende Prunus necrotic ringspot virus-stamme tussen die state Washington en Kalifornië gelei het. Dit het veroorsaak dat nuwe virusstamme in die staat Washington verskyn het.

Prune dwarf virus en Prunus necrotic ringspot virus kan ook in saad oorgedra word. Saailingonderstamme van ongetoetste bronne is daarom 'n risiko – produsente behoort versigtig te wees vir ongesertifiseerde onder-



Regs Vervorming en verkleuring veroorsaak deur apple chlorotic leafspot virus. Ander virusse kan soortgelyke veranderinge veroorsaak. **Onder** Blaarverkleuring in 'n kersieboom. Verskeie virusse kan soortgelyke tekens veroorsaak.

➤ stamme wat van saad afkomstig van verwerkingsfasiliteite soos inmaakfabrieke gegroei is.

Alhoewel vegetatiewe vermeerdering en seksuele voortplanting meeste infeksies verklaar, kan die groot ses virusse ook deur die natuurlike verbindings tussen wortels versprei. Die wortels van baie houtagtige plante groei aan mekaar vas waar hulle kontak maak. Apple mosaic virus is een voorbeeld van 'n virus wat op dié wyse tussen appelbome kan versprei.

Navorsers het gevind dat apple mosaic virus vanaf geïnfecteerde na ongeïnfecteerde roosbome versprei wanneer hulle naby mekaar geplant is. Binne die eerste jaar het 10% van die ongeïnfecteerde bome infeksies opgedoen en teen die tweede jaar byna die helfte. Saamgroei van hulle wortels was die mees waarskynlike roete van infeksie.

Wat gebeur met geïnfecteerde bome?

Hier raak dinge ingewikkeld. Ons het almal die afgelope paar jaar gesien hoe infeksie met SARS-CoV-2 sommige mense siek- of doodmaak terwyl ander mense nie eens hoes nie. Virusinfeksies in bome neig dieselfde te wees – sommige bome raak siek en ander lyk normaal. Hoekom?

Die gevolge van meeste infeksies hang van beide die patogeen en die boom af. Bome mag minder tekens ontwikkel as gevolg van hulle genetica of gesondheid. Selfs verskillende kultivars van dieselfde vrugtepe kan verskillend op infeksies reageer. Byvoorbeeld, Mallings- en Mallings-Mertononderstamme is tolerant vir apple stem grooving virus wat wel entlasmislukking by baie ander onderstamme veroorsaak. En plum viroid 1 veroorsaak verskillende vrugabnormaleiteite in verskillende pruimkultivars.

Bome onder ideale omstandighede sal minder tekens van infeksie toon as bome onder stres. Dit mag dalk verklaar waarom siektes soos pruimvermarmering in sekere jare meer opsigtelik as in ander is.

Omgewingstoestande kan ook direk met

patogene skakel. Byvoorbeeld, apple mosaic virus is gevoelig vir hoë temperature, so sieketekens vervaag na bewering in steenvrugte wanneer temperature ná die vroeë somer styg.

Net om dinge nog verder deurmekaar te krap is bome dikwels gelyktydig met twee of meer virusse geïnfecteer. En een verskil tussen virusinfeksies in bome en mense is dat infeksies in bome lewenslank is. 'n Geïnfecteerde boom mag dalk goeie jare hê waarin hy nie sieketekens wys nie, maar die virusse bly in sy weefsels.

En wat gebeur in die slegte jare? Virusinfeksies veroorsaak tipies verwronge en verkleurde blare. Die blare het dikwels wit of geel kolle of strepe. 'n Boom kan baie of min aangetaste blare hê. Boomgroei en oesgroottes kan wesenlik verminder.

Sommige virusse en viroïede tas vrugkwaliteit aan. Byvoorbeeld, apple chlorotic leafspot virus kan pruime en appelkose misvorm. Apple stem pitting virus veroorsaak peersteenpit, terwyl Prunus necrotic ringspot virus lei tot klein, verkleurde vrugte. En dan is daar natuurlik vermarmering en verkurking wat deur plum viroid 1 veroorsaak word.

Apple chlorotic leafspot virus, apple stem grooving virus, en apple stem pitting virus word ook met die mislukking van entlaste en oorgewerkte bome geassosieer.

Die gevolgtrekking

Bostaande inligting behoort 'n paar dinge duidelik te maak. Eerstens, die impak van virusinfeksies in vrugtebome wissel tussen nietig en rampspoedig. Tweedens, tekens van infeksie wissel geweldig vir enige gegewe virus maar kan ook dieselfde vir verskillende virusse wees.

