

NAVORSING OOR DIE BETROKKENHEID VAN PLANTPATOGENE SWAMME BY INDRINGERBOSAFSTERWING

G. HOLZ en W. SCHREUDER

UNIVERSITEIT VAN STELLENBOSCH, DEPARTEMENT PLANTPATOLOGIE
7600 Stellenbosch, Republiek van Suid-Afrika

Wenn ein Pflanzenpathologe mit dem Massensterben einer Pflanzenart zu tun bekommt, wie in dem Fall der Hakendornakazie, folgt er festen Richtlinien, um die Ursache der Krankheit zu bestimmen. In diesem Artikel werden diese Richtlinien kurz beschrieben und die heutige Forschung über die Buschsterbe besprochen.

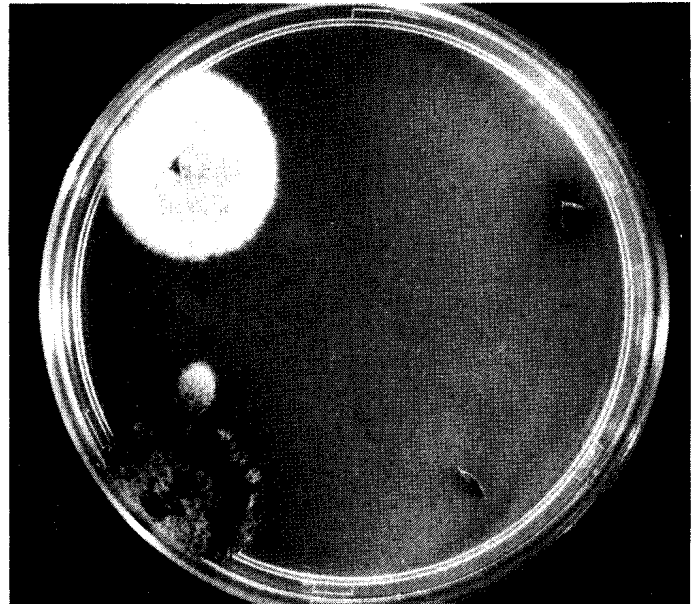
Wanneer die plantpatoloog te doen kry met die grootskaalse afsterwing van 'n plantsoort, soos die van swarthaakbosse, is daar vaste riglyne waarvolgens hy te werk sal gaan om die oorsaak van die siekte te bepaal. In die artikel word die riglyne kortliks verduidelik en huidige navorsing oor indringerbosafsterwing bespreek.

Siekte en die konsep van etiologie (oorsaaksleer)

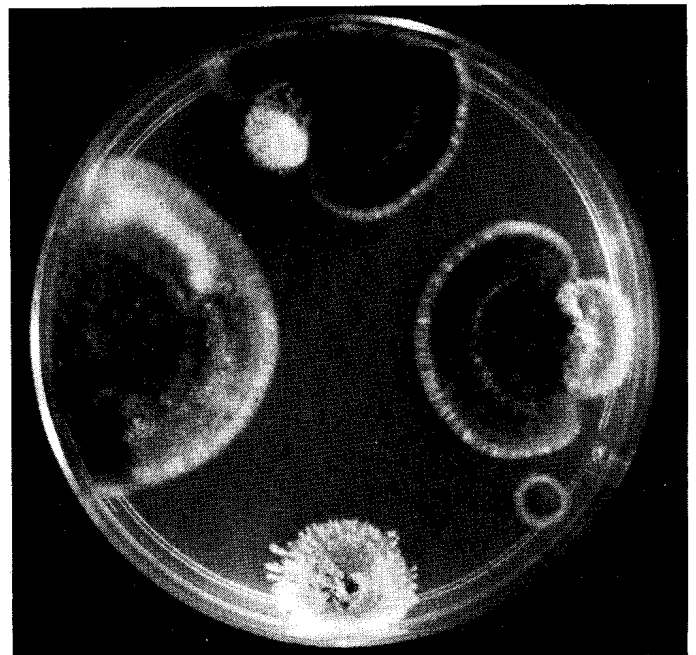
Ten spyte daarvan dat die vakgebied plantpatologie oor die afgelope paar dekades tot 'n selfstandige basiese wetenskap ontwikkel het, is dit vandag steeds onmoontlik om 'n siek plant omvattend te definieer. Die rede hiervoor is dat begrippe soos gesond, siek, normaal en abnormaal relatief tot mekaar is. Die volgende definisie word egter algemeen aanvaar: siekte is 'n afwyking van die normale toestand van die lewende plant of sy orgaan of enige van sy komponente, wat 'n onderbreking of verandering van sy normale funksies tot gevolg het en wat 'n reaksie is op die inwerking van omgewingsfaktore (bv. oormaat of tekorte van water, minerale en elemente, te hoë of te lae temperature), spesifieke infektiewe organismes (bv. insekte, nematodes en mikroörganismes soos swamme, bakterieë, of virusse), inherente defekte van die plant of 'n kombinasie van die faktore.

