

**ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОДІЇ ВІРУСУ ОПІКУ ГРЕЧКИ І
ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН ТЮТЮНУ, ЯКІ ЕКСПРЕСУЮТЬ ГЕН
ІНТЕРФЕРОНУ АЛЬФА 2b ЛЮДИНИ**

О. Й. ГУЗИК, науковий співробітник*

ДНУ «Державний центр інноваційних біотехнологій»

О. А. ДЕМЧЕНКО, провідний інженер

М. Я. СПІВАК, доктор біологічних наук, член-кореспондент НАН України

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України

E-mail: olgaguzyk@gmail.com

***Анотація.** Проведено дослідження динаміки репродукції мінус РНК-геномного фіторабдовірусу – вірусу опіку гречки (ВОГ) у рослинах тютюну, які експресують ген інтерферону альфа 2b людини. Показано, що критичним періодом, що визначає стійкість до інфікування ВОГ трансгенних рослин *N. tabacum*, які експресують ген ІФН альфа 2b людини, є перший тиждень після зараження: високі значення антивірусної активності в екстрактах рослин корелюють із мінімальним вмістом ВОГ в рослинах на кінець експерименту.*

***Ключові слова:** вірус опіку гречки, трансгенні рослини тютюну, інтерферон альфа 2b людини*

Важливою проблемою сільського господарства є вірусні хвороби рослин. Віруси здатні різко знижувати врожайність і погіршувати якість продукції цінних сільськогосподарських культур. На цей час розроблені нові підходи до стратегії захисту рослин від вірусних інфекцій, одним із яких є вивчення закономірностей розвитку вірусної інфекції в рослинному організмі, який експресує ген інтерферону (ІФН) людини. Інтерферони – це неспецифічні фактори захисту клітин від широкого спектру ДНК- і РНК-вмісних вірусів тварин [2]. Існують також дані, що стійкість рослинних клітин до вірусних захворювань може підвищуватись після екзогенної обробки ІФН [1, 5].

* Науковий керівник – доктор біологічних наук М. Я. Співак

Формування антивірусної резистентності продемонстроване і в трансгенних рослинах, що здатні до експресії генів α -ІФН та β -ІФН [12, 13]. Проте питання вірусостійкості рослин, які несуть ген ІФН, залишається досить актуальним та дискусійним, оскільки є публікації [11], в яких не виявлено достовірного захисного ефекту ІФН в інокульованих вірусами рослинних клітинах.

Метою дослідження було вивчити сприйнятливість трансгенних рослин тютюну, які експресують ген ІФН альфа 2b людини (*inf a2b*), до фіторабдовірусу, що вражає широке коло рослин, серед яких є найважливіші в Україні сільськогосподарські культури з родин пасльонових, гречаних та бобових – вірусу опіку гречки (ВОГ). ВОГ містить одноланцюгову РНК негативної полярності та за своєю морфологією, складом білків і ліпідів віднесений до родини *Rhabdoviridae* [14]. Інтерес використання мінус-ВОГ обумовлений тим, що механізм його репродукції відрізняється від раніше вивчених плюс-геномних фітовірусів. Так, дослідження стійкості до плюс-геномного вірусу тютюнової мозаїки на рослинах цикорію, яким був перенесений ген альфа-2b ІФН людини показали, що це не тільки не призводило до підвищення стійкості трансгенних рослин до вірусу тютюнової мозаїки, але й до збільшення симптомів ураження вірусом та значного зростання його репродукції [11].

Матеріали і методи дослідження. В роботі використовували трансгенні рослини тютюну, які було отримано та люб'язно надано для дослідження з Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України кандидатом біологічних наук Сахно Л. О. Наявність трансгенів підтверджували аналізом продуктів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). В якості контролю використовували нетрансгенний тютюн сорту *Wisconsin* Для проведення досліджень, були надані рослини тютюну *Nicotiana tabacum* сорту *Wisconsin*, які несуть рекомбінантний (з рослинним сигналом виведення білку в апопласт) або нативний ген *inf a2b* [15] і рослини тютюну (подвійні трансформанти), які несуть, крім гену *inf a2b* (з рослинним транспортним сигналом), ген *cry3A* (стійкість до комах). Використовували дві лінії тютюну, які несуть активний ген *inf a2b* (073/3, 073/9); три лінії тютюну, які несуть ген

inf α2b із рослинним транспортним сигналом (125/1, 125/2, 125/4) і три лінії подвійних трансформантів (125/150/1, 125/150/3, 125/150/9).

