ROLBLAAR BEHEERSTRATEGIE

8. MAAK VAN GESONDE VITIS-PLANTMATERIAAL BINNE DIE SUID-AFRIKAANSE WYNDRUIFSERTIFISERINGSKEMA

8.1 Uitskakeling van wingerd rolblaar-geassosieerde virus 3 (GLRaV-3) uit 'n besmette plant

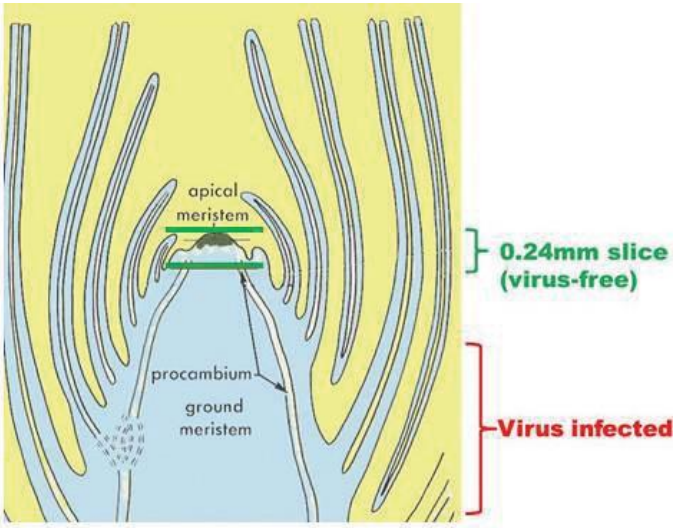
Daar is nie tans chemikalieë, gelykstaande aan swamdoders om swamme in die landbou te behandel, vir die grootskaalse eliminering van virusse in plante nie. Virusse kan egter teen 'n beduidende koste d.m.v. verskeie metodes uit individuele plante uitgeskakel word, vanwaar gesonde plante deur vegetatiewe wyses voortgeplant kan word.

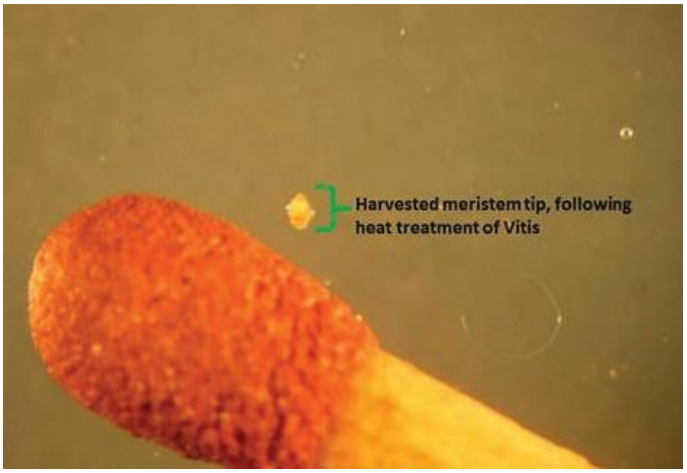
In Suid-Afrika word virusse primêr deur middel van hittebehandeling en meristeempuntkultuur uit gewenste kultivars en klone verwyder.

Hierdie proses behels die plasing van die *Vitis*-plant waaruit die virus verwyder moet word in 'n groeikamer teen 36-38°C vir 100 dae (Fig. 1). Onder hierdie toestande word virusvermeerdering en -beweging in die wingerdstok onderdruk en 'n virusvrye, aktiewe groeipunt van die stok word verkry (Fig. 2).

Figuur 1: Vitis-plante waarvan virusvrye meristeempunte geoes gaan word, bewaar teen 36-38°C vir 100 dae. (Beeld: Vititec)

Deur gebruik te maak van 'n ligmikroskoop word 'n 0.24 mm snit van die lootpunt gemaak (Fig. 2) en in weefselkultuur geplaas, vanwaar 'n hele plant gegenereer word (Fig. 3).