Die onderbreking van die normale funksies deur enige van bogenoemde faktore onderwerp die plant aan 'n sekere mate van spanning, ook stres genoem. Die stres kan of elasties (omkeerbaar) of plasties (onomkeerbaar) wees. Beide tipes van stres veroorsaak sellulêre beskadiging. In die geval van elastiese stres sal die plant na opheffing van die stresfaktor herstel, terwyl daar in die geval van plastiese stres 'n permanente letsel vorm. Plante kan egter slegs op 'n beperkte aantal maniere op sellulêre beskadiging reageer en 'n sogenaamde siektesimptoom toon. Die simptome is blaarvergeling, blaarnekruse, blaarval, verdwering, verwelking en terugsterwing van takke of lote.

Uit die voorafgaande is dit duidelik dat verskillende faktore 'n spesifieke siektetoestand, soos bv. blaarvergeling kan veroorsaak. Terselfdertyd kan meer as een faktor gelyktydig op die plant inwerk en sal die gesamentlike effek blaarvergeling wees. Dit het tot gevolg dat die diagnose van 'n siekte geen maklike taak is nie en slegs volgens wetenskaplik-gefundeerde beginsels aangepak moet word. Wanneer die vermoede bestaan dat 'n mikroörganisme die siekte veroorsaak, is dit die taak van die plantpatoloog om dit korrek te diagnoseer en navorsing oor die veroorsakende organisme(s) en die interaksie tussen die mikroörganisme(s) en die plant uit te voer. Op dieselfde grondslag sal die insektekundige in die geval van insekte, en die grondkundige/plantfisioloog in die geval van grond-/voedingsfaktor opereer.



Figuur 1: Klein stukkie weefsel (3–5 mm) word op 'n geordende manier uit die binneste gedeeltes van aangetaste weefsel gehaal en op 'n voedingsmedium geplaas. Swamme teenwoordig in die weefsel groei dan uit en vestig op die voedingsmedium.



Figuur 2: Die voorkoms van verskillende swamme in weefsel-blokkies afkomstig van 'n enkele letsel dui daarop dat die organismes nie die siekte veroorsaak het nie, maar slegs die dooie weefsel gekoloniseer het.

Diagnose

Ten einde korrek te kan diagnoseer, moet die plantpatoloog 'n grondige kennis van plantpatogene organismes, die faktore wat die groei daarvan beïnvloed en die siektesimptome wat dit veroorsaak, hê. In die geval van 'n bekende gewas waarvan die meeste siektes, patogene en siektesimptome reeds beskryf is, is die diagnose gewoonlik maklik. In so 'n geval kan die strukture van die mikroörganisme, indien dit op die aangetaste weefsel teenwoordig is, vir bevestiging slegs onder die mikroskoop ondersoek word. Indien geen strukture teenwoordig is nie, kan klein stukkie van die aangetaste weefsel op 'n voedingsmedium geplaas word om sodoende aan organismes wat teenwoordig is in die weefsel, die geleentheid te gee om daaruit te groei en op die medium te vestig. Die veroorsakende organisme kan sodoende geïsoleer en geïdentifiseer word. In ander gevalle is die diagnose egter nie so eenvoudig nie. So byvoorbeeld mag dit 'n bekende gewas wees, maar die siektesimptome is nog nie beskryf of die veroorsakende organisme nog nie geïdentifiseer nie. In ander gevalle is die diagnose egter nie so eenvoudig nie. So byvoorbeeld mag dit 'n bekende gewas wees, maar die siektesimptome is nog nie beskryf of die veroorsakende organisme nog nie geïdentifiseer nie. In ander gevalle kan die simptome ooreenstem met die van 'n bekende siekte, maar deur 'n onbekende onverwante organisme veroorsaak word. Dit mag ook wees dat, alhoewel die simptome ooreenstem met dié veroorsaak deur 'n bekende patogeen, dit 'n abiotiese oorsprong het. Indien daar dus enige twyfel oor die oorsaaklike faktore bestaan, moet die navorser 'n spesifieke benadering volg om met sekerheid die biotiese oorsprong van die siekte te bewys en die patogeen te identifiseer. Om dit te kan doen moet 'n stel reëls, bekend as Koch se postulate, uitgevoer word. Dit behels die volgende:

