

ГЕН *rolC* АГРОБАКТЕРИЙ: НА ПУТИ К ПОНИМАНИЮ ФУНКЦИИ

Хафизова Г.В.*, Матвеева Т.В.

Санкт-Петербургский государственный университет,
190000 Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7–9;

* ✉ galina.khafizova@gmail.com

В процессе агротрансформации в растение попадает фрагмент плазмиды почвенной бактерии *Agrobacterium rhizogenes* Conn в результате чего под действием генов, входящих в состав данного фрагмента, у растения разрастается корневая система. Основные гены, контролирующие разрастание корней, объединяют в «корневой локус». Самым хорошо изученным геном «корневого локуса» является ген *rolC*. За более чем 30-летнюю историю исследований, посвященных гену *rolC*, были получены данные по его экспрессии, локализации и предполагаемых функциях белка, а также о его влиянии на морфологические и биохимические особенности растений. Так известно, что трансформация геном *rolC* приводит к множественным морфологическим эффектам, среди которых чаще всего встречаются карликовость, кустистость и изменение формы листовой пластинки. Подобные реакции растений связывают с изменением баланса гормонов, происходящим под влиянием *rolC*. Показано, что у трансформированных растений действительно изменяется количество ауксинов, цитокининов, а также абсцизовой кислоты, однако эти данные не складываются в единую картину. Также не установлены сигнальные пути, по которым *rolC* может воздействовать на гормональную систему растений. Морфогенетические эффекты могут проявляться в различной степени в зависимости от того, под контролем какого промотора работает *rolC*. Использование конститутивного промотора обычно приводит к более выраженному проявлению признаков, чем при работе гена под нативным промотором. Также показано влияние *rolC* на вторичный метаболизм растений. У трансформантов происходит активация синтеза различных метаболитов и, в отличие от морфогенетических эффектов, данный биохимический эффект не зависит от промотора, под которым экспрессируется ген. Некоторые вторичные метаболиты связаны с защитной системой растений. Таким образом, *rolC* способен опосредованно влиять и на этот аспект физиологии растений. В данном обзоре собраны результаты исследований, посвященных гену *rolC* в растениях, авторы попытались сформулировать основные гипотезы, связанные с механизмами работы гена, с целью приблизить читателей к пониманию его функции в растениях.

Ключевые слова: *Agrobacterium rhizogenes*, *rolC*, Т-ДНК, вторичный метаболизм.

Для цитирования:

Хафизова Г.В., Матвеева Т.В. Ген *rolC* агробактерий: на пути к пониманию функции. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(1):36-46. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-1-04

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.** **Дополнительная информация.** Полные данные этой статьи доступны <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-1-04> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Данная работа поддержана грантом РНФ 21-14-00050 «Агробактериальная трансформация в эволюции растений».

THE *rolC* GENE OF AGROBACTERIA: TOWARDS THE UNDERSTANDING OF ITS FUNCTIONS

Khafizova G.V.*, Matveeva T.V.

Saint Petersburg State University,
7/9 Universitetskaya Emb., St. Petersburg 199034, Russia;
* ✉ galina.khafizova@gmail.com

Agrobacterium rhizogenes Conn is a soil bacterium, which can transform plants by inserting a plasmid fragment into the plant genome. This fragment contains a “root locus”: four genes that cause root overgrowth of the transformed plant, the so-called “hairy root syndrome”. The most studied gene of the root locus is *rolC*. For more than 30 years of research on this gene, data have been obtained on its expression, protein localization and putative functions of the protein as well as on its effect on plant morphology and biochemistry. The *rolC* transformation leads to multiple morphological effects, most common among which are dwarfism, bushiness, and a change in the shape of the leaf blade. Such specific plant reactions are associated with changes in hormone balance under the influence of *rolC*. The levels of auxins, cytokinins, and abscisic acid do change in transformed plants, but no regularities have been revealed. Also, the signaling pathways of *rolC* affecting the hormonal system of plants are not established. Morphogenetic effects can occur in varying degrees depending on the promoter under which the *rolC* works. A constitutive promoter usually leads to a more pronounced effect when compared to a gene that operates under a native promoter. Secondary plant metabolism is also affected by *rolC*. The synthesis of various metabolites is amplified in transformants, and, in contrast to morphological effects, this biochemical effect does not depend on the promoter. Some secondary metabolites are associated with the plant defense system; thus, *rolC* is able to indirectly influence this aspect of plant physiology. This review summarizes the results of the *rolC* gene studies in plants. The authors formulate the main hypotheses regarding the mechanisms of the gene in order to promote our understanding of its function in plants.