Трансгенні і контрольні рослини тютюну інокулювали очищеним вірусним препаратом ВОГ в концентрації 100 мкг/мл. В якості контролю використовували рослини тютюну, інокульовані буфером. Всі рослини, незалежно від візуальної оцінки симптомів вірусного захворювання, були використані для виділення ВОГ згідно методики [10].

Перший відбір рослинного матеріалу проводили до зараження рослин вірусом. Надалі збір рослинного матеріалу і екстракцію білків з нього проводили щотижня протягом місяця. У всіх ліній рослин до 21 доби відбувався розвиток симптомів вірусного захворювання на цілій рослині, супроводжуючись відмиранням нижніх уражених листків.

Для приготування рослинних екстрактів та визначення в них антивірусної активності рослинний матеріал збирали, зважували та розтирали у фарфоровій ступці в одному об'ємі екстракційного буферу (1:1) (100 ммоль/л NaCl; 10 ммоль/л 2-меркаптоетанол; 5 ммоль/л Na₂EDTA; 2,5 % полівінілпіролідон 100 ммоль/л Трис-HCl, рН 8,0). Отриманий зразок фільтрували через нейлоновий фільтр та двічі центрифугували при 5000 та 10000 g протягом 10-15 хв за температури +4 °С. Визначення антивірусної активності рослинних екстрактів проводили шляхом титрування ІФН на культурі клітин тестикул поросят за методом [8].

Результати досліджень та їх обговорення. В Інституті клітинної біології та генетичної інженерії НАН України (м. Київ) методом агробактеріальної трансформації були отримані трансгенні рослини тютюну (*Nicotiana tabacum*, сорт *Wisconsin – Nt wt*), які несуть рекомбінантний або нативний ген *inf α2b* [4]. Для експерименту були відібрані лінії рослин, які характеризувалися підвищеною активністю генів, що експресують ІФН. Зокрема, було відібрано дві лінії тютюну, що несуть нативний ген *inf α2b* (Nt 073/3, Nt 073/9), три лінії тютюну, що несуть ген *inf α2b* з рослинним транспортним сигналом (Nt 125/1, Nt 125/2, Nt 125/4) та три лінії подвійних трансформантів (Nt 125/150/1, Nt

125/150/3, Nt 125/150/9), які несуть ген *inf a2b* ІФН людини з різними транспортними сигналами, а також ген *cry3A* [15]. Експресія гену *inf a2b* не супроводжувалася видимими змінами фенотипу рослин або затримкою їх розвитку.

В ході експерименту зафіксовано наявність фонові антивірусної активності в екстрактах нетрансгенних рослин тютюну (Рис. 1), що може бути зумовленим наявністю у листках природних оксигеновмісних гетероциклічних сполук класу флавоноїди, їх структурних ізомерів (ізофлавоноїди), а також сесквітерпенів [3, 6, 7]. Саме тому антивірусну активність екстрактів інтактних трансгенних рослин ми оцінювали, беручи до уваги експресією генів ІФН у клітинах *N. tabacum*, у порівнянні із фоною (зумовленою присутністю власних антивірусних білків) антивірусною активністю нетрансгенних рослин. Показано, що у всіх лініях трансгенних рослин (за виключенням рослин подвійних трансформантів лінії Nt 125/150/2, Рис. 1В) на початок експерименту антивірусна активність екстрактів у 2-4 рази вища, ніж фонова у контрольних рослин *N. tabacum*.