Daarby kan bome met virusinfeksies dieselfde tekens toon as bome met ander probleme, byvoorbeeld voedingstekorte. Vir al hierdie redes is dit nie moontlik om 'n virus- of viroïedinfeksies in 'n steen- of kernvrugboom op grond van 'n visuele ondersoek te diagnoseer nie – toetse is onontbeerlik.

Die enigste manier waarop produsente die risiko van hierdie virus- en viroïedinfeksies in hulle boorde kan bestuur is deur slegs bome wat gemaak is van plantmateriaal wat negatief getoets het te plant. Daar is geen antivirale middels of entstowwe vir steen- en kernvrugbome nie. ➤





VIRUSSE in berekening



Die finansiële implikasies van siektes strek verder as wat mense soms dink.

Dis maklik om die koste van infeksies te bereken wanneer hulle siektes of sterftes veroorsaak. Maar virusse en viroïede van vrugtebome maak selde hulle gashere dood en geïnfekteerde bome toon nie altyd duidelike siektetekens nie. So waarom is hierdie infeksies van belang? Daar is hoofsaaklik vyf redes.

1. Direkte verliese

Virusinfeksies veroorsaak direkte verliese wanneer bome vrek of vrugte aangetas word. Byvoorbeeld, apple chlorotic leafspot virus, apple stem grooving virus, apple stem pitting virus, prune dwarf virus, en Prunus necrotic ringspot virus kan almal swak ent-lasse in vatbare kultivars veroorsaak.

Prunus necrotic ringspot virus en prune dwarf virus kan ook die vat van geënte ogies verminder. In sekere gevalle het infeksies van die bo- of die onderstam die vat van amandel-ogies met soveel as 50% verminder. 'n Duitse studie het gevind dat virusinfeksies die oorlewing van ogies in appelkwekerye met soveel as twee-derdes verminder het.

Peersteenpit wat deur apple stem pitting virus veroorsaak word is 'n voorbeeld van vrugteskade as gevolg van 'n virusinfeksie. Aangestane perei is misvorm met 'n sanderige tekstuur. Tot 94% van die vrugte op 'n geïnfekteerde boom kan in 'n slegte jaar geïmpakkeerd wees.

In Suid-Afrika veroorsaak plum viroid 1 sporadiese verliese as gevolg van vermarmering in sommige pruimkultivars. Geïnfekteerde bome lyk gesond maar 'n gedeelte van die oes is onbemarkbaar as gevolg van abnormale vrugvoorkoms en -kwaliteit. Vermarmering blyk verband te hou met omgewingstres – 'n patroon wat ook by vele virusinfeksies gesien word.

2. Verminderde groei en opbrengste

'n Gebrek aan groeikrag is waarskynlik 'n meer belangrike – en minder bekende – gevolg van virusinfeksies in sagtevrugtebome as wat direkte verliese is. Een rede is dat dit moeilik kan wees om swak boomprestasie as gevolg van infeksies te onderskei van ander oorsake soos droogtes. Nog 'n rede is dat die gevolge van infeksie kan verskil na gelang van kultivar.

Byvoorbeeld, navorsers het gevind dat infeksie met apple mosaic virus oeste met 40–50 % in Golden Delicious en Red Delicious verlaag het, terwyl oeste in McIntosh met minder as 10% verlaag was.

Gelyktydige infeksies met veelvuldige virusse kompliseer dinge verder. Perskebome met Prunus necrotic ringspot virus-infeksies het oesverlagings van 18% gehad, maar bome met beide hierdie virus- en prune dwarf virus-infeksies het verlagings van 30% gehad. Ander studies het gevind dat opbrengste met tot 60% verlaag was in perskebome wat beide infeksies gehad het.



> Swak groei in geïnfecteerde bome is deur baie navorsers berig. Duitse appelbome wat met apple mosaic virus geïnfecteer is, het 40% minder oor vyf jaar gegroei as ongeïnfecteerde bome. 'n Nieu-Seelandse studie het gevind dat Freyberg appelbome wat met apple mosaic virus geïnfecteer is 42% minder hout oor 12 jaar geproduseer het as ongeïnfecteerde bome. Golden Delicious is een van Freyberg se ouers.

Effekte op opbrengste is ook in Nieu-Seeland gevind. In hierdie projek het Jonathan appelbome kleiner vrugte gehad wanneer hulle matige tot erge mosaïektekens getoon het as wanneer hulle min of geen tekens getoon het nie.