Key words: *Agrobacterium rhizogenes*, *rolC*, T-DNA, secondary metabolism.

For citation:

Khafizova G.V., Matveeva T.V. The *rolC* gene of agrobacteria: towards the understanding of its functions. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(1):36-46. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-1-04

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. Additional information.

Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-1-04> **The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. All authors approved the manuscript. No conflict of interest.**

ORCID ID:

Khafizova G.V. <https://orcid.org/0000-0002-4427-5116>

Matveeva T.V. <https://orcid.org/0000-0001-8569-6665>

УДК 575.8

Поступила в редакцию: 18.02.2021

Принята к публикации: 22.03.2021

Acknowledgments: The work was supported by the RSF, grant 21-14-00050 “Agrobacterial transformation in plant evolution”.

Введение

Почвенные бактерии *Agrobacterium rhizogenes*¹ Conn. (Sawada et al., 1993) способны поражать растения, встраивая в растительный геном фрагмент своей плазмиды (Т-ДНК), вызывая тем самым образование “бородатого корня” (Riker et al., 1930; Sawada et al., 1993; Young et al., 2001). Разрастание корневой массы происходит под воздействием генов, входящих в состав Т-ДНК. Ключевыми участниками процесса формирования корней у трансформированных растений являются гены *rolA*, *rolB*, *rolC* и *rolD*, формирующие «корневой локус» (англ. «root locus», отсюда и название генов – *rol*) (White et al., 1983; Cardarelli et al., 1987; Spena et al., 1987). Ген *rolC* является наиболее изученным из всех генов локуса, накоплены данные по его экспрессии в различных тканях и органах растения, локализации белка и предполагаемых функциях, влиянии на морфологические и биохимические особенности растений, однако эти данные не складываются в единую картину. Морфогенетические эффекты у трансформированных растений могут проявляться по-разному, в зависимости от того, какое растение было трансформировано геном *rolC*. Так, у растений культурного табака, несущих конструкцию 35S CaMV-*rolC* (для экспрессии гена *rolC* использован промотор вируса мозаики цветной капусты 35S CaMV), развиваются светло-зеленые ланцетовидные листья и мелкие цветки (Schmülling et al., 1988; 1993), в то время как у картофеля, трансформированного 35S CaMV-*rolC*, размер цветков и форма листовой пластинки не меняется, но при этом уменьшается размер листьев (Fladung, 1990). Морфогенетические реакции также различаются в зависимости от того, под контролем какого промотора работает ген. Листовые экспланты *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H.Perrier (Schmülling et al., 1988) и культурного табака *Nicotiana tabacum* L. (Spena et al., 1987), трансформированные конструкцией 35S-*rolC*, образуют корни, тогда как активность *rolC* под влиянием собственного промотора в этих же растениях не приводит к подобному эффекту. В отличие от 35S CaMV, нативный промотор гена *rolC* тканеспецифичен (Matsuki et al., 1989; Sugaya et al., 1989; Nagata et al., 1995; Graham et al., 1997; Hu et al., 2003), и его активность меняется с возрастом растения (Guivarch et al., 1996), чем можно объяснить различия в эффектах гена. Помимо связи *rolC* с морфогенетическими процессами показано его влияние на вторичный метаболизм растений, при этом пути передачи сигнала не установлены и не зафиксирован “эффект промотора”. В трансформированных растениях и в культурах растительных клеток *rolC* как под нативным, так и под конститутивным промотором, способен стимулировать выработку различных алкалоидов (Bonhomme et al., 2000; Palazón et al., 1998a;b), гинсенозидов (Bulgakov et al.,

1998) и антрахинонов (Bulgakov et al., 2002; 2003; Shkryl et al., 2008). Внимания также заслуживает участие *rolC* в метаболизме сахаров: так, например, известно, что *rolC* активируется сахарозой (Nilsson, Olsson, 1997), а трансформанты, несущие *rolC*, способны накапливать крахмал (Mohajjel-Shoja et al., 2011). Механизмы данных процессов не установлены, но активно изучаются.

