

Practicum Tabaksvirus

Bij dit experiment met TMV ga je kijken of er nog infectieus virus in sigarettentabak zit. Het aantonen van het virus doe je op een indirecte manier, namelijk m.b.v. toetsplanten. Je gebruikt de fijngestampte sigarettentabak om gezonde tabaksplantjes mee in te smeren (inoculeren). Als er infectieus virus in de sigaret zit, dringt dat tijdens de inoculatie de plant binnen, vermeerdert zich daar en maakt de plant ziek. Op deze manier kun je in feite al een enkel virusdeeltje aantonen.

1. Opkweek tabaksplantjes

Zaai in een potje met vochtige potgrond ongeveer 10 zaadjes van *Nicotiana tabacum* cultivar "White burley" en druk ze een beetje aan. Er hoeft geen laagje aarde overheen.



Uit deze kleine zaadjes kweek je de tabaksplanten op voor het experiment

De eerste dagen na het zaaien kun je plastic folie over de potjes heen doen voor een hogere luchtvochtigheid. Na ongeveer een week beginnen de zaadjes te kiemen. Houd de grond vochtig, maar niet te nat en zorg ervoor dat de plantjes voldoende licht krijgen. Vooral in de herfst en winter is het nodig om bij te lichten. Dit kan in een speciale klimaatkas, maar ook onder een groei- of kweeklamp. Een graad of 20 is de ideale temperatuur voor tabaksplantjes. Laat per potje 2 plantjes opgroeien.

Ongeveer 6 weken na het zaaien (afhankelijk van de groeiomstandigheden) zijn de plantjes groot genoeg; ze hebben dan minstens twee half volgroeide bladeren.

2. Inoculatie

Bij de inoculatie kun je gebruik maken van carborundumpoeder. Het zorgt voor kleine verwondingen in de celwanden van de plant. Hierdoor kan het virus gemakkelijker de plant binnendringen. Draag een mondkapje als je met carborundumpoeder werkt!



Een dun laagje carborundumpoeder over het blad strooien voordat je gaat inoculeren.

Doe alle behandelingen in duplo. Je hebt minimaal nodig: 2 planten voor negatieve controle (inoculeren met water), 2 planten voor test (inoculeren met bijv. sigaret Caballero) en 2 planten voor positieve controle (inoculeren met ziek blad).

- Zorg voor een duidelijke codering: datum van inoculatie en het gebruikte inoculum.
- Begin met de watercontrole (zo voorkom je onderlinge besmetting).
- Bestrooi de bladeren van de plant met een heel dun laagje carborundumpoeder.
- Doe handschoenen aan.
- Doop je vinger in water en wrijf een paar keer zachtjes over de bovenkant van de bladeren (ondersteun met een paar vingers de onderkant van het blad). Wrijf niet te hard want dan beschadig je het blad teveel en ontstaat wrijfschade.
- Spoel het natte carborundumpoeder goed van de bladeren af met een spuitfles of onder de kraan (zachte straal!).
- Bestrooi 2 nieuwe planten met carborundumpoeder .
- Doe de tabak van 1 sigaret in de mortier en voeg een beetje water toe (ongeveer 1:1). Laat dit 5 minuten weken.
- Maal de tabak fijn met de stamper.
- Doop je vinger in het tabakswater en inoculeer de 2 planten.
- Maak de mortier en stamper goed schoon met zeep en heet water (of gebruik een schone mortier en stamper)
- Doe schone handschoenen aan, neem 2 nieuwe planten en herhaal de inoculatie met een sigaret van een ander merk of met een positieve controle.
- Als positieve controle kun je ziek blad van *N. tabacum* gebruiken uit een eerder experiment.
- Zet de planten de eerste dagen niet in fel (zon)licht.
Let erop dat de planten elkaar niet raken i.v.m. kruisbesmetting.

3. Waarneming symptomen

Als de infectie gelukt is, ontstaan na enkele dagen de eerste symptomen: vanuit de geïnoculeerde bladeren verspreidt het virus zich naar de top en veroorzaakt in de jonge bladeren 'mozaïek'. Beoordeel de planten op 3, 5, 7 en 10 dagen na inoculatie.

Je kunt het experiment uitbreiden door verschillende sigarettenmerken te testen en/of door ook de tabaksoort *Nicotiana glutinosa* als toetsplant te gebruiken. Een infectie met TMV veroorzaakt 'lokale necrotische lesies' op geïnoculeerd blad van *N. glutinosa*. Het virus verspreidt zich in dit geval niet verder door de plant.

Op de Scholierenwebsite plantenziektkunde.nl staat achtergrondinformatie, een lijst van benodigde materialen en contactgegevens voor het opvragen van tabakszaad. Ook vind je hier meer practicumproefjes op het gebied van plantgezondheid.

plantenziektkunde.nl/practicum



Symptomen op de topbladeren van Nicotiana tabacum cultivar "White burley" na TMV besmetting: 1) diepliggende nerven, waardoor 'bobbeling' van het blad ontstaat, 2) blad is lichter van kleur (chlorose) en 3) de topbladeren blijven achter in groei.

'Lokale necrotische lesies' op geïnoculeerde bladeren van Nicotiana glutinosa na TMV besmetting: op de plaats waar het virus de plant binnendringt ontstaat een bruine ronde plek waarbinnen het blad afsterft.