Virusinfeksies kan ook die groei van kwekerybome belemmer. Byvoorbeeld, eksperimentele infeksies van kwekerybome met apple stem grooving virus het boomhoogte met gemiddeld 23% en stamomtrek met gemiddeld 14% verminder in vergelyking met ongeïnfecteerde kontrolebome. Golden Delicious was die ergste aangetaste kultivar in hierdie proef, met 'n 64% vermindering in hoogte en 'n 43% vermindering in stamomtrek.

3. Verlaagde oorlewing

Bome wat nie presteer nie kan kort lewens hê wanneer produsente se geduld opraak. Maar virusinfeksies kan ook op sigself boomoorlewing verminder. Byvoorbeeld, tot 80% van bome het gevrek in een studie waar vier persiekultivars met beide Prunus necrotic ringspot virus en prune dwarf virus geïnfecteer was.

Nog 'n voorbeeld van verkorte lewensduur is oorwerksiekte – die agteruitgang van appelbome binne 'n paar jaar na oorwerking. Apple chlorotic leafspot virus, apple stem grooving virus, en apple stem pitting virus is almal as oorsake van oorwerksiekte in Japan en Indië geïdentifiseer. Oorwerksiekte blyk

net sekere onderstamme te affekteer – bome op Malling- en Malling-Merton-onderstamme ontwikkel dit nie.

4. Bestuurskoste

Geïnfecteerde bome lyk dikwels gesond solank hulle geensins gestres word nie. Dit dui daarop dat die impak van virusse deur sorgvuldige bestuur versag kan word. Maar enige produsent weet dat perfekte voeding en besproeiing teen 'n prys kom – en dalk onmoontlik tydens droogtes kan wees.

Daarby kan geïnfecteerde bome nie noodwendig dieselfde oesladings hanteer as ongeïnfecteerde bome nie. En solank hulle leef is geïnfecteerde bome 'n potensiële bron van infeksie vir gesonde bome. Dis waarom die plant van getoetste virusvry bome steeds die beste strategie teen virusse bly.

In Suid-Afrika behoort plantmateriaal skoon van apple chlorotic leafspot virus, apple mosaic virus, apple stem pitting virus, apple stem grooving virus, prune dwarf virus, Prunus necrotic ringspot virus, en plum viroid 1 te toets. Hierdie virusse word gedek deur die Sagtevrugteplantsertifiseringskema.

Toetsing en sertifisering van plantmateriaal is 'n onvermydelike koste in 'n virusgeteisterde wêreld. Hierdie vorm van voorkoming is egter sonder twyfel meer winsgewend as om kronies geïnfecteerde bome te probeer pamperslang.

5. Kwarantyn

Virusse belemmer die beweging van plantmateriaal. Alhoewel verskeie virusse van steen-

en kernvrugte reeds in Suid-Afrika voorkom, is daar baie ander wat ons tot dusver ontduik het. Plum pox virus – die oorsaak van pruimpokke – is 'n goeie voorbeeld.

Pruimpokke word as een van die mees skadelike steenvrugsiektes beskou. In teenstelling met die virusse wat hierbo genoem is, kan plum pox virus deur plantluise sowel as plantmateriaal versprei word. Een studie wat in 2006 gepubliseer is, het die wêreldwye koste van pruimpokke oor die laaste 30 jaar op meer as EUR 10 miljard geskat.

Pruimpokke veroorsaak onbemarkbare vrugte. Omdat die virus nog nie orals voorkom nie is dit 'n kwarantynsiekte in sekere lande en affekteer gevolglik handel.

Siektes soos pruimpokke is een rede waarom die invoer van plantmateriaal streng gereguleer word. Alhoewel ons sagtevrugtebedryf sonder twyfel teen nuwe siektes en plae beskerm moet word, is daar kostes verbonde aan kwarantyn- en beheermaatreëls.

Baie van die syfers vir verminderde boomprestasie as gevolg van virusinfeksies is dekades oud, soos byvoorbeeld 'n Suid-Afrikaanse publikasie van 1949 wat oesverlagings van 'n derde in appelbome met apple mosaic virus-infeksies rapporteer.