Помимо растений-трансформантов, полученных в лабораториях, существуют природно-трансгенные растения, которые содержат *rol*-подобные гены, гомологичные агробактериальным *rol*-генам. Полученные некогда от агробактерий в результате горизонтального переноса генов, они закрепились в растительных геномах и передаются при размножении следующим поколениям (White et al., 1983; Matveeva et al., 2012; Kyndt et al., 2015; Matveeva, Otten, 2019). По результатам сравнительного анализа таких последовательностей у природно-трансгенных видов рода *Nicotiana* самым консервативным геном является *rolC* (Intrieri, Buiatti, 2001), который часто сохраняется в геноме растения практически в неизмененном виде (Matveeva et al., 2012; Pavlova et al., 2013; Chen et al., 2014). Значение активного *rolC* для природно-трансгенных растений также еще предстоит выяснить, в настоящее время предполагают его участие в процессах регенерации, в повышении адаптационных возможностей растения, а также его устойчивости к фитопатогенам (Chen, Otten, 2017).

Несмотря на то, что эффекты *rol*-генов активно изучают уже более тридцати лет, на сегодняшний день еще не сложилось четкого понимания функций гена *rolC* и механизмов его действия. В данном обзоре мы попытались охватить и структурировать накопленные данные о различных аспектах, касающихся *rolC* у растений. Анализ подобного рода данных будет полезен для планирования и проведения дальнейших исследований в этой области.

Таким образом, у трансгенных растений, содержащих *rolC*, описаны изменения фенотипа на биохимическом и морфологическом уровне. Некоторые из них проявляются независимо от использованного промотора, от которого может зависеть лишь степень проявления признака. В других случаях тип промотора влияет на проявление признака, которое можно описать в терминах «присутствие / отсутствие».

В данном обзоре мы разделяем эффекты *rolC* на две группы: независимые от промоторной последовательности и зависимые от промотора.

Эффекты, независимые от промоторной последовательности

К эффектам *rolC*, независимым от промотора, можно отнести изменения во вторичном метаболизме растений,

¹ От Редактора: в тексте сохранен Авторский вариант синонимичного названия бактерии *Rhizobium rhizogenes* (Young et al., 2001) *Agrobacterium rhizogenes* / Editor's note: The author's version of the synonymous name of *Rhizobium rhizogenes* (Young et al., 2001), *Agrobacterium rhizogenes*, was retained in the text.

такие как повышение синтеза ряда метаболитов, а также усиление защитных свойств растений за счет снижения количества активных форм кислорода. Среди многочисленных морфогенетических эффектов *rolC* можно также выделить те, что проявляются вне зависимости от промотора, под которым экспрессируется ген *rolC*.

Влияние *rolC* на вторичный метаболизм показано для различных видов растений, однако молекулярные механизмы еще не описаны. Палазоном и коллегами была предложена гипотеза о непосредственном влиянии *rolC* на синтез вторичных метаболитов путем усиления биосинтетической активности растения, а также гипотеза об опосредованном воздействии на биосинтез алкалоидов путем стимуляции роста растения (Palazón et al., 1997; 1998a). Для трансформантов *Nicotiana tabacum*, несущих гены *rolC*, *rolB* и *rolA* под собственными промоторами, а также для растений *N. tabacum* с конструкцией 35S CaMV-*rolC*, была отмечена положительная корреляция экспрессии *rolC* с уровнем биосинтеза никотина и показателем биомассы корней. При этом в корнях, трансформированных *rolABC*, уровень биосинтеза был выше, чем в корнях, несущих 35S CaMV-*rolC* (Palazón et al., 1998a). Обратная картина показана для *Catharanthus roseus* (L.) G.Don, где показатель биомассы корней отрицательно коррелирует с уровнем экспрессии *rolC* и с количеством синтезируемых индольных алкалоидов (Palazón et al., 1998b). Таким образом, одни данные подтверждают, а другие опровергают гипотезу об опосредованном воздействии *rolC* на биосинтез вторичных метаболитов. Ген *rolC* также способен стимулировать выработку тропановых алкалоидов (Bonhomme et al., 2000), гинсенозидов (Bulgakov et al., 1998), антрахинонов (Bulgakov et al., 2002; 2003; 2008; Shkryl et al., 2008), полифенолов (Dubrovina et al., 2010; Ismail et al., 2016) и лактонов (Dilshad et al., 2015). В исследовании о влиянии *rolC* на тропановые алкалоиды показано, что в корнях *Atropa belladonna* L., трансформированных *rolC*, содержание гиосциамина и скополамина в 12 раз превосходит норму по сравнению с нетрансформированными корнями, однако морфологические параметры корней в данной работе не определяли (Bonhomme et al., 2000). Доводом в пользу гипотезы о непосредственном влиянии *rolC* на синтез вторичных метаболитов является повышение экспрессии гена изохоризматсинтазы в ответ на повышение уровня экспрессии *rolC*. Изохоризматсинтаза является ключевым ферментом биосинтеза антрахинонов (Shkryl et al., 2008). То же наблюдается в трансформированных растениях *Eritrichium sericeum* (Lehm.) A.DC. для метаболитов кофейной кислоты (Inyushkina et al., 2009) и в 35S CaMV-*rolC* *Vitis amurensis* Rupr. для ресвератрола – полифенола с антиоксидантными свойствами (Dubrovina et al., 2010). Для данной гипотезы был предложен конкретный механизм, основанный на эффекте сайленсинга. Экспрессия генов, кодирующих ферменты-участники вторичного метаболизма, обычно регулируется (подавляется) с помощью

