

УДК 581.1

rol-ГЕНЫ АГРОБАКТЕРИЙ: ВОЗМОЖНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ

© 2023 г. Д. Ю. Швеца^{1, 2, *}, З. А. Бережнева¹, Х. Г. Мусин¹, Э. А. Баймухаметова¹, Б. Р. Кулуев¹¹Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия²Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

*e-mail: shvetsdasha99@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.03.2023 г.

После доработки 02.05.2023 г.

Принята к публикации 03.05.2023 г.

Гены *rolA*, *rolB*, *rolC* и *rolD* *Agrobacterium rhizogenes*, встраиваясь в геномы растений в составе Т-ДНК при агробактериальной трансформации, обуславливают обильное разрастание волосовидных корней, а при регенерации из них побегов приводят к низкорослости, укорочению междоузлий и формированию морщинистых листьев. Ряд представителей родов *Nicotiana*, *Linaria*, *Ipomoea* и других в своем геноме содержат некоторые *rol*-гены, которые попали в них при горизонтальном переносе генов и эволюционно закрепились. Тот факт, что как в *A. rhizogenes*, так и в природно-трансгенных растениях *rol*-гены консервативны, может говорить о выполнении ими важных биологических функций. Целью данной обзорной статьи является рассмотрение имеющихся на сегодняшний день данных о биологической роли *rol*-генов в волосовидных корнях, трансформированных и природно-трансгенных растениях. На сегодняшний день показано, что экспрессия *rol*-генов как вместе, так и по отдельности оказывает различное влияние на морфологию как трансформированных агробактериями растений, так и природно-трансгенных видов. В обзоре представлены результаты исследований, показавшие позитивное влияние *rol*-генов на вторичный метаболизм, антиоксидантную систему и стрессоустойчивость растений. Также обсуждается вопрос о возможном действии белковых продуктов *rol*-генов через влияние на содержание фитогормонов или чувствительности к ним. Описываются экспериментальные свидетельства о ферментативной активности Rol-белков по отношению к глюкозидам фитогормонов, а также субклеточная локализация Rol-белков. Однако эти эксперименты не дали исчерпывающих ответов, поэтому исследования биологических функций *rol*-генов должны быть продолжены, так как полученные при этом знания могут быть использованы при создании трансгенных и редактированных растений с хозяйственно-ценными признаками.

Ключевые слова: волосовидные корни, *rol*-гены, *Agrobacterium rhizogenes*, *plast*-гены, стрессоустойчивость

DOI: 10.31857/S004213242305006X, **EDN:** SKHXVM

ВВЕДЕНИЕ

Agrobacterium rhizogenes (или *Rhizobium rhizogenes*) — граммотрицательная почвенная бактерия, способная индуцировать образование волосовидных корней (от англ. hairy roots) на месте поранения у высших растений, в особенности у двудольных (Кулаева и др., 2006; Кузовкина, Вдовитченко, 2011). Механизм индукции корнеобразования обусловлен переносом Т-ДНК из Ri-плазмиды *A. rhizogenes* в геном растения-хозяина. Различные группы Ri-плазмид классифицируют в соответствии с их способностью определять синтез трех основных опинов, которые используются агробактериями в качестве питательных веществ: агропина, маннопина и кукумопина. Наиболее известные штаммы *A. rhizogenes* агропинового типа имеют два участка Т-ДНК: левый (Т_L-ДНК) и правый (Т_R-ДНК), которые независимо интегрируют-

ся в геном растения-хозяина (White, Nester, 1980; Nemoto et al., 2009). Т_L-ДНК содержит 18 открытых рамок считывания (ORF1–ORF18), из них 4 гена — *rolA*, *rolB*, *rolC* и *rolD*, соответствующие ORF10, ORF11, ORF12 и ORF15, составляют так называемый корневой локус, ответственный за образование волосовидных корней (Павлова и др., 2013а; White et al., 1983; Sarkar et al., 2018). *rol*-гены — наиболее известные *plast*-гены (от “пластичности развития”), название которых происходит от их способности влиять на рост растений и изменять его (Otten, 2018, 2020). Участок Т_R-ДНК содержит гены, продукты которых участвуют в синтезе ауксина *aux1* (*tms1*) и *aux2* (*tms2*), опинов (*mas1*, *mas2*), агропина (*ags*). Также в Т_R-ДНК есть гомолог гена *rolB*, называемый *rolB_{TR}* (рис. 1) (Nemoto et al., 2009). До недавнего времени было известно относительно небольшое количество участков

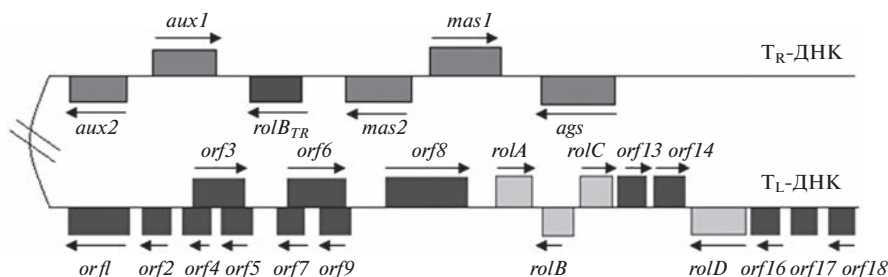


Рис. 1. Структурная организация Т-ДНК *A. rhizogenes*. Светло-серым цветом показаны онкогены; серым — гены синтеза: *mas1*, *mas2* — опинов, *aux1*, *aux2* — ауксина, *ags* — агропина; темно-серым — гены с неизвестной функцией; названия генов указаны над/под стрелками (по: Ozyigit et al., 2013, модифицировано).

Т-ДНК агробактерий. Однако из-за увеличения усилий по полногеномному секвенированию в настоящее время стало доступно около 400 последовательностей *Agrobacterium*, 350 из которых содержат участки Т-ДНК (Otten, 2021). Несколько кластеров тесно связанных структур позволяют предположить, что эволюция областей Т-ДНК происходит путем медленной, прогрессивной эволюции генных последовательностей, сопровождаемой более быстрыми изменениями общей структуры из-за рекомбинации между областями Т-ДНК разного происхождения (Otten, 2021). Обычно при инфицировании растений агробактериями наследование Т-ДНК последующими поколениями не происходит, однако обнаруженные природно-трансгенные растения, содержащие в геноме последовательности, гомологичные Т-ДНК *Agrobacterium* spp. (Павлова и др., 2013а; Matveeva, 2018), наводят на мысль, что это не всегда так. Вероятнее всего, эти природно-трансгенные растения возникли в результате регенерации из генетически трансформированных агробактериями клеток растений. Нельзя также исключать того, что у предков этих растений могли быть трансформированы генеративные ткани (Матвеева, Сокорнова, 2017). На настоящий момент наиболее изученной группой природно-трансгенных растений являются представители р. *Nicotiana* L. Тот факт, что эти растения в течение длительных этапов эволюции сохраняют трансгены агробактерий в геноме в малоизмененном виде наводит на мысль о выполнении этими генами важных биологических функций. Хорошо известно, что экспрессия генов корневого локуса влияет на гормональный баланс, биосинтез вторичных метаболитов, рост и стрессоустойчивость растений (Хафизова, Матвеева, 2021), однако биологические функции *rol*-генов не до конца ясны даже для специалистов, так как эти функции довольно многообразны и все еще остаются малоизученными. Обзорные статьи о возможных биологических функциях *rol*-генов ранее уже публиковались в русскоязычной литературе (Павлова и др., 2013а). Некоторые аспекты функций *rol*-генов также были рассмотрены в обзорах (Матвеева, 2021; Хафизова, Матвеева, 2021). Целью данной обзорной статьи является рассмотрение и обобщение

имеющихся на сегодня данных о биологической роли *rol*-генов в волосовидных корнях, трансформированных растений и в природно-трансгенных растениях. Знания о биологических функциях генов агробактерий могут быть использованы при планировании экспериментов по созданию трансгенных и редактированных растений с хозяйственно-ценными признаками.

ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СТРУКТУРЕ *rol*-ГЕНОВ И РЕГУЛЯЦИИ ИХ АКТИВНОСТИ

Ген *rolA* состоит из 300 п.н. (Dilshad et al., 2021) и обнаружен в Ri-плазмидах всех изученных штаммов *A. rhizogenes*, причем N-конец кодируемого им белка у разных штаммов консервативен, а С-конец может варьировать. Белок RolA имеет молекулярную массу 11.4 кДа, изоэлектрическую точку 11.2, состоит из 100 аминокислот, является неинтегральным, но ассоциированным с мембраной белком (Vilaine et al., 1998). Есть сведения, что он может регулировать экспрессию различных генов в растениях посредством взаимодействия с ДНК (Павлова и др., 2013а). Промотор *rolA* состоит из трех функциональных доменов: А (–638...–477 п.н.), В (–473...–366 п.н.), С (–366...–200 п.н.) (Guivarch et al., 1996). При последовательном удалении каждого из этих доменов отмечено уменьшение содержания транскрипта *rolA*, вплоть до его отсутствия. Регуляция экспрессии гена осуществляется путем совместной работы этих доменов. Наличие домена А обуславливает экспрессию гена только в листьях, в то время как его делеция приводит к накоплению белка только в корнях и стеблях. Домен А включает *cis*-регуляторные участки ауксин-регулируемых и светоиндуцируемых генов, которые могут участвовать в регуляции транскрипции (Павлова и др., 2013а). Имеются сведения об ингибирующем действии домена А на домены В и С (Guivarch et al., 1996). В результате анализа структуры *rolA* из разных штаммов в 5'-некодирующей области был выявлен интрон (85 п.н.), обладающий высокой консервативностью. Стоит отметить, что *rolA* — единственный *rol*-ген, содержащий интрон, в пределах которого расположена последовательность, характерная для бактериального промотора. Следовательно, функция этого интрона со-

стоит в регуляции дифференциальной экспрессии *rolA* у бактерий и трансформированных растений (Pandolfini et al., 2000).

Ген *rolB* включает 777 п.н. и кодирует белок, который состоит из 259 аминокислот и имеет молекулярную массу 30 кДа (Dilshad et al., 2021). Промотор *rolB* состоит из пяти доменов (A, B, C, D, E), каждый из которых взаимодействует с растительными факторами транскрипции и способен модулировать работу этого гена в зависимости от типа ткани, гормональных сигналов и стадии развития. Наличие всех доменов одновременно обуславливает экспрессию *rolB* в клетках различных тканей корня. Выявлено, что отсутствие в промоторе домена A способствует ингибированию экспрессии в протодерме и корневом чехлике, а доменов B и E подавляет работу гена в клетках меристемы. Домен D ответственен за экспрессию *rolB* в первичной коре, а домен C — за экспрессию во внутренних меристемах, одновременно подавляя ее в протодерме (Carone et al., 1994). Регуляция транскрипции *rolB* основана на действии домена B (–341...–306), в случае делеции которого ген не экспрессируется в меристемах и не индуцируется ауксинами. В домене B расположена высококонсервативная у разных штаммов *A. rhizogenes* последовательность АСТТТА (–312...–307), представляющая собой *цис*-регуляторный элемент индукции экспрессии *rolB* ауксинами (Baumann et al., 1999). Имеются сведения, что в регуляции экспрессии агробактериальных онкогенов у трансгенных растений участвуют растительные транскрипционные факторы (ТФ). Так, к примеру, NtBBF1 у *Nicotiana tabacum* L. относится к белкам, содержащим одиночный цинковый палец и Dof-домен. NtBBF1 обладает сродством к регуляторным последовательностям в промоторной области *rolB* и может связываться с доменом B, изменяя экспрессию гена (Павлова и др., 2013а; Yanagisawa, 2004). RBF1 способен взаимодействовать с последовательностью, удаленной на расстоянии –553...–530 от старт-кодона, регулируя экспрессию *rolB* в немеристематических клетках корня. Сайт связывания транскрипционного фактора почти полностью перекрывается с доменом A, что указывает на взаимосвязь связывания и транскрипционной активности *rolB* в клетках корня (Filetici et al., 1997). Биохимические функции RolB остаются не до конца выясненными. Ранее предполагалось, что белок RolB обладает β-глюкозидазной активностью и может гидролизовать конъюгаты эндогенного ауксина и увеличивать концентрацию свободного гормона. Однако эта биохимическая модель не подтвердилась в ходе дальнейших исследований. Более того, у *rolB*-трансформантов не фиксировалось изменение в концентрации ауксинов, их транспорте и метаболизме. Но во многих случаях подтверждалась положительная обратная связь между ауксинами и RolB (Otten, 2018). Сообщалось, что RolB стимулирует связывание ауксина с мембранами растений табака, причем это связывание может быть заблокировано антителами к RolB, однако эта серия исследо-

ваний не продолжена и выводы делать пока рано (Otten, 2018). Что касается субклеточной локализации, имеются убедительные данные о том, что RolB способен связываться с ядерными белками-импортерами и благодаря этому может локализоваться в ядре, выполняя там неизвестные функции (Moriuchi et al., 2004).