Meer onlangse verslae is skaars omdat die toetsing en sertifisering van plantmateriaal 'n standaardpraktyk in meeste lande geword het en sodoende menigte produsente teen verliese beskerm het. Die sukses hiervan het egter nou 'n nuwe risiko geskep – dat ons begin om soveel op die koste van beheer te fokus dat ons van die veel hoër prys van siektes vergeet. <

Navorsers het gevind dat infeksie met apple mosaic virus oeste met 40-50 % in Golden Delicious en Red Delicious verlaag het





VIRUS TOETSE **verduidelik**

Positiewe en negatiewe resultate word deur kleurverandering in die ELISA toets aangedui.

Virusse en viroïede kan vir steen- en kernvrugprodusente ernstige finansiële skade berokken. Die beste manier om hierdie risiko te bestuur is deur boorde met gesonde bome te vestig – maar bome kan geïnfekteer wees sonder om tekens te toon. Dit is waarom toetse die enigste manier is waarop produsente hulself kan beskerm.

Vyf feite oor toetse

1. Die monster is nie die geheel nie

Goeie bemonsteringsprotokolle gebruik wetenskap en statistiek om 'n hoë waarskynlikheid van siektewaarneming te verseker maar daar bly steeds 'n kans dat 'n geïnfekteerde individu of bevolking negatief toets. Dit is omdat ons selde die hele individu of bevolking toets. Ons neem byvoorbeeld 'n monster van dele van plante – en dan ook net van sommige plante in die bevolking.

Oor die algemeen, hoe laer die aantal infeksies in 'n bevolking, hoe meer monsters is nodig om die infeksie waar te neem. Hou in gedagte dat suksesvolle siektebeheer lei tot minder infeksies, en dus moontlik ook die toets van meer monsters verg.

2. Geen toets is volmaak nie

Die prestasie van 'n toets kan aan sy sensitiwiteit en spesifisiteit beoordeel word. Sensitiwiteit is die vermoë van die toets

Het jy gedink ELISA is die bure se dogter en RT-PCR is 'n nuwe steenvrugonderstam? Dan is hierdie artikel vir jou.

om baie lae vlakke van die teikenpatogeen op te spoor. Spesifisiteit is die vermoë van die toets om sy teikenpatogeen van ander patogene te onderskei. Die volmaakte toets sou 100% sensitief en 100% spesifiek wees – maar daar bestaan nie volmaakte toetse in die werklike lewe nie.

Figuur 1 verduidelik die wisselwerking tussen sensitiwiteit en spesifisiteit. Oor die algemeen, hoe meer sensitief 'n toets is, hoe groter is die risiko van 'n vals positiewe resultaat, en hoe

meer spesifiek, hoe groter die risiko van 'n vals negatiewe resultaat.

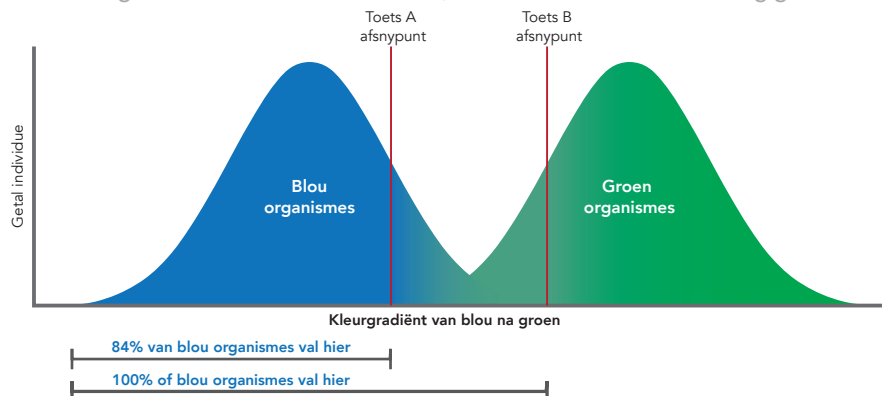
3. Patogene kan verander

Patogene soos virusse muteer mettertyd en nuwe stamme vervang oues. 'n Toets wat vir 'n ou stam gewerk het sal nie altyd betroubaar vir 'n nuwe stam wees nie. Soortgelyk aan die antivirus sagteware op jou rekenaar moet toetse vir plantpatogene gereeld op datum gebring word.

FIGUUR 1: Die wisselwerking tussen sensitiwiteit en spesifisiteit

Twee toetse – A en B – kan 'n denkbeeldige blou organisme op grond van sy kleur identifiseer. **Toets A** is 100% spesifiek. Dit is baie streng oor wat as blou tel en sal nooit 'n groen organisme blou noem nie. Maar daarby sal dit die 16% van blou organismes wat blougroen is mis. **Toets B** is 100% sensitief. Dit tel enige graad van blouheid op en sal dus nooit 'n blou organisme mis nie. Maar gevolglik sal dit ongeveer 16% van groen organismes wat blougroen is as blou klassifiseer.

