

Experiment: DE PLANT HEEFT ER TABAK VAN...

In dit experiment ga je onderzoeken of er nog infectieus plantenvirus aanwezig is in sigarettentabak. Voor het aantonen van het virus gebruik je een indirecte manier: toetsplant-onderzoek. Je gebruikt de fijngestampte sigarettentabak om gezonde tabaksplantjes mee in te smeren (inoculeren). Als er infectieus virus in de sigaret zat, dringt dat tijdens de inoculatie de plant binnen, vermeerderd zich daar en maakt de plant ziek. Op deze manier kun je in feite al 1 enkel virusdeeltje al aantonen.

1. Opkweek tabaksplantjes

De zaden die je gekregen hebt zijn van de tabaksoorten *Nicotiana tabacum*, cultivar "White burley" en van *Nicotiana glutinosa*.

Zaai de zaadjes in een bakje met vochtige potgrond. Strooi per potje een tiental zaadjes over de potgrond en druk ze een beetje aan. Er hoeft geen laagje aarde overheen.



Figuur 1.1 Tabakszaadjes



Figuur 1.2 Zaaïen in potgrond

Houd de grond vochtig, maar niet te nat. Eventueel kun je de eerste dagen na het zaaïen een plastic zakje of plastic folie over de potjes heen doen voor een hogere luchtvochtigheid (maar pas op voor schimmel). Na een week beginnen de zaadjes te kiemen. Zorg ervoor dat de plantjes voldoende licht krijgen. Dit is belangrijk omdat de planten anders niet groot genoeg worden om goed te kunnen inoculeren. Vooral in de herfst en winter is het nodig om bij te lichten. Dit kan met een speciale groeilamp. Maar ook een terrariumlamp (dit is een gloeilamp met UV licht, te koop bij de dierenwinkel voor ongeveer 10 euro) helpt al. Een graad of 20 is de ideale temperatuur voor tabaksplantjes. Laat per potje 2 plantjes opgroeien.

Ongeveer 5 weken na het zaaïen zijn de plantjes groot genoeg om geïnoculeerd te worden. Dit betekent dat ze 2 halfvolgroeïde bladeren moeten hebben (en 2 kleine cotylen onderaan de stengel). Als de planten sneller groeien en al eerder 2 halfvolgroeïde bladeren hebben, begin dan ook al eerder met inoculeren.