Інокуляція буфером контрольних рослин *N. tabacum* викликала дворазове зростання антивірусної активності протягом перших двох тижнів (7-14 доба після інокуляції) експерименту. Дані результати можуть бути наслідком включення захисних систем рослини у відповідь на поранення за інокуляції гліцинового буфера в листя. Відомо, що одним із механізмів захисту рослин від стресових факторів є зміна білкового профілю рослин, що супроводжується зниженням синтезу типових рослинних білків і накопиченням стресових білків [8].

В усіх досліджених екстрактах рослин (трансгенних і нетрансгенних) рівень антивірусної активності на 3-4 тижень експерименту був практично нульовим, що може бути пов'язане з фактом, що проведення експерименту співпало з явищем аномального підвищення температури, яке у рослин супроводжується синтезом білків теплового шоку. В свою чергу, для ВОГ характерне скорочення циклу репродукції і, як наслідок, прискорення проявів

симптомів вірусного враження рослини за підвищення температури навколишнього повітря. Можливо в таких умовах зниження рівня антивірусної активності пов'язане із переключенням рослин на синтез білків теплового шоку і переобтяженням синтетичного апарату клітини синтезом вірусних білків, блокуванням синтезу стресових білків [9], а в нашому випадку – ІФН.

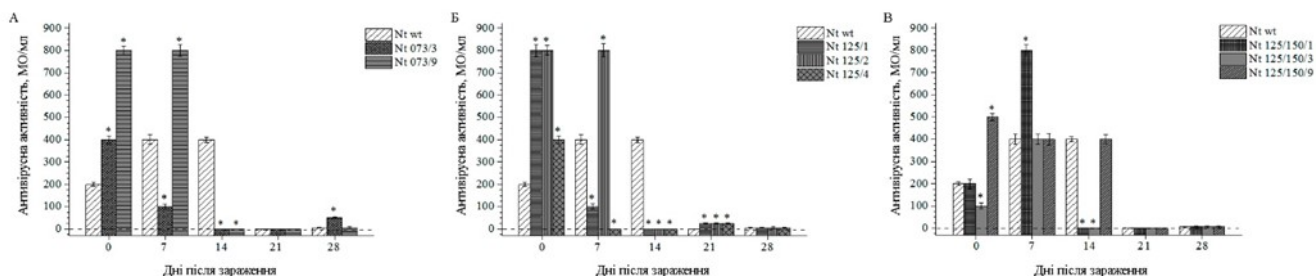


Рис. 1. Антивірусна активність у екстрактах контрольних (Nt wt) та трансгенних рослин тютюну, А – що несуть нативний ген *inf α2b*; Б – що несуть ген *inf α2b* з рослинним транспортним сигналом (Nt 125/1, Nt 125/2, Nt 125/4); В – трансгенних рослин тютюну (Nt 125/150/1, Nt 125/150/3, Nt 125/150/9) МО/мл. * P<0,05 порівняно з групою Nt wt.