Die syfers vir werklike toetse en werklike organismes sal afhang van die tegnologie en hoe na die organismes aan mekaar verwant is, maar die basiese wisselwerking geld steeds.

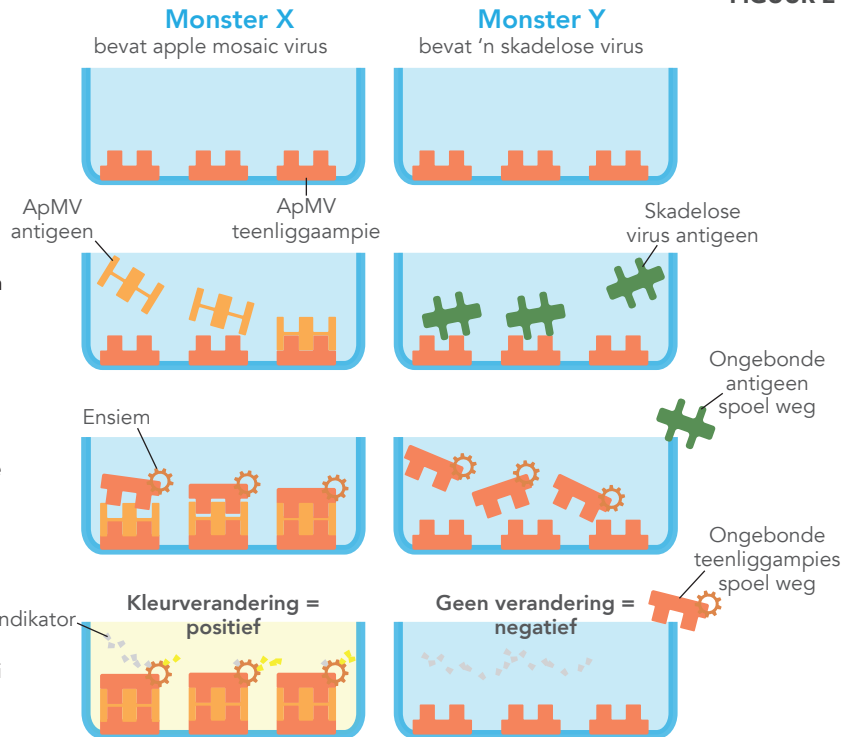


FIGUUR 2

ELISA

IN 4 STAPPE

- 1 Heg apple mosaic virus — ApMV — **teenliggaampies** aan twee houters vas.
- 2 Voeg **antigene** wat uit die monsters getrek is by die verskillende houters. Monster X bevat ApMV en monster Y bevat 'n skadelose virus. ApMV teenliggaampies bind aan die ApMV antigene in monster X maar nie aan die skadelose virus se antigene in monster Y nie.
- 3 Verwyder ongebonde antigene. Voeg ensiem-gekoppelde teenliggaampies by. **Ensieme** kataliseer — versnel — chemiese reaksies. Ensiem-gekoppelde teenliggaampies bind aan die ApMV antigene in monster X.
- 4 Verwyder ongebonde ensiem-gekoppelde teenliggaampies. Voeg **indikator** by. Die ensiem verander die indikator van kleurloos na geel en dui so 'n positiewe ApMV resultaat aan.



4. Jy kry slegs waarvoor jy soek

Met die uitsondering van hoëdeurvoer-volgordebepaling sal al die toetse wat hieronder bespreek word slegs die patogene opspoor waarvoor hulle ontwerp is. Byvoorbeeld, daar is onlangs gevind dat bome wat negatief getoets het vir die ses virusse wat deur die Sagtevrugteplantertifiseringskema gedek word met plum viroid 1 – die oorsaak van vermarmering – geïnfekteer is. Die bome is nie voorheen hiervoor getoets nie omdat niemand geweet het dat plum viroid 1 bestaan nie.

Plum viroid 1 word nou in die Skema ingesluit, maar is waarskynlik nie die laaste nuwe patogeen wat vrugtebome sal tref nie.

5. Dinge kan verkeerd loop

Soos alles in die lewe kan toetse skeefloop as gevolg van menslike foute. Die beste manier om hierdie risiko te verminder is om te hou by erkende laboratoria's wat verkieslik deur SANAS – die Suid-Afrikaanse Nasionale Akkrediasie Stelsel – geakkrediteer is.

