

# Die genetiese verbetering van wyndruifkultivars en wyngisrasse vir 'n markgerigte wynbedryf: Nuwe benaderings tot die oeroue kuns van wynbereiding

I.S. Pretorius\*

Instituut vir Wynbiotegnologie, Departement Wingerd- en Wynkunde, Universiteit van Stellenbosch

E-pos: Sakkie.Pretorius@awri.com.au

## UITTREKSEL

*Die groeiende gaping tussen wynproduksie en wynverbruik, die verskuiwing van verbruikersvoorkeure vanaf basiese kommoditeitswyn na topgehaltewyn en die uitmergelende mededinging wat ekonomiese globalisering meebring, vereis 'n totale omwenteling in die magiese wonderwêreld van wyn. In die proses om die wynbedryf van 'n produksiegedrewe bedryf na 'n markgerigte onderneming te transformeer, word daar, onder andere, toenemend op biotegnologiese innovasie gereken om die wynbedryf met 'n kwantumsprong oor die formidabele markuitdagings van die 21<sup>ste</sup> eeu te lanseer. Markgerigte ontwerpersdruifkultivars en -wyngisrasse word tans met chirurgiese presisie geneties geprogrammeer vir die kostemededingende produksie van hoë gehalte druiwe en wyn met relatief minimale insette en 'n lae omgewingsimpak. Ten opsigte van wingerdbiotegnologie behels dit die daarstelling van stressterolante en siekteweerstandbiedende Vitis vinifera-variëteite met verhoogde produktiwiteit, doeltreffendheid, volhoubaarheid en omgewingsvriendelikheid, veral betreffende plaag- en siektebeheer, waterverbruiksdoeltreffendheid en druiifgehalte. Met betrekking tot wyngisbiotegnologie val die klem op die ontwikkeling van Saccharomyces cerevisiae-rasse met verbeterde gistings-, prosesserings- en biopreserveringsvermoëns, en kapasiteite vir die verhoging van die heilsaamheid en sensoriese kwaliteit van wyn. Die suksesvolle kommersialisering van transgeniese druiifkultivars en wyngiste hang van 'n menigte wetenskaplike, tegniese, veiligheids-, etiese, wetlike, ekonomiese en bemarkingsfaktore af, en daarom sal dit dwaas wees om oor die kort termyn hoë verwagtings te koester. In die lig van die fenomenale potensiele voordele van pasgemaakte druiifvariëteite en gisrasse, sal dit oor die lang termyn ewe selfvernietigend wees indien hierdie strategies belangrike "lewensversekeringspolis" nie deur die wynbedryf uitgeneem word nie. Hierdie oorsig lig die belangrikste voorbeelde uit waarvolgens V. vinifera-druifvariëteite en S. cerevisiae-wyngisrasse tans geneties met chirurgiese presisie op die basis van markaanvraag ontwerp word vir die koste-effektiewe, volhoubare en omgewingsvriendelike produksie van gesonde, topgehalte druiwe en wyn.*

## ABSTRACT

### **The genetic improvement of grapevine cultivars and wine yeast strains: Novel approaches to the ancient art of winemaking**

*The widening gap between wine production and wine consumption, the shift of consumer preferences away from basic commodity wine to top quality wine, and the gruelling competition brought about by economic globalisation call for a total revolution in the magical world of wine. In the process of transforming the wine industry from a production-driven industry to a market-orientated enterprise, there is an increasing dependence on, amongst others, biotechnological innovation to launch the wine industry with a quantum leap across the formidable market challenges of the 21<sup>st</sup> century. Market-orientated designer grape cultivars and wine yeast strains are currently being genetically programmed with surgical precision for the cost-competitive production of high quality grapes and wine with relatively minimal resource inputs and a low environmental impact. With regard to Grapevine Biotechnology, this entails the establishment of stress tolerant and disease resistant varieties of Vitis vinifera with increased productivity, efficiency, sustainability and environmental friendliness, especially regarding improved pest and disease control, water use efficiency and grape quality. With regard to Wine Yeast Biotechnology, the emphasis is on the development of Saccharomyces cerevisiae strains with improved fermentation, processing and biopreservation abilities, and capacities for an increase in the wholesomeness and sensory quality of wine. The successful commercialisation of transgenic grape cultivars and wine yeasts depends on a number of scientific, technical, safety, ethical, legal, economic and marketing factors, and it therefore will be unwise to entertain high expectations in the short term. However, in the light of the phenomenal potential advantages of tailor-made grape varieties and yeast strains, it would be equally self-destructive in the long term if this strategically important "life insurance policy" is not taken out by the wine industry. This overview highlights the most important examples of the way in which V. vinifera grape varieties and S. cerevisiae wine yeast strains are currently being designed with surgical precision on the basis of market demand for the cost-effective, sustainable and environmentally friendly production of healthy, top quality grapes and wine.*

### **1. DIE METAMORFOSE VAN DIE WYNBEDRYF IN 'N GEGLOBALISEERDE EKONOMIE**

Dit is feitlik ongekend dat leidende ekonome, sosioloë en ander intellektuele by die aanbreek van die derde millennium dit so eens was dat die wêreld op die drumpel van 'n era van massiewe en weergalose verandering staan – 'n verandering só dinamies en verreikend dat dit alle fasette van die samelewing binne die volgende 20 tot 30 jaar feitlik onherkenbaar sal herskik. Selfs

'n tradisionele bedryf soos die wynbedryf sal hierdie onafwendbare metamorfose nie kan ontglip nie. In 'n poging om 'n kompas daar te stel waarvolgens die wynbedryf vir die 21<sup>ste</sup> eeu se enorme uitdagings kan voorberei, het 'n aantal leidende wynproduserende streke en lande die afgelope paar jaar naartstigelik diepgaande ontledings van globale tendense in die wynbesigheidsomgewing gedoen en begin om volgens die waarskynlikste scenario's te beplan. Gegrand op hierdie voorspelde toekomstscenario's is langtermynstrategieë opgestel

\* Die outeur is tans werksaam by The Australian Wine Research Institute, Waite Road, Adelaide, SA 5064, Australië.

en visies geformuleer om dié streke en lande se wynbedrywe deur die verwarrende newels van grondverskuiwende veranderinge in verbruikersvoorkeure en tegnologiese innovasies te navigeer.<sup>1</sup> Indien die wêreld se toonaangewende wynbedrywe nie soepel en rats deur die potensieel verswelgende strome en hoë deïnings van verandering koershou nie, kan die ekonomie van daardie wynstreke en -lande onverwags te pletter teen die skerp punte van die nuwe wêreldorde se ysberge vasgespoel word. Dit sal dus fataal vir talle wynstreke en -lande se welvaart wees om nie betyds die korrekte koersaanpassing te maak ten einde die stormwolke wat reeds swaar op die horison van die nuwe millennium hang, te vermy nie.

Verandering in die wynbedryf is nie iets nuuts nie, want, ongeag die feit dat die grondbeginsels van wingerdverbouing en wynbereiding oor die afgelope 7 000 jaar tot 'n groot mate onveranderd gebly het, het die beeld van wyn handomkeer verander. Waar wyn tot aan die begin van die 17<sup>de</sup> eeu as die enigste opbergbare, heilsame drank beskou is, word dit vandag as 'n universele, eerstekeusedrank vir matige gebruik aan verbruikers voorgehou. In hierdie moderne beeld van wyn lê die kiem van die huidige verbysterende pas van konstante verandering opgesluit. Dit het wyn midde in die hoogspanningsveld van marktrekkrigte en tegnologiedrukkrigte geplaas, waar tradisie en innovasie mekaar êrens moet vind sodat daar voortdurend aan die vereistes van wynprodusente en die voorkeure van wynverbruikers voldoen kan word. Aan die een kant is die produsent se voortbestaan en welvaart regstreeks van die volhoubare winsgewendheid van die wynbedryf afhanklik; aan die ander kant is die toenemend gesondheids- en omgewingsbewuste wynverbruiker op geïndividualiseerde, pasgemaakte produkte met goeie gehalte-prysverhoudings ingestel. Die balans tussen hierdie twee pole leun al swaarder na die veeleisende verbruikersvoorkeure, en dít plaas die produsent onder al groter druk.

Een van die hoofdryfvere waarom tradisioneel produksiegeoriënteerde wynbedrywe geforseer is om hulself na markgedrewe ondernemings te transformeer, is die groeiende gaping tussen wynproduksie en wynverbruik in 'n globale, "grenslose" en hoogs mededingende ekonomiese bestel. Hierdie universele wanaanpassing van vraag en aanbod word enersyds aangevuur deur die wêreldwye tendens dat verbruikers progressief al hoe minder alkoholiese drankie drink, en andersyds deur die snelle pas waarteen wynproduksie in veral die nuwewêreldlande (Argentinië, Australië, Chili, Kalifornië, Kanada, Nieu-Seeland en Suid-Afrika) uitgebrei word. Laasgenoemde lande produseer reeds ongeveer 20% van die wêreld se wynopbrengs, teenoor die meer as 50% van die ouwêreld- wynproduserende lande (Frankryk, Italië, Spanje, Portugal en Duitsland). Die ongeveer 26 miljard liter wyn wat jaarliks vanaf die rofweg 8 miljoen hektaar wingerd in die wêreld geproduseer word, is min of meer 5 000 miljoen liter meer as wat die mark kan absorbeer. Dié wynoorskot, wat jaarliks tussen 15 en 20% van die totale opbrengs fluktueer, het tot felle mededinging vir markaandeel aanleiding gegee.<sup>1</sup> Hierdie oorskot is veral tot die basiese stortmaatwinkategorie beperk, wat daarop dui dat daar terselfdertyd 'n betekenisvolle verskuiwing van verbruikersvoorkeure weg van basiese kommoditeitswyn na premium-, superpremium-, ultrapremium en selfs ikoonwyn plaasgevind het. Danksy globalisering en die gepaardgaande wêreldwye toegang tot inligting, beskik die hedendaagse verbruiker oor 'n meer gesofistikeerde begrip van 'n produk se waarde en 'n vermoë om gehalte te kan onderskei. Daarom het vandag se verbruiker hoë verwagtings ten opsigte van produkgehalte in al die pryskategorieë. Dit is ook duidelik dat die vraag na keurig bereide wyn van topgehalte steeds toeneem. Hierdie produkte haal besonder gunstige pryse in die handel en beslaan reeds 2 tot 20% van die huidige

mark. Dit beteken dat die sogenaamde "wysurplusse" op sigself nie langer bloot as 'n produksieprobleem beskou kan word nie, maar eerder as 'n bestuursprobleem van "markbewustelose" produsente wat nog nie besef het dat slegs kliënt- en verbruikerskeuse deesdae bepaal wat *bekostigbare produkte van gehalte* behels, en nie meer die produsent nie.<sup>1</sup>

Die spelreëls waarbinne die wynbedryf vandag moet meeding, het sodanig verander dat *gehalte* in die strawwe, beeldbewuste en prys sensitiewe wynmark as *volhoubare kliënt- en verbruikersbevreëdiging* gedefinieer word.<sup>1</sup> Suksesvolle en ondernemende wynbedrywe raak dus toenemend verbruikergedrewe en kliëntresponsief, sodat die uitnemendste wynprodukte van gehalte by elke pryspunt aangebied kan word. Indien 'n wynbedryf dus daarna streef om globaal mededingend en hoogs winsgewend te wees, moet dit noodwendig die inisiatief kan neem en die leiding kan behou in 'n wêreldmark wat produkte met sterk handelsmerke en deurlopende vernuwing ten opsigte van wynstyl, -gehalte, -suiwerheid, -uniekheid en -diversiteit vereis. Om produkleierskap in terme van intensiteit, kompleksiteit en diversiteit by elke pryspunt te verseker, is innovasie op alle vlakke van die totale waardeketting nie langer 'n opsie vir 'n wynbedryf nie, maar 'n noodsaaklikheid. Die inskerping van 'n kultuur van innovasie wat die ganse wynbedryf deurtrek, is dus die enigste roete tot die verbruiker, wat ongenaakbaar met sy beursie vir 'n bepaalde reeks van wynprodukte stem. Dit vra dus van enige winsgewende en sosiaal verantwoordbare wynbedryf of onderneming 'n totale verbintenis tot gehalte, styl en innovasie "vanaf die wingerdgrond tot die verbruikersmond".