Figuur 2: Skematiese diagram van die deursnit van 'n meristeem van 'n *Vitis*-plant ná hittebehandeling (Beeld: Aangepas deur G. Pietersen, Oorspronklike beeld: Vititec)

Figuur 3: Maak van 'n hele nuwe plant (kernplant) vanaf 'n groeipunt van 'n plant wat aan hittebehandeling onderhewig was. (Beeld: Vititec)

Hierdie proses neem tussen 18 en 24 maande om voltooi te word.

Die weefselkultuurplantjies word afgehard en 'n aantal herhalings van die gegenereerde plant word in insekvrye kweekhuise geproduseer (Fig. 4). Hierdie plante word dan kernplantjies van daardie kultivar/kloon.

Figuur 4: Kernplantjies wat onder insekvrye kweekhuistoestande voortgeplant word. (Beeld: Vititec)

Om te verseker dat hierdie plantjies nie deur eksterne virusbronne besmet word nie, word kernplante in insekvrye kweekhuise onder baie streng sanitêre toestande met voorgeskrewe toegangsverbodsbepalings onderhou (Fig. 5).

Figuur 5: *Vitis*-kernplante wat in insekvrye kweekhuise onderhou word. (Beeld: Vititec)

Plantmateriaal wat deur hittebehandeling en meristeempuntkultuur gegaan het, maar nog nie vir alle virusse getoets is nie, staan bekend as kandidaat geregistreerde kernmateriaal. Plantmateriaal wat vir alle virusse getoets is en waarvan die uitslae negatief was vir virusse word dan geregistreerde kernmateriaal.

8.2 Toetse om die uitskakeling van GLRaV-3 te verseker

Om te verseker dat die kernplant wel virusvry is en om die kloon te registreer, word toetse vir rolblaar-geassosieerde virusse en 'n aantal ander virusse uitgevoer. Hierdie toetse sluit spesifieke laboratoriumtoetse vir die virusse in, óf word gedoen deur inokulasie op sensitiewe indikatorwingerdstokke wat duidelike virussimptome wys.

Cabernet franc kloon 1A word spesifiek gebruik om vir rolblaarsiekte te toets. Hierdie indikatorplante word vir drie jaar onderhou en jaarliks vir simptome gemonitor/ ondersoek.

Figuur 6: Rolblaarsimptome op Cabernet franc, 'n kultivar wat as indikatorplant vir dié siekte gebruik word. (Beeld: Ontario GrapelPM, www.omafra.gov.on.ca)

Laboratoriumtoetse vir rolblaar sluit 'n verpligte ensiem-gekoppelde immunosorberende toets (ELISA) vir GLRaV-1, -2 en -3 op kandidaatklone in. Vir geregistreerde klone sluit dit ook 'n verpligte immunosorberende elektronmikroskopie (ISEM) toets vir GLRaV-1, -2, -3 in, asook hardehout indeksering binne een jaar vandat die plante in kernblokke uitgeplant is.

Plantverbeteringsorganisasies sal soms die kandidaat of geregistreerde klone vir ander virusse, insluitende GLRaV-1, -2, of -3, opsioneel laat toets deur gebruik te maak van die meer sensitiewe, maar duurder, polimerase kettingreaksietoets (PCR).

Indien enige van die laboratoriumtoetse positief is, of die indikatorplante wys simptome, word die hele virus-elimineringsprosedure herhaal.

Plante wat deur ELISA,hardehout indeksering en ISEM negatief toets vir die voorgestelde virusse en bewys is om kultivar-eg te wees, word dan geregistreerde kernplante.

Kernplante word elke vyf jaar getoets vir GLRaV-1, -2 en -3 (en GVA en GVB) met ELISA om seker te maak hulle bly vry van hierdie virusse.

Indien enige kernplant enige simptome van enige siekte wys, enige abnormaliteite het, of positief toets in enige van die laboratorium virusopsporingstegnieke, word dit onmiddellik vernietig.