Ген *rolC* состоит из 540 п.н. и характеризуется высокой консервативностью у разных штаммов агробактерий (Intrieri, Buiatti, 2001). Белок RolC имеет молекулярную массу 20 кДа, состоит из 180 аминокислот (Dilshad et al., 2021). На сегодня вопрос о биохимической активности белка RolC остается не закрытым. Сообщалось, что этот белок у *A. rhizogenes* штамма A4 способен высвобождать цитокинины из конъюгатов с N- и O-глюкозидами, обладая β-глюколитической активностью. Причем лишь немногие глюкозиды являются потенциальными субстратами для белка: только O- и N3-глюкозиды могут расщепляться, как у *N. tabacum*, а N7- и N9-глюкозиды — нет (Matveeva et al., 2015). Однако учитывая то, что корни *rolC*-трансформированных табаков не отличаются по чувствительности к цитокининам от обычных корней (Faiss et al., 1996) и ряда других данных (Otten, 2018), гипотеза цитокинин-β-глюкозидазы пока не подтверждается. С другой стороны, недавно получены данные о позитивном влиянии белка RolC на содержание 2-изопентиладенина, обладающего цитокининовой активностью (Alcalde et al., 2022). Субклеточную локализацию RolC исследовали с помощью транзientной экспрессии в *Nicotiana benthamiana* Domin., и конфокальные изображения показали, что RolC растворим и локализуется в цитоплазме, но также способен проникать в ядро (Favero et al., 2021). В промоторе *rolC* находится активируемый сахарозой *цис*-регуляторный элемент, который расположен на расстоянии –135...–94 от точки инициации транскрипции. Сахароза выполняет функцию сигнальной молекулы, которая индуцирует работу трансгена в проводящей системе и является субстратом для белка RolC (Yokoyama et al., 1994). Иногда эти результаты связывают с возможной функцией RolC в качестве участника или регулятора метаболизма сахарозы, но механизм остается неизвестным (Хафизова, Матвеева, 2021; Otten, 2018). Имеются данные о наличии двух *цис*-регуляторных участков: *myb*-response elements (AACG/TG) и C-related elements (CCGAC) в промоторе *rolC*, участвующих в формировании ответа растений на действие стрессовых факторов (Хафизова, Матвеева, 2021).

Ген *rolD* состоит из 1032 п.н. и кодирует белок из 344 аминокислот (Dilshad et al., 2021). Промотор гена — ауксин-регулируемый и содержит, как и промотор *rolB*, Dof-домен (Altamura, 2004). Известно о гомологичности последовательностей *rolD* и гена орнитинциклодеаминазы (*ocd*), фермента, осуществляющего превращение L-орнитина в L-пролин, однако точных доказательств ферментативной активности для RolD пока нет (Dilshad et al., 2021). Стоит отметить, что последовательность *ocd* включена в Т-ДНК *A. rhizogenes*, однако

бактерией не используется для деградации опинов, поскольку у нее появились *цис*-регуляторные мотивы, позволяющие гену фермента экспрессироваться только в растительных клетках (Павлова и др., 2013а).

Что касается природно-трансгенных растений, то впервые такие виды описаны у р. *Nicotiana* (White et al., 1983), а спустя 30 лет — у рр. *Linaria* Mill. и *Ipomoea* L. (Matveeva et al., 2012; Kyndt et al., 2015). В 1983 г. Уайтом с соавт. установлено, что сходство между последовательностями клеточной Т-ДНК *Nicotiana glauca* Graham (gT) и Т-ДНК *A. rhizogenes* составляет 80% (White et al., 1983). Последовательности *N. tabacum*, гомологичные *rol*-генам, были названы *trol*-генами (Meyer et al., 1995). На настоящий момент наиболее изучены некоторые клеточные *rol*-гены из р. *Nicotiana*: *NgrolB* (Aoki, Syono, 1999), *NgrolC* (Nagata et al., 1995) из *N. glauca*, а также *trolC* (Mohajjel-Shoja et al., 2011) из *N. tabacum*. В литературе обсуждается гипотеза о ключевой роли горизонтального переноса генов в возникновении *trol*-генов у представителей *Nicotiana* (Матвеева, 2015, 2021), в чем трудно усомниться. Что касается распространенности этого явления, то согласно недавним исследованиям, около 7–10% видов покрытосеменных могут являться естественными трансформантами и нести различные последовательности клТ-ДНК (клеточная Т-ДНК) (Matveeva, Otten, 2019). Гены, имеющие рамки считывания ORF11, ORF12, ORF13, ORF14, ORF15, входящие в клТ-ДНК представителей *N. glauca* (Matveeva, 2018), были названы *NgrolB*, *NgrolC*, *NgORF13*, *NgORF14* и *NgrolD* соответственно (Матвеева, 2015). Нагата с соавт. (1995), изучая свойства генетически обусловленных опухолей на листьях табака, предположили, что экспрессия генов *Ngrol* тканеспецифична и присутствует как в исходных, так и в опухолеобразующих гибридах. Нужно отметить, что во время регенерации опухолевых тканей наблюдалось постепенное снижение экспрессии генов. На основании полученных результатов авторы предположили, что *NgrolB* участвует в генетическом контроле образования опухолей у данного вида растений на стадии митоза, а *NgrolC* — на стадии дифференцировки тканей (Nagata et al., 1995). С другой стороны, обнаружение экспрессии генов не только в исходных видах, но и в опухолевых гибридах подвергает сомнению их роль в процессе образования опухолей (Lemcke, Schmulling, 1998). Группой исследователей (Aoki, Syono, 1999) методом секвенирования доказано наличие двух нонсенс-мутаций в гене *NgrolB*, которые в процессе эволюции могли способствовать утрате проявления волосовидных корней у растений *N. glauca*. Вероятнее всего предковые формы растения, содержащие полную последовательность гена, образовывали волосовидные корни. Таким образом, обнаруженная в ходе направленного мутагенеза восстановленная последовательность (48 п.н.) может иметь решающее значение для индукции корней геном *NgrolB*. Необходимо отметить, что активность гена *NgrolC* сохранилась со времен

первоначальной трансформации предковых видов табака, при этом регуляция работы этих генов осуществляется гормонами, например, ген *NgrolB* — ауксин-зависимый (Ichikawa, Syono, 1991). Анализ изменения нуклеотидных последовательностей показал высокую консервативность нуклеотидных последовательностей (93.5–98.5%) генов *rolB*, *rolC*, *ORF13* и *ORF14* у *Nicotiana cordifolia* Phil., и *N. glauca*, возможно, обусловленную перекрестным опылением между данными видами (Intrieri, Buiatti, 2001). Однако позднее было обнаружено, что нуклеотидные последовательности этих генов все же отличаются от ранее описанных, а сходство по нуклеотидной последовательности составило всего 72% (Chen, Otten, 2017). В дальнейшем представляется актуальным проведение секвенирования всей клТ-ДНК данных видов. Анализ нуклеотидных последовательностей клТ-ДНК между представителями подрода *Tabacum* р. *Nicotiana* продемонстрировал высокий уровень их сходства, однако при сравнении с последовательностями подрода *Petunioides* обнаружено его снижение с 68.6 по 66.3% для *rolC* и с 82.9 по 70.2% для *ORF13*. *ORF14*, напротив, оказался высококонсервативным (94–97%) (Intrieri, Buiatti, 2001). Методом ПЦР-анализа идентифицирована последовательность клТ-ДНК у *Nicotiana debneyi* Domin и *N. cordifolia* (Intrieri, Buiatti, 2001), однако эти данные противоречат результатам (Furner et al., 1986), что может быть обусловлено изменчивостью между сортами (Матвеева, 2015). С помощью методов полногеномного секвенирования получены сведения о наличии четырех инвертированных повторов в геноме *Nicotiana tomentosiformis* L.: TA, TB, TC, TD, перенесенных из разных штаммов *A. rhizogenes*. Первая вставка, TA, содержит гомологичные последовательности *A. rhizogenes* 1724 микимопинового типа, гены *ORF14* и *mis*. Гомологичные гену микимопин-синтазы последовательности *NgmisL* и *NgmisR* обнаружены у *N. glauca*, *N. tabacum*, *N. tomentosiformis* и *Nicotiana tomentosa* Ruiz & Pav., что свидетельствует об общности происхождения их клТ-ДНК от Ri-плазмиды микимопинового типа (Кулаева и др., 2006). Вставка, названная TB, похожа на TA, но имеет область, контролирующую синтез маннопина и агропина. TC включает последовательности, сходные с Т_L-ДНК штамма A4 *A. rhizogenes*, фрагмент, сходный с геном октопинсинтазы (*ocl*) и *c*-подобные гены, характерные для *A. tumefaciens*. Вставка TD похожа на TC, но несет ген, подобный *ORF14* и ген с неизвестной функцией — *ORF511* (рис. 2а) (Chen, Otten, 2017). В результате поиска клТ-ДНК у родственных видов *Nicotiana* обнаружена делеция в центральной части последовательности TA и отсутствие TC у *N. tabacum* сорта Basma/Xanthi (Матвеева, 2015). Делеция TC, выявленная у трех сортов *N. tabacum*, может быть обусловлена ее наличием у предковой формы *N. tomentosiformis* или является результатом гибридизации *N. tomentosiformis* × *Nicotiana sylvestris* Speg. & Comes (Матвеева, Соколькова, 2017). Вставки TA, TB и TD не обнаружены у *Nicotiana otophora* L., од-

нако имеется последовательность ТЕ, включающая смесь участков, похожих на гены *A. vitis*, *A. tumefaciens* и *A. rhizogenes* (Матвеева, 2015). В литературе описаны данные о многократной трансформации растений табака, позволяющие оценить возраст инвертированных повторов в геноме. Так, вставка ТС считается наиболее древней, затем клТ-ДНК из *N. glauca*, далее ТВ, TD и ТА (Матвеева, 2015). ТС, вероятно, первоначально попала в геном предков секции *Tomentosae*, давшей начало следующим видам: *N. tomentosiformis*, *Nicotiana kawakamii* Y. Ohashi, *N. tomentosa*, *N. otophora*, *Nicotiana setchellii* Goodsp. Вставка ТВ появилась в геноме предковой формы видов *N. tomentosiformis*, *N. kawakamii*, *N. tomentosa*. TD и ТА считаются наиболее молодыми вставками, поскольку обнаружены только у двух представителей *N. tomentosiformis* и *N. kawakamii* (Матвеева, Сокорнова, 2017; Chen, Otten, 2017). Предполагается, что горизонтальный перенос *rol*-генов от агробактерий в геном представителей р. *Nicotiana* произошел на раннем этапе эволюции около 5 млн л. н. (Матвеева, 2013). Дальнейшие поиски клТ-ДНК в геномах более сотни видов двудольных привели к обнаружению двух копий последовательностей Т-ДНК *A. rhizogenes* у *Linaria vulgaris* Mill., организованных как несовершенные повторы. Анализ этих копий методом “прогулки по хромосоме” показал наличие последовательностей, получивших названия: *LvORF2*, *LvORF3*, *LvORF8*, *LvrolA*, *LvrolB*, *LvORF13*, *LvORF14* и *Lvmis*. Левая копия клТ-ДНК, кроме ранее описанных генов, содержит гомолог агробактериального гена агроцинопинсинтазы (*acs*) (рис. 2б) (Matveeva et al., 2012). Согласно последней классификации, в пределах р. *Linaria* выделяют 7 основных секций (*Linaria*, *Speciosae*, *Diffusae*, *Supinae*, *Pelisserianae*, *Versicolores* и *Macrocentrum*), из которых клТ-ДНК, а именно сайт ее интеграции в геном, совпадает только у *Linaria* и *Speciosae*. Полученные результаты указывают на монофилетическое происхождение данных секций рода (Matveeva, Lutova, 2014). К настоящему времени, помимо *L. vulgaris*, детально охарактеризована клТ-ДНК у *L. genistifolia* spp. *dalmatica* (L.) Maire & Petitm. (Павлова и др., 2013b). На основании полученных данных было высказано предположение, что трансформация предковых форм льнянки произошла около 1.5–2 млн л. н. (Матвеева, 2013).

С помощью молекулярно-генетических методов установлено наличие двух типов вставок клТ-ДНК у батата *Ipomoea batatas* L. — *IbT*-ДНК1 и *IbT*-ДНК2. Первая вставка (22146 п.н.) содержит гены триптофан-2-монооксигеназы (*iaaM*), индол-3-ацетида гидролазы (*iaaH*), С-белка (*C-ProI*) и агроцинопинсинтазы (*acs*) *Agrobacterium* spp., а также дефектную копию гена *iaaM* в обратной ориентации. Стоит отметить, что эта инсерция обнаружена во всех исследуемых культурных разновидностях батата, но не обнаружена у близкородственных дикорастущих форм. Вторая вставка включает 5 интактных ORF, содержащих последовательности, аналогичные генам: *ORF14*, *ORF17n*, *rolB*, *rolC*, *ORF13*, *ORF18* (рис. 2в), и обнаружена у

45 из 217 генотипов, как культурных, так и дикорастущих видов батата (Матвеева, 2015; Kyndt et al., 2015). В процессе эволюции клТ-ДНК претерпела различные изменения, в том числе делецию некоторых фрагментов и инсерцию мобильных элементов (Матвеева, Сокорнова, 2017). Анализ структуры вставок продемонстрировал их соответствие *IbT*-ДНК1 — T_R -ДНК и *IbT*-ДНК2 — T_L -ДНК некоего штамма *A. rhizogenes*. Последовательность *ORF13* из *IbT*-ДНК2 обнаружена у *I. trifida* (Kyndt et al., 2015), что свидетельствует о переносе клТ-ДНК от предковой формы в процессе видообразования или в результате межвидовой гибридизации *I. batatas* и *I. trifida* (Chen, Otten, 2017). Недавно было показано, что гомолог онкогенов *rolB/rolC* из батата, названный *Ib-rolB/C* не способен индуцировать образование волосовидных корней, но в то же время способствует раннему цветению, изменяет морфологию листьев и способствует преждевременному старению листьев у трансгенных растений *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. (Shkryl et al., 2022).