Dit is dus duidelik dat tegnologiese innovasie een van die hoekpilare is waardeur wenvoorspronge met betrekking tot globale invloed en volhoubare winsgewendheid aan die suksesvolle wynbedrywe van die 21<sup>ste</sup> eeu verseker kan word. Dit sluit onder andere ook markgerigte, biotegnologiese innovasie in wat daarop gemik is om probleme in die wynbedryf te oorkom of om nuwe, strategies belangrike geleenthede te skep en te verwesenlik. Met die regte invalshoek en benadering kan die uitkomst van biotegnologiese innovasies sinvol met 'n kompleks van mark-, kulturele, sosiale, omgewings- en tegniese faktore harmoniseer, sonder dat die oeroue kuns van wynbereiding van sy boeiende en bekoorlike romantiek gestroop word.

In weerwil van die huidige skeptisisme van sommige waningeligte verbruikersgroepe jeens *geneties gemodifiseerde organismes* en produkte (die sogenaamde GMO's en GM produkte), bestaan daar geen twyfel oor die asemrowende potensiaal van die toepassing van *voorpunt-geentegnologie* in die wynbedryf nie. Ten einde tegnologie opgewasse te kan wees teen die ontsaglike verbruikeruitdaging, fokus die wêreld se pasaangeënde wynbedrywe toenemend op die genetiese programmering en verbetering van die twee hooforganismes betrokke by die produksie van wyn, naamlik die wingerdstok en die wyngis.

## 2. DIE POTENSIAAL VAN DIE GENETIESE VERBETERING VAN WYNDRUIFKULTIVARS

### 2.1 Druifspesies en -kultivars

Ekonomies gesproke is die wingerdplant die belangrikste vrugspesie uit 'n globale oogpunt en word dit in die vroegste geskifte en kronieke met landbou- en religieuse aktiwiteite verbind. Hierdie antieke spesie het oor die eeue heen van 'n struikagtige, sonliefhebbende plant na 'n kruipende rankplant ontwikkel. Die wingerdstok is gou tot 'n huishoudelike gewas ontwikkel. Dit het tot die aanplant van ongeveer 8 miljoen hektaar van intens gesnoeide en versorgde wingerde dwarsoor die wêreld aanleiding gegee.<sup>2,3</sup>

Wingerdstokke word in die genus *Vitis* geklassifiseer en bestaan uit twee subgenera, *Euvitis* en *Muscadinia*, waarvan eersgenoemde die meerderheid van die *Vitis*-spesies uitmaak. 'n Enkele *Vitis*-spesie, *Vitis vinifera*, het sy oorsprong in Europa, terwyl meer as 30 spesies inheems aan Sjina is en 'n verdere 34 spesies in Noord- en Sentraal-Amerika gekarakteriseer is. Die wetenskaplike rekordhouding van die oorsprong van druifkultivars is relatief onvolledig, maar daar word in die algemeen aanvaar dat *V. vinifera* (die mees verboude *Vitis*-spesie) uit ongeveer 5 000 egte kultivars wat in die wyn-, tafel- en droëdruifbedrywe gebruik word, bestaan.<sup>4</sup> Verbeterings aan hierdie kultivars was oorspronklik grootliks afhanklik van arbitrêre seleksie van natuurlike mutasies wat verbouing of een of ander aspek van vrug- en/of wytkwaliteit verhoog het. Later het meer gerigte, klonale seleksieprogramme gevolg. Klassieke teelprogramme het verbasend min nuwe kultivars opgelewer wat kommersieel suksesvol toegepas kon word. Dit is veral so in die geval van die wynbedryf, waar daar vir kommersiële wynproduksie op slegs 'n paar uitgesoekte en antieke kultivars gesteun word. Teelprogramme het 'n wesenlike impak gemaak op die ontwikkeling van onderstokvariëteite wat weerstand bied teen grondgedraagde peste en patogene, sowel as teen negatiewe abiotiese toestande.<sup>5</sup>

Wanneer kultivarverbetering oorweeg word, het die tafel/droëdruif- en wynbedrywe verskillende doelwitte. In die geval van die tafel- en droëdruifbedrywe word produkte regstreeks bemark en moet daar voortdurend probeer word om nuwe, opwindende produkte van uitstekende kwaliteit aan die verbruiker te verskaf. Daarteenoor steun die wynbedryf tipies op gevestigde variëteitsname en voorspelbare wynstyle om die produkte te verkoop. Daar word gereken dat genetiese transformasietegnologie groot potensiaal vir wingerdverbeteringsprogramme in al drie dié bedrywe inhou.<sup>2,3,6,7,8</sup> Sommige van die voordele wat aan hierdie tegnologie en die toepassing daarvan in wingerdproduksie gekoppel word, word in die volgende afdelings bespreek.

## 2.2 Genetiese eienskappe en tegnieke vir die ontleding en verbetering van druifkultivars

Die feit dat die volledige nukleotiedvolgorde van die eerste plantgenoom bepaal is en dat genomiese, transkriptomiese, proteomiese en metabolomiese analises meer toeganklik word, bevestig dat daar nou 'n meer gevorderde fase van plantverbetering by wyse van molekuleêre biologie en genetiese transformasie aangebreek het. Die toeganklikheid van die wingerdgenoom ten opsigte van toepassings in molekuleêre biologie is tans baie meer beperk as dié van wyngis as gevolg van die grootte (ca. 470-483 mb wat in 38-40 chromosome verdeel is) en kompleksiteit (slegs 4% van die genoom word getranskribeer) van die genoom. Intensiewe navorsing word tans op die druifgenoom toegespits, met multinasionale konsortiums wat in verskeie ondernemings saamwerk om molekuleêre merkers te lewer, asook om die volledige nukleotiedvolgorde van die *Vitis*-genoom te bepaal.<sup>9</sup>

Die tegnologie om belangrike gene onder die beheer van bepaalde reguleringselemente in plantgenome te voeg, het verskeie moontlikhede vir plantverbetering geopen en 'n wye reeks ekonomies-belangrike plantspesies is in hierdie opsig geteiken. *Agrobacterium*-bemiddelde en biolistiese bombardeerings tegnologieë het verseker dat 'n immergroeierende lys plantspesies vir genetiese transformasie toeganklik is. Wat *V. vinifera* aanbetref, is dit belangrik om daarop te let dat dit taamlik moeilik transformeerbaar is omdat daar dikwels probleme ondervind word om regenererbare weefselkultuursisteme te verkry wat die proses van *Agrobacterium*-of

biolistiese transformasie kan oorleef, en om suksesvolle transgeniese plantjies te kan identifiseer en selekteer.<sup>10</sup>

Die eerste betekenisvolle vooruitgang is gemaak toe embrioniese sellyne as teikenweefsel vir druiftransformasies gebruik is, wat daartoe gelei het dat verskeie private en openbare laboratoriums roetinegewys transgeniese wingerdstokke produseer.<sup>6</sup> In hierdie opsig sluit "roetinegewys" slegs 'n paar bo-stok- en onderstokkultivars van kommersiële belang in. Sedert 1989, toe die eerste suksesvolle wingerdstoktransformasies uitgevoer is, het die fokus geleidelik verskuif van die ontwikkeling van metodes waarmee druiweplante getransformeer sou kon word tot die implementering van die tegnologie in die skepping van bruikbare plantlyne.<sup>3</sup>

## 2.3 Teikens vir die genetiese verbetering van druifkultivars

Alvorens daar probeer kan word om druifkultivars geneties te verbeter, is dit noodsaaklik om die fundamentele molekuleêre biologie van die plant se fisiologiese response wat vir verbetering geteiken word, te ontrafel. Aanvanklik, toe daar slegs beperkte genetiese hulpmiddels beskikbaar was, is gene met 'n bekende funksie na plantspesies oorgedra met die hoop dat "verbeterde" fenotipes ontwikkel sou word. Hierdie lukrake benadering het gou die komplikasies betreffende transgeniese uitdwinging uitgewys en die feit beklemtoon dat ware en volhoubare vooruitgang ten opsigte van die genetiese verbetering van druifkultivars slegs gemaak kan word indien daar voldoende kennis oor die basiese fisiologiese prosesse bestaan. Die plantwetenskappe betree tans 'n opwindende era namate 'n toenemende lys gene en hul reguleringselemente vanaf ekonomies-belangrike spesies, insluitende die wingerdstok, beskikbaar word.

### Verbetering van siekteweerstandbiedendheid by druiplante

Daar word algemeen aanvaar dat plantsiektes die uitsondering eerder as die reël is. Dit kan toegeskryf word aan die baie doeltreffende meganismes wat plante besit om hulle teen plaë en patogene te verdedig.<sup>11</sup> Landboumonokultuur word voortdurend deur verskeie patogene en plaë bedreig en meganismes om swam-, bakteriese, virus- en insekpatogene te bekamp, is die vernaamste fokus van die genetiese manipulasie van gewasse. Die huidige benadering, waardeur enkele gene na plantgenome oorgeplaas word, is moontlik ook die toepaslikste benadering vir verhoogde siekteweerstand, aangesien enkele gene siekteweerstand aan plante kan oordra.