миРНК. Продукт гена *rolC*, возможно, нарушает этот процесс, в результате чего экспрессия генов возрастает и растение более активно синтезирует вторичные метаболиты. Для *rolC* пока не было получено прямых доказательств данной гипотезы, однако они были получены для другого гена корневого локуса – *rolB* (Bulgakov et al., 2016). На сегодняшний день неизвестно, как именно *rolC* активирует биосинтез в растении, однако показано, что повышенная активность, приобретенная трансформантами, сохраняется в течение длительного периода. Увеличенное в 2-4 раза содержание антрахинона в трансформированных каллусах *Rubia cordifolia* L. сохраняется более 5 лет (Bulgakov et al., 2002). Уровень дифференцировки клеток, по-видимому, не влияет на стимулирующий эффект *rolC*, поскольку Булгаков с соавторами не нашли существенных различий в количествах гинсенозидов в трансформированных каллусах, и в регенерировавших из них корнях *Panax ginseng* С.А.Мей. При этом, среди независимых трансформантов выявлена 4-кратная разница в концентрации алкалоидов, что может быть обусловлено как индивидуальными особенностями растения, так и возможными различиями в степени активации биосинтеза под влиянием *rolC* (Bulgakov et al., 1998).

Влияние *rolC* на содержание активных форм кислорода. Помимо активации вторичных метаболических процессов *rolC* может способствовать усилению защитных реакций растений. Способность нейтрализовать активные формы кислорода (АФК) *in vivo* показана для антрахинонов *R. cordifolia*. Можно было бы предположить, что *rolC* влияет на количество АФК в растении посредством активации синтеза антрахинонов. Однако, анализ сигнальных путей в *rolC*-трансформированных каллусах *R. cordifolia* показал, что процессы синтеза антрахинона и продукции активных форм кислорода, скорее всего, разобщены (Bulgakov et al. 2004, 2008). Так было показано, что у трансформантов *rolC* снижено содержание активных форм кислорода (пероксинитрита, пероксида водорода и гидропероксильных радикалов), что является одним из путей повышения устойчивости растений к стрессу (Shkryl et al., 2010; Bulgakov et al., 2013). Также описано повышение устойчивости *rolC*-трансформантов к фитопатогенам. Так трансформированный картофель, несущий 35S CaMV-*rolC* устойчив к таким возбудителям гнили, как *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. и *Botrytis cinerea* Pers. (Fladung, Gieffers, 1993), а клубника – к фитопатогену *Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt. (Landi et al., 2009). Подобные эффекты гена *rolC* могут быть полезны для получения устойчивых форм сельскохозяйственных растений, а также для получения растений-продуцентов вторичных метаболитов, представляющих интерес для человека. Сигнальные пути запуска вторичного метаболизма и механизма защиты под влиянием *rolC* требуют дальнейшего изучения, в частности, для усиления контроля эффектов гена. В некоторой степени подобного контроля удалось достичь для морфогенетических эффектов *rolC*, среди

которых выделяют как те, чье проявление зависит от промотора, под которым работает ген в растении, так и независимые от промоторной последовательности эффекты.