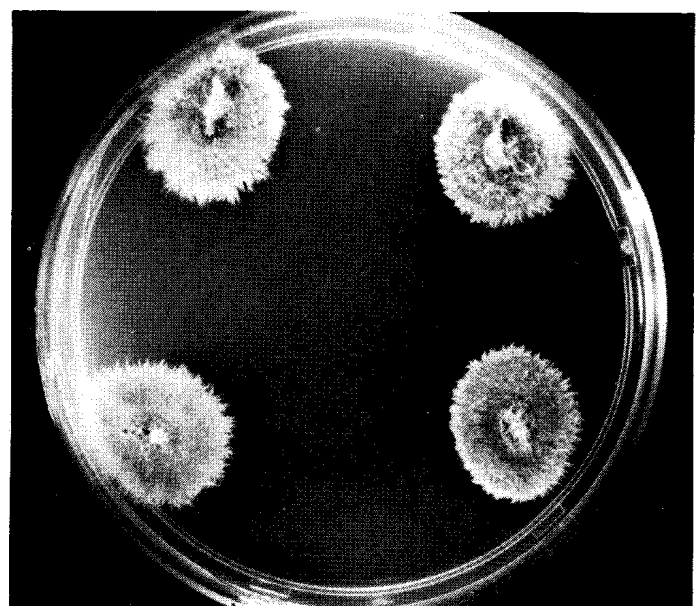
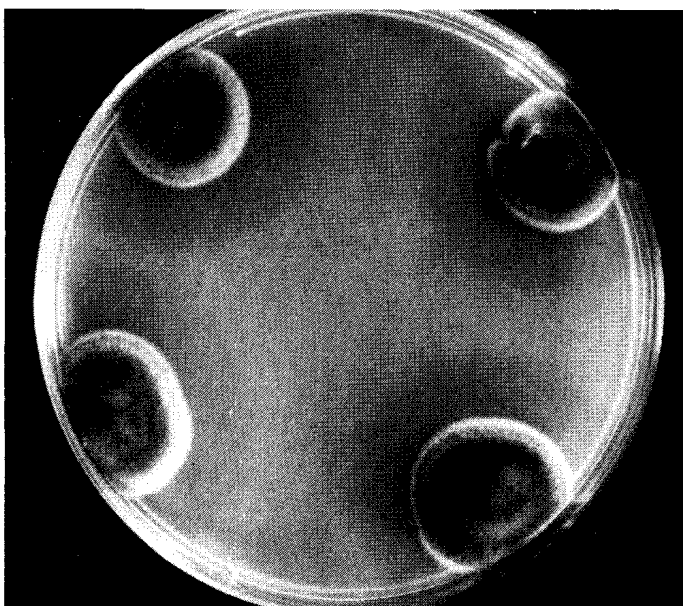
1. 'n Mikroörganisme moet konstant met die siekte geassosieer word.
2. Die mikroörganisme moet uit die aangetaste weefsel van die siek plant geïsoleer en in reinkultuur aangekweek word.
3. Wanneer 'n gesonde plant met die mikroörganisme geïnokuleer word, moet die ooreenstemmende siekte weer daarop ontwikkel.
4. Die ooreenstemmende mikroörganisme moet weer uit die aangetaste dele van die kunsmatig geïnokuleerde plant geïsoleer word.