Verskillende benaderings is al gebruik om siekteweerstand in plante te verhoog, maar feitlik al hierdie strategieë is op een of ander aspek van die natuurlike interaksie tussen gasheer en patoogeen geskoei. Hierdie interaksie is kompleks en hoogs veranderlik, omdat die gasheer en patoogeen saam ontwikkel in die stryd om oorlewing. Die meerderheid transformasie strategieë behels 'n geenprodukt met bekende antipatoogeenaktiwiteit wat deur middel van die insluiting van meervoudige kopieë op 'n induseerbare manier in die gekose gasheer ingevoer word in 'n poging om dele van die plant se inherente verdedigingsrespons te optimaliseer.<sup>12,13</sup> Voorbeelde van hierdie tipe benadering word in tabel 1 uiteengesit.<sup>3</sup>

Die ander belangrike benadering van gemanipuleerde siekteweerstand in die wingerdstok (en ander plante) maak staat op patoogenaafgeleide weerstand ("pathogen-derived resistance" – PDR) en verskeie toepassings daarvan.<sup>14</sup> Volgens hierdie benadering word 'n patoogenaafgeleide geen en sy enkoderende produk op 'n ongeleë tyd of in 'n niefunksionele vorm of hoeveelheid gedurende die infeksiesiklus uitgedruk, wat dus voorkom dat die patoogeen die infeksie kan volhou. Die meeste antivirale strategieë is afhanklik van een of ander aspek van

**Tabel 1** Teikens vir die genetiese verbetering van wingerdkultivars en onderstokke

Wenslike kenmerke	Fokusgebied	Voorbeelde van huidige en potensiële teikengene
<b>Verbeterde siekteweerstand</b>		
Swamweerstand	Wingerdstokweerstand en verdedigingseine in reaksie op swampatogene; patologie van die verskeie swampatogene; aangebore weerstande (molekulêre basis) van verskeie spesies t.o.v. swampatogene	Glukanase- en chitinase-enkoderende gene van swamme, giste en plante; ribosoom-inaktiverende proteïene (RIPs); taumatiënagtige proteïene ( <i>Vvt11</i> ); antifungiese peptied-enkoderende gene van plante en insekte; PGIP (poligalakturonase-inhiberende proteïene); plantgene vir stilbeenfitoaleksiene (stilbeensintases: <i>stsy</i> , <i>vst1</i> , <i>vst2</i> ); fenielalanien-ammonialiasie: <i>pal</i> ) <i>CuZnSOD</i> (vermeende CuZn-superoksieddismutase; detoksifiserende ensiem-produuserende gene (NADPH-afhanklike aldehydedreduktase, <i>Vigna radiata</i> -Eutypine-reducerende ensiem)
Bakteriële weerstand	Wingerdstokweerstand en verdedigingseine in reaksie op bakteriële patogene; patologie van die verskillende bakteriële patogene; aangebore weerstande (molekulêre basis) van verskeie spesies t.o.v. bakteriële patogene	Antimikrobiale peptiede (litiese peptied, Shiva-I, defensiene); disfunksionele invoer en integrasie proteïen-enkoderende gene ( <i>virE2delB</i> ) vanaf <i>Agrobacterium</i>
Virale weerstand	Epidemiologie van virusinfeksies en vektore; molekulêre biologie van besmettende virus; patogeen-afgeleide weerstandstrategieë (mantelproteïene; mobiliseringsproteïene)	Virusmantelproteïene (vertaalbaar, anti-sin, nie-vertaalbaar); virusmobiliseringsproteïene (anti-sin); replikasie (RNA-afhanklike RNA polimerase), proteïenase; 2,5-oligoadenilaatsintase.
<b>Verbeterde stresweerstand</b>		
Weerstand tot waterstres	Akwaporiene; isolasie van wortel-spesifieke promotors	TIPs (tonoplast integrale proteïene); PIPs (plasmamembraan integrale proteïene)
Oksidatiewe skade	Karotenoïedbiosintese en -beheer (verskeie vermeende gene en promotors is reeds gekloneer); anaërobiose	Karotenoïede biosintetiese gene; <i>Adh</i> (alkoholdehidrogenase) -gene; SODs (sitosoliese CuZnSOD, chloroplast-bewonende CuZnSOD, mitochondria-bewonende MnSOD)
Osmotiese stres en ander abiotiese stres	Prolieënakkumulasie; poli-aminiene en hul rol in stres	<i>Vvp5cs</i> ( $\Delta^1$ -pirrolien-5-karboksilaat); <i>Vvoat</i> ( $\delta$ -ornitien aminotransferase); FeSOD, glisienbetaïene, teenvriesgene vanaf Antarktiese vis (vriestoleransie)
<b>Verbeterde kwaliteitsfaktore</b>		
Kleurontwikkeling	Rypwordingsverwante prosesse en seine, antosianienbiosintese en -beheer (verskeie gene en sommige promotors is reeds gekloneer); isolasie van korrelspesifieke promotors	<i>ufgt</i> (UDP-glukose:flavanoïed 3-O-glukosieltransferase) en/of regulerende nukleotiedvolgorde van <i>ufgt</i> ; produksie van pelargonidien-gebaseerde antosianiene vir nuwe korrelkleur; antosianien metieltransferase
Suikerakkumulasie en -vervoer	Floemlading en -ontlading; invertase; suikertransporters; isolasie van korrelspesifieke promotors	Invertase vanaf plante en gis om floemlading en -ontlading te bestudeer; sukrosetransporters ( <i>Vvsuc11</i> , <i>Vvsuc12</i> , <i>Vvsuc27</i> ); heksosettransporters ( <i>Vvht1</i> , <i>Vvht2</i> )
Verminderde bruinwording (tafel- en gedroogde druiwe)	Oksidasie-reaksies	Uitdowing van polifenoloksidasie
Saadloosheid (tafeldruiwe)	Saadvorming; isolasie van saadspesifieke promotors	Baranasegeen

PDR en beslaan 'n groot persentasie van die aktiwiteit met betrekking tot die genetiese transformasie van druifvarieteite (tabel 1).

'n Reeks transgeniese plantspesies is deur middel van hierdie benadering ontwikkel, met afwisselende sukses. Transgeniese wingerdstokke wat heteroloë antifungiese en antivirale gene uitdruk, word tans aan praktiese toetse onderwerp.<sup>7</sup> Hierdie eerste "prototipes" van gemanipuleerde siekteweerstand in die wingerdstok, sowel as in ander plantspesies, is die begin van 'n nuwe era in plantverbouing waardeur ou probleme op nuwe maniere benader word. Hierdie tegnologie sal ongetwyfeld meer gesofistikeerd word en lei na moontlike veelvoudige geen-oorplasings, die gebruik van hoogs spesifieke induseerbare reguleringselemente en die moontlikheid om die langtermyn-stabiele uitdrukking van transgene te verseker.

Deur die skepping en ontleding van transgeniese plante is 'n groot hoeveelheid inligting ingewin oor die aard van plant-patogeen-interaksies en die siekteweerstandmeganismes in plante. Modelplante wat deur middel van verskillende geteikende gene getransformeer is, word belangrike hulpbronne indien die aard van die manipulasies en hul effek *in planta* verder deur middel van voorpunttegnologieë, soos transkriptomontledings en proteoomontledings met behulp van mikro-roosterskyfies, geanaliseer word. 'n Reeks *Arabidopsis*-mutante met geblokkeerde patogeenverdedigingsmeganismes kan ook baie waardevolle inligting oor die funksies van gene verskaf. Die navorsing het nou tot die punt ontwikkel waar die meganismes van siektevorming en siekteweerstand redelik goed gekarakteriseer is. Die klem val tans dus op die ontrafeling van plante se verdedigingsmeganismes en die gevolglike seintransduksieprosesse wat tot die onderskeie vorms van verdediging lei.

#### **Verbetering van wingerdverbouing**

Genetiese transformasietegnologie het enorme toepassing in die verbetering van plantverbouing, aangesien dit oor die potensiaal beskik om plantlyne met die vermoë om by ongunstige klimaatstoestand aan te pas, te ontwikkel. Voorsprongte wat gemaak is in die verstaan van stres-toleransie in plante, tesame met basiese inligting oor sleutel-aspekte van plantegroei en -ontwikkeling, het die uitvoerbaarheid van transgeniese benaderings om hierdie komplekse probleme op te los, versnel.<sup>15,16,17</sup> 'n Basiese begrip van fundamentele prosesse, soos koolstofspleyting, metodes van suikertranslokasie,<sup>18,19</sup> watervervoer en die rol van akwaporiene,<sup>20</sup> sowel as die regulering van hierdie prosesse, is sommige van die gebiede wat aktief bestudeer word in die stree om transgeniese wingerdstokke met verbeterde vooruitsigte vir verbouing te ontwikkel. Van die vernaamste verbouingsbeperkings waarop daar in hierdie benadering gefokus word, is droogte- en soutstres, fotoskade en vrietoleransie (sien tabel 1 vir voorbeelde). Die genoemde stresresponse in die plant is almal komplekse meganismes van proteïene wat in wisselwerking met mekaar verkeer en wat aangedryf word deur 'n reeks seine wat deur ewe komplekse prosesse versag of vergroot word. Hierdie tipiese drieluik van biologiese interaksie is moeiliker om met enkele, of selfs veelvoudige, geenbyvoegings te manipuleer. Daarom is meer kennis oor die beheermeganismes en wysigings daarvan nodig ten einde hierdie doelwitte te bereik.

#### **Verbetering van wingerd kwaliteit**

Die beskrywing van die kwaliteit van druive verskil in die drie wingerdbedrywe. In die wynbedryf word klein vrugte met 'n goeie kleur wat aan die aanwysers van optimale rypheid (suikers/sure/fenole) voldoen, as gewens beskou, terwyl die voorkoms

en optimale grootte van tafeldruiftrousse van groot belang is. Basiese kwaliteitsfaktore, soos goeie kleur en suikerontwikkeling, is van generiese belang en word tans in die molekulêre biologie van die wingerdstok geteiken. Die basiese prosesse van korrelrypwording en die ontwykende rypwordingsein(e), word nagevors.<sup>18,19</sup> Die hormonale, omgewings- en biochemiese seine wat 'n sleutelimpak op die rypwordingsproses het, soos die produksie van kleurstowwe, suikerakkumulاسie en -vervoer, sowel as die vorming van die aromakomponente, word in die wingerdstok as 'n voorbeeld van 'n nieklimateriese vrug bestudeer (tabel 1). Die uiteindelige doel van hierdie tipe benadering is om die metaboliese vloei deur die belangrike biosintetiese meganismes wat in die rypwordende korrel aktief is, te verander om sodoende die vorming van gewenste of nuwe produkte wat met die kwaliteitsparameters van druive verband hou, te verhoog. Soos in die geval van die meeste ander landbougewasse is wingerdbiotegnologie in hierdie opsig nog in sy embriostadium. Om hierdie metaboliese manipulasiedoelwitte te bereik, sal daar dus tot 'n groot mate op die vooraf inwin van basiese inligting oor onderliggende fisiologiese en genetiese prosesse, asook die verdere verfyning van die transformasietegnologie gesteun moet word. Geteikende geeninvoeging- en geenweglatingtegnieke is voorbeelde van innoverende ontwikkelings wat die manipulasie van biochemiese meganismes om nuwe produkte en metaboliete te produseer, meer bereikbaar sou kon maak.

### **3 DIE POTENSIAAL VAN GENETIES VERBETERDE WYNGISRASSE**

#### **3.1 Gisspesies en -rasse**

Dit is alombekend dat giste die proses van wynbereiding oorheers. In spontane gistings is daar 'n progressiewe groeipatroon van inheemse giste wat vanaf die oppervlak van die druiewekorrels en die wyntoerusting afkomstig is.<sup>21,22,23</sup> Giste van die *Kloeckera*-, *Hanseniaspora*- en *Candida*-genera oorheers gedurende die vroeë stadiums, gevolg deur verskeie spesies van *Metschnikowia* en *Pichia* in die middelstadiums, wanneer die etanolvlakke tot 4% styg.<sup>24</sup> Die latere stadiums van spontane wyngistings word sonder uitsondering deur die alkoholtolerante rasse van *S. cerevisiae* oorheers, wat daartoe lei dat hierdie spesie universeel as die "wyngis" bekend staan. Daar word aangeneem dat die inheemse giste wat in spontane wyngistings teenwoordig is, wyne met 'n voller, ronder smaakstruktuur produseer. Spontane gistings duur baie lank en die resultaat daarvan is hoogs onvoorspelbaar. Spontane gistings word dus net in sommige boetiekwynkelders gebruik, wat meer op oesjaarverskeidenheid staatmaak en wat bereid is om hierdie risiko's te aanvaar om onderskeibare wynstyle te produseer wat die gisdiversiteit van daardie spesifieke streek weerspieël.<sup>22</sup>