Общность структуры клТ-ДНК природно-трансгенных растений обусловлена ее организацией в виде повторов. Имеются сведения, что инвертированные повторы способны образовывать вторичные структуры, которые снижают уровень экспрессии генов. Высокий уровень экспрессии генов клТ-ДНК привел бы к серьезному сбою в гормональной регуляции. Таким образом, организация клТ-ДНК в виде повторов способствовала ее сохранению в ряду поколений благодаря снижению чувствительности к действию гормонов (Матвеева, Сокорнова, 2017). В последующие годы Матвеевой с соавт. (2021) методами полногеномного секвенирования и биоинформатики идентифицированы клТ-ДНК у новых родов двудольных: *Eutrema*, *Arachis*, *Nissolia*, *Quillaja*, *Euphorbia*, *Parasponia*, *Trema*, *Humulus*, *Psidium*, *Eugenia*, *Juglans*, *Azadirachta*, *Silene*, *Dianthus*, *Vaccinium*, *Camellia* и *Cuscuta*. Можно полагать, что дальнейшие исследования будут способствовать увеличению этого списка. Необходимо отметить, что родственные *rol*-генам *plast*-гены обнаруживаются не только у агробактерий и природно-трансгенных растений, но и у других представителей Rhizobiaceae и грибов, особенно среди тесно взаимодействующих с растениями, однако о функциях этих *plast*-генов пока ничего не известно (Otten, 2018).

МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ *rol*-ГЕНОВ

Трансформация растений, опосредованная *A. rhizogenes*, в течение последних 4 десятилетий применялась во многих исследованиях в основном с целью индукции признака компактного габитуса и сниженного роста, например, у декоративных растений (Favero et al., 2021). При этом отмечается, что наибольшего эффекта удастся добиться именно при использовании всех четырех *rol*-генов, по сравнению с использованием от-

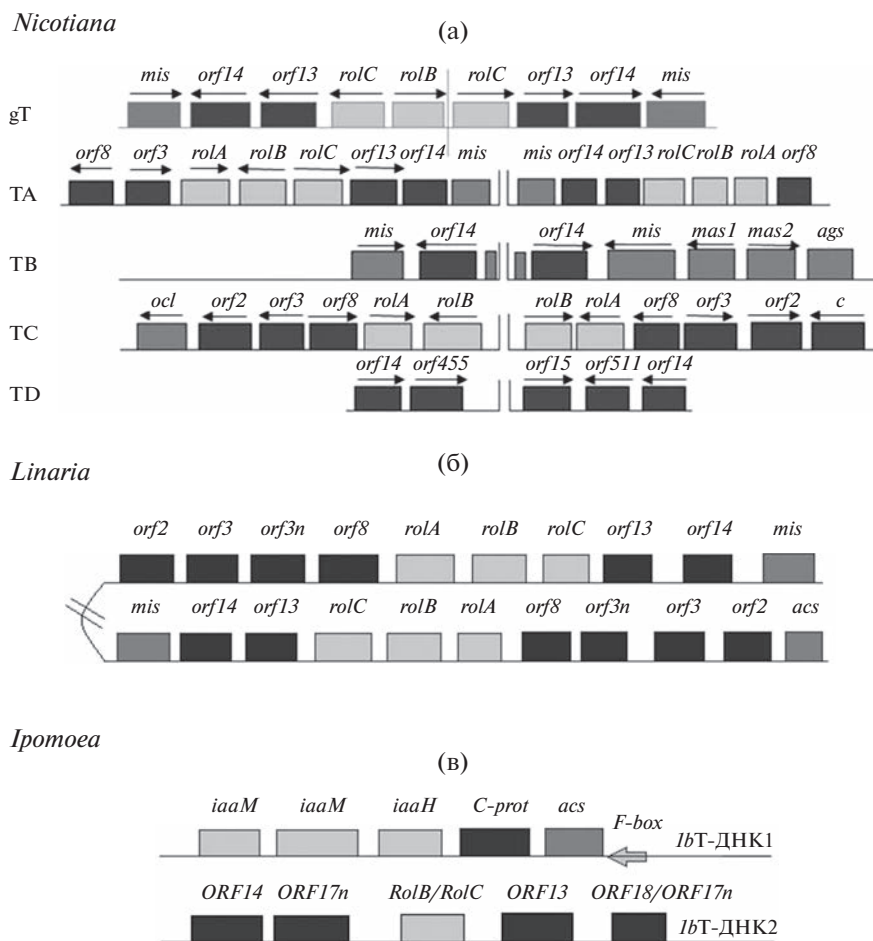


Рис. 2. Структурная организация клТ-ДНК у представителей *Nicotiana* (а), *Linaria* (б) и *Ipomoea* (в). Светло-серым цветом показаны онкогены, серым — гены синтеза опинов, черным — гены с неизвестной функцией, названия генов подписаны над прямоугольниками. gT, TA, TB, TC, TD — типы клТ-ДНК у представителей *Nicotiana*. IbT-ДНК1, IbT-ДНК2 — типы вставок клТ-ДНК у *I. batatas* (по: Матвеева, Сокорнова, 2017, модифицировано).

дельных *rol*-генов. Экспрессия *rol*-генов может быть полезной для улучшения архитектуры корневой системы, например, у комнатных растений (Favero et al., 2022). Продукты *rol*-генов могут стимулировать увеличение биомассы корней, что полезно для растениеводства, особенно для корнеплодов или растений, корни которых используются для извлечения вторичных метаболитов (Favero et al., 2022). С другой стороны, стимуляция роста корней безусловно будет полезной для увеличения засухоустойчивости культурных растений за счет лучшей разветвленности и скорости роста корней. Также у трансгенных по *rol*-генам растений повышается способность к укоренению, что очень важно при вегетативном размножении растений, особенно при черенковании (Favero et al., 2022).

Экспрессия *rolA* увеличивает чувствительность к ауксину в период цветения, стимулирует корнеобразование и рост корней (Кулаева и др., 2006). С другой стороны, экспрессия *rolA* в табаке может приводить к резкому снижению количества неко-

торых гормонов, таких как цитокинины, ауксины, гибберелловая и абсцизовая кислоты (АБК). Со снижением содержания гиббереллинов, к примеру, связывают карликовость, сморщивание листьев и другие аномалии развития (Sinkar et al., 1988). Но несмотря на снижение содержания фитогормонов, трансформанты могут проявлять повышенную чувствительность к некоторым из них, например к ауксином (Maurel et al., 1991). Белок RolA у большинства видов растений приводит к формированию морщинистых листьев, мелких плодов, лишенных семян, к более низкому проценту укоренения, а также снижению жизнеспособности пыльцы (Sarkar et al., 2018). Хорошо известно, что фенотипические проявления *rol*-генов зависят от трансформируемого ими растения и особенно от того, под каким промотором работает ген (Хафизова, Матвеева, 2021; Kurioka et al., 1992; Giovannini et al., 1999). К примеру, экспрессия *rolA* с нативным промотором обуславливает появление карликовости, мелких морщинистых листьев, коротких междоузлий и уплотненного соцветия (Schmulling et al.,

1988). В то время как трансформанты *N. tabacum*, несущие этот же ген под контролем 35S CaMV-промотора, становятся низкорослыми с темно-зелеными морщинистыми листьями, с поздним цветением и уменьшенным количеством цветков (Dehio et al., 1993).

В 1985 г. впервые была установлена важная роль *rolB* в образовании придаточных корней у различных эксплантов (White et al., 1985). Позже было подтверждено, что конструкции, несущие этот трансген, способны индуцировать дифференцировку корней на разных тканях. Считалось, что именно *rolB* играет ключевую роль в корнеобразовании, поскольку трансформация растений всеми остальными онкогенами, не приводила к неопластическому росту, а встраивание в геном растений *rolB* способствовало обильному образованию волосовидных корней даже без других *rol*-генов (Spena et al., 1987; Bulgakov et al., 2002). С другой стороны, в волосовидных корнях *N. tabacum* уровень экспрессии гена *rolC* был многократно выше, чем у гена *rolB* (Гумерова и др., 2018), что говорит о важной роли *rolC* в индукции волосовидных корней. *rolB*-трансформанты показали высокий процент укоренения в отсутствии ауксина, что свидетельствует о достаточном уровне в них эндогенного гормона или же об изменении чувствительности к гормону (Welander et al., 1998). Известно, что добавление ауксина в среду индуцирует образование корней на поверхности не трансформированных растений, однако фенотип трансформированных *rolB* растений сильно отличается: усиленное укоренение, короткий стебель, апикальное доминирование, укороченные междоузлия, мелкие и широкие листья измененной формы, ранний некроз розеточных листьев, большие соцветия, раннее цветение, снижение жизнеспособности пыльцы, раннее созревание плодов, партенокарпические плоды, а также небольшой размер и меньшее количество плодов (Sarkar et al., 2018). *rolB*-трансформанты *Glycine max* L. продемонстрировали несколько вариаций фенотипа: карликовые и полукарликовые формы, аномальный рост стебля, короткие междоузлия, листья и стебли от светло-зеленого до желто-зеленого цвета (Zia et al., 2010). В присутствии ауксина в среде трансформированные побеги образовывали каллусы, кроме того, отмечалось снижение процента укоренения и количества корней, что может быть связано с увеличением чувствительности к гормону (Welander et al., 1998). Однако однозначные выводы пока делать рано, так как имеются данные о том, что у трансформантов чувствительность к гормону не увеличена (Otten, 2018). Сообщалось о влиянии уровня экспрессии *rolB* на рост каллуса трансформированных растений, обнаружено, что низкий уровень поддерживает рост культуры, а высокий — ингибирует, вызывая некроз клеток. При обработке каллуса ингибитором тирозинфосфатазы действие *rolB* на рост блокировалось, тем самым подтверждая роль дефосфорилирования тирозина в регуляции роста и вторичного метаболизма растений (Kiselev et al.,

2007; Shkryl et al., 2007). Необходимо отметить, что еще ранее высказывались предположения о тирозинфосфатазной активности белка *RolB* (Filippini et al., 1996), однако с учетом ряда полученных позднее результатов эта модель пока не может быть принята (Otten, 2018). Недавние исследования еще раз подтвердили основные морфогенетические эффекты *rolB*, причем в наибольшей степени у растений, содержащих единственную копию гена с высоким уровнем его экспрессии (Favero et al., 2021).

Ген *rolC* является наиболее изученным из группы генов корневого локуса, что обусловлено способностью индуцировать корнеобразование на поверхности эксплантов, как под нативным (Schmülling et al., 1988; Palazon et al., 1998), так и под контролем 35S CaMV-промотора (*Atropa belladonna* L.) (Bonhomme et al., 2000). Нужно отметить, что действие этого гена под контролем нативного промотора тканеспецифично, и его активность меняется с возрастом растения. Экспрессия гена *rolC* максимальна в корнях и уменьшается в ряду корни—стебель—цветки—листья (Павлова и др., 2013а; Guivarch et al., 1996). Промотор *RolC* активен во флоэме, стимулируется сахарозой и ауксином, что может говорить о связи его белкового продукта с метаболизмом сахарозы (Otten, 2018). Хозяйский ген *trnC* *N. tabacum* экспрессируется в молодых листьях и кончиках побегов, а не в старых листьях или корнях, подавляется ауксином и индуцируется цитокинином (Meyer et al., 1995). Однако нами ранее была выявлена экспрессия гена *trnC* именно в ауксин-индуцированных адвентивных корнях *N. tabacum*, тогда как у нативных культур корней его экспрессия не обнаруживалась (Гумерова и др., 2018).

На листовых эксплантах каланхоэ данный ген не индуцировал корнеобразование, однако при экспрессии совместно с *rolB* способствовал образованию корней (Хафизова, Матвеева, 2021; Spena et al., 1987; Schmülling et al., 1988). В литературе описано корнеобразование у *Panax ginseng* С.А. Meyer и *Rubia cordifolia* L. в отсутствии или присутствии ауксина в среде под действием гена *rolC* с 35S CaMV-промотором (Bulgakov et al., 1998, 2002). У трансформированных растений *Dianthus caryophyllus* L. наблюдали регенерацию побегов и корней, обусловленную ауксиновым и цитокининовыми эффектами этого гена (Casanova et al., 2005). Помимо корнеобразования, *rolC* влияет на рост и морфологию трансгенных корней, они характеризуются быстрым плагиотропным ростом с образованием боковых ответвлений (White et al., 1985; Schmülling et al., 1988; Palazon et al., 1998; Bonhomme et al., 2000). Известно, что морфогенетические эффекты *rolC* обусловлены уровнем его экспрессии и видом трансформированного растения. Так, *rolC*-трансформанты под контролем нативного промотора характеризовались снижением длины побегов и апикального доминирования, уменьшением площади листовой пластинки, усиленным ветвлением, измененной морфологией листа, небольшими по размеру плодами

по сравнению с нетрансформированными растениями (Sarkar et al., 2018). В то же время трансформированные растения *A. belladonna* под контролем нативного промотора не проявляли каких-либо морфологических различий по сравнению с диким типом (Kurioka et al., 1992). Группой исследователей доказано, что карликовость *rolC*-трансформированных растений связана не только с действием ауксинов и цитокининов, но и других классов гормонов. Укороченные междоузлия и усиление бокового ветвления свидетельствуют об увеличении цитокининовой активности (Schmülling et al., 1988), а раннее цветение и карликовость могут быть обусловлены снижением содержания гибберелловой кислоты или чувствительности к этому гормону (Sarkar et al., 2018). Предполагалось, что *rolC* повышает чувствительность клеток к цитокининам и предшественникам этилена, а также снижает ее к ауксину и АБК (Schmülling et al., 1993). С другой стороны, измерение трансмембранной гиперполяризации в ответ на ауксин показало, что протопласты табака, имеющие в своем геноме *rolC*, более чувствительны к ауксинам, чем их аналоги дикого типа (Maurel et al., 1991; Mohajjel-Shoja et al., 2011). Снижение содержания АБК (Nilsson et al., 1993; Fladung et al., 1997; Bettini et al., 2010) и этилена (Martin-Tanguy et al., 1993), наблюдаемое у *rolC*-трансформантов, может быть причиной повышенной транспирации (Хафизова, Матвеева, 2021; Fladung et al., 1992). Выявлена также важная роль *rolC* в индукции соматического эмбриогенеза: так в результате трансформации *P. ginseng* этим геном под контролем 35S CaMV-промотора образовывались соматические зародыши, кроме того, такой же эффект наблюдали при введении гена в нетрансформированные каллусы на безгормональной среде (Sarkar et al., 2018).