Морфогенетические эффекты *rolC*. Наиболее часто встречающимися морфогенетическими эффектами *rolC* являются: снижение апикального доминирования, карликовость и общая ювенилизация растений. Также наблюдаются ускоренный переход к стадии цветения и снижение фертильности пыльцы (Schmülling et al., 1988; Scorza et al., 1994; Michael, Spina, 1995; Guivarch et al., 1996; Bell et al., 1999; Tzfira et al., 1999). Эти признаки проявляются вне зависимости от того, под контролем какого промотора работает ген *rolC*. Однако от промотора зависит степень проявления признаков. Так трансформанты *N. tabacum*, несущие *rolC* с нативным промотором, становятся низкорослыми, в то время как растения 35S CaMV-*rolC* – карликовыми, то есть под влиянием конститутивного промотора признак проявляется более выражено (Schmülling et al., 1988). Снижение длины побегов формируется за счет уменьшения размера эпидермальных клеток в междоузлиях и, как следствие, укорочения

междоузлий (Schmülling et al., 1988; Oono et al., 1990). Морфогенетические эффекты, проявление которых зависит от промоторной последовательности, а также обсуждение возможных механизмов развития морфоэффектов у трансформированных растений описано в следующем разделе обзора.

Эффекты, зависящие от промоторных последовательностей

Морфогенетические эффекты *rolC* могут различаться в зависимости от того, какое растение трансформировано, а также от того, под каким промотором ген работает в растении. Помимо перечисленных в предыдущем разделе признаков, у трансформантов описаны различные изменения цветков и листьев, кустистость побегов. Кустистость и увеличение количества цветков могут быть следствием усиленного ветвления побегов (Kurioka et al., 1992; Giovannini et al., 1999; Zuker et al., 2001). Варианты морфогенетических эффектов у различных растений представлены в таблице.

Таблица. Морфогенетические эффекты у различных видов растений
Table. Morphogenetic effects in various plant species

Вид растения / Plant species	Промотор / Promoter	Эффекты гена <i>rolC</i> / Effects of gene <i>rolC</i>	Источник / Source
Культурный табак <i>Nicotiana tabacum</i> L.	нативный	изменение формы листа, уменьшенные цветки	Schmülling et al., 1988; Scorza et al., 1994; Guivarch et al., 1996
	35S CaMV	Те же, что с нативным промотором, + мужская стерильность, хлорозы	
Картофель <i>Solanum tuberosum</i> L.	35S CaMV	мужская стерильность, хлорозы, уменьшенный размер клубней	Fladung, 1990; Schmülling et al., 1993
Осина <i>Populus tremula</i> L.	нативный	кустистость, сморщенные листья, поздний переход к покою	Tzfira et al., 1999
	35S CaMV		
Томат <i>Solanum lycopersicum</i> L.	нативный	кустистость, меньший размер плодов	Bettini et al., 2010
Сальpigлоссис <i>Salpiglossis sinuata</i> Ruiz & Pav.	нативный	кустистость, уменьшенный размер цветков и листьев	Lee et al., 1996
Роза <i>Rosa hybrida</i> cv. <i>Madame</i>	нативный	кустистость, увеличение числа шипов и изменение цвета лепестков	Souq et al., 1996
Садовая гвоздика <i>Dianthus caryophyllus</i> L.	35S CaMV	кустистость, корнеобразование, увеличенное количество цветоносов	Ovadis et al., 1999; Zuker et al., 2001; Casanova et al., 2004;
Маргаритка <i>Osteospermum ecklonis</i> (DC.) Norl.	35S CaMV	Увеличение количества цветков, листья бледно-зеленые	Giovannini et al., 1999
Белладонна <i>Atropa belladonna</i> L.	35S CaMV	узкие бледно-зеленые листья, увеличение количества цветков меньшего размера	Kurioka et al., 1992
Хризантема садовая, <i>Chrysanthemum</i> × <i>hortorum</i> , сорт White Shadow	35S CaMV	узкие бледно-зеленые листья, увеличение количества цветков меньшего размера, изменение формы лепестков	Mitiouchkina, Dolgov, 2000
Петуния <i>Petunia axillaris</i> × <i>P. hybrida</i>	35S CaMV	кустистость, уменьшенные/увеличенные листья, увеличение количества листьев	Winefield et al., 1999
<i>Pelargonium domesticum</i> (Regals), cv. Dubonnet	35S CaMV	уменьшенные листья, увеличение количества цветков	Boase et al., 2004
Понцирус <i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf.	35S CaMV	Усиленное корнеобразование	Kaneyoshi, Kobayashi, 1999
Восточная хурма <i>Diospyros kaki</i> Thunb.	35S CaMV	Усиленное корнеобразование	Koshita et al., 2002