8.3 Voortplanting van plantmateriaal in grondves- en moederblokke

8.3.1 Grondvesblokke

Oë word van kernplante ingesamel en op gewortelde onderstokke in grondvesblokke geënt (Fig. 7).

Figuur 7: Veldenting met oë afkomstig van kernplante, op skoon onderstokke om grondvesblokke te vestig. (Beeld: Vititec)

Grondvesblokke kan kweekhuise/glashuise of veld-aanplantings wees en moet op 'n afstand van 3 m, soos voorgeskryf, van ander Vitis of ander plante geïsoleer word om herbesmetting van hierdie wingerd met rolblaar vanaf omringende wingerd te voorkom.

Grondvesblokke wat in die veld gevestig word, mag nie op grond gevestig word wat minder as 2 jaar braak gelê het, of voorheen met Vitis geplant was nie, behalwe as daardie grond voorheen ook grondvesstatus gehad het. Hierdie voorsorgmaatreël is om te verhoed dat hierdie wingerd deur rolblaar herbesmet word vanaf besmette oorblyfselwortels, opslagplante of oorblywende virusdraende witluise wat vanaf 'n vorige wingerd op daardie perseel afkomstig is.

Wingerdstokke in grondvesblokke moet gereeld deur ELISA vir GLRaV-1, -2 en -3 getoets word om te bevestig dat hulle vry van rolblaar gebly het.

Grondvesblokke word jaarliks tydens herfs deur opgeleide personeel vir rolblaarsimptome ondersoek (Fig. 8) voor die plantmateriaal vir grondvesgraad lootmateriaal geoes word. Dit word vir alle rooi druifkultivars gedoen. Alle wit kultivar grondvesblokke word op 'n stok vir stok basis deur ELISA toetse vir GLRaV-1, -2 en -3 getoets. Besmette wingerdstokke word gemerk (Fig. 9) en die plantmateriaal vanaf alle besmette stokke word in die winter verwyder (Fig. 10) voor plantmateriaal vanaf grondvesblokgraad stokke ingesamel word.

Figuur 8: Visuele ondersoek van grondvesblokke vir rolblaarsimptome en ander abnormaliteite in die herfs. (Beeld: G. Pietersen, LNR-NIPB)

Figuur 9: Rolblaarbesmette stokke word aan die einde van herfs met PVA-verf gespuit om hulle te merk. Soms word die lote dadelik (Fig. 10) van die stokke verwyder, maar meer algemeen gebeur dit eers na afloop van blaarval sodat lote vanaf hierdie stokke nie verwar word met lote wat vir plantmateriaaldoeleindes ingesamel word nie. (Beeld: G. Pietersen, LNR-NIPB)

Figuur 10: Rolblaarbesmette stokke word aan die einde van herfs met PVA-verf gespuit om hulle te merk. Soms word die lote dadelik (hierdie figuur) van die stokke verwyder, maar meer algemeen gebeur dit eers na afloop van blaarval sodat lote vanaf hierdie stokke nie verwar word met lote wat vir plantmateriaaldoeleindes ingesamel word nie. (Beeld: G. Pietersen, LNR-NIPB)

Rolblaarbesmette stokke (hetsy visueel vasgestel of deur middel van ELISA) moet uit hierdie blokke verwyder/ uitgetrek word om verdere verspreiding van rolblaar in hierdie blokke te bekamp.

Witluis, die vektor vir rolblaar, word in grondvesblokke beheer deur die toediening van 'n voorgeskrewe insekdoderprogram. Dit sluit in een toediening van 'n sistemiese insekdoder (Imidacloprid) binne die eerste seisoen ná vestiging, dan elke tweede seisoen daarna (vir bo- en onderstokmateriaal), asook 'n jaarlikse winter toediening van kontakinsekdoder (Chlorpyrifos/ Prothiophos; slegs vir bostokmateriaal).