Alhoewel die uitvoering van die reëls op die oog af betreklik eenvoudig blyk te wees, bied dit soms 'n groot uitdaging aan die navorser en is daar verskeie gevalle bekend waar dit jare van intensiewe navorsing verg voordat 'n patogeen op reinkultuur gekweek (reël 2) en die patogenseit daarvan bewys is (reël 3). Die rede hiervoor is dat sekere patogene komplekse voedings- en infeksievereistes het. Dit is dus betreklik eenvoudig om 'n bekende landboukundige gewas met 'n patogeen, waarvan die voedingsvereistes bekend is, en die infeksievereistes maklik nageboots kan word, kunsmatig te infekteer. Indien die voedings- en/of infeksievereistes egter onbekend is, is die uitvoering van kunsmatige infeksies 'n moeilike proses.

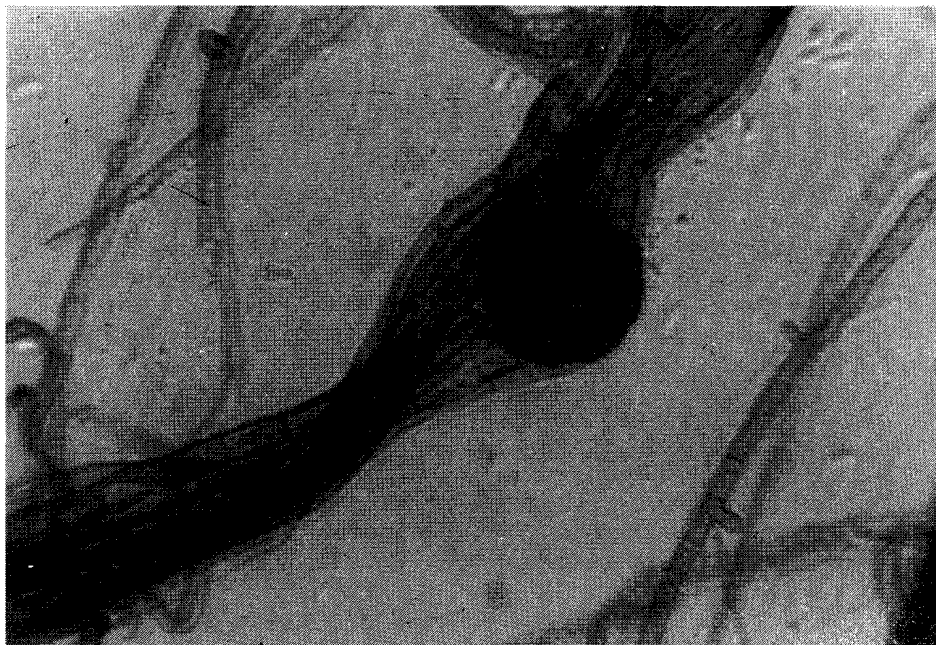
Gebrekkige kennis oor infeksievereistes kom gewoonlik in die geval van opportunistiese plantpatogene voor. Die rede hiervoor is dat die tipe patogene plante slegs onder spesiale toestande infekteer. Normaal-groeiende plante beskik gewoonlik oor genoegsame inherente weerstand om die patogene uit te sluit. Sodra die plant egter vir 'n sekere periode onder 'n bepaalde vorm van spanning (in dié geval predisponering genoem) verkeer, verminder die plant se weerstandvermoë tot so 'n mate dat die opportunist dit kan infekteer. Bekende predisponeringsfaktore is vogs spanning, ontblaring, te hoë of te lae temperature of kombinasies daarvan. Plante kan slegs suksesvol met die tipe organismes geïnfecteer word indien die relatiewe belang van die predisponerende faktore deeglik bekend is, en die korrekte spanningstoestand kunsmatig geskep kan word.