На сегодня ген *rolD* является наименее изученным из *rol*-генов, что может быть обусловлено отсутствием существенных морфологических изменений в результате его экспрессии: раннее отмирание стебля, мелкие листья изогнутой формы и раннее цветение у *N. tabacum*, усиленное ветвление и увеличение количества соцветий у *Solanum lycopersicum* L., повышенное образование придаточных корней и морщинистые листья у *A. thaliana* (Mauro et al., 1996; Bettini et al., 2003; Falasca et al., 2010; Sarkar et al., 2018). Раннее цветение *rolD*-трансформированных растений обусловлено действием продукта гена, катализирующего реакцию превращения орнитина в пролин, а изменения концентрации одного из метаболитов как раз обеспечивает более ранний переход к генеративной фазе (Dilshad et al., 2021). Известно, что пролиферация пазушных меристем у *rolD*-трансформантов обусловлена изменением соотношения цитокинин/ауксин (Falasca et al., 2010). Повышенное содержание ауксина в среде с трансформированными растениями приводит к максимуму индукции промотора *rolD*, а затем к ее снижению. Среди описанных *rol*-генов только *rolD*, судя по всему, не участвует в образовании волосовидных корней, к тому же некоторые штаммы *A. rhizogenes* мо-

гут не содержать данного гена (Mauro et al., 1996). Выявлено, что *rolD* не является тканеспецифичным, но его экспрессия регулируется в процессе развития растения. *rolD* благодаря своим морфологическим эффектам может использоваться с целью получения карликовых форм *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln., как одного из экономически важных декоративных растений (Christensen et al., 2010).

Ряд исследований, направленных на создание *rolABC*-трансформантов, демонстрируют различные морфогенетические эффекты, опосредованные комбинированным действием этих трех генов. Так, на поверхности листовых эксплантов, трансформированных *A. tumefaciens* с генами *rolABC* под контролем нативного промотора, наблюдали образование волосовидных корней в отсутствие экзогенного гормона напрямую или косвенно посредством каллусообразования (Spena et al., 1987; Palazon et al., 1998; Bonhomme et al., 2000). Растения *G. max*, трансформированные генами *rolA*, *rolB* и *rolC* под контролем 35S CaMV-промотора, демонстрировали усиленное укоренение, изменение морфологии листьев в присутствии ауксина и раннее цветение по сравнению с контролем (Zia et al., 2010). Трансформанты *S. lycopersicum* характеризовались сходным с контролем фенотипом: морщинистые листья и апикальное доминирование, однако были обнаружены и отличительные признаки: мелкие цветки, тонкие корни и снижение жизнеспособности пыльцы. В результате трансформации растений *Actinidia deliciosa* A. Chev. обнаружено формирование темно-зеленых морщинистых листьев и коротких междоузлий, а также повышенная укореняемость (Rugini et al., 1991). Некоторые морфогенетические эффекты *rol*-генов у разных видов растений представлены в табл. 1.

ВЛИЯНИЕ *rol*-ГЕНОВ НА ВТОРИЧНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ РАСТЕНИЙ

Культуры волосовидных корней-продуцентов ценных вторичных метаболитов на настоящий момент являются одним из перспективных направлений биотехнологии растений (Кузовкина, Вдовитченко, 2011; Кулуев и др., 2015). Получены рRi-трансформированные каллусные культуры и волосовидные корни у свыше 100 таксономически разнообразных видов лекарственных растений (Sarkar et al., 2018). Что примечательно, содержание метаболитов в трансформированных культурах корней, как правило, превышает такое в нативных (Murthy et al., 2008; Esam, 2011; Jeeshna, Paulsamy, 2011). В недавнем исследовании (Matvieieva et al., 2020) показано также, что волосовидные корни *Artemisia tilesii* Ledeb. накапливали не только больше флавоноидов, но и характеризовались повышенной антиоксидантной активностью, чем нативные корни этого растения.

Известно, что *rolA* потенциально может выступать в качестве индуктора вторичного метаболизма растений (Rigden, Carneiro, 1999). Впервые роль *rolA*

в продукции вторичных метаболитов была отмечена у трансформированных линий *N. tabacum* при выработке никотина (Palazon et al., 1997). Другой группой исследователей (Veremeichik et al., 2019) в течение 10 лет были проведены исследования *rolA*-трансформантов *R. cordifolia*. При культивировании полученная каллусная культура продемонстрировала не только стабильный, но и превышающий рост, по сравнению с нетрансформированными культурами. Кроме того, обнаружено позитивное влияние *rolA* на синтез антрахинонов при длительном культивировании, что реализуется за счет активации биосинтеза руберитриновой кислоты. Ранее были получены данные о высокой эффективности действия *rolB* на биосинтез антрахинонов, однако в условиях длительного культивирования именно *rolA* обеспечивает высокую продуктивность метаболита (Shkryl et al., 2007).

В ряде исследований описано, что *rolB* из всех *rol*-генов оказывает наиболее сильное влияние на вторичный метаболизм (Kiselev et al., 2007; Shkryl et al., 2007; Dilshad et al., 2016). Так, содержание антрахинонов в трансформированной каллусной культуре *R. cordifolia* увеличилось в 15 раз по сравнению с диким типом (Shkryl et al., 2007; Dilshad et al., 2021). В результате встраивания *rolB* в геном *Fagopyrum esculentum* Moench. получена культура волосовидных корней с повышенным содержанием фенольной, хлорогеновой, *p*-гидроксibenзойной, *p*-анисовой и кофейной кислот, а также общих фенолов (Ситар и др., 2013). Выявлено повышенное содержание катехинов, пектинов, сапонинов, протопектинов и дубильных веществ в культуре волосовидных корней *Astragalus penduliflorus* Lam. (Амброс и др., 2020). *rolB*-трансформанты *Vitis amurensis* Rupr. характеризовались более чем 100-кратным увеличением содержания ресвератрола по сравнению с нетрансформированными растениями (Kiselev et al., 2007). Трансформация *Maackia amurensis* Rupr. et Maxim. привела к увеличению содержания изофлавоноидов в 1.5 раза (Grishchenko et al., 2016). В трансгенных растениях *Artemisia annua* L. выявлено увеличение содержания рутина и кофейной кислоты в 3 раза, изокверцетина в 6 раз и кверцетина в 4 раза, по сравнению с нативными корнями. Кроме того, обнаружено повышение содержания фенолов и флавоноидов в 1.5 раза по сравнению с диким типом (Dilshad et al., 2016). *rolB*-трансформированные растения *Dionaea muscipula* J. Ellis характеризовались повышенным содержанием фенольных соединений, в том числе производного 1.4-нафтохинона, плюмбагина, салициловой, кофейной и эллаговой кислот по сравнению с нетрансформированными (Makowski et al., 2021a).

Проведен ряд исследований, показывающих индуцирование продуктом гена *rolC* синтеза вторичных метаболитов, в том числе тропановых, пиридиновых и индольных алкалоидов, гипсенозидов, антрахинонов, полифенолов и лактонов за счет усиления биосинтетической способности и стимуляции роста растения (Bulgakov, 2008; Sark-

ar et al., 2018). *rolC*-трансформированные корни *N. tabacum* накапливали в 2 раза больше никотина, а листья — в 3 раза (Palazon et al., 1997). При культивировании *rolC*-трансформированных каллусов *Synnema cardunculus* L. обнаружено увеличение содержания полифенолов в 2–4 раза (Vereshchagina et al., 2014). Содержание артемизинина в *rolC*-трансгенных растениях *A. annua* увеличилось в 4–4.6 раза по сравнению с нативными корнями (Dilshad et al., 2015b). В результате трансформации *A. carvifolia* Buch генами *rolB* и *rolC* под контролем 35S CaMV-промотора количественное содержание артемизинина увеличилось в 3–7 раз и 2.3–6 раз соответственно (Dilshad et al., 2015a). Было продемонстрировано влияние *rolC* на количественное содержание флавоноидов за счет изменения уровня экспрессии генов пути их биосинтеза. К примеру, *rolC*-трансформанты продемонстрировали увеличение содержания рутина и кверцетина в 3 раза, изокверцетина в 5 раз и кофейной кислоты в 2.6 раза (Sarkar et al., 2018). У *Catharanthus roseus* L. была выявлена отрицательная корреляция накопления продукта *rolC* и образования индольных алкалоидов (Palazon et al., 1997). Для фармацевтической промышленности большой интерес представляет получение тропановых алкалоидов из альтернативных источников. Так, две серии линий волосовидных корней *A. belladonna*: первая трансформирована *A. tumefaciens* с геном *rolC*, а вторая *A. tumefaciens* — с геном *rolABC*, спустя 4 нед. культивирования продемонстрировали одинаковые средние значения общего выхода тропановых алкалоидов по сравнению с контролем (Bonhomme et al., 2000). В волосовидных корнях *P. ginseng* обнаружено высокое содержание гинзенозидов, что соответствует верхнему пределу биосинтетической способности клеток (Bulgakov et al., 1998). Растения *Lactuca sativa* L., трансформированные *rolC* под контролем 35S CaMV-промотора, продемонстрировали увеличение содержания фенолов и флавоноидов по сравнению с нетрансформированными (Ismail et al., 2016). С другой стороны, ген оказывал обратный эффект, ингибируя вторичный метаболизм трансформированных растений *Eritrichium sericeum* Lehm. и *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc., тем самым снижая содержание рабдозина и розмариновой кислоты в 2–3 раза по сравнению с контролем (Bulgakov et al., 2005). Исходя из полученных данных, можно предположить, что *rolC* может оказывать как стимулирующее, так и ингибирующее действие на биосинтез вторичных метаболитов (Sarkar et al., 2018). К примеру, *rolC* может осуществлять дифференцированную регуляцию различных метаболитов в пределах одного и того же трансформированного растения, вызывая повышение одного и уменьшение содержания другого соединения (Grishchenko et al., 2013).

На сегодня роль гена *rolD* в индукции синтеза вторичных метаболитов изучена недостаточно, однако имеются сведения, что он кодирует фермент орнитинциклодеаминазу (Trovato et al., 2001). В результате определения экспрессии гена *PR-1* уста-

Таблица 1. Морфогенетические эффекты *rol*-генов у разных видов растений (по: Хафизова, Матвеева, 2021; Casanova et al., 2005)

Вид растения	Промотор/ген	Проявление	Источник
<i>Artemisia dubia</i> Wall.	Нативный/ <i>rolA</i>	Задержка роста	Amanullah et al., 2016
<i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch. f. <i>hueichingensis</i> Hsiao	Нативный/ <i>rolB</i>	Карликовость, укороченные междоузлия, придаточные корни	Чжоу и др., 2009
<i>Glycine max</i> L.	35S CaMV/ <i>rolA</i>	Усиленное укоренение, раннее цветение	Zia et al., 2010
	35S CaMV/ <i>rolC</i>	Карликовость, различные вариации морфологии листа, раннее цветение, меньшее количество цветков	Zia et al., 2010
	35S CaMV/ <i>rolB</i>	Карликовые и полукарликовые формы, аномальный рост стебля, короткие междоузлия, листья и стебли от светло-зеленого до желто-зеленого цвета	Zia et al., 2010
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Нативный/ <i>rolC</i>	Изменение формы листа, мелкие цветки	Schmülling et al., 1988; Scorza et al., 1994; Guivarch et al., 1996
	35S CaMV/ <i>rolC</i>	Изменение формы листа, мелкие цветки, мужская стерильность, хлорозы	
<i>Rosa hybrida</i> cv. Madame L.	Нативный/ <i>rolC</i>	Кустистость, увеличение числа шипов и изменение цвета лепестков	Souq et al., 1996
	Нативный/ <i>rolB</i>	Редукция боковых корней	van der Salm et al., 1997
	Нативный/ <i>rolA, rolB, rolC</i>	Короткие стебли, снижение апикального доминирования, мелкие и морщинистые листья	van der Salm et al., 1997
<i>Osteospermum ecklonis</i> (DC.) Norl.	35S CaMV/ <i>rolC</i>	Увеличение количества цветков, листья бледно-зеленые	Giovannini et al., 1999; Allavena et al., 2000
	Нативный/ <i>rolA, rolB</i>	Увеличение количества цветков, раннее цветение, листья темно-зеленые	
	Нативный/ <i>rolA, rolB, rolC</i>	Увеличение количества цветков меньшего размера, раннее цветение	
<i>Atropa belladonna</i> L.	35S CaMV/ <i>rolC</i>	Узкие бледно-зеленые листья, увеличение количества мелких цветков	Kurioka et al., 1992
<i>Chrysanthemum</i> × <i>hortorum</i> , сорт White Shadow W.Mill.	35S CaMV/ <i>rolC</i>	Узкие бледно-зеленые листья, увеличение количества мелких цветков, изменение формы лепестков	Mitiouchkina, Dolgov, 2000
<i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramat.	35S CaMV/ <i>rolC</i>	Карликовость, укороченные междоузлия, узкие бледно-зеленые листья, мелкие цветки	Mitiouchkina, Dolgov, 2000
<i>Dianthus caryophyllus</i> L.	35S CaMV/ <i>rolC</i>	Кустистость, корнеобразование, увеличенное количество цветоносов	Casanova et al., 2004
<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	35S CaMV/ <i>rolC</i>	Усиленное корнеобразование	Koshita et al., 2002