Insekdoders met verskillende aktiewe bestanddele, waarvan een 'n organofosfaat is, moet afwisselend toegedien word om te voorkom dat die witluis weerstand teen die insekdoder opbou.

Kontakinsekdoders moet as 'n blaarbespuiting teen hoë watervolumes toegedien word om die wingerdstok ten volle te bedek.

Materiaal wat vanaf grondvesblokke versamel word, mag geen tekens van witluisbesmetting van die plantmateriaal toon nie.

Mierbeheer word ook in grondvesblokke voorgeskryf, aangesien miere geneig is om witluise teen hulle natuurlike vyande te beskerm.

Grondvesblokke word sover moontlik onkruidvry gehou sodat die onkruid nie as alternatiewe gasheer vir die witluis dien nie.

Om die beweging van witluise op implemente vanaf ander wingerde na die grondvesblokke te verhoed, moet al die implemente gewas word voor hulle in die grondvesblok gebruik word. Skêre moet ontsmet word en werkers moet nuwe/skoon oorpakke of klere aantrek.

Grondvesblokke verloor hulle status wanneer 3 % rolblaarbesmetting voorkom, waar of wanneer die produsent nie meer besmette stokke verwyder nie.

Onderstokgrondvesblokke het dieselfde voorvereistes as bostokgrondvesblokke, behalwe dat kontakinsekdoder nie toegedien word nie aangesien dit onprakties is om met implemente in onderstokblokke in te gaan wat nie opgelei is nie.

8.3.2 Moederblokke

Moederblokke mag slegs vanaf grondvesblokgraad plantmateriaal gevestig word en mag kweekhuis- of veld-aanplantings wees.

Indien daar voorheen 'n wingerd op die perseel was, moet alle oorblywende wortels en vorige *Vitis*-materiaal verwyder word oor 'n tydperk van een seisoen waarin die grond braak lê.

Moederblokke word van ander *Vitis* geïsoleer of deur 'n voorgeskrewe afstand van 3 m van omliggende wingerde geplant om die herbesmetting vanuit hierdie omliggende wingerd te verminder.

Die verminderde isolasie afstand van moederblokke word toegeskryf aan die feit dat die meeste moederblokke eintlik aktiewe kommersiële wingerde is vanwaar plantmateriaal met moederblokstatus ingesamel word.

Moederblokke van alle kultivars word jaarliks in die herfs vir rolblaarsimptome ondersoek. Dit word deur opgeleide personeel gedoen voor die insameling van plantmateriaal van moederblokgraad. Besmette wingerdstokke word gemerk (Fig. 9) en die plantmateriaal van al die gemerkte stokke, asook een stok aan elke kant van die besmette stokke, word verwyder (Fig. 10) voor die winterinsameling van moederblokstatus plantmateriaal.

Rolblaarbesmette wingerdstokke word in die eerste twee seisoene na vestiging uitgehaal en daarna word produsente op landgoedere waar moederblokke voorkom, versoek om besmette stokke uit te trek om die verdere verspreiding van rolblaar in hierdie moederblokke te voorkom. Laasgenoemde is egter 'n vrywillige praktyk en word nie deur alle produsente toegepas nie.

Lote mag nie meer vanaf moederblokke ingesamel word waar die voorkoms van rolblaar 5 % oorskry en moederblokstatus gevolglik verloor is nie. In die praktyk word daar egter nie meer lote ingesamel waar die voorkoms van rolblaar 3 % oorskry nie.

Witluismonitering in moederblokke word deur visuele inspeksie van die trossone van al die wingerdstokke (gewoonlik vyf) in 20 vakkies gedoen. Hierdie vakkies word eweredig oor 2 ha versprei, of pro rata indien die moederblok groter is en die aan- of afwesigheid van enige lewenstadium word aangeteken.