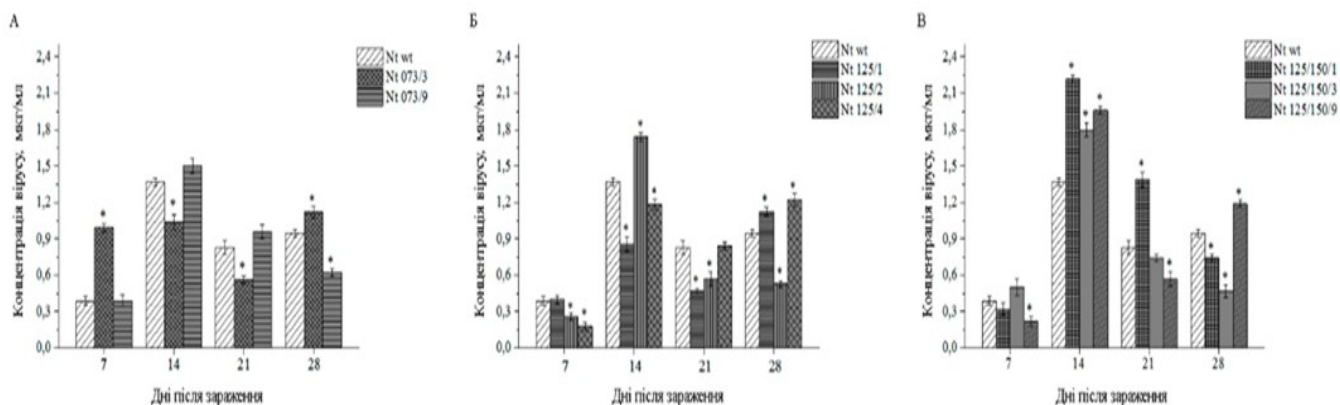


Рис. 2. Концентрація вірусу в контрольних (Nt wt) та трансгенних рослин тютюну А – що несуть нативний ген *inf α2b*; Б – що несуть ген *inf α2b* з рослинним транспортним сигналом (Nt 125/1, Nt 125/2, Nt 125/4); В – трансгенних рослин тютюну (Nt 125/150/1, Nt 125/150/3, Nt 125/150/9) МО/мл. * P<0,05 порівняно з групою Nt wt, мкг/мл. * P<0,05 порівняно з групою Nt wt.

Зміна антивірусної активності експериментальних (заражених вірусом) рослин, що несуть нативний ген *inf α2b*, відбувалася по-різному в залежності від лінії. В рослинах лінії Nt 073/3, які до початку інфікування мали високий рівень антивірусної активності (≥ 400 МО/мл), через тиждень після інфікування

антивірусна активність знижувалася більше, ніж у два рази, досягаючи нульових значень на кінець експерименту. Отримані результати зниження антивірусної активності в екстрактах рослин лінії Nt 073/3 корелювали із даними визначення концентрації вірусу: на сьому добу після інфікування вона була втричі вищою, ніж у контрольних рослин, зберігаючись на такому рівні до кінця експерименту (Рис. 2А). Таким чином, лінія рослин Nt 073/3, продукуючи ІФН в неінфікованому стані, різко втрачала здатність до синтезу ІФН на фоні інфікування ВОГ, що, відповідно, сприяло активній репродукції вірусу.

В екстрактах рослин ліній Nt 073/9 та Nt 125/2 до інфікування визначався високий рівень антивірусної активності ≤ 800 МО/мл, який залишався стабільним і через тиждень після інфікування ВОГ (Рис. 1А та 1Б), знижуючись до практично нульових значень у наступні тижні. Подібною між собою була і динаміка зміни концентрації вірусу у цих ліній тютюну (Рис. 2А та 2Б). В обох лініях через тиждень після інфікування (на фоні високих значень антивірусної активності) концентрація ВОГ була достовірно нижчою, ніж у інфікованих контрольних рослин тютюну, а на 14 добу інфекції (на фоні різкого падіння антивірусної активності) концентрація вірусу зростала до значень контрольних інфікованих рослин *N. tabacum* для рослин лінії Nt 073/9 ($P > 0,05$) та була достовірно вище ($P > 0,05$) для рослин лінії Nt 125/2. Важливо відзначити, що на 28 добу інфекційного процесу концентрація ВОГ була достовірно ($P > 0,05$) нижчою, ніж у контрольних нетрансгенних рослин. Таким чином, високі значення антивірусної активності в екстрактах інтактних рослин та протягом першого тижня після інфікування впливають на динаміку вірусного враження, забезпечуючи достовірне зниження концентрації ВОГ в інфікованих рослинах на кінець (28 доба після інфікування) експерименту.

Концентрація ВОГ в лініях тютюну Nt 125/1 та Nt 125/3, в екстрактах яких визначали різке зниження (у порівнянні з неінфікованими рослинами ліній) антивірусної активності на перший тиждень після інфікування (Рис. 1Б), протягом двох тижнів була достовірно ($P > 0,05$) нижчою, ніж у контрольних (інфікованих) нетрансгенних рослинах, проте до 28 доби достовірно ($P > 0,05$)

перевищила їх рівень (Рис. 2Б). Тобто, прослідковується певна залежність: різке зниження антивірусної активності у екстрактах рослин на початкових етапах інфекції супроводжується значним – вищим, ніж у контрольних нетрансгенних рослин – накопиченням ВОГ у *N. tabacum* на завершальних етапах інфекційного процесу.