Таблица 1. Продолжение

Вид растения	Промотор/ген	Проявление	Источник
<i>Pelargonium domesticum</i> (Regals), cv. Dubonnet	35S CaMV/rolC	Мелкие цветки и листья, увеличение количества цветков	Boase et al., 2004
<i>Petunia axillaris</i> × <i>P. hybrida</i>	35S CaMV/rolC	Кустистость, уменьшенные/увеличенные листья, увеличение количества листьев	Winefeld et al., 1999
<i>Poncirus trifoliata</i> L. Raf	35S CaMV/rolC	Усиленное корнеобразование	Kaneyoshi, Kobayashi, 1999
<i>Populus tremula</i> L.	Нативный/35S CaMV/rolC	Кустистость, сморщенные листья, поздний переход к покою	Tzfra et al., 1999
<i>Solanum tuberosum</i> L.	35S CaMV/rolC	Стерильность мужских цветков, хлорозы, уменьшенный размер клубней, мелкие листья измененной формы	Schmulling et al., 1993
<i>Brassica oleracea</i> L. var. Italica	Нативный/rolC	Короткие стебли, морщинистые листья	Abdullah et al., 2021
<i>Salpiglossis sinuata</i> Ruiz & Pav	Нативный/rolC	Кустистость, мелкие цветки и листья	Lee et al., 1996
<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Нативный/rolC	Кустистость, меньший размер плодов	Bettini et al., 2010
<i>Begonia tuberhybrida</i> Voss.	Нативный/rolA, rolB, rolC	Карликовость, увеличенное количество морщинистых листьев, задержка цветения	Kiyokawa et al., 1996
<i>Hypericum perforatum</i> L.	Нативный/rolA, rolB, rolC	Снижение фертильности, уменьшение количества цветков	Komarovska et al., 2010
<i>Kalanchoe blossfeldiana</i> Poelln.	rolA, rolB, rolC, rolD	Карликовость, небольшой размер цветка	Christensen et al., 2010
<i>Lilium longiflorum</i> Thunb.	Нативный/rolA, rolB, rolC	Карликовость, короткие междоузлия, мелкие цветки, сниженная фертильность пыльцы	Mercuri et al., 2003
<i>Limonium</i> sp. L.	Нативный/rolA, rolB, rolC	Короткие стебли и междоузлия, снижение апикального доминирования, мелкие и морщинистые листья, раннее цветение, мелкие цветки, сниженная фертильность пыльцы	Mercuri et al., 2001
<i>Sinningia speciosa</i> Baill.	Нативный/rolA, rolB, rolC, rolD	Увеличенное количество цветоносов, морщинистые листья, задержка цветения, усиленный рост корней	Desmet et al., 2020
<i>Angelonia salicariifolia</i> Humb. & Bonpl.	T-ДНК <i>A. rhizogenes</i>	Карликовость, короткие междоузлия, мелкие листья, сниженная фертильность пыльцы, сохраняется количество, размер и форма цветков	Koike et al., 2003

Таблица 1. Окончание

Вид растения	Промотор/ген	Проявление	Источник
<i>Antirrhinum majus</i> L.	Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i>	Карликовость, короткие междоузлия, снижение апикального доминирования с сильно разветвленными стеблями, более мелкие, широкие и короткие листья, увеличенное количество цветков, сниженная фертильность	Handa, 1992; Senior et al., 1995; Hoshino, Mii, 1998
<i>Catharanthus roseus</i> L.	Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i>	Короткие междоузлия, морщинистые листья, сильное укоренение, изменение окраски цветков	Choi et al., 2004
<i>Datura arborea</i> L.	Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i>	Короткие стебли и междоузлия, мелкие цветки, увеличение количества цветков меньшего размера	Giovannini et al., 1997
<i>Eustoma grandiflorum</i> Raf. Shinnars	Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i>	Короткие стебли, увеличение количества коротких междоузлий, мелкие и морщинистые листья, повышенная укореняемость, измененная форма венчика, сниженная фертильность, измененный филлотаксис	Giovannini et al., 1996
<i>Gentiana</i> sp. L.	Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i>	Карликовость, короткие междоузлия, уменьшенное апикальное доминирование, ветвистые стебли, мелкие и эллиптические, скрученные или морщинистые листья, усиленное укоренение, увеличенное количество цветков, раннее цветение	Momcilovic et al., 1997
<i>Ipomoea trichocarpa</i> Ell. Shinnars	Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i>	Короткие стебли, мелкие и морщинистые листья, различные вариации морфологии цветка, уменьшенное количество цветков, задержка цветения, нормальная фертильность пыльцы	Otani et al., 1996
<i>Nierembergia scoparia</i> Sendtn.	Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i>	Карликовость, короткие междоузлия, мелкие и узкие листья, повышенная укореняемость	Godo et al., 1997
<i>Pelargonium</i> sp.	Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i>	Короткие стебли, увеличенное количество междоузлий и листьев, подавление цветения	Pellegrineschi, Davolio-Mariani, 1996
<i>Rudbeckia hirta</i> L.	Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i>	Морщинистые листья, усиленное ветвление корней, мелкие цветки	Daimon, Mii, 1995

новлено, что защитные системы трансформированных растений томата активизируются за счет экспрессии *rolD* (Bettini et al., 2003).

Проведен ряд исследований, посвященных комбинированному действию *rol*-генов под контролем нативных промоторов на вторичный метаболизм у различных видов трансформирован-

ных растений. Так, в результате трансформации *R. cordifolia* обнаружено, что каждый ген имеет свой индивидуальный механизм активации биосинтеза антрахинонов (Bulgakov et al., 2003). Растения *Ajuga bracteosa* Wall. ex Benth., трансформированные конструкцией *rolABC*, продемонстрировали увеличение содержания фитоэкдистероидов в 14.5 раз по

сравнению с контролем (Kayani et al., 2016). *rolABC*-трансформанты *C. roseus* характеризовались двукратным увеличением аймалицина и алкалоидов (Verma et al., 2012). Имеются сведения об эффективной агробактериальной трансформации растений *Ocimum basilicum* L., в результате которой в культуре волосовидных корней обнаружено повышенное содержание розмариновой кислоты и фенолов (Sathasivam et al., 2022). Имеются сведения, что *rol*-гены способны индуцировать метаболизм запасных углеводов. К примеру, перенос *rolB* и *rolC* в геном *S. tuberosum* стимулирует формирование крахмальных гранул в микроклубнях, причем гены действуют, как антагонисты, изменяя размер и характеристики гранул в амилопластах (Гукасян и др., 2001; Аксенова и др., 2010). В результате трансформации растений *G. max* тремя *rol*-генами в волосовидных корнях обнаружено повышенное содержание крахмала и снижение глюкозы, обусловленное ингибирующим действием *A. rhizogenes* на метаболизм источников углерода (Okamoto, Ueki, 2022). Комбинированным действием *rol*-генов может быть объяснено также увеличение продукции полиизопрена (натуральный каучук) в волосовидных корнях *Taraxacum kok-saghyz* Rodin. по сравнению с нативными корнями этого одуванчика (Кулуев и др., 2020), причем этот вторичный метаболит выполняет важную роль в регуляции устойчивости к биотическим стресс-факторам.

РОЛЬ *rol*-ГЕНОВ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

Ген *rolB* способен активировать защитные системы растений в ответ на активные формы кислорода (АФК), предотвращая гибель некротических клеток, и уменьшать апоптотические симптомы (Bulgakov et al., 2013). *rolC*-трансформированные растения *Rubia tinctorum* L. и *R. cordifolia* демонстрировали способность нейтрализовать действие АФК путем активации синтеза антрахинонов (Хафизова, Матвеева, 2021). Выявлена роль *rolC* в регуляции стрессоустойчивости растений путем активации MYB-факторов и С-связанных элементов, регулирующих синтез вторичных метаболитов. Обнаруживаемое при этом снижение содержания АФК обуславливает устойчивость трансформированных растений к стрессу (Павлова и др., 2013а; Ganesan et al., 2012). Кроме того, получены данные о 2–3-кратном повышении устойчивости *rolC*-трансформантов к действию NaCl, холода и жары (Bulgakov, 2008). Имеются сведения о повышении устойчивости к фитопатогенам при экспрессии *rol*-генов. К примеру, растения *S. tuberosum*, трансформированные конструкцией 35S CaMV–*rolC*, продемонстрировали устойчивость к возбудителям гнили, а трансформированная клубника была устойчива к фитофторе (Хафизова, Матвеева, 2021). Интересно отметить, что экспрессия каждого из *rol*-генов способствовала увеличению содержания АБК, главного стрессового фитогормона в растениях (Alcalde et al., 2022). Поэтому возможно *rol*-гены действу-

ют на стрессоустойчивость в том числе через влияние на фитогормональный статус растений. Ранее нами было показано, что трансгенные растения *N. tabacum* с конститутивной экспрессией фрагмента гена *rolC* под контролем 35S CaMV-промотора в антисмысловой ориентации характеризуются уменьшением темпов роста корней как при нормальных условиях, так и при действии гипотермии и кадмия. Возможно, наличие в промоторной области гена *rolC* *cis*-регуляторных элементов, активируемых холодом, обуславливает позитивное влияние этого *plast*-гена на рост корней в условиях гипотермии (Кулуев и др., 2021). Накапливаются данные о позитивном влиянии *rol*-генов на стрессоустойчивость через влияние на компоненты антиоксидантной системы. К примеру, экспрессия *rolB* способствует увеличению активности супероксиддисмутазы и общего пула глутатиона (Makowski et al., 2021b). *rolB* также может активировать экспрессию различных транскрипционных факторов, например, MYB и bHLH (Bulgakov et al., 2016). Недавние исследования показывают, что *rolB* модулирует метаболизм АФК (Veremichik et al., 2019) и влияет на экспрессию белков шаперонного типа в трансформированных растительных клетках (Bulgakov et al., 2018).

ВОЗМОЖНЫЕ ФУНКЦИИ *rol*-ГЕНОВ В ПРИРОДНО-ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ

На данный момент известно около 40 родов природно-трансгенных растений (Matveeva, 2021), и их число безусловно будет только расти. Значение растительных *rol*-генов изучено слабо, еще предстоит выяснить роль их экспрессии в развитии различных морфогенетических эффектов и формировании устойчивости растений к абиотическим и биотическим факторам среды. Предполагается, что гены, перенесенные от агробактерий, способствовали адаптации видов в ходе эволюции, приобретению преимуществ для конкуренции с родителемскими организмами и выживанию в неблагоприятных условиях (Еникеев, 2018), поскольку эти гены сохранились до наших дней без существенных изменений, очевидно за счет стабилизирующего отбора. Если бы *rol*-гены у природно-трансгенных растений не выполняли никакой функции, они бы накапливали мутации с той же скоростью, что обнаруживается в межгенных пространствах клТ-ДНК (Павлова и др., 2013а). Предполагается, что сохранение высокого уровня сходства перенесенных последовательностей, а также влияние трансгенов на чувствительность трансформированных клеток к эндогенным гормонам, позволяет судить о важной физиологической роли *rol*-генов (Кулаева и др., 2006). Основные предполагаемые функции *rol*-генов клТ-ДНК, заслуживающие внимания: стимуляция корнеобразования, адаптация к засухе, усиление регенерации, раннее цветение (Матвеева, Сокорнова, 2017). Для гена *rolC* природно-трансгенных растений предполагают его участие в процессах регенерации, в

Таблица 2. Предполагаемые функции *rol*-генов

Ген	Биохимическая функция	Источник
<i>rolA</i>	Увеличивает чувствительность к ауксину, ассоциирован с мембранами, вероятно, взаимодействует с ДНК	Vilaine et al., 1998; Кулаева и др., 2006; Павлова и др., 2013а
<i>rolB</i>	Обладает индоксил-β-глюкозидазной активностью, стимулирует связывание ауксина с мембранами, повышает чувствительность к ауксину, способен связываться с ядерными белками-импортерами и локализоваться в ядре, обладает тирозинфосфатазной активностью	Filippini et al., 1996; Welandar et al., 1998; Moriuchi et al., 2004; Otten, 2018
<i>rolC</i>	Обладает цитокинин-β-глюкозидазной активностью, увеличивает чувствительность к цитокининам, локализуется в цитоплазме и ядре, участник метаболизма сахарозы	Schmülling et al., 1993; Matveeva et al., 2015; Favero et al., 2021; Хафизова, Матвеева, 2021
<i>rolD</i>	Обладает орнитинциклодеаминазной активностью	Dilshad et al., 2021