In moderne, grootskaalse wynkelders, wat van vinnige en betroubare gistings afhanklik is vir konsekwente wyngieur en voorspelbare kwaliteit, word spesiaal geselekteerde inentingskulture van *S. cerevisiae* gebruik.<sup>22</sup> Afgesien van die primêre funksie van hierdie aktiewe droë wyngis-inentingskulture om die vinnige, doeltreffende en volkome omskakeling van druivesuikers (glukose en fruktose) na alkohol te kataliseer sonder die ontwikkeling van wangeure, vereis die baanbrekende wynmakers van vandag inentingskulture met 'n hele reeks gespesialiseerde kenmerke wat waarde tot die finale produk toevoeg. Moderne wynmakers se behoefte aan wyngisrasse wat vir spesifieke doelwitwynstyle geoptimeer is, het tot uitgebreide gisrasverbeteringsprogramme aanleiding gegee.<sup>25,26,27,28,29,30,31</sup>

### 3.2 Genetiese eienskappe en tegnieke vir die ontleding en verbetering van wyngiste

Die meerderheid laboratoriumrasse van *S. cerevisiae* is óf haploïed óf diploïed, terwyl industriële wyngisrasse hoofsaaklik diploïed óf aneuploïed, en soms poliploïed, is.<sup>32,33</sup> Die nukleotiedvolgorde van die hele genoom van *S. cerevisiae* is bekend. Dit het 'n relatief klein, kompakte genoom (ca. 13 000 kb), 'n groot aantal chromosome (16 lineêre chromosome wat van 200 tot 2200 kb in lengte wissel), 'n klein aantal gene (ca. 6 000 proteïenkoderende gene), min herhalende DNA en min introns.<sup>27</sup>

Daar is kragtige klassieke en molekuler-genetiese metodes wat gebruik kan word om wyngisrasse mee te ontleed en aan te pas. Aanvanklik is tetrad-analise met behulp van 'n mikromanipuleerder vir die genetiese identifikasie, karakterisering en kartering van gisgene gebruik. Onlangs is tegnologie ontwikkel om 'n direkte skakel tussen die genoom (volledige stel gene) en die transkriptom (volledige stel transkripte) van 'n wyngisras te verskaf.<sup>29</sup> Die genoom-nukleotiedvolgorde is gebruik om hoëdigheids-oligonukleotiedroosters te ontwerp en te sintetiseer om die uitdrukking-vlakke van feitlik al die gene van gisselle wat onder gistingstoestande aangekweek word, te monitor. Wanneer die huidige ontsyfering van die funksie van die 6 000 *S. cerevisiae*-gene in die nabye toekoms voltooi word, sal die volledige proteoom (volledige stel proteïene) toeganklik word en sal dit gebruik kan word om die komplekse metaboolom (metaboliëse aktiwiteite en metaboliëte) van die wyngis te ontsluit.<sup>29</sup>

Die inligting wat van die ontleding van die volledige genome, transkriptom, proteome en metabolome van wyngiste verkry word, sal ongetwyfeld die spesifiteit van die huidige metodes waardeur inentingkulture geneties geselekteer en vir die produksie van spesifieke wyntipes en -style aangepas word, verhoog. Tans is klassieke gisrasseleksie en -wysigingsmetodes, soos variantseleksie, mutagenese, kruising (paring, spoorselparing, rareparing, sitoduksie en sferoplastversmelting), hoofsaaklik op 'n lukrake benadering gebaseer.<sup>31</sup> Met hierdie benadering word groot genomiese gebiede of volledige genome herkombineer of herrangskik. Hierdie metodes is dus nie spesifiek genoeg om wyngiste op 'n akkurate manier te manipuleer nie en, hoewel dit 'n verbetering in sommige van die kenmerke van die gisrasse teweeg kan bring, kan dit ander, gewenste kenmerke verswak. Die enigste voordele van hierdie metodes is dat dit gebruik kan word om kenmerke onder poligeniese beheer te verbeter en te kombineer en dat dit nie aanleiding gee tot produkte wat in die statutêre definisie van GMO's en GM produkte ingesluit is nie.<sup>29</sup> Variante, mutante, kruisings, sitoduktante en fusante is dus nie aan dieselfde streng statutêre regulasies, wat op GMO's van toepassing is, onderhewig nie en word ook nie met dieselfde vlak van openbare wantroue bejeën soos in die geval van wyngiste wat met behulp van vreemde genetiese materiaal getransformeer is nie. Genetiese manipulasie is die enigste betroubare metode wat die moontlikheid bied om 'n bestaande eienskap te wysig, nuwe kenmerke in te voer en 'n ongewenste eienskap uit te skakel sonder om die ander gewenste eienskappe te benadeel. Verskeie effektiewe transformasiemetodes en plasmiedvektore, sowel as ekspressie- en sekresiekassette vir die uitdrukking van heteroloë gene en die sekresie van hul geënkodeerde proteïene, is al vir *S. cerevisiae* ontwerp. Dit het groter toepasbaarheid en 'n hoër vlak van spesifiteit in die ontwikkeling van verbeterde wyngiste moontlik gemaak.

### 3.3 Teikens vir die genetiese verbetering van wyngiste

Oor die algemeen hou al die teikens van rasontwikkeling met verbeterde ekonomie van produksie en wyngkwaliteit verband.

Tabel 2 lig voorbeelde van teikens uit wat moontlik met genetiese verbeteringsprogramme bereik sou kon word. Hierdie teikens sluit in die verhoging van die doeltreffendheid van die gistingsproses, die wynverwerking en die beheer van mikrobiële bederf, sowel as die verhoging van die heilsaamheid en sensoriese gehalte van die wyn.<sup>21,24,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35</sup>

#### Verbetering van fermentasiedoeltreffendheid

Wyngistings vind gewoonlik teen 'n stadiger tempo plaas as wat verlang word en word gewoonlik beheer deur die gistingstemperatuur te verlaag. "Weghol"-gistings het 'n kommersiële implikasie, aangesien die gistingsruimte as gevolg van skuimvorming verminder word en vlugtige aromakomponente as gevolg van die bruisaksie van die koolstofdiksied wat gevorm word, ontsnap. In teenstelling hiermee, staak wyngistings soms te vroeg of vind dit te stadig plaas. Die finansiële verliese wat deur "gestaakte", "slepende" of "onvoltooide" wyngistings veroorsaak word, word gewoonlik toegeskryf aan die onderbenutting van die fermenteerderkapasiteit en wynbederf as gevolg van die lae tempo van ontwikkeling van beskermdende koolstofdiksied en die hoë residuele suikerinhoud. Die voorspelbaarheid van gisting en die kwaliteit van die wyn is dus direk afhanklik van wyngiskenmerke wat die vinnige daarstelling van numeriese en metaboliëse dominansie in die vroeë fase van wyngisting ondersteun en wat die vermoë om 'n egalige en doeltreffende gisting met 'n gewenste vlak van residuele suiker uit te voer, bepaal. Baie faktore beïnvloed die gistingsprestasie van wyngiste. Van die algemeenste teikens vir die verbetering van gistingsprestasie is verhoogde lewenskragtigheid en stresweerstand van aktiewe droë gisselle; verbeterde druivesuiker- en stikstofopname en -assimilasie; verhoogde etanolweerstand teen etanol en ander mikrobiële metaboliëte en toksiene; weerstand teen sulfiet, swaarmetale en agrochemiese reste; en verminderde skuimvorming (tabel 2).<sup>30</sup>

Sterole, trehalose, glikogeen en akwaporiene speel veelvuldige rolle in die verhoogde oorlewing van *S. cerevisiae*-selle wat aan verskeie fisiese en chemiese stresse blootgestel is, daarom het dit belangrike implikasies vir die algemene stresresistansie, lewenskragtigheid, fiksheid en groeikrag van aktiewe droë wyngis-inentingkulture wanneer hulle geheraktiveer word.<sup>36</sup> Dit verskaf gevolglik 'n groot dryfveer vir die ontwikkeling van wyngisrasse met 'n verhoogde vermoë om hierdie bindings te akkumuleer. As gevolg van die komplekse stresresponsmeganismes in gis is dit nog onduidelik of die weglating van die *ATH1*-trehalasegeen en die wysiging van die uitdrukking-vlakke van die gene wat in die metabolisme van trehalose (*TPS1*, *TPS2*, *ATH1*), glikogeen (*GSY1*, *GSY2*) en sterole (*SUT1* en/of *SUT2*) en in die sintese van akwaporiene (*AQY1*, *AQY2*) betrokke is (tabel 2), 'n verbetering in die gis se lewensvatbaarheid en groeikrag sal veroorsaak.<sup>29</sup>

Nog 'n benadering om die gistingsprestasie van wyngiste te verbeter, is deur hul weerstand teen toksiese mikrobiële metaboliëte (bv. etanol, asynsuur, medium lengte vetsure, ens.), zimosiene (gisafgeleide killertoksene), chemiese preserveermiddels (bv. sulfiet) en agrochemikalieë wat swaarmetale bevat (bv. koper) te verhoog (tabel 2).<sup>26,27,28,29,30,31</sup> Wysiging van die uitdrukking van die *SUT1*, *SUT2*, *PMA1* en *PMA2*-gene veroorsaak byvoorbeeld verhoogde sterolakkumulering en selmembraan-ATPase-aktiwiteit, wat lei tot verhoogde weerstand teen etanol. Eweneens kan die genetiese, mikrovirale determinante en ander gene wat vir killertoksene (zimosidiese peptiede) en immunitetsfaktore kodeer in wyngiste geïnkorporeer word om hulle onsensitief vir die zimosiene van kontaminerende wildegiste te maak. Met betrekking tot weerstand teen agrochemikalieë, kan 'n verhoging in die

kopiegetal van die *CUPI*-koperchelatiengene die wyngis in staat stel om hoër vlakke van koperreste in die druiewemos te verdra.

#### **Verbetering van prosesseringsdoeltreffendheid**

Die belangrikste doelwitte van brei (die toevoeging van adsorptiewe verbindings gevolg deur afsakking of presipitasie) en verheldering (bv. sedimentasie, oortap, sentrifugasie, filtrasie, ens.) gedurende die verwerking van wyn sluit die verwydering van oortollige hoeveelhede van sekere komponente en mikrobiële selle in om helderheid te verkry en om die fisikochemiese stabiliteit van die eindproduk te verseker.<sup>25,37</sup> Die brei en verheldering van wyn behels in baie gevalle duur en tydrowende praktyke wat tot groot volumes moer lei, wat verwyder moet word en wat 'n verlies van wyn en 'n verwydering van belangrike aroma- en geurverbindings uit die oorblywende wyn veroorsaak. Om die nadele verbonde aan hierdie kras breien verhelderingsprosesse te verminder, word 'n steeds groeiende spektrum van relatief duur kommersiële ensiempreparate (bv. protease, pektinase, glukanaase, xilanaase, arabinofuranosidase, ens.) in baie gevalle by die druiewemos en wyn gevoeg. As 'n alternatiewe strategie tot die toevoeging van duur ensiempreparate, wat in baie gevalle ongewenste kontaminerende of nuwe-aktiwiteite bevat, word wyngiste tans ontwikkel om proteolitiese en polisakkarolitiese ensieme af te skei, wat onderskeidelik die newelvormende proteïene en die filterverstoppende polisakkariede verwyder.<sup>37</sup> Vir hierdie doeleinde het die ooruiddrukking van verskeie bakteriese, swam- en gisgene gelei tot die ontwikkeling van proteolitiese, pektinolitiese, glukanolitiese en xilanolitiese wyngisrasse (tabel 2).