Witluis moet dadelik na hulle waarneming in moederblokke beheer word. Die hele moederblok moet met sistemiese en kontakinsekdoder behandel word soos op die etiket gespesifiseer word.

'n Kontakinsekdoder (Chlorpirifos) moet teen hoë volumes deur 'n blaarspuit toegedien word om te verseker dat die hele wingerdstok bedek word.

Materiaal wat vanaf moederblokke ingesamel word, mag tydens insameling geen tekens van witluisbesmetting van die plantmateriaal toon nie.

Mierbeheer word ook in moederblokke voorgeskryf, aangesien miere geneig is om witluise teen hulle natuurlike vyande te beskerm.

Om die beweging van witluise op implemente vanaf ander wingerde na die moederblokke te verhoed, moet al die implemente gewas word voor hulle in die moederblok gebruik word. Skêre moet ontsmet word en werkers moet nuwe/skoon oorpakke of klere aantrek.

Onderstokmoederblokke het dieselfde voorvereistes as bostokmoederblokke, behalwe dat kontakinsekdoder nie toegedien hoef te word nie aangesien dit onprakties is om met implemente onderstokblokke binne te gaan wat nie opgelei is nie.

8.4 Lae-risiko grondves- en moederblokke (stergraderingstelsel)

Aangesien grondves- en moederblokke dikwels oop aanplantings is en binne kommersiële druifverbouingsareas geleë is, word wingerdstokke in hierdie areas dikwels met rolblaar herbesmet. Alhoewel ELISA-toetse, die visuele inspeksie van simptome om die virusbesmetting te identifiseer, die uittrek van besmette wingerdstokke (in grondves blokke) en die afsny van besmette stokke se lote voor die insameling van plantmateriaal verhoed dat die meeste van die besmette plantmateriaal verder gebruik word, wys die vroeë stadium van besmetting met rolblaargeassosieerde virusse geen simptome nie en die virusvlakke is te laag om deur ELISA-toetse waargeneem te word. Gedurende hierdie sogenaamde latente fase van besmetting is dit moontlik dat plantmateriaal ingesamel word en per ongeluk vir die vestiging van nuwe wingerde gebruik word.

Om die probleem van herbesmetting van grondves fondasieblokwingerdstokke met rolblaar te oorkom en om die gevolglike moontlikheid van die gebruik van onopspoorbare latente besmette stokke te voorkom, is 'n aantal grondves- en moederblokke sedert 2006 in streke vêr van kommersiële wingerde (lae-risiko areas) gevestig (Fig. 11).

Figuur 11: Grondvesblokke wat in lae-risiko areas (op 'n afstand van kommersieel produserende wingerde met geen/min wingerdwitluis) gevestig is. (Beeld: Vititec)

Hierdie sogenoemde lae-risiko eenhede ontvang 'n stergradering, waarvan drie-ster blokke die laagste risiko van rolblaarbesmetting besit en gelyktydig ook die hoogste vlakke van beheer en waar een-ster blokke hoër vlakke van rolblaarbesmetting besit, alhoewel dit laer is as die standaard vir grondves- of moederblokke.

Die lae-risiko grondvesblokke voldoen aan al die gewone grondves- en moederblok voorvereistes, maar verbeterde witluismonitering word verder voorgeskryf en die verdraagsaamheid van witluisgetalle wat toegelaat word, is noemenswaardig laer. Verder word die toetse vir virusse ook anders uitgevoer.

In die lae-risiko grondvesblokke is dit 'n voorvereiste om een *Planococcus ficus*-spesifieke feromoonlokval met gomvelle (Fig. 12) per hektaar in die somermaande vir die monitering van witluis uit te sit. Hierdie periode duur vanaf 15 November tot 15 Januarie, vir die hele lewensduur van die blok en die gomvelle word maandeliks vervang en vir witluismannetjies ondersoek.