повышении адаптационных возможностей растения, а также его устойчивости к фитопатогенам (Chen, Otten, 2017). Действительно гены клТ-ДНК индуцируют также вторичный метаболизм и защитные механизмы растений. На примере *N. tabacum* нами ранее выявлено уменьшение устойчивости к гипотермии и кадмию у растений, экспрессирующих фрагмент гена *rolC* под контролем 35S CaMV-промотора в антисмысловой ориентации (Кулеув и др., 2021). Установлено, что содержание мажорных фракций вторичных метаболитов у природно-трансгенных растений превышает их уровень у нетрансформированных родственных форм (Matveeva et al., 2014; Matveeva, Sokogova, 2016). Показано, что увеличение экспрессии *rolC* у *N. tabacum* и двух трансгенных линий, содержащих ген *rolC* различного происхождения, коррелирует с увеличением количества глюкозы и общего содержания сахаров (Matveeva et al., 2020). Большинство вторичных метаболитов участвуют в защите растений от патогенов и вредных насекомых. Так, сверхсинтез антирринозида отпугивает неопыляющих и грызущих насекомых (Matveeva et al., 2015). Повышенное содержание метаболитов, в том числе стероидов, алкалоидов, антрахинонов, кумаринов, флавоноидов, сапонинов, таннинов и фенольных кислот описано у другого природно-трансгенного растения — *I. batatas* (Meira et al., 2012). У представителей р. *Nicotiana* зафиксировано повышение уровня никотина на 95% при повреждении, что обеспечивает дополнительную защиту от травоядных животных. Кроме того, у природно-трансгенных растений отмечается повышенное содержание фенольных соединений, ингибиторов протеиназ, PR-белков и сесквитерпеноидных фитоалексинов (Матвеева, Сокогнова, 2017).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования *rol*-генов за последние 30 лет привели к появлению множества различных гипотез относительно биохимической активности

их белковых продуктов (табл. 2). К примеру, для *RolB* говорилось об индоксил-β-глюкозидазе, тирозинфосфатазе, стимуляции связывания ауксина с мембранами, а также локализации в ядре с неизвестной функцией. Для *RolC* чаще всего отводилась роль цитокинин β-глюкозидазы или участника метаболизма сахарозы (табл. 2). Но все эти гипотезы требуют дальнейших проверок и на данном этапе ни одна из них не была экспериментально доказана независимыми исследованиями. Едва ли *Rol*-белки являются столь многофункциональными, как описывается в литературе, однако, тот факт, что гены *rolA*, *rolB*, *rolC* всегда располагаются рядом в Т-ДНК и вместе встраиваются в геном, наводит на мысль об их возможной вовлеченности в контроль общего биохимического процесса (Otten, 2020). Участие во многих процессах морфогенеза и метаболизма обычно характерно для транскрипционных факторов, вот только никаких доказательств наличия такой активности для *Rol*-белков пока нет, хотя для *RolB* и *RolC* выявлена их ядерная локализация. Многочисленные исследования как промотор-зависимых, так и промотор-независимых эффектов на морфогенез, вторичный метаболизм, антиоксидантную систему и стрессоустойчивость не дали окончательных ответов на вопрос о биологических функциях *rol*-генов. Надо учитывать то, что все эти обнаруженные эффекты могут быть опосредованы другими компонентами клеточной сигнализации. Поэтому исследования биологических функций *rol*-генов должны быть продолжены с привлечением биоинформатики, протеомики и других методов молекулярной биологии. Весьма перспективным может оказаться применение технологии CRISPR/Cas на природно-трансгенных растениях, у которых таким способом можно нокаутировать соответствующие *plast*-гены и затем подробно изучать полученные мутанты.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование Д.Ю. Швеца, З.А. Бережневой, Х.Г. Мусина, Б.Р. Кулуева выполнено в рамках государственного задания № 122030200143-8, работы Э.А. Баймухаметовой поддержаны грантом УМНИК (договор 16845ГУ/2021 от 07.06.2021).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Амброс Е.В., Коцун О.В., Кукушкина Т.А. и др. Синтез биологически активных веществ в культуре “бородатых” корней *Astragalus penduliflorus* Lam. // Химия раст. сырья. 2020. № 2. С. 209–221.
- Аксенова Н.П., Вассерман Л.А., Сергеева Л.И. и др. Агробактериальные *rol*-гены изменяют термодинамические и структурные свойства крахмала микрорубной трансгенного картофеля // Физиол. раст. 2010. Т. 57 (5). С. 703–710.
- Лукасян И.А., Аксенова Н.П., Константинова Т.Н. и др. Агробактериальные *rol*-гены меняют размер крахмальных гранул в микрорубных трансформированного картофеля (*Solanum tuberosum* L.) // ДАН. 2001. Т. 380 (5). С. 708–710.
- Гумерова Г.Р., Чемерис А.В., Никонов Ю.М. и др. Морфологический и молекулярный анализ изолированных культур адвентивных корней табака, полученных методами биобаллистической бомбардировки и агробактериальной трансформации // Физиол. раст. 2018. Т. 65 (5). С. 376–387.
- Еникеев А.Г. Трансгенные растения — новая биологическая система или новые свойства растительно-агробактериального симбиоза? // Физиол. раст. 2018. Т. 65 (5). С. 323–330.
- Кузовкина И.Н., Вдовитченко М.Ю. Генетически трансформированные корни как модель изучения физиологических и биохимических процессов корневой системы целого растения // Физиол. раст. 2011. Т. 58 (5). С. 787–796.
- Кулаева О.А., Матвеева Т.Н., Лутова Л.А. Горизонтальный перенос генов от агробактерий к растениям // Экол. генетика. 2006. Т. 9 (4). С. 10–19.
- Кулуев Б.Р., Вершинина З.Р., Князев А.В. и др. “Косматы” корни растений — важный инструмент для исследователей и мощная фитохимбиофабрика для производителей // Биомика. 2015. Т. 7 (2). С. 70–120.
- Кулуев Б.Р., Гумерова Г.Р., Князев А.В. и др. Получение культур волосовидных корней кок-сагыза и анализ содержания в них натурального каучука // Биомика. 2020. Т. 12 (4). С. 449–454.
- Кулуев Б.Р., Мусин Х.Г., Баймухаметова Э.А. Вклад гена *trnK* в регуляцию роста табака при действии стрессовых факторов // Биомика. 2021. Т. 13 (3). С. 360–367.
- Матвеева Т.В. Горизонтальный перенос генов от агробактерий к растениям в природе // Тавр. вестн. аграр. науки. 2013. № 2. С. 18–22.
- Матвеева Т.В. Природно-трансгенные растения, как модель для изучения отсроченных экологических рисков возделывания ГМО // Экол. генетика. 2015. Т. 13 (2). С. 118–126.
- Матвеева Т.В. Зачем растениям агробактериальные гены? // Экол. генетика. 2021. Т. 19 (4). С. 365–375.
- Матвеева Т.В., Сокорнова С.В. Биологические особенности природно-трансгенных растений и их роль в эволюции // Физиол. раст. 2017. Т. 64 (5). С. 323–336.
- Павлова О.А., Матвеева Т.В., Лутова Л.А. *rol*-гены *Agrobacterium rhizogenes* // Экол. генетика. 2013а. Т. 11 (1). С. 59–68.
- Павлова О.А., Матвеева Т.В., Лутова Л.А. Геном *Linaria dalmatica* содержит гомолог гена *rolC* *Agrobacterium rhizogenes* // Экол. генетика. 2013б. Т. 11 (2). С. 10–15.
- Ситар О.В., Габр А.М., Таран Н.Ю. и др. Накопление соединений фенольной природы в культуре трансформированных корней различных источников эксплантов гречки обыкновенной (*Fagopyrum esculentum* Moench) // Biotechnol. Acta. 2013. Т. 6 (3). С. 75–82.
- Хафизова Г.В., Матвеева Т.В. Ген *rolC* агробактерий: на пути к пониманию функции // Биотехнол. и селекц. раст. 2021. Т. 4 (1). С. 36–46.
- Чжоу Я.Ц., Дуань Х.И., Чжоу Ч.Е. и др. Индукция образования “бородатых” корней и регенерация растений *Rehmannia glutinosa* f. *hueichingensis* при трансформации с помощью *Agrobacterium rhizogenes* // Физиол. раст. 2009. Т. 56 (2). С. 247–255.
- Abdullah R.M., Salih S.M., Al-Nema Qutaiba S. Plant regeneration from transformed tissues of broccoli (*Brassica Oleracea* var. *Italica*) by *Agrobacterium rhizogenes* ATCC13332 and their retention of *rol*-genes // Eur. Acad. Res. 2021. V. IX (9). P. 6006–6017.
- Alcalde M.A., Müller M., Munné-Bosch S. et al. Using machine learning to link the influence of transferred *Agrobacterium rhizogenes* genes to the hormone profile and morphological traits in *Centella asiatica* hairy roots // Front Plant Sci. 2022. V. 13 (1001023). P. 1–12.
- Allavena A., Giovannini A., Berio T. et al. Genetic engineering of *Osteospermum* spp.: a case story / The 19th international symposium on improvement of ornamental plants // Acta Hort. 2000. V. 508. P. 129–133.
- Altamura M.M. *Agrobacterium rhizogenes rolB* and *rolD* genes: regulation and involvement in plant development // Plant. Cell. Tiss. Org. Cult. 2004. V. 77. P. 89–101.
- Amanullah B.M., Rizvi Z.F., Zia M. Production of artemisinin and its derivatives in hairy roots of *Artemisia dubia* induced by *rolA* gene transformation // Pakistan J. Botan. 2016. V. 48 (2). P. 699–706.
- Aoki S., Syono K. Horizontal gene transfer and mutation of *Ngro1* genes in the genome of *Nicotiana glauca* // PNAS USA. 1999. V. 96 (23). P. 13229–13234.
- Baumann K., De Paolis A., Costantino P. et al. The DNA binding site of the Dof protein NtBBF1 is essential for tissue-specific and auxin-regulated expression of the *rolB* oncogene in plants // Plant Cell. 1999. V. 11 (3). P. 323–333.
- Bettini P., Michelotti S., Bindi D. et al. Pleiotropic effect of the insertion of the *Agrobacterium rhizogenes rolD* gene in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) // Teor. Appl. Genet. 2003. V. 107 (5). P. 831–836.
- Bettini P., Baraldi R., Rapparini F. et al. The insertion of the *Agrobacterium rhizogenes rolC* gene in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) affects plant architecture and endogenous auxin and abscisic acid levels // Sci. Hortic. 2010. V. 123 (3). P. 323–328.