Die huidige projek

Gesien teen dié agtergrond, wat is reeds met navorsing oor indringerbosafsterwing bereik? Nadat navorsers van die Direktooraat Landbou van die Administrasie vir Blankes bevind het dat die siekte nie deur klimaats- of geo-morfologiese faktore veroorsaak word nie, is navorsing oor die moontlike inwerking van biotiese faktore begin. Vir die plantpatoloog is swarthaak egter 'n onbekende gewas waarop geen biotiese siekte nog gedokumenteer is nie. Die eerste fase van die ondersoek het dus 'n doelgerigte uitvoering van Koch se postulate behels. Aangetaste materiaal is in verskeie gebiede versamel en letterlik duisende isolasies daaruit gemaak. Klein stukkie platweefsel is asepties uit die binnekant van aangestaste dele geneem, op 'n voedingsmedium in petri-bakkies geplaas in broeikamers gelaat sodat mikroörganismes teenwoordig in die weefsel op die medium kon vestig. Die mikroörganismes is daarna mikroskopies vir verdere identifisering



FIGUUR 3: Twee vorms van die swam *Phoma* wat konstant uit dele van aangetaste weefsel geïsoleer word. Die feit dat slegs dié swam in die weefsel voorkom, is 'n goeie aanduiding dat die letsel deur dié organisme veroorsaak is.



FIGUUR 4: Die swam vorm buisvormige selle (swamdrade) wat oor die medium groei. In die lewende plant groei die swamdrade tussen die selle van die plantweefsel in waar dit dan skadelike stowwe uitskei wat die plantselle dood. Die swart struktuur is 'n jong vrugliggaampie waarin die voortplantingspore gedra word (400 x vergroot).

ondersoek. In sekere gevalle is die petribakkies met swamgroei aan spesiale behandeling blootgestel (bv. bestraling met naby-ultravioletlig) voordat die swam se kenmerkende voortplantingsstrukture, waaraan dit geïdentifiseer kan word, vorm. In die geval van bakterieë is die organismes aan die hand van geskikte biochemiese toetse onderskei.

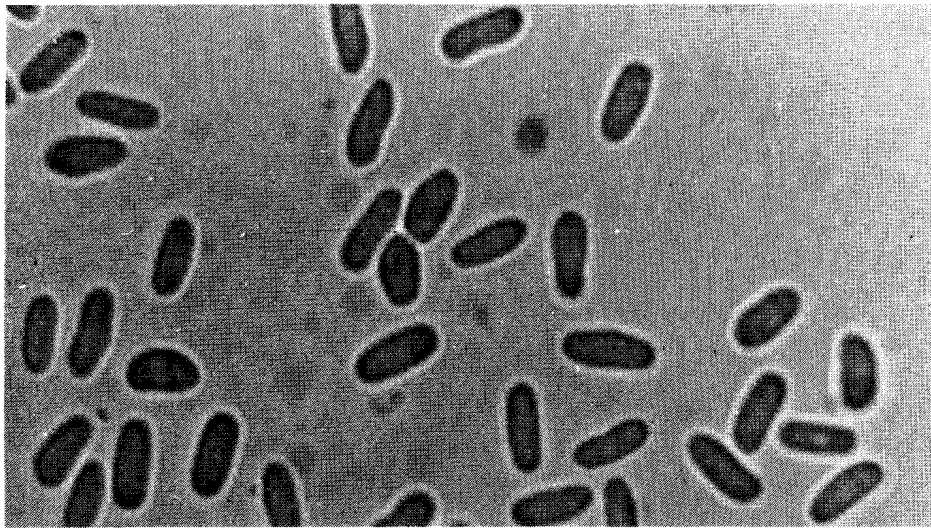
In die ondersoek is daar, afgesien van gewone saprofiete (organismes wat nie siektes veroorsaak nie), 24 potensiële plantpatogene swamme uit aangetaste weefsel geïsoleer. Die meerderheid van die swamme is reeds geïdentifiseer, terwyl enkele moontlik nuwe vorms is wat nog beskryf moet word. Een organisme, nl. die swam *Phoma*, is konstant in aangetaste weefsel aangetref — 'n aanduiding dat die swam moontlik die siekte kan veroorsaak. Dit is verder vasgestel dat dieselfde swam op die

saadhuid van swarthaaksade voorkom en op die kraaggedeelte (die oorgangsones tussen die wortel en die laer stam) van die ontwikkelende saailing vestig. Dit blyk egter dat ten minste sewe vorms van die swam in die aangetaste weefsel voorkom. Hierdie verskeidenheid kan aan natuurlike variasie toegeskryf word, 'n karaktertrek bekend aan die swam, of sekere isolate kan nuwe vorms van die swam wees. Die eerste twee reëls van Koch se postulate is dus suksesvol voltooi.