'n Tweede teken vir die verbetering van verheldering en filtrasie is daarop gemik om al die gisselle doeltreffend vanuit die vloeistoffase van die tenk of vat te verwyder. Gereguleerde uitdrukking van die flokkulasiegene is belangrik om 'n hoë gesuspendeerde gisting vir 'n vinnige gistingstempo gedurende die gistingsproses te waarborg, terwyl doeltreffende afsakking benodig word om probleme met die wynverheldering aan die einde van suikeromskakeling te verminder.<sup>30</sup> Gisflokkulasie is veral belangrik vir die produksie van bottelgestigte vonkelwyn, en die beheerde aanvang van gisflokkulasie op die toepaslike tyd gedurende die produksie van vonkelwyn kan hierdie duur proses vereenvoudig. Die uitdrukking van die *FLO1*-flokkuliengene, gekoppel aan die laat-gisting *HSP30*-promotor, kan deur middel van hittedroogbehandeling geïnduseer word. Dit bevestig dat beheerde flokkulasie wel aan die einde van die gistingsproses geïnduseer sou kon word. Selaggregasie speel ook 'n sleutelrol in die produksie van florsjerrie, waartydens 'n verwante sellulêre proses daartoe aanleiding gee dat die gisselle na bo dryf om sodoende 'n noodsaaklike kimlaag (biofilm) op die oppervlak van die wyn te vorm. Deur die *MUC1*-mukiengene (ook bekend as die *FLO11*-flokkuliengene) onder die beheer van die *HSP30*-promotor te plaas, kan die vorming van die biofilm aan die einde van gisting bevorder word, wat dan die ontwikkeling van die flor vereenvoudig.<sup>30</sup>

#### **Verbetering van die biologiese beheer van mikroörganismes wat wynbederf veroorsaak**

Onbeheerde mikrobiële groei voor, gedurende en ná wyngisting kan die chemiese samestelling van die finale produk wysig en daardeur afbreek doen aan die sensoriese kenmerke van voorkoms, aroma en geur. Gesonde druïwe, kelderhiëne en gesonde wynekundige praktyke is die hoekstene van die wynmaker se strategie teen die onbeheerde vermenigvuldiging van bederfmikrobes. Addisionele veiligheid word verskaf deur die byvoeging van chemiese preserveermiddels, soos swaweldioksied, dimetieldikarbonaat, bensoësuur, fumaarsuur

en askorbiensuur, wat die groei van ongewenste mikrobiële kontaminante beheer.<sup>38</sup> Die oormatige gebruik van hierdie chemiese preserveermiddels benadeel die kwaliteit van die wyn en lei ook tot groeiende weerstand vanaf verbruikers. Verbruikervoorkeure verskuif toenemend na produkte wat minder met chemikalieë gepreserveer is, minder geprosesseer is, 'n hoër kwaliteit het, en wat natuurliker en gesonder is. Biopreservering met behulp van gisgeproduseerde metaboliete (bv. die vorming van SO<sub>2</sub> of waterstofperoksied tydens wyngistings) en peptiede (zimosiene en bakteriosiene) word dus tans as 'n alternatiewe strategie tot chemiese preservering oorweeg. Die gebruik van gesuiwerde antimikrobiële ensieme en bakteriosiene is duur, wat 'n verhoging in kleinhandelpryse teweegbring. Hierdie probleem kan moontlik oorkom word deur die uitdrukking van effektiewe antimikrobiële ensieme en peptiede in wyngis-inentingskulture, om sodoende die wynbedryf se behoefte aan wyne met 'n hoër kwaliteit en suiwerheid te bevredig. Vir hierdie doeleinde is die hoender-eierwit-lisosiemgeen (*HELI*), *Pediococcus acidilactici* se pediosiemgeen (*PEDI*) en *Leuconostoc carnosum* se leukosiemgeen (*LCA1*) gebruik om bakterisidiese giste te skep.<sup>38</sup> Die antifungiese *CTSI*-gekodeerde chitinase en *EXG1*-gekodeerde eksoglukanase is ook in *S. cerevisiae* uitgedruk.<sup>29</sup> Die belangrikste benadering in die konstruksie van zimosidiese gisrasse behels die insluiting van 'n kombinasie van mikrovirale killertoksiedeterminante van *S. cerevisiae* (bv. 'n K<sub>1</sub>/K<sub>2</sub>-dubbelkiller) en zimosien-koderende gene van ander giste (bv. *Hanseniaspora*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, ens.) in wyngiste. Die ideaal sou wees om al hierdie antimikrobiële aktiwiteite in 'n enkele wyngis in te sluit, om daardeur al die kontaminerende bederfbakterieë (bv. *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, ens.), giste (bv. *Brettanomyces*, *Pichia*, *Zygosaccharomyces*, ens.) en swamme (*Aspergillus*, *Botrytis*, *Penicillium*, *Trichoderma*, ens.) in wynbereiding teen te werk.<sup>30</sup>

#### **Verbetering van die heilsaamheid van wyn**

Daar word oor die algemeen aanvaar dat die matige drink van wyn sosiaal voordelig kan wees, en dat dit stres doeltreffend kan beheer en koronêre hartsiekte kan verminder. Die vernaamste beskermende verbindings in wyn sluit fenoliese verbindings, resveratrol, salasiensuur en alkohol in. Verstandige wyndrinkers is al hoe meer kieskeurig oor die teenwoordigheid van ongewenste verbindings in wyn. Hierdie ongewenste verbindings sluit in: vermeende karsinogeniese verbindings, soos etielkarbamaat; neurotoksiene, soos biogeniese amiene; en asmatiese chemiese preserveermiddels, soos sulfiet. Die puntenerigste van hierdie kieskeurige wyndrinkers is selfs besorg oor die hoë vlakke van alkohol in wyn. Wanneer wyngisrasse dus ontwikkel word, is dit uiters belangrik om op hierdie gesondheidsaspekte te fokus en om giste te ontwikkel wat die voordele kan verhoog (bv. produksie van resveratrol, karnitien, ens.) en die risiko's, sal verminder (bv. deur etielkarbamaat en biogeniese amiene uit te skakel en die alkoholvlakke te verminder).<sup>38</sup>

Met betrekking tot die produksie van resveratrol tydens gisting, is vooruitgang reeds gemaak deur die konstruksie van 'n wyngis wat die *4CL9/216*-koënsiem-A-ligasegeen en die *VST1*-stilbeensintasegeen uitdruk.<sup>29</sup> Die ontwikkeling van 'n bakterisidiese gis waarvan die *CARI*-arginasegeen geëlimineer is (verhinderende van die uitskeiding van ureum, die voorloper vir die vorming van etielkarbamaat) of wat met die heteroloë ureasegene getransformeer is (wat die degradasie van urease moontlik maak), sal die vlakke van toegevoegde sulfiet, gisgeproduseerde etielkarbamaat en bio-amiene wat deur kontaminerende bakterieë gevorm word, verminder.<sup>38</sup> Daar is

ook reeds goeie vordering gemaak met die ontwikkeling van giste wat die alkoholvlakke van wyn op 'n biologiese wyse kan verminder. In hierdie gewysigde giste word die vloeï van die suikerkoolstof weg van alkoholvorming en in die rigting van die produksie van gliserol en glukoonzuur gekanaliseer. 'n Betekenisvolle akkumulering van ekstrasellulêre gliserol ten koste van etanolproduksie is bereik met die ooruïtdrukking van *S. cerevisiae* se *GPD1*- en *GPD2*-gekodeerde gliserol-3-fosfaatdehidrogenases saam met die konstitutiewe uitdrukking van die *FPS1*-gekodeerde gliseroltransport-fasiliteerder. 'n Soortgelyke vermindering in alkoholvlakke is behaal met die uitdrukking van *Aspergillus niger* se *GOX1*-glukose-oksidasiese in *S. cerevisiae*.

#### Verbetering van die sensoriese gehalte van wyn

Een van die heel belangrikste faktore in wynbereiding is die organoleptiese gehalte (voorkoms, aroma en geur) van die finale produk. Die eidelose variëteit van wyngeste spruit uit 'n komplekse, volkome nielineêre stelsel van interaksies tussen etlike honderde verbindings. Die bouquet van 'n wyn word bepaal deur die teenwoordigheid van 'n goed gebalanseerde verhouding van gewenste geurverbindings en metaboliete en die afwesigheid van ongewenste verbindings.<sup>39</sup> Met die uitsondering van terpenes in die aromatisiese druifvariëteite en alkoksipirasiene in die kruidagtige kultivars, is die waarneembare geur die resultaat van absolute hoeveelhede en spesifieke verhoudings van baie van hierdie interaktiewe verbindings, eerder as 'n enkele "impakverbinding".<sup>39</sup> Subtiele kombinasies van spoorelemente (geakkumuleerde sekondêre metaboliete) wat van die druive afgelei is, ontlok gewoonlik die kenmerkende geur- en aromanote van wyn, terwyl die produkte van gisfermentasie (bv. esters, alkohole, ens.) bydra tot die generiese agtergrondgeur en -aroma, sowel as tot die kompleksiteit en intensiteit van die aroma en smaak van die finale produk. Gis kan ook vir die produksie van ongewenste nuwe produkte, soos waterstofsulfied, verantwoordelik wees.<sup>39</sup>

Daar is 'n duidelike behoefte vir die ontwikkeling van wyngeste wat spesifieke, gewenste kenmerke aan 'n wyn kan verleen (tabel 2).<sup>30</sup> Wat hierdie aspek aanbetref, is noemenswaardige vooruitgang reeds gemaak met die konstruksie van giste wat kleur- en aromavystellende ensieme (bv. pektinase, glikosidase, glukonase, arabinofuranosidase, ens.) en estermodifiserende ensieme (bv. alkoholasetieltransferase, esterase, isoamielasetatidroliserende ensieme, ens.) produseer. Verder is giste ontwikkel wat optimale vlakke van gliserol (die ooruïtdrukking van *GPD1*, *GPD2* en *FPS1*, tesame met die weglating van die *ALD6*-asetaldehydedehidrogenasegeen), fuselolies (bv. isobutiëlalkohol, isoamielalkohol, ens.) en fenolure (gewysigde uitdrukking van die gis *PADI* fenielakriel-suurdekarboksilasegeen, sowel as die uitdrukking van bakteriële *pdC* r-koemareinsuurdekarboksilase- en *padC* fenol-suurdekarboksilasegene) produseer.<sup>29</sup> Verder is wyngeste ontwikkel wat onderbreekte allele van die *MET14*-adenosiefosfosulfaat-kinase of *MRX1*-metioniensulfoksiedreduktase dra.<sup>30</sup>

Die biologiese aanpassing van suurheid in wyn kan bereik word deur rekombinante wyngeste, wat kombinasies van gene wat uit *Schizosaccharomyces pombe* en melksuurbakterieë gekloneer is, bevat. 'n Wyngis wat die *S. pombe mae1*-malaatpermeasegeen en die *mae2*-appelsuurensiemgeen bevat, skakel appelsuur om na etanol (malo-etanoliese gisting), terwyl 'n transformant wat die *mae1*-geen tesame met die *Oenococcus oeni*- (*mleA*), *Lactococcus lactis*- (*mleS*) of *Lactobacillus delbrueckii*- (*mleS*) appelmeksuurensiemgeen dra, die appelsuur in melksuur omskakel (appelmeksuurgisting).<sup>27</sup> Die malo-etanoliese wyngis sal voorkeur geniet vir wyne met 'n lae pH

vanaf die koeler wynproduserende gebiede, terwyl die appelmeksuurbaktery die beste oplossing sal verskaf vir die warmer streke se wyne met 'n hoë pH. In die geval van wyne met 'n hoë pH kan die produksie van addisionele melksuur tydens gisting behaal word deur *Lactobacillus casei* se *LDH1*-lakticodehidrogenasegeen in die appelmeksuurbaktery te inkorporeer. Hierdie giste sluit ook die voorvereiste vir die gebruik van bio-amienvormende appelmeksuurbakterieë in rooiwyn en sekere style van witwyn wat appelmeksuurgisting moet ondergaan, uit.<sup>29</sup>