Waarvoor toets toetse?

Die toetse wat hieronder bespreek word, word in Suid-Afrika gebruik om virusse en viroïede

op te spoor. Daar is ses virusse en een viroïed wat deur die Sagtevrugteplantertifiseringskema gedek word omdat hulle in Suid-Afrika voorkom en ekonomiese gevolge het.

Vele ander belangrike virusse en viroïede kom nie in Suid-Afrika voor nie. Die toets van ingevoerde plantmateriaal help om hulle uit te hou.

Alle virusse bevat genetiese materiaal binne 'n proteïenomhulsel. Toetse vir virusse kan dus op óf die genetiese materiaal óf die proteïene gerig wees. Viroïede het nie 'n proteïenomhulsel nie so toetse vir viroïede is slegs op hulle genetiese materiaal gerig.

Hoekom maak dit saak? Omdat dit 'n sleutelverskil tussen ELISA en PKR verklaar. ELISA-toetse is gegrond op virusproteïene terwyl PKR virus of viroïed genetiese materiaal optel. LAMP toetse en hoëdeurvoer-volgordebepaling is ook op genetiese materiaal gemik.

Geen van hierdie tegnologieë word uitsluitlik gebruik om na virusse en viroïede in vrugtebome te soek nie. Hulle word daagliks regoor die wêreld toegepas om allerlei biologiese monsters vir diagnostiek en navorsing te toets.

ELISA

ELISA is kort vir ensiemgekoppelde

immuunsorberende toets, 'n laboratorium staatmaker wat al vir meer as 50 jaar gebruik word. ELISA is beskikbaar vir apple chlorotic leafspot virus, apple mosaic virus, apple stem grooving virus, prune dwarf virus, en Prunus necrotic ringspot virus.

Die vermoë van teenliggaampies om aan antigene te bind is die onderliggende meganisme van ELISA. Teenliggaampies is proteïene wat deur die immuunstelsel gemaak word. Hulle herken vreemde stowwe soos virusse en bakterieë in die liggaam en help om dit te inaktiveer.

Antigene word in terme van hulle verhouding tot teenliggaampies gedefinieer – 'n antigeen is iets waaraan 'n teenliggaampie bind. Sekere immuunselle bind ook antigene.

Die sleutel tot die ELISA is teenliggaampie spesifiteit. 'n Teenliggaampie sal slegs met 'n spesifieke antigeen bind net soos 'n sleutel slegs 'n spesifieke slot sal oopsluit. Wetenskaplikes kan teenliggaampies teen spesifieke virusproteïene vervaardig en dan gebruik in 'n ELISA gemik op daardie virus.

Daar is geweldig baie variasies van die basiese ELISA maar die fundamentele konsepte is dieselfde vir almal. Figuur 2 wys hoe 'n dubbelteenliggaampie-invoeg ELISA



> werk. Hierdie metode word algemeen vir die toets van plantvirsse in Suid-Afrika gebruik.

PKR

Die ontwikkeling van die polimerasekettingreaksie – PKR – bykans 40 jaar gelede was van aardskuddende belang in biologie. PKR is vandag betrokke in als van forensiese televisiedramas soos CSI tot

planne om die uitgestorwe mammoet weer in die lewe te bring.

Wat betref die sagtevrugtebedryf word PKR gebruik om vir apple chlorotic leafspot virus, apple mosaic virus, apple stem grooving virus, apple stem pitting virus, prune dwarf virus, Prunus necrotic ringspot virus, en plum viroid 1 te toets.

PKR werk omdat DNA gewoonlik uit twee komplementêre stringe bestaan. Enige van die twee stringe kan as 'n templaar dien om die ander string te herskep. Die PKR-proses skei die dubbelstring-DNA in twee stringe en maak dan twee afskrifte van die oorspronklike DNA daaruit.

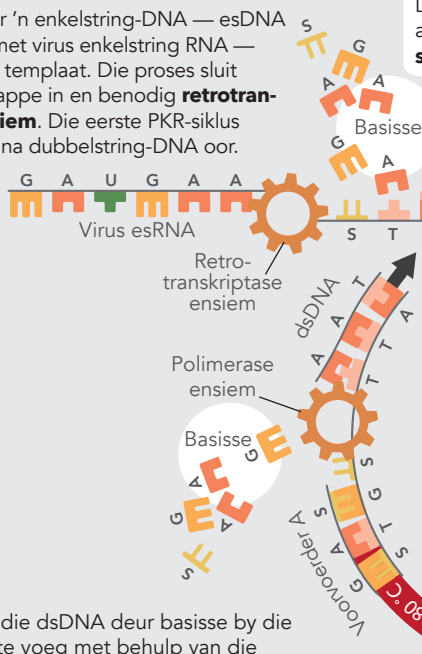
FIGUUR 3

RT-PKR IN 4 STAPPE

Wat is...?