В екстрактах рослин подвійних трансформантів лінії Nt 125/150/1 до початку експерименту визначали невисокий рівень антивірусної активності ≤ 200 МО/мл (на рівні неспецифічної активності контролю), тоді як через тиждень після інфікування ВОГ відзначалося чотирикратне збільшення антивірусної активності – до 800 МО/мл (Рис. 1В), а надалі – зниження активності до нульових значень. Як і у випадку рослин ліній Nt 073/9 та Nt 125/2, різке падіння значень антивірусної активності уже через тиждень супроводжувалось достовірним ($P > 0,05$) збільшенням концентрації ВОГ (Рис. 2В) у рослинах (відповідає 14 добі після зараження рослин) та достовірним ($P > 0,05$) зниженням його концентрації на кінець експерименту (28 доба після зараження), підтверджуючи виявлену закономірність розвитку вірусного враження у трансгенних рослин. Необхідно відзначити нелінійність відповіді рослин подвійних трансформантів на інфікування в стресових умовах вирощування. Так, лінія Nt 125/150/3, як уже було відзначено вище, до зараження ВОГ характеризувалась достовірно ($P > 0,05$) зниженим рівнем антивірусної активності в екстрактах рослин у порівнянні з контрольними нетрансгенними. Через тиждень після інфікування (на фоні розвитку вірусного враження) антивірусна активність екстрактів рослин лінії Nt 125/150/3 не відрізнялася від такої контрольних інфікованих нетрансгенних рослин *N. tabacum*, знижуючись надалі до нульових значень. За цих умов накопичення вірусу у рослинах лінії Nt 125/150/3 на другий та четвертий тиждень після зараження було достовірно нижчим серед рослин групи подвійних трансформантів. Необхідно відзначити, що саме в рослинах лінії Nt 125/150/3 на кінець експерименту визначалась мінімальна концентрація ВОГ серед усіх досліджених ліній рослин тютюну. З іншого боку, лінія рослин Nt 125/150/9 до

інфікування характеризувалась значною антивірусною активністю екстрактів (≤ 500 МО/мл), яка після зараження дещо знижувалась (≤ 400 МО/мл) до рівня інфікованих нетрансгенних рослин *N. tabacum* ($P > 0,05$) та залишалась незмінною протягом двох тижнів. Незважаючи на високу антивірусну активність екстрактів, концентрація ВОГ у рослин лінії Nt 125/150/9 була достовірно ($P > 0,05$) вищою, ніж у контрольних інфікованих рослин *N. tabacum*, як на другий, так і на четвертий тиждень після зараження.

Аналізуючи отримані дані, необхідно зауважити, що створення складних генетичних конструкцій, зокрема подвійних трансформантів, закономірно впливає на внутрішньоклітинні регуляторні процеси, які на даний момент не можуть бути однозначно спрогнозовані. Саме серед рослин групи подвійних трансформантів ми визначили максимальні концентрації ВОГ на другий-третій тиждень після зараження, а також відсутність кореляції між рівнем антивірусної активності екстрактів та накопиченням вірусу. З іншого боку, саме у цій групі рослин лінія Nt 125/150/3 характеризується мінімальними значеннями концентрації ВОГ на кінець експерименту.

Незважаючи на те, що введення гену ІФН до складу рослин *N. tabacum* не забезпечило формування 100 % стійкості до зараження ВОГ, необхідно відзначити певні переваги ряду досліджених трансгенних ліній. Присутність нативного гену *inf a2b* у рослинах лінії Nt 073/9 або гену *inf a2b* із рослинним транспортним сигналом у рослинах тютюну лінії Nt 125/2 забезпечувало високі значення антивірусної активності у екстрактах та достовірно нижчу концентрацію ВОГ як на перший, так і на четвертий тиждень після зараження. Але якщо у рослинах, що містили першу генетичну конструкцію, концентрація ВОГ суттєво не відрізнялась від контрольних інфікованих рослин на другий-третій тиждень експерименту, то у рослин, що несуть ген *inf a2b* з рослинним транспортним сигналом, на другий тиждень після інфікування концентрація вірусу була значущо вищою ($P > 0,05$), ніж у нетрансгенних рослин. Ще більші коливання концентрації ВОГ в процесі розвитку інфекційного процесу спостерігаються для ліній подвійних трансформантів рослин тютюну, коли на