## 4. DIE KOMMERSIALISERING VAN GENETIES VERBETERDE DRUIFKULTIVARS EN WYNGISRASSE

### 4.1 Uitdagings vir die kommersialisering van ontwerperwingerdstokke en -wyngeste

#### Wetenskaplike en tegniese hindernisse

Ten spyte van die sterk en oortuigende wetenskaplike argumente ten gunste van die gebruik van geentegnologie vir die verbetering van druive en wyngeste, het die wynbedryf die 21<sup>ste</sup> eeu betree sonder 'n transgeniese druifvariëteit of 'n rekombinante wyngis wat op 'n kommersiële skaal gebruik word. Aansienlike vooruitgang is oor die afgelope paar jaar gemaak om die tegniese hindernisse te oorkom wat verband hou met die definiering van die wynbedryf se genetiese vereistes en om druifvariëteite en wyngeste daarvolgens te verbeter. Die ontwikkeling van genetiese transformasiemetodes vir *S. cerevisiae* (in 1978) en vir *V. vinifera* (in 1989), en die koms van tegnologie waarmee die totale spektrum van genome, transkriptome, proteome en metabolome ontleed kan word, het ongetwyfeld nuwe horisonne vir die wynbedryf oopgemaak. Dit is belangrik om daarop te let dat die inligting en tegnologie wat tans vir modelplant- en gissisteme bestaan nog na die baie meer komplekse genome van wingerdstokke en industriële wyngeste uitgebrei moet word voordat daar voldoende aan al die vereistes en besorgdhede van die produsente, verbruikers en owerhede aandag gegee kan word.<sup>27</sup> Die onlangse belowende "prototipes" van geneties gewysigde wyndruifkultivars en wyngeste maak hierdie doelwitte toenemend haalbaar.

#### Hindernisse wat verband hou met bioveiligheidswetgewing en -regulasies

Die aanvanklike probleme met betrekking tot die statutêre goedkeuring van die gebruik van geneties gewysigde plante en organismes in die landboubedryf word nou geleidelik oorskadu deur die groeiende konsensus dat risiko hoofsaaklik 'n funksie van die kenmerke van 'n produk is, eerder as van die gebruik van genetiese wysiging per se. Die konsep van "substantiewe ekwivalensie" word grootliks gebruik in die bepaling van veiligheid deur vergelyking met die analoë, konvensionele voedsel- en drankprodukte. Wanneer substantiewe ekwivalensie bewys kan word, word geen verdere veiligheidsoorwegings gewoonlik benodig nie. Wanneer substantiewe ekwivalensie nie oortuigend bewys kan word nie, moet die verskilpunte eers aan verdere ondersoek vir veiligheid onderwerp word.<sup>27</sup>

Die meeste lande se wetgewing en regulasies stem grootliks ooreen en verskille kom dus slegs by finer detailbepalings voor. Riglyne vir die goedkeuring van GM produkte en die vrystelling van GMO's vereis gewoonlik 'n groot aantal voor die hand liggende waarborge, wat die volgende insluit: 'n volledige definisie van die DNA-volgorde wat ingevoer is en die uitskakeling van enige nukleotiedvolgorde wat nie onontbeerlik vir die uitdrukking van die gewenste eienskap is nie; die



**Tabel 2** Teikens vir die genetiese verbetering van wyngisrasse

Gewenste kenmerke	Fokusgebiede	Voorbeelde van potensiële teikengene
Verbeterde gistingsprestasië		
Verbeterde algemene lewens- kragtigheid en stressterans	Stresrespons, sterol, glikogeen en trehalose-akkumulasië	Aanpassing van glikogeen- of trehalosemetabolisme [bv. wat werk op <i>GSY1</i> en <i>GSY2</i> (glikogeensintase), <i>TPS1</i> (trehalose-6-fosfaatsintase), <i>TPS2</i> (trehalose- 6-fosfaatfosfatase)]
Verbeterde doeltreffendheid van suikerbenutting	Heksose transporters, heksose kinase	Ooruitdrukking en aanpassing van <i>HXT1-HXT18</i> , <i>SNF3</i> , <i>FSY1</i> en gebruik van heteroloë transporters en kinase
Verbeterde doeltreffendheid van stikstofassimilasië	Verbeterde benutting van minder doeltreffende stikstofbronne	Prolienkatabolisme [ <i>PUT1</i> (prolienoksidase) en <i>PUT2</i> (pirrolien-5-karboksilaatdehidrogenase)] en gebruik van heteroloë kataboliese gene
Verbeterde etanoltoleransië	Sterolvorming, membraan ATPase- aktiwiteit	Aanpassing van die uitdrukking van <i>PMA1</i> en <i>PMA2</i> (ATPase), sterol anaboliese gene
Verhoogde toleransië van antimikrobiese verbindings	Weerstand teen killertoksiene, swaweldioksied, agrochemikalieë	Insluiting van <i>KIL2</i> (zimosien en immunitetsfaktor), ooruitdrukking van <i>CUPI</i> (koperchelatiën)
Verminderde skuimvorming	Seloppervlakproteïene	Weglating van <i>FRO1</i> en <i>FRO2</i> (skuimproteïene)
Verbeterde prossesserings- doeltreffendheid		
Verbeterde proteïenverheldering	Protease	Ooruitdrukking van <i>PEP4</i> (protease A) en sekresie van ander protease
Verbeterde polisakkariedverheldering	Glukanase, pektinase, xilanase, arabinofuranosidase	Ooruitdrukking van <i>END1</i> (endoglukanase), <i>EXG1</i> (eksoglukanase), <i>CEL1</i> (sellodekstrinase), <i>BGL1</i> ( $\beta$ -glukosidase, sellobiase), <i>PEL5</i> (pektaatlasië) en <i>PEH1</i> (poligalakturonase), <i>XYNI-5</i> (xilanase), <i>ABF2</i> (arabinofuranosidase)
Beheerde selsedimentasië en - flokulasie	Flokkuliëne	Laatuitdrukking van flokkulasiegene ( <i>FLO1</i> , <i>FLO5</i> , <i>MUC1/FLO11</i> ) onder die beheer van promotors ( <i>HSP30</i> ) wat gewenste uitdrukking verleen
Beheerde selflottasië en florvorming	Selwand hidrofobiese proteïene	Laat uitdrukking van <i>MUC1/FLO11</i> onder die beheer van promotors ( <i>HSP30</i> ) wat die gewenste uitdrukkingspatroon verleen
Verbeterde biologiese beheer oor wynbederfsmikro-organismes		
Wygiste wat antimikrobiese ensieme produseer	Lisosieme, glukanase, chitinase	Uitdrukking van <i>HELI</i> (hoendereierwit-lisosiem), <i>CTS1</i> (chitinase), <i>EXG1</i> (eksoglukanase) en ander antimikrobiese ensieme
Wygiste wat antimikrobiese peptiede produseer	Bakteriosiëne	Uitdrukking van <i>PEDI1</i> (pediosien), <i>LCA1</i> (leukosien) en ander heteroloë bakteriosien- en zimosiëne
Wygiste wat swaweldioksied produseer	Swawelmetabolisme en sulfietvorming	Ooruitdrukking van <i>MET14</i> (adenosiefos- fosulfaatkinase) en <i>MET16</i> (fosfo-adenosiel fosfosulfaatreduktase), en weglating van <i>MET10</i> (sulfietreduktase)

afwesigheid van enige selektiewe voordeel wat aan die transgeniese organisme oorgedra word, wat dit sal toelaat om in natuurlike habitats dominant te word; geen gevaar vir menslike gesondheid en/of die omgewing vanaf die getransformeerde gene nie; en 'n duidelike voordeel vir beide die produsent en die verbruiker.<sup>27</sup>

#### **Hindernisse met betrekking tot intellektuele eiendom en patentering**

Die patente wat baie van die genetiese gereedskap (bv. spesifieke nukleotiedvolgordes, geenpromotors, merkerogene, vektore, ens.) en metodes (bv. transformasieprotokols) wat algemeen in genetiese manipulasie gebruik word, dek, laat min "vryheid van handeling" toe. Dit is dus dringend noodsaaklik om aan die kwessie van intellektuele eiendom, soos patente en ander vorme van die beskerming van gene, promotors en tegnologieë, deur

formele ooreenkomste aandag te gee. Indien die eienaarskap van 'n transgeniese wingerdstok of rekombinante wyngis betwis word, kan die vrystelling van sulke geneties verbeterde wingerdplantjies en wyngisrasse die proses van kommersialisering ernstig belemmer. Andersyds moet geneties verbeterde wingerdstokke en wyngiste (met "voldoende onderskeidende" kenmerke) op een of ander manier deur die ontwikkelaar daarvan beskerm word. Of verbeterde transgeniese wingerdstokke of wyngiste self gepatenteer kan word of op ander maniere beskerm kan word, kan ook deur die wetgewing en regulasies van elke wynproduserende land bepaal word.<sup>3</sup>

#### **Politiese en ekonomiese hindernisse**

Dit is 'n feit dat ekonomiese deur verskillende kragte gedryf word en dus aan lewensiklusse onderworpe is. In terme van hulpbronne was die *industriële ekonomie* "die ekonomie van

**Tabel 2** Teikens vir die genetiese verbetering van wyngisrasse (vervolg)

Gewenste kenmerke	Fokusgebiede	Voorbeelde van potensiële teikengene
Verbeterde wynheilsaamheid		
Verhoogde resveratrolproduksie	Stilbeensintese	Uitdrukking van <i>4CL9/216</i> (koënsiem A ligase), <i>VSTI</i> (stilbeensintase)
Verminderde etielkarbamaatvorming	Aminosuur metabolisme, ureumvorming	Weglating van <i>CARI</i> (arginase) of uitdrukking van <i>UREI</i> (urease)
Verminderde biogeniese amienvorming	Bakteriolitiese ensieme, bakteriosiene	Uitdrukking van <i>HELI</i> (hoendereierwit-lisosiem), <i>PEDI</i> (pediosien), <i>LCAI</i> (leukosien) en ander bakteriosiene
Verlaagde alkoholvlakke	Koolstofvloei, gliserolmetabolisme en glukose-oksidasie	Ooruitdrukking van <i>GPD1</i> en <i>GPD2</i> (gliserol-3-fosfaatdehidrogenase), modifikasie van <i>FPS1</i> (gliserol vervoer- fasiliteerder), uitdrukking van <i>GOX1</i> (glukose oksidasie)
Verbeterde wyngeur en ander sensoriese kenmerke		
Verhoogde vrystelling van druifterpenoïede	Glikosidase, glukonase, arabinofuranosidase	Ooruitdrukking van <i>END1</i> (endoglukanase), <i>EXG1</i> (eksoglukanase), <i>CELI</i> (sellodekstrinase), <i>BGL1</i> (b-glukosidase, sellobiase), <i>PEL5</i> (pektaatlase) en <i>PEH1</i> (poligalakturonase), <i>ABF2</i> (arabinofuranosidase)
Verhoogde produksie van wenslike vlugtige esters	Esterase	Gewysigde uitdrukking van <i>ATF1</i> (alkoholasetiel-transferase) en ander alkoholtransferase, <i>IAH1</i> (esterase) en ander esterase
Optimale fusielolieproduksie	Aminosuurmetabolisme	Weglating van die <i>ILE</i> -, <i>LEU</i> - en <i>VAL</i> -gene
Verhoogde gliserolproduksie	Gliserolmetabolisme	Ooruitdrukking van <i>GPD1</i> en <i>GPD2</i> (gliserol-3-fosfaatdehidrogenase), <i>FPS1</i> (gliserolvervoer-fasiliteerder), en weglating van <i>ALD6</i>
Biologiese aanpassing van wynsuurheid	Malo-etanoliese gisting, appelmelksuurgisting, melksuurproduksie	Uitdrukking van <i>MAE1</i> (malaat permease), tesame met <i>MAE2</i> (malaatensiem) of <i>mleS</i> (appelmelksuurensiem), of <i>LDH1</i> (laktikodehidrogenase)
Optimalisering van fenole	Fenolmetaabolisme	Gewysigde uitdrukking van <i>PAD1</i> (fenielakrielsuurdekarboksilase), <i>pdC</i> (r-koemareinsuurdekarboksilase), <i>pdC</i> (fenoliese suurdekarboksilase)
Verminderde sulfiet- en sulfiedproduksie	Swawelmetabolisme, formasie van waterstofsulfied	Weglating van <i>MET14</i> (adenosiefosfosulfaatkinaase) en <i>MRX1</i> (metioniensulfoksiedreduktase)