- PKR = Polimerasekettingreaksie
- RT-PKR = Retrotranskriptase-PKR
- Intydse PKR = PKR intyds gemoniteer
- kPKR = Kwantitatiewe-PKR

1 Sintetiseer 'n enkelstring-DNA — esDNA — kopie met virus enkelstring RNA — esRNA — as a templaar. Die proses sluit veelvuldige stappe in en benodig **retrotranskriptase ensiem**. Die eerste PKR-siklus skakel esDNA na dubbelstring-DNA oor.



4 Verleng die dsDNA deur basisse by die esDNA te voeg met behulp van die **polimerase ensiem**. Die volledige dsDNA kan nou 'n nuwe siklus begin om nog meer dsDNA te sintetiseer.

Van amplifikasie na resultaat As die voorvoerder die komplement is van die DNA in die monster sal elke PKR-siklus twee nuwe dsDNA-kopieë genereer. 'n Tipiese PKR-reaksie van 30 siklusse sal ongeveer 1 miljard dsDNA-afskrifte per templaar produseer. Dit heet **amplifikasie**.

Amplifikasie kan op verskeie maniere gemeet word. In konvensionele PKR word die groottes van die geamplifiseerde DNA stringe met kontroles vergelyk deur middel van gelelektroforese wat na die PKR uitgevoer word. In intydse-PKR word amplifikasie tydens die PKR-proses gemeet.

Nota Alhoewel die beginsels vir alle PKR dieselfde is, sal die besonderhede verskil van toets na toets, afhangende van faktore soos monstertipe, voorvoeders en polimerase ensien.

RNA teenoor DNA Beide bestaan uit kettings van molekules wat basisse heet. RNA het gewoonlik een string. Die RNA-basisse is

- Adenien
- Uraziel
- Guanien
- Sitosien.



DNA het twee stringe. Dit het ook die basisse A, G, and S, maar in stede van U het dit Timien.



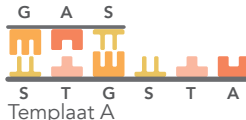
Die twee stringe in DNA word deur verbindings tussen teenoorgestelde basispare aanmekeer gehou. A bind altyd aan T. G bind altyd aan S. Dit beteken dat **enige string DNA kan gebruik word om die dubbelstring te herskep**.

2 Verhit om **dsDNA** — dubbelstring-DNA — na twee stringe esDNA wat beide as template vir nuwe dsDNA kan dien af te breek. Hierdie stap word denaturasie genoem.

3 Voeg **voorvoeders** vir elke string esDNA by. Voorvoeders is kort reekse basisse wat aan die templaar esDNA bind.

Die rol van voorvoeders Nuwe dsDNA word van templaar esDNA gesintetiseer deur 'n nuwe tweede string DNA met behulp van polimerase ensiem te bou. **Voorvoeders** verskaf 'n beginpunt vanwaar polimerases nuwe basisse byvoeg — polimerase kan nie sonder 'n voorvoerder begin nie. 'n Voorvoerder bind slegs aan komplementêre basisse.

Voorvoerder bind



Voorvoerder bind nie



As die DNA- of RNA-volgorde van die virus — of ander teiken — bekend is kan ons voorvoeders ontwerp wat slegs aan daardie DNA-volgorde bind met gevolg dat **slegs teiken-DNA tydens die PKR geamplifiseer word**.

➤ Doen dit nog 'n maal en die twee afskrifte word vier. Doen dit 30 maal en jy sit met 1 miljard afskrifte – dit word amplifikasie genoem. Sulke groot hoeveelheid DNA kan met deur middel van jelelektroforese gesien word.

Die rede waarom PCR so handig is, is omdat mens kan beheer watter DNA geamplifiseer word. Byvoorbeeld, as jy 'n plantmonster vir apple mosaic virus wil toets, kan jy 'n PCR ontwerp wat slegs daardie virus amplifiseer, en ander virusse asook plant-DNA ignoreer.