другий тиждень після зараження концентрація вірусу у трансгенних рослин у 1,3-1,5 рази вища, ніж у вірус-інфікованих нетрансгенних. Вказані факти свідчать про неоднозначність взаємодії вірусу і рослин зі зміненими генетичними конструкціями, зокрема про певне розбалансування регуляції процесу накопичення вірусу в рослині.

Висновки

1. Високі значення антивірусної активності до інфікування та протягом першого тижня після інфікування в екстрактах рослин, що містять нативний ген *inf α2b* (лінія Nt 073/9) або ген *inf α2b* із рослинним транспортним сигналом (лінія Nt 125/2), впливають на динаміку вірусного враження, забезпечуючи достовірне зниження концентрації ВОГ в інфікованих рослинах на кінець (28 доба після інфікування) експерименту.

2. Різке зниження антивірусної активності у екстрактах рослин, що несуть нативний ген *inf α2b* (лінія Nt 073/3) або ген *inf α2b* із рослинним транспортним сигналом (лінії Nt 125/1 та Nt 125/3), на початкових етапах інфекції супроводжується значним (вищим, ніж у контрольних нетрансгенних рослин) накопиченням ВОГ у *N. tabacum* на завершальних етапах інфекційного процесу.

3. Створення складних генетичних конструкцій, зокрема подвійних трансформантів рослин *N. tabacum*, зачіпає внутрішньоклітинні регуляторні процеси, які на фоні інфікування ВОГ проявляються в значному збільшенні (у 1,3-1,5 рази, ніж у контрольних інфікованих рослин) концентрації вірусу на другий тиждень після зараження. Серед досліджених рослин *N. tabacum* лінія Nt 125/150/3 характеризується мінімальними значеннями концентрації ВОГ на кінець експерименту.

4. Критичним періодом, що визначає стійкість до інфікування ВОГ трансгенних рослин *N. tabacum*, які експресують ген ІФН альфа 2b людини, є перший тиждень після зараження: високі значення антивірусної активності в екстрактах рослин корелюють із мінімальним вмістом ВОГ в рослинах на кінець експерименту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Fukuzawa N., Tabayashi N., Okinaka Y. e. al. Production of biologically active Atlantic salmon interferon in transgenic potato and rice plants // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. – 2010. – Vol. 110, Issue 2. – P. 201–207.
2. Goodbourn S., Didcock L. Interferons: cell signaling, immune modulation, antiviral responses and virus countermeasures // *J. of General Virol.* - 2000. - V. 81. - P. 2341-2364.
3. Li L., Shen Q.-P., Liu C.-B. et al. Isoflavones from the leaves of *Nicotiana tabacum* and their anti-tobacco mosaic virus activities // *Phytochemistry Letters*. – 2015. – Vol. 13. – P. 156–159.
4. Mazur M., Olevinska Z., Spivak M., Kuchuk M. Comparison of expression of human interferon alpha 2b gene with different signal sequences in transgenic *Nicotiana Tabacum* // *Proceedings of «Advances in Cell Biology and Biotechnology» Conference (Lviv, Ukraine)*. - 2015. P. 41.
5. Rosenberg N., Reichman M., Sela I. Antiviral activity of natural and recombinant human leukocyte interferons in tobacco protoplasts // *Virol.* – 1985. – V. 140. - P. 173-178.
6. Shang S.-Z., Zhao W., Tang J.-G. Antiviral sesquiterpenes from leaves of *Nicotiana tabacum* // *Fitoterapia*. - 2016. - Vol. 108. — P. 1–4.
7. Yuan L., Huang W., Zhang C. et al. Antiviral flavones from the leaves of *Nicotiana tabacum* // *Phytochemistry Letters*. –2015. - Vol. 12. – P. 75–78.
8. Белоцкий С. М. Интерфероны: биологические и клинические эффекты / С. М. Белоцкий, Н. Я. Спивак // К.: Фитосоциоцентр, 2006. – 288 с.
9. Косаківська І. В. Адаптація рослин: біосинтез та функції стресових білків / І. В. Косаківська, І. В. Голов'янку // *Український фітоценологічний збірник*. — 2006. — Сер. С, вип. 24. — С. 3-17.
10. Характеристика бацилоподібного вірусу плямистості аїру / Т. Ю. Мандріка, О. Б. Серденко, Л. Ф. Діденко [та ін.] // *Мікробіологічний журнал*. – 2007. – Т. 69. №5. – С. 49-58.