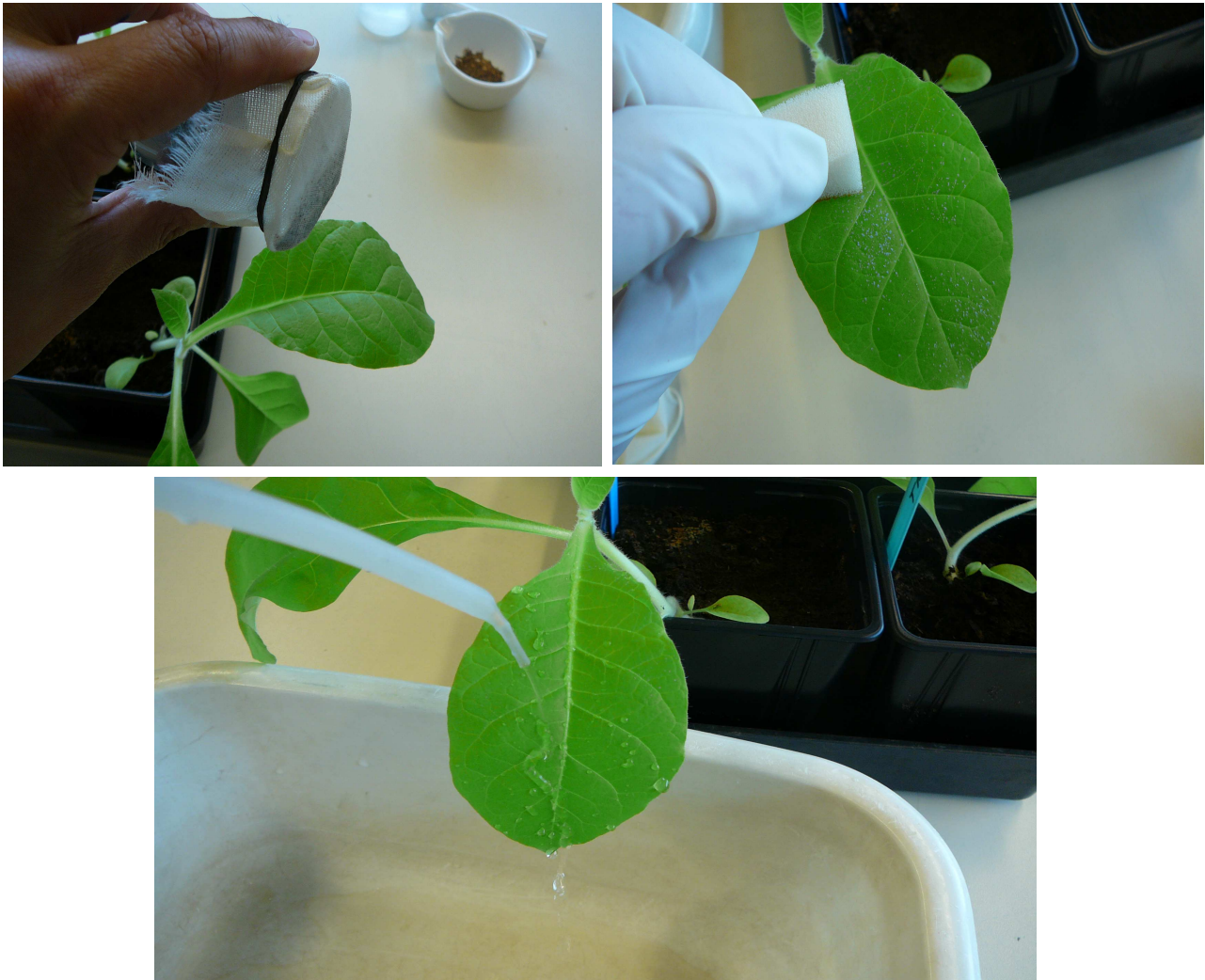
2. Inoculatie

Vooraf weten: Carborundumpoeder is een fijn soort schuurmiddel. Het zorgt voor kleine verwondingen in de celwanden van de plantencellen. Hierdoor kan het virus gemakkelijker de plant binnendringen. Eenmaal in een cel kan het virus zich gaan vermeerderen en de plant dus infecteren. Draag altijd een mondkapje als je met carborundumpoeder werkt!

Proefopzet maken:

Doe alle behandelingen in duplo. Je hebt dus minimaal 6 planten nodig: 2 controleplanten (inoculeren met water), 2 planten met Caballero en 2 planten met een ander sigarettenmerk. Als je nog planten over hebt kun je jouw experiment uitbreiden. Je kunt bijvoorbeeld onderzoeken of omgevingsfactoren (licht of temperatuur) effect hebben op de virussymptomen.

- Begin als eerste met de controleplanten (zo voorkom je besmetting van je controleplanten).
- Bestrooi de bladeren van de plant met een dun laagje carborundumpoeder (gebruik het potje met daaroverheen gespannen de doek of gaas, vastgemaakt met een elastiekje).
- Doe handschoenen aan.
- Doop het sponsje in water en wrijf er een paar keer zachtjes mee over de 2 halfvolgroeide bladeren (ondersteun met een paar vingers de onderkant van het blad). Wrijf niet te hard want dan beschadig je het blad teveel en krijgt de plant dode, bruine plekken op de geïnoculeerde bladeren.
- Spoel het natte carborundumpoeder goed van de bladeren af met een spuitfles of onder de kraan (zachte straal!!)



Figuur 1.3 Inoculeren met behulp van carborundumpoeder.

- Bestrooi 2 nieuwe planten met carborundumpoeder (mondkapje!)
- 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 het sponsje in het tabakswater en inoculeer de planten zoals eerder beschreven.
- Maak de mortier en stamper goed schoon met zeep en heet water (of gebruik een schone mortier en stamper)
- Doe schone handschoenen aan en gebruik nu de sigaret van het andere merk voor inoculatie van 2 nieuwe planten.



Figuur 1.4 Inoculatie van een plant met sigarettentabak.

- Geef alle schoongespoelde planten een duidelijke codering (bv steeketiket). Hierop vermeld je de datum van inoculatie en het gebruikte inoculum.
- Pas op dat de planten elkaar niet raken (om kruisbesmetting te voorkomen). Zet de planten de eerste dagen niet in fel (zon)licht.

3. Waarnemen en beoordelen van de planten op symptomen

Als de infectie gelukt is, ontstaan na enkele dagen de eerste symptomen. Bekijk de planten in ieder geval op 3, 5, 7, 10, 14 en 21 dagen na inoculatie en noteer eventuele symptomen.

Zijn er symptomen zichtbaar op de controleplanten?

En op de testplanten? Wat voor symptomen zie je ?

Zitten de symptomen alleen op de ingesmeerde bladeren of ook op andere bladeren?

Hoe kan dat?

Zie je verschil tussen de sigarettenmerken op de testplanten?