- Boase M.R., Winefeld C.S., Lill T.A. et al. Transgenic regal pelargoniums that express the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* exhibit a dwarf floral and vegetative phenotype // *In Vitro Cell. Develop. Biol. Plant.* 2004. V. 40 (1). P. 46–50.
- Bonhomme V., Laurain-Mattar D., Fliniaux M.A. Effects of the *rolC* gene on hairy root: induction development and tropane alkaloid production by *Atropa belladonna* // *J. Nat. Prod.* 2000. V. 63. P. 1249–1252.
- Bulgakov V.P. Functions of *rol* genes in plant secondary metabolism // *Biotechnol. Adv.* 2008. V. 26. P. 318–324.
- Bulgakov V.P., Khodakovskaya M.V., Labetskaya N.V. et al. The impact of plant *rolC* oncogene on ginsenoside production by ginseng hairy root cultures // *Phytochemistry*. 1998. V. 49. P. 1929–1934.
- Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P. et al. Effect of salicylic acid, methyl jasmonate, ethephon and cantharidin on anthraquinone production by *Rubia cordifolia* callus cultures transformed with the *rolB* and *rolC* genes // *J. Biotechnol.* 2002. V. 97 (3). P. 213–221.
- Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P. et al. Effects of Ca^{2+} channel blockers and protein kinase/phosphatase inhibitors on growth and anthraquinone production in *Rubia cordifolia* callus cultures transformed by the *rolB* and *rolC* genes // *Planta*. 2003. V. 217 (3). P. 349–355.
- Bulgakov V.P., Veselova M.V., Tchernoded G.K. et al. Inhibitory effect of the *Agrobacterium rhizogenes rolC* gene on rhabdosin and rosmarinic acid production in *Eritrichium sabiceum* and *Lithospermum erythrorhizon* transformed cell cultures // *Planta*. 2005. V. 221 (4). P. 471–478.
- Bulgakov V.P., Shkryl Y.N., Veremeichik G.N. et al. Recent advances in the understanding of *Agrobacterium rhizogenes*-derived genes and their effects on stress resistance and plant metabolism // *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 2013. V. 134. P. 11–22.
- Bulgakov V.P., Veremeichik G.N., Grigorchuk V.P. The *rolB* gene activates secondary metabolism in *Arabidopsis calli* via selective activation of genes encoding MYB and bHLH transcription factors // *Plant Physiol. Biochem.* 2016. V. 102. P. 70–79.
- Capone I., Frugis G., Costantino P. et al. Expression in different populations of cells of the root meristem is controlled by different domains of the *rolB* promoter // *Plant Mol. Biol.* 1994. V. 25. P. 681–691.
- Casanova E., Valdés A.E., Zuker A. et al. *rolC*-transgenic carnation plants: adventitious organogenesis and levels of endogenous auxin and cytokinins // *Plant Sci.* 2004. V. 167 (3). P. 551–560.
- Casanova E., Trillas M.I., Moysset L. et al. Influence of *rol* genes in floriculture // *Biotechnol. Adv.* 2005. V. 23. P. 3–39.
- Chen K., Otten L. Natural *Agrobacterium* transformants, recent results and some theoretical considerations // *Front Plant Sci.* 2017. V. 8 (1600). P. 1–16.
- Choi P.S., Kim Y.D., Choi K.M. et al. Plant regeneration from hairy-root cultures transformed by infection with *Agrobacterium rhizogenes* in *Catharanthus roseus* // *Plant Cell Rep.* 2004. V. 22. P. 828–831.
- Christensen B., Sriskandarajah S., Jensen E.B. et al. Transformation with *rol* genes from *Agrobacterium rhizogenes* as a strategy to breed compact ornamental plants with improved postharvest quality // *Acta Horticulturae*. 2010. V. 855. P. 69–76.
- Daimon H., Mii M. Plant regeneration and tiophene production in hairy root cultures of *Rudbeckia hirta* L. used as an antagonist plant to nematodes // *Jpn. J. Crop. Sci.* 1995. V. 64. P. 650–655.
- Dehio C., Grossmann K., Schell J. et al. Phenotype and hormonal status of transgenic tobacco plants overexpressing the *rolA* gene of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA // *Plant Mol. Biol.* 1993. V. 23 (6). P. 1199–1210.
- Desmet S., Dhooghe E., De Keyser E. et al. Segregation of *rol* genes in two generations of *Sinningia speciosa* engineered through wild type *Rhizobium rhizogenes* // *Front. Plant Sci.* 2020. V. 11 (859). P. 1–18.
- Dilshad E., Cusido R.M., Estrada K.R. et al. Genetic transformation of *Artemisia carvifolia* Buch with *rol* genes enhances artemisinin accumulation // *PLoS One*. 2015a. V. 10 (10). P. e0140266.
- Dilshad E., Cusido R.M., Palazon J. et al. Enhanced artemisinin yield by expression of *rol* genes in *Artemisia annua* // *Malaria J.* 2015b. V. 14 (1). P. 424.
- Dilshad E., Zafar S., Ismail H. et al. Effect of *rol* genes on polyphenols biosynthesis in *Artemisia annua* and their effect on antioxidant and cytotoxic potential of the plant // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2016. V. 179. P. 1456–1468.
- Dilshad E., Noor H., Nosheen N. et al. Influence of *rol* genes for enhanced biosynthesis of potent natural products // *Chemistry of biologically potent natural products and synthetic compounds*. USA: John Wiley & Sons, Ltd, 2021. P. 379–404.
- Esam A.H. *In vitro* versus *in vivo*: a comparative study of *Solanum villosum* (Mill.) plant leaves // *Int. J. Integrat. Biol.* 2011. V. 11 (3). P. 140–144.
- Faiss M., Strnad M., Redig P. et al. Chemically induced expression of the *rolC*-encoded β -glucosidase in transgenic tobacco plants and analysis of cytokinin metabolism: *rolC* does not hydrolyze endogenous cytokinin glucosides in planta // *Plant J.* 1996. V. 10 (1). P. 33–46.
- Falasca G., Altamura M.M., D'Angeli S. et al. The *rolD* oncogene promotes axillary bud and adventitious root meristems in *Arabidopsis* // *Plant Physiol. Biochem.* 2010. V. 48 (9). P. 797–804.
- Favero B.T., Tan Y., Lin Y. et al. Transgenic *Kalanchoë blossfeldiana*, containing individual *rol* genes and open reading frames under 35S promoter, exhibit compact habit, reduced plant growth, and altered ethylene tolerance in flowers // *Front Plant Sci.* 2021. V. 12 (672023). P. 1–20.
- Favero B.T., Tan Y., Chen X. et al. *Kalanchoë blossfeldiana* naturally transformed with *Rhizobium rhizogenes* exhibits superior root phenotype // *Plant Sci.* 2022. V. 321 (111323). P. 1–10.
- Filetici P., Moretti F., Camilloni G. et al. Specific interaction between a *Nicotiana tabacum* nuclear protein and the *Agrobacterium rhizogenes rolB* promoter // *J. Plant Physiol.* 1997. V. 151. P. 159–165.
- Filippini F., Rossi V., Marin O. et al. A plant oncogene as a phosphatase // *Nature*. 1996. V. 379 (6565). P. 499–500.
- Fladung M., Ballvora A. Further characterization of *rolC* transgenic tetraploid potato clones, and influence of daylength and level of *rolC* expression on yield parameters // *Plant Breed.* 1992. V. 109 (1). P. 18–27.
- Fladung M., Grossmann K., Ahuja M.R. Alterations in hormonal and developmental characteristics in transgenic *Populus* conditioned by the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* // *J. Plant Physiol.* 1997. V. 150. P. 420–427.
- Furner I.J., Huffman G.A., Amasino R.M. et al. An *Agrobacterium* transformation in the evolution of the genus *Nicotiana* // *Nature*. 1986. V. 319. P. 422–427.
- Ganesan G., Sankararamasubramanian H.M., Harikrishnan M. et al. A MYB transcription factor from the grey mangrove is induced by stress and confers NaCl tolerance in tobacco // *J. Experim. Bot.* 2012. V. 63 (12). P. 4549–4561.

- Giovannini A., Pecchioni N., Allavena A. Genetic transformation of lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Griseb) by *Agrobacterium rhizogenes* // J. Genet. Breed. 1996. V. 50. P. 33–40.
- Giovannini A., Pecchioni N., Rabaglio M. et al. Characterization of ornamental *Datura* plants transformed by *Agrobacterium rhizogenes* // *In Vitro Cell Dev. Biol.* 1997. V. 33. P. 101–106.
- Giovannini A., Zottini M., Morreale G. et al. Ornamental traits modification by *rol* genes in *Osteospermum ecklonis* transformed with *Agrobacterium tumefaciens* // *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 1999. V. 35. P. 70–75.
- Godot T., Tsujii O., Ishikawa K. et al. Fertile transgenic plants of *Nierembergia scoparia* Sendtner obtained by a mikiopine type strain of *Agrobacterium rhizogenes* // *Sci. Hortic.* 1997. V. 68. P. 101–111.
- Grishchenko O.V., Kiselev K.V., Tchernoded G.K. et al. The influence of the *rolC* gene on isoflavonoid production in callus cultures of *Maackia amurensis* // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2013. V. 113 (3). P. 429–435.
- Grishchenko O.V., Kiselev K.V., Tchernoded G.K. et al. *rolB* gene-induced production of isoflavonoids in transformed *Maackia amurensis* cells // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016. V. 100 (17). P. 7479–7489.
- Guivarch A., Spena A., Noin M. et al. The pleiotropic effects induced by the *rolC* gene in transgenic plants are caused by expression restricted to protophloem and companion cells // *Transgen. Res.* 1996. V. 5. P. 3–11.
- Handa T. Genetic transformation of *Antirrhinum majus* L. and inheritance altered phenotype induced by Ri TDNA // *Plant Sci.* 1992. V. 81. P. 199–206.
- Hoshino Y., Mii M. Bialaphos stimulates shoot regeneration from hairy roots of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) transformed by *Agrobacterium rhizogenes* // *Plant Cell Rep.* 1998. V. 17. P. 256–261.
- Ichikawa T., Syono K. Tobacco genetic tumors // *Plant Cell Physiol.* 1991. V. 32 (8). P. 1123–1128.
- Intrieri M.C., Buiatti M. The horizontal transfer of *Agrobacterium rhizogenes* genes and the evolution of the genus *Nicotiana* // *Mol. Phylogen. Evol.* 2001. V. 20 (1). P. 100–110.
- Ismail H., Dilshad E., Waheed M. T. et al. Transformation of *Lactuca sativa* L. with *rolC* gene results in increased antioxidant potential and enhanced analgesic, anti-inflammatory and antidepressant activities *in vivo* // *3 Biotech.* 2016. V. 6 (2). P. 215.
- Jeeshna M.V., Paulsamy S. Evaluation of certain flavonoids of medicinal importance in the wild and micropropagated plants of the endangered medicinal species, *Exacum bicolor* Roxb. // *J. Appl. Pharm. Sci.* 2011. V. 1 (5). P. 99–102.
- Kaneyoshi J., Kobayashi S. Characteristics of transgenic trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* Raf.) possessing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid // *J. Japan. Soc. Hortic. Sci.* 1999. V. 68. P. 734–738.
- Kayani W.K., Palazô J., Cusidô R.M. et al. The effect of *rol* genes on phytoecdysteroid biosynthesis in *Ajuga bracteosa* differs between transgenic plants and hairy roots // *RSC Adv.* 2016. V. 6 (27). P. 22700–22708.
- Kiselev K., Dubrovina A., Veselova M. et al. The *rolB* gene-induced overproduction of resveratrol in *Vitis amurensis* transformed cells // *J. Biotechnol.* 2007. V. 128 (3). P. 681–692.
- Kiyokawa S., Kikuchi Y., Kamada H. et al. Genetic transformation of *Begonia tuberhybrida* by Ri *rol* genes // *Plant. Cell. Rep.* 1996. V. 15. P. 606–609.
- Koike Y., Hoshino Y., Mii M. et al. Horticultural characterization of *Angelonia salicariifolia* plants transformed with wild-type strains of *Agrobacterium rhizogenes* // *Plant Cell. Rep.* 2003. V. 21. P. 981–987.
- Komarovska H., Kosuth J., Giovannini A. et al. Effect of the number of *rol* genes integrations on phenotypic variation in hairy root-derived *Hypericum perforatum* L. plants // *Z. Naturforsch.* 2010. V. 65 (11–12). P. 701–712.
- Koshita Y., Nakamura Y., Kobayashi S. et al. Introduction of the *rolC* gene into the genome of the Japanese persimmon causes dwarfism // *J. Japan. Soc. Hortic. Sci.* 2002. V. 71. P. 529–531.
- Kurioka Y., Suzuki Y., Kamada H. et al. Promotion of flowering and morphological alterations in *Atropa belladonna* transformed with a CaMV 35S-*rolC* chimeric gene of the Ri plasmid // *Plant Cell Rep.* 1992. V. 12 (1). P. 1–6.
- Kyndt T., Quispe D., Zhai H. et al. The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: an example of a naturally transgenic food crop // *PNAS USA.* 2015. V. 112 (18). P. 5844–5849.
- Lee C., Wang L., Ke S., Qin M. et al. Expression of the *rolC* gene in transgenic plants of *Salpiglossis sinuata* L. // *Hortic. Sci.* 1996. V. 31 (4). P. 571.
- Lemcke K., Schmulling T. A putative *rolB* gene homologue of *Agrobacterium rhizogenes* TR-DNA has different morphogenetic activity in tobacco than *rolB* // *Plant. Mol. Biol.* 1998. V. 16 (5). P. 803–808.
- Makowski W., Krolicka A., Nowicka A. et al. Transformed tissue of *Dionaea muscipula* J. Ellis as a source of biologically active phenolic compounds with bactericidal properties // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2021a. V. 105. P. 1215–1226.
- Makowski W., Królicka A., Tokarz B. et al. Response of physiological parameters in *Dionaea muscipula* J. Ellis teratomas transformed with *rolB* oncogene // *BMC Plant Biol.* 2021b. V. 21 (564). P. 1–13.
- Martin-Tanguy J., Corbineau F., Burtin D. et al. Genetic transformation with a derivative of *rolC* from *Agrobacterium rhizogenes* and treatment with α -aminoisobutyric acid produce similar phenotypes and reduce ethylene production and the accumulation of water-insoluble polyamine-hydroxycinnamic acid conjugates in tobacco flowers // *Plant Sci.* 1993. V. 93 (1–2). P. 63–76.
- Matveeva T.V. *Agrobacterium*-mediated transformation in the evolution of plants // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2018. V. 418. P. 421–441.
- Matveeva T.V. New naturally transgenic plants: 2020 update // *Biol. Comm.* 2021. V. 66 (1). P. 36–46.
- Matveeva T.V., Lutova L.A. Horizontal gene transfer from *Agrobacterium* to plants // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 5. P. 326.
- Matveeva T.V., Otten L. Widespread occurrence of natural genetic transformation of plants by *Agrobacterium* // *Plant Mol. Biol.* 2019. V. 101 (4–5). P. 415–437.
- Matveeva T., Sokornova S. *Agrobacterium rhizogenes* mediated transformation of plants for improvement of yields of secondary metabolites // Reference series in phytochemistry. Bioprocessing of plant *in vitro* systems / Eds A. Pavlov, T. Bley. Cham: Springer, 2016. P. 1–42.
- Matveeva T.V., Bogomaz D.I., Pavlova O.A. et al. Horizontal gene transfer from genus *Agrobacterium* to the plant *Linnaria* in nature // *Mol. Plant Microb. Int.* 2012. V. 25 (12). P. 1542–1551.
- Matveeva T.V., Sokornova S.V., Lutova L.A. Influence of *Agrobacterium* oncogenes on secondary metabolism of plants // *Phytochem. Rev.* 2015. V. 14. P. 541–554.
- Matveeva T., Berezina E., Isaeva I. et al. Influence of some *rol* genes on sugar content in *Nicotiana* and *Vaccinium* // *BIO Web of Conferences.* 2020. V. 18 (00020). P. 1–4.
- Matvieieva N.A., Morgun B.V., Lakhneko O.R. et al. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation enhances the antioxidant potential of *Artemisia tilesii* Ledeb // *Plant Physiol. Biochem.* 2020. V. 152. P. 177–183.