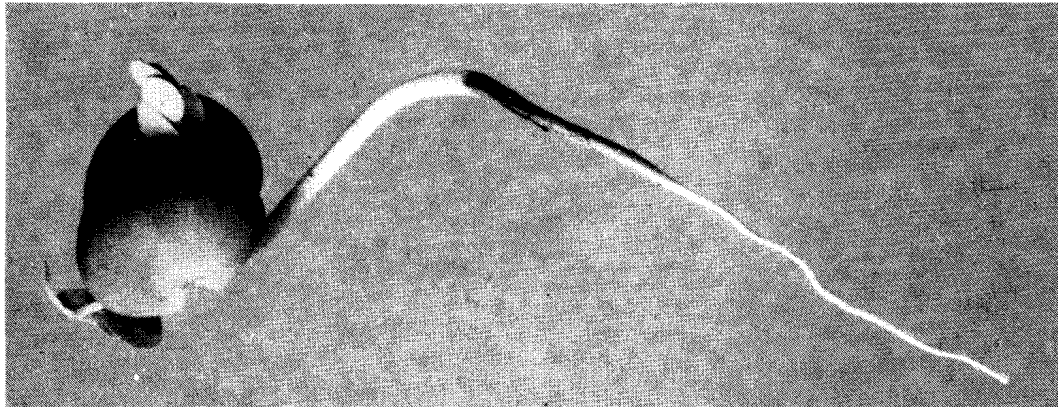
Ten einde die volgende twee reëls te volvoer, is plante onder verskillende toestande volgens verskillende metodes met die swamme geïnkuleer. Die vordering van die organismes in geïnkuleerde plante is daarna met tussenposes gevolg. Dit is vasgestel dat slegs die swam *Phoma*, en moontlik net twee van die verskillende vorms, patogenies kan wees. Volgens



FIGUUR 5: 'n Volwasse voortplantingsstruktuur, bekend as 'n piknidium, waaraan enkele swamdrade vasgeheg is. Voortplantingspore is besig om bo by die bek van die piknidium uit te beweeg (400 x vergroot).



FIGUUR 6: Voortplantingspore van die swam **Phoma** (1000 x vergroot). Die spore versprei d.m.v. wind of reëndruppels na ander plante, waar dit ontkiem, swamdrade vorm, die plant binnedring en die siekte veroorsaak.



FIGUUR 7: 'n Twee-weke-oue saailing (ongeveer 5 cm lank) wat op wateragar ontkiem het. Die patogeen, wat natuurlik op die saadhuid voorkom, het in die geval reeds die kraaggedeelte (die bruin nekrotiese gedeelte op die laer stam) van die ontwikkelende saailing geïnfekteer. Die saailing sterf dan mettertyd af. Gevalle kom egter voor waar slegs 'n oppervlakkige letsel vorm en die saailing nie afsterf nie. Die rol van die vroeë infeksies by siekteontwikkeling word tans ondersoek.



FIGUUR 8: Swart vrugliggame van die swam **Phoma** soos dit voorkom op die geïnfekteerde kraaggedeelte van 'n jong saailing.

prosedures gevolg in die ondersoek is die isolate nie aggressief nie, maar kan die swam eerder as 'n opportunistiese patogeen beskou word. Dit is dus duidelik dat die siekte 'n komplekse etiologie het, en dat die rol van die predisponerende faktore eers nagevors sal moet word.

Tans word proewe met jong gepotte plantjies onder glas-

huistoestande uitgevoer ten einde die effek van verskillende faktore soos vogspanning en ontblaring op infeksie te bepaal. Om die korrekte kombinasie van faktore, wat plante genoegsaam vir suksesvolle infeksie predisponeer, te vind, is egter 'n langsame proses. Heelwat navorsing sal dus nog uitgevoer moet word voordat die geheimenisse wat die siekte omsluit, opgeklar is.