Wanneer die teiken RNA in stede van DNA het – soos die geval vir baie virusse is – moet die RNA eers in DNA omskep word. PCR metodes wat hierdie stap insluit word retrotranskriptase- of trutranskriptase-PCR – RT-PCR – genoem. Sien figuur 3 vir meer besonderhede.

LAMP

LAMP staan vir lugmedieerde isotermiese amplifikasie. Die beginsels van DNA amplifikasie is dieselfde as vir PCR, maar

LAMP gebruik 'n ander strategie vir amplifikasie. LAMP toetsing is tans slegs vir plum viroid 1 in Suid-Afrika beskikbaar, en nie vir enige ander plantvirusse- of viroïede nie.

Die DNA wat deur LAMP geproduseer word kan deur gekleurde pH-indikators of fluoesserende kleurstowwe aangewys word. Die pH-afhanklike kleurverandering kan met die oog gesien word, terwyl die fluoesserende kleurstowwe met instrumente gemeet moet word. Hierdie instrumente verskil in kompleksiteit en prys.

Een voordeel van LAMP bo PCR is dat monstervoorbereiding vir LAMP eenvoudiger en dus goedkoper is.

Hoëdeurvoer-volgordebepaling

Hoëdeurvoer-volgordebepaling – HDS – staan ook as volgende-generasievolgordebepaling bekend en is 'n metode om die volgorde van basisse in al die DNA-molekules in 'n monster te bepaal. DNA het vier basisse – dis amper soos 'n alfabet met net vier letters – wat die instruksies om 'n organisme te bou

uitspel. Die instruksies om 'n mens te bou is natuurlik anders as dié om 'n peerboom te bou en dus verskil hulle genome.

Daar is baie praktiese toepassings vir die bepaling van genoomvolgordes. Byvoorbeeld, potensiële patogene kan uitgesnuffel word deur monsters van siek en gesonde individue te toets en te sien watter genetiese materiaal in die siekes voorkom, maar nie in die gesondes nie. Dit is hoe plum viroid 1 ontdek is.

HDS verskil van meeste ander toetse omdat dit nie-spesifiek is. Waar PCR slegs teikens sal vind waarvoor die toets ontwerp is, kan HDS moontlik voorheen onbekende patogene ontdek – soos in die geval van plum viroid 1.

Die nadeel van HDS is dat interpretasie van die resultate moeilik is en spesialis-analise van verwysingsgenome, wat nie altyd beskikbaar is nie, vereis. HDS is ook tydrowend en duur. Dit is dus nie ideaal vir die toets van groot getalle monsters nie. ➤

Tabel 1 Opsomming van verskillende toetse wat vir plantvirusse gebruik word

	ELISA	PCR	LAMP	HDS
Volle naam	Ensiemgekoppelde immuunsorberende toets	Polimerasekettingreaksie	Lugmedieerde isotermiese amplifikasie	Hoëdeurvoer-volgordebepaling
Engelse naam	Enzyme-linked immunosorbent assay	Polymerase chain reaction	Loop-mediated isothermal amplification	High-throughput sequencing
Teikentipe	Virusproteïene	Virus en viroïed genetiese materiaal	Virus en viroïed genetiese materiaal	Virus en viroïed genetiese materiaal
Hoofgebruik	Toetse	Toetse en navorsing	Toetse	Navorsing. Minder dikwels toetse.
Goed vir baie monsters?	Ja	Intydse PCR: Ja. Konvensionele PCR: Minder so.	Ja	Nee
Sensitiwiteit	Matig	Baie goed	Baie goed	Baie goed
Spesifisiteit	Goed	Goed	Kan uitstekend wees	Nie van toepassing
Voordele	Maklike monstervoorbereiding en robuuste toetsmetode	Relatief robuuste toetsmetode	Minimale monstervoorbereiding	Kan onbekende patogene vind
Nadele		Monster voorbereiding en toerusting is duur	Geneig tot vals positiewe as gevolg van kontaminasie	Resultate neem lank. Baie duur toerusting.
Nota oor toetsvariëteite		Retrotranskriptase stap benodig vir RNA teikens*.	Retrotranskriptase stap benodig vir RNA teikens*. Konvensionele LAMP is tegnies uitdagend. Retrotranskriptase-LAMP is meer betroubaar maar verg duur toerusting.	
KOSTE	\$\$	\$\$\$	\$\$	\$\$\$\$

*geld vir alle virusse en viroïede wat deur die Sagtevrugteplantsertifiseringskema gedek word.