Indien daar meer as 10 witluismannetjies op die gomvel getel word, moet monitering vir witluis in die grondvesblok onderneem word deur visuele stokinspeksie van die trossone van al die stokke (gewoonlik vyf) in 20 vakkies, eweredig deur elke 2 ha versprei, of pro rata indien groter. Tydens hierdie visuele stokinspeksie word slegs die teenwoordigheid of afwesigheid van enige witluisstadium aangeteken.

Indien 'n witluis tydens visuele stokinspeksie opgespoor word, word die grondvesblok na 'n laer stergradering geklassifiseer.

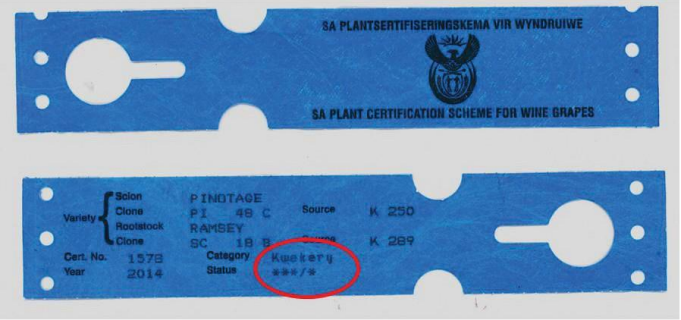
Beheer word gebaseer op die teenwoordigheid van witluismannetjies in die feromoonlokval, wat deur inspeksie vir die aanwesigheid van witluis tydens visuele stokinspeksie opgevolg word. Die toediening van 'n sistemiese en kontak-insekdoder moet onmiddellik op die hele grondvesblok volgens die aanwysings op die etiket geskied. In die geval van onderstokke in lae-risiko wingerde hoef dit slegs 'n sistemiese insekdoder te wees, aangesien dit nie moontlik is om met spuittoerusting in 'n onopgeleide onderstokblok in te gaan nie.

Figuur 12: Voorbeeld van die Delta-lokval, met gomvel en feromoon pilletjie daar binne om witluismannetjie getalle te monitor (Beeld: G. Pietersen, LNR-NIPB)

Vir alle bostokkultivars en US 8-7 en 143 B onderstokke word elke wingerdstok in die wingerd individueel vir GLRaV-1, -2, en -3 deur middel van ELISA in die eerste seisoen na vestiging getoets en daarna elke drie jaar, waarna al die besmette stokke onmiddellik vernietig moet word.

'n Lae-risiko eenheid wat 'n sterstatus as gevolg van die teenwoordigheid van witluise verloor het, kan sy hoër status terugkry indien die voorgeskrewe spuitprogram vir gewone grondves- of moederblokke, saam met die monitering van witluis soos vir lae-risiko eenhede voorgeskryf word, vir twee seisoene na die afgradering gevolg word en geen witluis in hierdie periode gevind word nie. Verder word enige rolbaarbesmette wingerdstok wat visueel of deur middel van laboratoriumtoetse geïdentifiseer is, verwyder en geen addisionele rolblaarbesmette wingerdstokke mag in die daaropvolgende twee seisoene gevind word nie.

Gesertifiseerde plantmateriaal wat vanaf sulke wingerde ingesamel word, word 'n drie-ster gradering toegeken (Fig. 13) en kan dit as gewaarborgde rolblaargeassosieerde virusvrye materiaal beskou word.



Figuur 13: Blou kaartjie wat die drie-ster status (omring in rooi) van die bostok/onderstok kombinasie in die Suid-Afrikaanse wyndruifsertifiseringskema aandui. (Beeld: Aangepas deur G. Pietersen, Oorspronklike beeld: Vititec)

Feromoonlokvalmonitering (Fig. 12) vir witluis is slegs in lae-risiko areas verpligtend.

Hierdie navorsing is befonds deur

WINETECH

Departement Wingerd- en Wynkunde, Universiteit Stellenbosch
Outeur: Prof Gerhard Pietersen, Universiteit van Pretoria / LNR-NIPB