

WPLYW WIEKU ZAKAŻENIA NA ZAKAŻNOŚĆ FRAKCJI WOLNEGO
RNA IZOLOWANEGO Z TYTONIU, PORAŻONEGO WIRUSEM X

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА ИНФЕКЦИИ НА ИНФЕКЦИОННОСТЬ ФРАКЦИИ СВОБОДНОЙ
РНК ИЗОЛИРОВАННОЙ ИЗ ТАБАКА ПОРАЖЕННОГО X-ВИРУСОМ

THE INFLUENCE OF THE AGE OF INFECTION ON THE INFECTIVITY
OF FREE RNA FRACTIONS, ISOLATED FROM POTATO VIRUS X INFECTED TOBACCO

Kazimierz A. Miczyński

Katedra Botaniki WSR, Kraków

STRESZCZENIE

Autor zastosował metodę elektroforezy niskonapięciowej w żelu agarowym do wydzielenia frakcji wolnego RNA z wyciągów buforowych z liści tytoniu (odm. White Burley) porażonych wirusem ziemniaka X. Ekstrakty przygotowane z uprzednio zamrożonych liści w buforze fosforanowym 0,06 M, pH 8,0 poddawano elektroforezie na szkiełkach podstawkowych powleczonych 2 mm grubą warstwą 1% żelu agarowego w buforze wero-nalowym o pH 8,6. Elektroforezę prowadzono przez 1—2 godziny przy napięciu 200 Volt i natężeniu prądu ok. 5 mA na jedno szkiełko. Wydzielające się w czasie elektroforezy frakcje wolnego RNA wykrywano na kontrolnej połowie pasma agarowego, zabarwionej pyroniną. Barwik ten barwił silnie wędrujące frakcje RNA na kolor czerwony. Po ukończonym rozdziale, odnośne pasma żelu wycinano i szczepiono na rośliny testowe celem zbadania ich zakaźności. Dla porównania szczepiono również frakcję, zawierającą wirusa X, która w elektroforezie wędrowała zawsze w kierunku przeciwnym (do katody), aniżeli wszystkie frakcje kwasów nukleinowych oraz normalnych białek protoplazmy (białka anodowe). W wyniku przeprowadzonych testów stwierdzono, że zakaźność wydzielonych elektroforetycznie frakcji wolnego RNA zmienia się w zależności od wieku zakażenia, jak również od wieku zakażonych roślin. RNA izolowane z liści po 13—16 dniach po inokulacji wirusem, wykazywały kilkakrotnie wyższą zakaźność względną (w porównaniu z frakcją wirusa) aniżeli RNA extra-

howane po 27 lub 35 dniach po zakażeniu. Autor przypuszcza, że różnice te spowodowane być mogły zarówno ogólnym zahamowaniem syntezy RNA w starszych roślinach tytoniu, jak to wykazało szereg badaczy, jak również i destrukcją samego PVX-RNA *in vivo* w starszych liściach podobnie jak to stwierdzono już w wypadku RNA niektórych innych wirusów roślinnych.

РЕЗЮМЕ

Автор применил метод электрофореза в агаровом геле для выделения фракции свободной РНК из листьев табака, инфицированного X-вирусом картофеля. Экстракты приготовленные в 0,06 М растворе фосфатного буфера при рН 8,0 из замороженных раньше листьев, подвергались электрофоретическому разделению на предметных стеклах покрытых 2-миллиметровым слоем однопроцентного геля. Электрофорез проводился в течение 1—2 часов при напряжении 200 вольт и силе тока около 5 ма на одно стекло. Выделяющиеся фракции свободной РНК идентифицировано на контрольной половине полосы агара, окрашенного пирониной. Эта краска интенсивно окрашивала передвигающиеся фракции РНК в красный цвет. После окончания электрофореза полосы геля вырезано и инокулировано на растения-индикаторы с целью испытания инфекционного действия. Для сравнения инокулировано тоже фракцию содержащую X-вирус, которая при электрофоретическом разделении перемещалась в обратном направлении (к катоду) нежели все фракции нуклеиновых кислот и обыкновенных белков протоплазмы (анодные белки. На основании проведенных тестов установлено, что инфекционность выделенной электрофоретическим методом фракции свободной РНК изменяется в зависимости от возраста инфекции, а также от возраста пораженных растений.

Рибонуклеиновые кислоты изолированные на 13—16 день после инокуляции вирусом обладали в несколько раз высшей относительной инфекционностью (по сравнению с фракцией вируса) чем РНК выделенные на 27 или 35 день после заражения. Автор предполагает, что эти различия могли быть вызваны общим подавлением синтеза РНК в более старых листьях табака, на что указывают многие исследования, а также процессами деструкции самого X-вируса — РНК *in vivo* в более старых растениях, как это доказано для РНК некоторых других растительных вирусов.

S U M M A R Y

The author used the method of low-voltage electrophoresis in agar gel for the isolation of free RNA fractions from buffer extracts of potato virus X infected tobacco leaves (var. White Burley). The extracts were prepared from previously frozen leaves in phosphate buffer 0,06 M, pH 8,0, and subjected to electrophoresis on microscopic object slides, covered with a 2 mm thick 1% agar solution, made in barbitone buffer pH 8,6. Electrophoresis was carried out for 1—2 hours at 200 Volt and 5 mA per slide. The separating free RNA fractions were detected on the control half of the slide, which was previously stained with pyronine. This dye strongly stained the migrating RNA fractions giving them a distinct red colour. After the run, the appropriate gel segments were cut out and inoculated onto test plants

in order to investigate their infectivity. For comparison also the virus X nucleoprotein fraction was cut out from every pherogram and tested for infectivity. It always migrated in the opposite direction (to the cathode), when compared with normal proteins of the cell and all the nucleic acid fractions.

It was found, that the infectivity of the electrophoretically isolated free RNA fractions varied considerably accordingly to the age of infection and the age of infected plants. RNA isolated from leaves inoculated with the virus 13—16 days before was several times more infectious, than RNA obtained from leaves infected before 27—35 days. The author suggests, that this difference may be due either to the general inhibition of RNA synthesis in older leaves or to the destruction of viral RNA in older infections, similarly as that was already found in the case of certain other viruses.