11. Чутливість транс генних рослин цикорію з геном інтерферону alpha2b людини до ураження вірусом тютюнової мозаїки / Н. А. Матвєєва, А. О. Потрохов, Ю. Й. Кудрявець [та ін.] // Мікробіологія і біотехнологія. – 2011. – № 3. С. 37-46.
12. Оценка вирусоустойчивости трансгенных растений табака и люцерны, несущих ген β -интерферона человека / М. И. Рывкин, Е. В. Дейнеко, М. Л. Комарова [та ін.] // Докл. АН СССР. – 1993. – Т. 331, № 5. - С. 652-654.
13. Смирнов С. П. Устойчивость к вирусу табачной мозаики у трансгенных растений табака, продуцирующих α -интерферон человека / С. П. Смирнов, Л. В. Крашенинникова, В. А. Пухальский // Докл. АН СССР. – 1991. – Т. 317, № 3. - С. 732-734.
14. Вірусний опік гречки / В. К. Шевчук, С. В. Довгань, Л. Ф. Діденко // Карантин і захист рослин. – 2008. – № 11. – С. 13–15.
15. Перспективы применения в ветеринарной медицине трансгенных растений, синтезирующих физиологически активный интерферон α 2b человека / Ю. В. Шелудько, И. М. Герасименко, Н. Л. Щербак [та ін.] // Ветеринарна медицина. - 2009. - Вип. 92. - С. 528-531.

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСА ОЖОГА ГРЕЧИХИ И ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА 2b ЧЕЛОВЕКА

О. И. Гузик, А. А. Демченко, Н. Я. Спивак

Аннотация. Проведено исследование динамики репродукции минус РНК-геномного фиторабдовируса - вируса ожога гречихи (ВОГ) в растениях табака, экспрессирующих ген интерферона альфа 2b человека. Показано, что критическим периодом, определяющим устойчивость к инфицированию ВОГ трансгенных растений *N. tabacum*, экспрессирующих ген ИФН альфа 2b человека, является первая неделя после заражения: высокие значения антивирусной активности в экстрактах растений коррелируют с минимальным содержанием ВОГ в растениях на конец эксперимента.

Ключевые слова: вирус ожога гречихи, трансгенные растения табака, интерферон альфа 2b человека

**PECULIARITY OF THE INTERACTION BETWEEN BUCKWHEAT
BURN VIRUS AND TRANSGENIC TOBACCO PLANTS EXPRESSING
HUMAN INTERFERON ALPHA 2b GENE**

O. J. Guzyk, O. A. Demchenko, M. Ya. Spivak

Abstract. *Dynamic of buckwheat burn virus (BBV) (the negative-sense RNA genome of phytorhabdovirus) reproduction in tobacco plants expressing human interferon alpha 2b gene was studied. It is shown that critical period that determines resistance to BBV infection in transgenic plant *N. tabacum*, expressing the human IFN alpha 2b gene, is the first week after infection, high value antiviral activity of plant extracts correlated with minimum BBV content in plants at the end of the experiment.*

Keywords: *buckwheat burn virus, transgenic tobacco plants, human alpha 2b interferon*