skaarsheid”, omdat alles wat die ekonomie gedryf het, skaars was en slegs aan ’n paar nasies beskikbaar was. Die huidige *inligtingseconomie*, wat op die suksesse van die industriële ekonomie gebou is, word deur “die ekonomie van oorvloed” gedryf en, danksy kommunikasiestelsels, rekenaartegnologieë en die internet, is inligting nie meer ’n skaars hulpbron nie. Verder word dit reeds bespiegel dat die inligtingseconomie slegs die eerste fase van die *bio-ekonomie* is, wat op die steunpilare van beide informasietegnologie en biotegnologie berus. Daar is voldoende bewyse dat die *info-bio-ekonomie* reeds meer ekonomiese transformasie in die afgelope paar dekades teweeggebring het as wat in die voorafgaande eeue deur die industriële ekonomie veroorsaak is. Hierdie veranderinge word nie deur almal as positief beskou nie. Sommige kritici en aktiviste sweep die publiek op en verskaf skietgoed aan politieke agendas en proteste teen globalisering en ’n universele, “grenslose” ekonomie. Sekere drukgroepe beweer ook dat patente op geneties gewysigde organismes ’n onregverdige voordeel aan sekere produsente verleen en daardeur ekonomiese mag in die hande van ’n paar groot multinasionale produsente konsentreer. Daar kan dus verwag word dat die kommersialisering van geneties verbeterde wingerdstokke en wyngiste nie politieke inmenging deur die gevestigde belange van handelsversperring op ekonomiese- en landbougebied sal ontsnap nie. Die stygende gety in ’n oorvloeiende oseaan van wyn sal moontlik die versoeking aan sommige vergroot om wetenskaplike data te verdraai en verbruikerverwarring te misbruik om handelsbeperkings en tegniese hindernisse tot vrye handel te regverdig.<sup>3</sup>

### **Bemerkingshindernisse**

Die bemerking van wyn is grootliks afhanklik van die integriteit van etikette en die identiteit van produkte. Dit is dus van die uiterste belang dat geneties verbeterde wingerdstokke en giste nie met die gevestigde kultivarname en voorspelbare wynstyle moet inmeng nie. Die wynbedryf is byvoorbeeld baie afhanklik van ’n paar uitgesoekte kultivars en sal dus baie huiwerig wees om nuwe variëteitsname in gebruik te neem. In die winsgewendste marksegmente vorm die variëteitsnaam (veral die name van die sogenaamde “Groot Vyf”, naamlik Cabernet Sauvignon, Shiraz, Merlot, Chardonnay en Sauvignon blanc), tesame met die oorsprong van produksie en die oesjaar, die hoekstene van die inligting wat op die etiket op die bottel aan die toenemend handelsmerkbewuste verbruikers verskaf word.<sup>3</sup> Die uiteinde van die huidige debat oor die beskrywing en benoeming van transgeniese wingerdstokke sal dus nie net die prosedure vir die beskrywing van geneties gewysigde kultivars bepaal nie, maar ook in ’n groot mate hul aanvaarding deur druifprodusente en wynmakers, en hul kommersiële waarde in die mark.

Hierdie debat oor die kwessie van benoeming behels ’n hele aantal faktore, soos die oorsprong van die geen (gene) wat in ’n spesifieke wingerdstok ingevoer is, die “variëteitsgetrouheid” van die transgeniese wingerdstok in vergelyking met die oorspronklike kultivar/kloon, asook die organoleptiese en sensoriese kwaliteite van die wyn wat gevolglik geproduseer word.<sup>3</sup> In die lig van die enorme bemerkingswaarde wat aan variëteitsname gekoppel word, is daar ’n dringende behoefte vir konsensus dat geneties gewysigde wingerdstokke nie veel verskil van klonale seleksies van wingerdstokke, wat op die basis van voordelige, spontane genetiese variasies (bv. ’n verandering in die prestasie van ’n plant), geselekteer is nie. Wanneer klonale seleksies gebruik word, mag die identiteit aan die druiwekweker bekend wees, maar die wyn word nog steeds onder die variëteitsnaam bemark en nie onder die klonale naam (deur ’n

kenmerkende kloonnummer gespesifiseer) nie. Dit is nog onbekend of daar aan transgeniese wingerdstokke met gewysigde vrugkwaliteite, soos verbeterde samestelling van kleur- of geurverbindinge, ’n nuwe variëteitsnaam of bloot ’n nuwe kloonnummer toegewys gaan word. Hierdie onsekerhede, tesame met die onpraktiese, maar sterk aandrang dat alle produkte wat deur middel van geentegnologie geproduseer is, spesifiek geëtiketteer moet word, versterk die huiwerigheid van die wynbedryf om transgeniese wingerdstokke en rekombinante wyngiste in gebruik te neem. Hierdie vertwyfeling word verder aangewakker deur sommige handelsgroepe wat dit nie kan weerstaan om die huidige verbruikersonsekerheid en -skeptisisme oor GM produkte uit te buit met etikette wat noem dat ’n spesifieke wynprodukt nie geneties gemodifiseer is nie.

### **Tradisionele en kulturele hindernisse**

Die toekomstige toepassing van geentegnologie in die wynbedryf sal ’n paar meer spesifieke hindernisse moet oorkom. Eerstens het nasionale en streekswynbedrywe sterk identiteite en diep kulturele wortels, soos geïllustreer word deur die toegewyde instandhouding van trotse plaaslike tradisies. As ’n uitvloeisel hiervan, is die bedryf minder ontvanklik vir tegnologieë wat revolusionêre veranderinge in die vooruitsig stel.<sup>3</sup> Binne hierdie konteks word daar ook gevrees dat geentegnologie die neiging om wyne te standaardiseer om groot supermarkettings en die “gemiddelde” internasionale verbruiker te bevredig, mag versnel en daardeur lei na ’n verlies van plaaslike identiteit, verskeidenheid en uniekheid. Die suksesvolle toepassing van geentegnologie in die wynbedryf sal daarvan afhang of kommersiële gebruikers van transgeniese wingerdstokke en rekombinante wyngiste oortuig sal kan word dat die bestaande, gewenste kenmerke nie aangetas is nie, dat die vereistes van drankwetgewing nagekom is en dat die gewysigde druifkultivar en gisras in die praktyk stabiel sal wees, met behoorlike prosedures vir monitering. Sodra diegene wat tradisievas is, oortuig kan word van ’n duidelike organoleptiese, higiëniese of ekonomiese voordeel van ’n transgeniese druifvariëteit of rekombinante wyngis, sal hulle in ’n sterk posisie wees om só ’n wingerdstok of gis in die praktyk aan te wend, aangesien die meerderheid wynondernemings volledig geïntegreerde agrobredrywe is wat direkte beheer oor die ontwikkeling van nuwe, gespesialiseerde nismarkte vir “GM wynprodukte” kan uitoefen. Die wynverbruikers in sulke tipe nismarkte is in baie gevalle geesdriftig, goed ingelig, goed opgevoed en, bowenal, nuuskierig. GMwyne wat deur ’n beperkte aantal geïnteresseerde produsente geproduseer word, sal dus sonder twyfel wydverspreide aandag lok en ’n nuwe, suksesvolle nismark skep. Op die basis van so ’n klein begin sal die breër voordele wat deur GMO-tegnologieë verleen word, aan wingerdverbouers en wynmakers duidelik word en die tegnologie sou dan vinnig kan beweeg van die bevrediging van nismarkte na algemene aanvaarding.

### **Hindernisse wat verband hou met openbare persepsies**

Die emotiewe, vreesaanjaende bedenkinge en mites van die immoraliteit van “onnatuurlike” genetiese inmenging met die Natuur, van onveilige “Frankenkos” en globale verwoesting as gevolg van GMO’s, versprei vinniger as goeie rede of wyse wetenskap, en ver genoeg om in die kulturele omgang as die waarheid voorgelê te word. Die publiek se persepsie dat GM voedsel ’n risiko inhou, het dus, tot dusver nog die moontlike voordele van GM voedsel oortref. Bioveiligheidsowerhede blyk ook meer bereidwillig te wees om die gebruik van GMO’s goed te keur as wat die publiek bereid is om dit te gebruik. ’n Noemenswaardige deel van die publiek vermoed nog steeds dat

GM voedsel in die lang termyn ongesond sal wees en dat die ontsnapping van GMO's die omgewing sal beskadig en tot 'n verlies van biodiversiteit sal lei. Hulle twyfel ook of daar voldoende wetlike en praktiese beskerming is teen ongelukke waarby GMO's betrokke is.<sup>27</sup>

Dit is duidelik dat verbruikeropvoeding noodsaaklik is om hierdie vrees vir die onbekende uit te skakel. Wetenskaplikes moet deurlopend die publiek inlig en openhartig wees oor hulle eksperimente, navorsing en produkte. Die verbruiker moet verseker word van eersteklas, deursigtige bioveiligheidstelsels en die nougesette implementering van bioveiligheidswetgewing met duidelike tegniese standaarde en definisies met betrekking tot GM produkte. Die verbruiker moet oortuig word deur behoorlike risikoskatting en 'n duidelike demonstrasie van veiligheid, en sodoende bemagtig word om ingeligte besluite te neem. Versekering moet gegee word dat GM wyn en ander druifverwante produkte nie vir 'n wins op verbruikers afgedwing gaan word as daar geen duidelike voordeel vir die verbruiker gaan wees nie.<sup>29</sup>

#### 4.2 Toekomstvooruitsigte

Wyn is 'n oeroue, unieke produk en daar word dikwels daarna verwys as *gebottelde digkuns*. Wynproduksie is dus beide kuns en wetenskap; 'n mengsel van individuele kreatiwiteit en innoverende tegnologie in die strewe na die daarstelling van 'n volmaakte produk. Wynproduksie is ook 'n sakeonderneming met ekonomiese faktore wat die bereidingspraktyke dryf. Ten einde suksesvol in die geglobaliseerde handel te wees, moet die hedendaagse wynmaker die kuns-, tegnologiese en ekonomiese aspekte van wynproduksie integreer. Hiervoor is 'n grondige begrip nodig van die intrinsieke en ekstrinsieke faktore wat die winsgewende en volhoubare verkope van 'n bepaalde wyn dryf.<sup>40</sup>