- Maurel C., Barbier-Brygoo H., Spena A. et al. Single *rol* genes from the *Agrobacterium rhizogenes* TL-DNA alter some of the cellular responses to auxin in *Nicotiana tabacum* // Plant Physiol. 1991. V. 97 (1). P. 212–216.
- Mauro M.L., Trovato M., Paolis A.D. et al. The plant oncogene *rolD* stimulates flowering in transgenic tobacco plants // Dev. Biol. 1996. V. 180. P. 693–700.
- Meira M., da Silva E.P., David J.M. et al. Review of the genus *Ipomoea*: traditional uses, chemistry and biological activities // Rev. Bras. Farmacogn. 2012. V. 22 (3). P. 682–713.
- Mercuri A., Bruna S., De Benedetti L. et al. Modification of plant architecture in *Limonium* spp. induced by *rol* genes // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 2001. V. 65. P. 247–253.
- Mercuri A., De Benedetti L., Bruna S. et al. *Agrobacterium*-mediated transformation with *rol* genes of *Lilium longiflorum* Thunb. / The 21th international symposium on classical versus molecular breeding of ornamentals // Acta Hort. 2003. V. 612. P. 129–136.
- Meyer A.D., Ichikawa T., Meins F. Horizontal gene transfer: regulated expression of a tobacco homologue of the *Agrobacterium rhizogenes* *rolC* gene // Mol. Gen. Genet. 1995. V. 249. P. 265–273.
- Mitiouchkina T.Y., Dolgov S.V. Modification of chrysanthemum plant and flower architecture by *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* introduction // Acta Horticulturae. 2000. V. 508. P. 163–172.
- Mohajjel-Shoja H., Clément B., Perot J. et al. Biological activity of the *Agrobacterium rhizogenes*-derived *trnC* gene of *Nicotiana tabacum* and its functional relation to other plast genes // Mol. Plant Microb. Int. 2011. V. 24 (1). P. 44–53.
- Momcilovic I., Grubisic D., Kojic M. et al. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation and plant regeneration of four *Gentiana* species // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 1997. V. 50. P. 1–6.
- Moriuchi H., Okamoto C., Nishihama R. et al. Nuclear localization and interaction of *rolB* with plant 14-3-3 proteins correlates with induction of adventitious roots by the oncogene *rolB* // Plant J. 2004. V. 38 (2). P. 260–275.
- Murthy H.N., Dijkstra C., Anthony P. et al. Establishment of *Withania somnifera* hairy root cultures for the production of withanolide A // J. Integr. Plant Biol. 2008. V. 50 (8). P. 975–981.
- Nagata N., Kosono S., Seldne M. et al. The regulatory functions of the *rolB* and *rolC* genes of *Agrobacterium rhizogenes* are conserved in the homologous genes (*Ngrol*) of *Nicotiana glauca* in tobacco genetic tumors // Plant Cell Physiol. 1995. V. 36 (6). P. 1003–1012.
- Nemoto K., Hara M., Goto S. et al. The *aux1* gene of the Ri plasmid is sufficient to confer auxin autotrophy in tobacco BY-2 cells // J. Plant. Physiol. 2009. V. 166. P. 729–738.
- Nilsson O., Moritz T., Imbault N. et al. Hormonal characterization of transgenic tobacco plants expressing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* TL-DNA // Plant Physiol. 1993. V. 102 (2). P. 363–371.
- Okamoto S., Ueki Y. Altered carbon status in *Glycine max* hairy roots induced by *Agrobacterium rhizogenes* // Plant Signal. Behav. 2022. V. 17 (1). P. 2097469.
- Otani M., Shimada T., Kamada H. et al. Fertile transgenic plants of *Ipomoea trichocarpa* Ell induced by different strains of *Agrobacterium rhizogenes* // Plant Sci. 1996. V. 116. P. 169–175.
- Otten L. The *Agrobacterium* phenotypic plasticity (*plast*) genes // Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2018. V. 418. P. 375–419.
- Otten L. Natural *Agrobacterium*-mediated transformation in the genus *Nicotiana* // The tobacco plant genome / Eds N. Ivanov, N. Sierro, M.C. Peitsch. Cham, Switzerland: Springer, 2020. P. 195–209.
- Otten L. T-DNA regions from 350 *Agrobacterium* genomes: maps and phylogeny // Plant Mol. Biol. 2021. V. 106 (3). P. 239–258.
- Ozyigit I.I., Dogan I., Tarhan E.A. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation and its biotechnological applications in crops // Crop Improvement / Eds. K.R. Hakeem, P. Ahmad, M. Öztürk. N.Y.: Springer, 2013. P. 1–48.
- Palazon J., Cusido R.M., Roig C. et al. Effect of *rol* genes from *Agrobacterium rhizogenes* TL-DNA on nicotine production in tobacco root cultures // Plant Physiol. Biochem. 1997. V. 35. P. 155–162.
- Palazon J., Cusido R.M., Roig C. et al. Expression of the *rolC* gene and nicotine production in transgenic roots and their regenerated plants // Plant Cell Rep. 1998. V. 15 (5). P. 384–390.
- Pandolfini T., Storlazzi A., Calabria E. et al. The spliceosomal intron of the *rolA* gene of *Agrobacterium rhizogenes* is a prokaryotic promoter // Mol. Microbiol. 2000. V. 35. P. 1326–1334.
- Pellegrineschi A., Davolio-Mariani O. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation of scented geranium // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 1996. V. 47. P. 79–86.
- Rigden D.J., Carneiro M. A structural model for the *rolA* protein and its interaction with DNA // Proteins: structure, function, and bioinformatics. 1999. V. 37 (4). P. 697–708.
- Rugini E., Pellegrineschi A., Mencuccini M. et al. Increase of rooting ability in the woody species kiwi (*Actinidia deliciosa* A. Chev.) by transformation with *Agrobacterium rhizogenes* *rol* genes // Plant Cell Rep. 1991. V. 10 (6–7). P. 291–295.
- Sarkar S., Ghosh I., Roychowdhury D., Jha S. The effects of *rol* genes of *Agrobacterium rhizogenes* on morphogenesis and secondary metabolite accumulation in medicinal plants // Biotechnological approaches for medicinal and aromatic plants. Chapter 2 / Ed. N. Kumar. 2018. P. 27–51.
- Sathasivam R., Choi M., Radhakrishnan R. et al. Effects of various *Agrobacterium rhizogenes* strains on hairy root induction and analyses of primary and secondary metabolites in *Ocimum basilicum* // Front. Plant Sci. 2022. V. 13 (983776). P. 1–14.
- Schmulling T., Schell J., Spena A. Single genes from *Agrobacterium rhizogenes* influence plant development // EMBO J. 1988. V. 7 (9). P. 2621–2629.
- Schmulling T., Fladung M., Grossmann K., Schell J. Hormonal content and sensitivity of transgenic tobacco and potato plants expressing single *rol* genes of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA // Plant J. 1993. V. 3. P. 371–382.
- Scorza R., Zimmerman T.W., Cordts J.M. et al. Horticultural characteristics of transgenic tobacco expressing the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* // J. Am. Soc. Horticult. Sci. 1994. V. 119 (5). P. 1091–1098.
- Senior I., Holford P., Cooley R.N. et al. Transformation of *Antirrhinum majus* using *Agrobacterium rhizogenes* // J. Exp. Bot. 1995. V. 46. P. 1233–1239.
- Shkryl Y.N., Veremeichik G.N., Bulgakov V.P. et al. Individual and combined effects of the *rolA*, *B*, and *C* genes on anthraquinone production in *Rubia cordifolia* transformed calli // Biotechnol. Bioeng. 2007. V. 100 (1). P. 118–125.
- Shkryl Y., Yugay Y., Vasyutkina E. et al. The *RoLB/RoLC* homolog from sweet potato promotes early flowering and triggers premature leaf senescence in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants // Plant Physiol. Biochem. 2022. V. 193. P. 50–60.
- Sinkar V.P., Pythoud F., White F.F. et al. *rolA* locus of the Ri plasmid directs developmental abnormalities in trans-

- genic tobacco plants // *Gen. Dev.* 1988. V. 2 (6). P. 688–697.
- Souq F., Coutos-Thevenot P., Yean H. et al. Genetic transformation of roses, 2 examples: one on morphogenesis, the other on anthocyanin biosynthetic pathway / Second International Symposium on Roses // *Acta Hort.* 1996. V. 424. P. 381–388.
- Spena A., Schmülling T., Koncz C. et al. Independent and synergistic activity of *rolA*, *B* and *C* loci in stimulating abnormal growth in plants // *EMBO J.* 1987. V. 6 (13). P. 3891–3899.
- Trovato M., Maras B., Linhares F., Costantino P. The plant oncogene *rolD* encodes a functional ornithine cyclodeaminase // *PNAS USA*. 2001. V. 98 (23). P. 13449–13453.
- Tzfira T., Vainstein A., Altman A. *rol*-gene expression in transgenic aspen (*Populus tremula*) plants results in accelerated growth and improved stem production index // *Trees*. 1999. V. 14. P. 49–54.
- van der Salm T.P.M., van der Toorn C.J.G., Bouwer R. et al. Production of *ROL* gene transformed plants of *Rosa hybrida* L. and characterization of their rooting ability // *Mol. Breed.* 1997. V. 3. P. 39–47.
- Veremeichik G.N., Bulgakov V.P., Shkryl Y.N. et al. Activation of anthraquinone biosynthesis in long-cultured callus culture of *Rubia cordifolia* transformed with the *rolA* plant oncogene // *J. Biotechnol.* 2019. V. 306. P. 38–46.
- Vereshchagina Y.V., Bulgakov V.P., Grigorchuk V.P. et al. The *rolC* gene increases caffeoylquinic acid production in transformed artichoke cells // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2014. V. 98 (18). P. 7773–7780.
- Verma P., Mathur A.K., Shanker K. Growth, alkaloid production, *rol* genes integration, bioreactor up-scaling and plant regeneration studies in hairy root lines of *Catharanthus roseus* // *Plant Biosyst.* 2012. V. 146. P. 27–40.
- Vilaine F., Rembur J., Chriqui D. et al. Modified development in transgenic tobacco plants expressing a *rolA::GUS* translational fusion and subcellular localization of the fusion protein // *Mol. Plant Microb. Int.* 1998. V. 11 (9). P. 855–859.
- Welander M., Pawlicki N., Holefors A. et al. Genetic transformation of the apple rootstock M26 with the *rolB* gene and its influence on rooting // *J. Plant Physiol.* 1998. V. 153 (3–4). P. 371–380.
- White F.F., Nester E.W. Relationship of plasmids responsible for hairy root and crown gall tumorigenicity // *J. Bacteriol.* 1980. V. 144 (2). P. 710–720.
- White F.F., Garfinkel D.J., Huffman G.A. et al. Sequences homologous to *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA in the genomes of uninfected plants // *Nature*. 1983. V. 301 (5898). P. 348–350.
- White F.F., Taylor B.H., Huffman G.A. et al. Molecular and genetic analysis of the transferred DNA regions of the root-inducing plasmid of *Agrobacterium rhizogenes* // *J. Bacteriol.* 1985. V. 164. P. 33–44.
- Winefeld C., Lewis D., Arathoon S. et al. Alteration of petunia plant form through the introduction of the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* // *Mol. Breed.* 1999. V. 5. P. 543–551.
- Yanagisawa S. Dof domain proteins: plant-specific transcription factors associated with diverse phenomena unique to plants // *Plant Cell Physiol.* 2004. V. 45. P. 386–391.
- Yokoyama R., Hirose T., Fujii N. et al. The *rolC* promoter of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid is activated by sucrose in transgenic tobacco plants // *Mol. Gen. Genet.* 1994. V. 244. P. 15–22.
- Zia M., Mirza B., Malik S.A. et al. Expression of *rol* genes in transgenic soybean (*Glycine max* L.) leads to changes in plant phenotype, leaf morphology, and flowering time // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2010. V. 103 (2). P. 227–236.

rol-Genes of Agrobacteria: Possible Biological Functions

D. Yu. Shvets^{a, b,*}, Z. A. Berezheva^a, Kh. G. Musin^a, E. A. Baimukhametova^a, and B. R. Kuluev^a

^a*Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*

^b*Bashkir State Medical University, Ufa, Russia*

*e-mail: shvetsdasha99@yandex.ru

As a result of agrobacterium-mediated transformation the *rolA*, *rolB*, *rolC*, and *rolD* genes of *Agrobacterium rhizogenes* are integrated into plant genomes as part of T-DNA. These genes cause abundant growth of hairy roots, and the regeneration of shoots from them causes short stature, shortening of internodes and wrinkled leaves. A sufficient number of representatives of the genera *Nicotiana*, *Linaria*, *Ipomoea* and others in their genome contain some *rol* genes that got into them during horizontal gene transfer and thus evolutionarily fixed. The conservatism of the *rol* genes of *A. rhizogenes* in naturally transgenic plants can probably be associated with the performance of important biological functions by them. The purpose of this review article is to review the currently available data on the biological role of *rol* genes in hairy roots, transformed plants, and naturally transgenic plants. The results of scientific studies published to date describe the expression of *rol* genes both together and separately. It should be noted that expression has a different effect on the morphology of both plants transformed by agrobacteria and naturally transgenic species. The review presents the results of studies that have shown a positive effect of *rol* genes on secondary metabolism, the antioxidant system and plant stress resistance. The question of the possible effect of protein products of *rol* genes through the influence on the content of phytohormones or sensitivity to them is also discussed. Experimental evidence of subcellular localization of Rol proteins and enzymatic activity of Rol proteins with respect to phytohormone glucosides are described. However, these experiments did not give exhaustive answers, and therefore studies of the biological functions of the *rol* genes should be continued. This knowledge can be used to create transgenic and genome-edited plants that have economically valuable traits.

Keywords: hairy roots, *rol* genes, *Agrobacterium rhizogenes*, *plast*-genes, stress tolerance