Die pasmaak van druifkultivars en wyngisrasse sal ongetwyfeld die wynbedryf help om die tegniese en verbruikeruitdagings van die 21<sup>ste</sup> eeu die hoof te bied. As gevolg van 'n groot aantal komplekse wetenskaplike, tegniese, ekonomiese, bemarkings-, veiligheids-, wetlike en etiese kwessies word geen transgeniese druifvarieteit of wyngis tans op 'n kommersiële skaal gebruik nie.<sup>41</sup> Hierdie situasie sal na alle waarskynlikheid so bly tot beide die verbruiker en die wynbedryf tevrede is dat GM wyn voordelig, veilig en van topgehalte is. Dus, in die lig van die huidige diepliggende kommer van verbruikers en tradisionaliste sou dit feitlik "kommersiële selfmoord" beteken indien enige wynkelder te vroeg die eerste wyn afkomstig van transgeniese druife of wyn wat met behulp van 'n rekombinante gis gefermenteer is aan die mark bied. Aan die ander kant is dit ook duidelik dat dit ewe selfvernietigend sou wees indien die fenomenale potensiaal van geentegnologie, wat die wynbedryf met kwantumvoorspronge in die onvermydelike era van *ontwerper*-produkte sou lanseer, geïgnoreer sou word.<sup>41</sup> Die toepassing van geentegnologie hou eindelose potensiese voordele vir beide die wynverbruiker en die wynprodusent in. Hierdie voordeel sal slegs verwesenlik kan word indien die toepassing oordeelkundig, sistematies en met 'n hoë agting vir die unieke aard van die produk gedoen word. Die eerste GM produkte moet ondubbelsinnig organoleptiese, higiëniese en ekonomiese voordele vir die wynprodusent en die wynverbruiker demonstreer. Verder moet die bekorendste en fassinerendste aspek van wyn, naamlik sy verskeidenheid van styl, nooit deur die gebruik van pasgemaakte wingerdstokke en wyngiste bedreig word nie. Geentegnologie moet eerder ingespan word om die diversiteit van topgehaltewyne uit te brei. Dit gaan 'n wesenlike en volgehoue poging verg om hierdie enorme uitdagings te bowe te kom, maar indien sukses daarmee bereik word sal die beloning ewe enorm wees.

#### 5. ERKENNING

Die navorsing van die Instituut vir Wynbiotegnologie word finansiële deur die Nasionale Navorsingstigting (NNS) en die Suid-Afrikaanse wynbedryf (Winetech) ondersteun.

#### 6. LITERATUURVERWYSING

Hierdie artikel verteenwoordig 'n saamgestelde weergawe van twee onlangse oorsigte [Verwysings deur Pretorius & Bauer (2002) en Vivier & Pretorius (2002)]. As gevolg van die beperkte ruimte wat aan hierdie oorsigsartikel toegeken is, word al die literatuurverwysings wat geraadpleeg is, nie hier gelys nie. Om die fynere besonderhede van die inligting wat in hierdie artikel vervat is, te raadpleeg, word die leser verwys na die publikasies wat hieronder gelys is, sowel as na die verwysings wat in hulle vervat word.

1. Spies, P.H. (2001). Cape Winelands Quality Commitment: Setting the strategic course for excellence. A document of the South African Wine and Brandy Company.
2. Vivier, M.A., Pretorius, I.S. (2000). Genetic improvement of grapevine: tailoring grape varieties for the third millennium, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 21, 5-26.
3. Vivier, M.A., Pretorius, I.S. (2002). Genetically tailored grapevines for the wine industry, *Trends Biotechnol.*, 20, 472-478.
4. Jackson, R.S. (1994). Grapevine species and varieties. In: *Wine Science: Principles and application*. (Academic Press), p. 11-31.
5. Mullins, M.G., Bouquet, A., Williams, L.E. (1992). *Biology of the grapevine* (Cambridge Univ. Press).
6. Colova-Tsolova, V., Perl, A., Krastanova, S., Tsvetkov, I., Atanassov, A. (2001). Genetically engineered grape for disease and stress tolerance. In: *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. Red. Roubelakis-Angelakis, K.A. (Kluwer Academic Publishers), p. 411-432.
7. Kikkert, J.R., Thomas, M.R., Reisch, B.I. (2001). Grapevine genetic engineering. In: *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. Red. Roubelakis-Angelakis, K.A. (Kluwer Academic Publishers), p. 393-463.
8. Perl, A., Eshdat, Y. (1998). DNA transfer and gene expression in transgenic grapes. In: *Biotechnology and genetic engineering reviews*. Red. Tombs, M.P. (Intercept Ltd), p. 365-389.
9. Sefc, K.M., Lefort, F., Grando, M.S., Scott, K.D., Steinkellner, H., Thomas, M.R. (2001). Microsatellite markers for grapevine: A state of the art. In: *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. Red. Roubelakis-Angelakis, K.A. (Kluwer Academic Publishers), p. 433-464.
10. Martinelli, L., Gribaudo, I. (2001). Somatic embryogenesis in grapevine. In: *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. Red. Roubelakis-Angelakis, K.A. (Kluwer Academic Publishers), p. 327-352.
11. Agrios, G.N. (1997). *Plant Pathology* (4<sup>de</sup> uitgawe). (Academic Press).
12. Bavaresco, L., Fregoni, C. (2001). Physiological role and molecular aspects of grapevine stilbenic compounds. In: *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. Red. Roubelakis-Angelakis, K.A. (Kluwer Academic Publishers), p. 153-182.
13. Tattersall, D.B., Pocock, K.F., Hayasaka, Y., Adams, K., Van Heeswijk, R., Waters, E.J., Hoj, P.B. (2001). Pathogenesis related proteins – their accumulation in grapes during berry growth and their involvement in white wine heat instability. Current knowledge and future perspectives in relation to winemaking practices. In: *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. Red. Roubelakis-Angelakis, K.A. (Kluwer Academic Publishers), p. 183-202.
14. Sanford, J.C., Johnston, S.A. (1985). The concept of parasite-derived resistance – deriving resistance genes from the parasite's own genome, *J. Theor. Biol.*, 115, 395-405.
15. Loulakis, K.A., Roubelakis-Angelakis, K.A. (2001). Nitrogen assimilation in grapevine. In: *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. Red. Roubelakis-Angelakis, K.A. (Kluwer Academic Publishers), p. 183-202.

- Academic Publishers), p. 59-86.
16. Van Heeswijck, R., Stines, A.P., Grubb, J., Skrumsager Møller, I., Høj, P.B. (2001). Molecular biology and biochemistry of proline accumulation in developing grape berries. In: *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. Red. Roubelakis-Angelakis, K.A. (Kluwer Academic Publishers), p. 87-105.
  17. Paschalidis, K.A., Aziz, A., Geny, L., Primikiri, N.I., Roubelakis-Angelakis, K.A. (2001). Polyamines in grapevine. In: *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. Red. Roubelakis-Angelakis, K.A. (Kluwer Academic Publishers), p. 109-152.
  18. Boss, P.K., Davies, C. (2001). Molecular biology of sugar and anthocyanin accumulation in grape berries. In: *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. Red. Roubelakis-Angelakis, K.A. (Kluwer Academic Publishers), p. 1-34.
  19. Terrier, N., Romieu, C. (2001). Grape berry acidity. In: *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. Red. Roubelakis-Angelakis, K.A. (Kluwer Academic Publishers), p. 35-58.
  20. Delrot, S., Picaud, S., Gaudellère, J.P. (2001). Water transport and aquaporins in grapevine. In: *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. Red. Roubelakis-Angelakis, K.A. (Kluwer Academic Publishers), p. 241-262.
  21. Pretorius, I.S., Van der Westhuizen, T.J., Augustyn, O.P.H. (1999). Yeast biodiversity in vineyards and wineries and its importance to the South African wine industry, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 20, 61-74.
  22. Henschke, P.A. (1997). Wine Yeast. In: *Yeast Sugar Metabolism*. Red. Zimmermann, F.K. & Entian, K.-D. (Technomic Publishing Co), p. 527-560.
  23. Querol, A., Ramon, D. (1996). The application of molecular techniques in wine microbiology, *Trends Food Sci. Technol.*, 7, 73-78.
  24. Grossmann, M.K., Pretorius, I.S. (1999). Verfahren zur Identifizierung von Weinhefen und Verbesserung der Eigenschaften von *Saccharomyces cerevisiae*: eine Übersicht, *Die Weinwissenschaft*, 54, 61-72.
  25. Pretorius, I.S. (1997). Utilization of polysaccharides by *Saccharomyces cerevisiae*. In: *Yeast Sugar Metabolism*. Red. Zimmermann, F.K. & Entian, K.-D. (Technomic Publishing Co), p. 459-501.
  26. Pretorius, I.S. (1999). Engineering designer genes for wine yeasts, *Aust. N.Z. Wine Indust. J.*, 14, 42-47.
  27. Pretorius, I.S. (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking, *Yeast*, 16, 675-729.
  28. Pretorius, I.S. (2001). Gene technology in winemaking: new approaches to an ancient art, *Agri. Consp. Sci.*, 66, 1-20.
  29. Pretorius, I.S. (2003). The genetic improvement of wine yeasts. In: *Fungal Biotechnology*. Red. Arora, D. (Marcel Decker), (ter perse)
  30. Pretorius, I.S., Bauer, F.F. (2002). Meeting the consumer challenge through genetically customised wine yeast strains, *Trends Biotechnol.*, 20, 426-432.
  31. Pretorius, I.S., Van der Westhuizen, T.J. (1991). The impact of yeast genetics and recombinant DNA technology on the wine industry, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 12, 3-31.
  32. Snow, R. (1983). Genetic improvement of wine yeast. In: *Yeast Genetics – Fundamental and Applied Aspects*. Red. Spencer, J.F.T., Spencer, D.M. & Smith A.R.W. (Springer-Verlag). p. 439-459.
  33. Barre, P., Vezinhet, F., Dequin, S., Blondin, B. (1993). Genetic improvement of wine yeast. In: *Wine Microbiology and Biotechnology*. Red. Fleet, G.H. (Harwood Academic Publishers), p. 421-447.
  34. Dequin, S. (2001). The potential of genetic engineering for improving brewing, wine-making and baking yeasts, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 56, 577-588.
  35. Ostergaard, S., Olson, L., Nielsen, J. (2000). Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 64, 34-50.
  36. Bauer, F.F., Pretorius, I.S. (2000). Yeast stress response and fermentation efficiency: how to survive the making of wine, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 21, 27-51.
  37. Van Rensburg, P., Pretorius, I.S. (2000). Enzymes in winemaking: harnessing natural catalysts for efficient biotransformations, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 21, 52-73.
  38. Du Toit, M., Pretorius, I.S. (2000). Microbial spoilage and preservation of wine: using weapons from nature's own arsenal, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 21, 74-96.
  39. Lambrechts, M.G., Pretorius, I.S. (2000). Yeast and its importance to wine aroma, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 21, 97-129.
  40. Bisson, L.F., Waterhouse, A.L., Ebler, S.E., Walker, A.M., Lapsley, J.T. (2002). The present and future of the international wine industry, *Nature*, 418, 696-699.
  41. Pretorius, I.S. (2003). The genetic analysis and tailoring of wine yeasts. In: *Topics in Current Genetics*, Reeks Red. Hohmann, S., Vol 2; *Genetics and Genomics of Industrial Yeasts*, Red. De Winde, J.H. (Springer Verlag), (ter perse).