Подобные реакции у растений могут возникать вследствие снижения количества ауксина в растительных клетках, либо от понижения чувствительности к ауксину, а также от повышения количества цитокининов (Schmülling et al., 1988; Spina et al., 1989). Была предложена гипотеза о способности *rolC* повышать количество цитокининов путем высвобождения их из различных соединений (Estruch et al., 1991), однако данная гипотеза не нашла подтверждений *in vivo*. У некоторых растений-трансформантов, например, у садовой гвоздики *Dianthus caryophyllus* L., активно регенерируют как побеги, так и корни, то есть проявляется как цитокининовый, так и ауксиновый эффект (Casanova et al., 2003; 2004). Активное корнеобразование у *rolC*-трансформантов также отмечено при использовании в экспериментах кустарника из рода *Poncirus* (Kaneyoshi, Kobayashi, 1999) и хурмы (*Diospyros kaki* Thunb.) (Koshita et al., 2002). Ева Касанова с коллегами отмечают, что способность к формированию побегов и корней не коррелирует с уровнем свободных цитокининов и ауксинов в трансформированных растениях, что позволяет предположить наличие иных регуляторов, на которые оказывает влияние *rolC* (Casanova et al., 2004). Ранее Шмүллинг с соавторами уже попытались объяснить карликовый фенотип *rolC*-трансформантов нарушением баланса не ауксинов и цитокининов, а других классов гормонов (Schmülling et al., 1993). У растений картофеля и культурного табака, несущих конструкцию 35S CaMV-*rolC*, показано повышение количества гиббереллинов GA19, в связи с чем авторы предположили, что *rolC* может блокировать преобразование GA19 в GA20. Также зафиксировано снижение количества GA1 (Nilsson et al., 1993; Schmülling et al., 1993). Степень карликовости побегов коррелирует с понижением количества гибберелловой кислоты, при этом обработка экзогенной GA3 приводит к восстановлению нормальной длины междоузлий, что объясняется влиянием GA на рост клеток растяжением (Fladung, 1990; Schmülling et al., 1993). Снижение количества гиббереллина в растениях с 35S CaMV-*rolC* может быть причиной уменьшения размера клеток листа (Nilsson et al., 1993). Развитие клеток меньшего размера описано также у трансформированной осины в меристеме (Nilsson et al., 1996) и у *N. tabacum* с 35S CaMV-*rolC* в мезофилле листа и в сердцевине стебля (Estruch et al. 1991; Guivarch et al., 1996). Помимо гиббереллинов у трансформантов отмечено пониженное содержание этилена (Martin-Tanguy et al., 1993) и абсцизовой кислоты (Nilsson et al., 1993; Fladung et al., 1997; Bettini et al., 2010), последняя может быть причиной повышенного уровня транспирации таких растений (Fladung, Ballvora, 1992), поскольку абсцизовая кислота регулирует закрытие устьиц. Ген *rolC* влияет не только на количество, но и на чувствительность к гормонам, повышая чувствительность к цитокининам и предшественникам этилена и понижая её к ауксину и абсцизовой кислоте (Schmülling et al., 1993). Таким образом, *rolC* изменяет баланс гормонов,

а также чувствительность растения к гормонам, следствием чего являются множественные морфогенетические реакции. Получение растений, несущих *rolC*, и изучение их морфогенетических параметров является актуальным направлением в современной селекции садовых растений, поскольку позволяет создать новые формы, например, вывести карликовые морфы популярных сортов, изменить форму и цвет листьев, ускорить время цветения. Как уже было сказано, эффекты могут различаться в зависимости от того, под каким промотором работает *rolC*. Так листовые экспланты каланхоэ и *N. tabacum*, трансформированные 35S CaMV-*rolC*, способны к образованию боковых корней, тогда как трансформация геном *rolC* с нативным промотором не приводит к подобному результату (Spina et al., 1987; Schmülling et al., 1988). Различия между промоторами также наблюдаются для древесных форм. У растений гибридной осины (*Populus tremula* × *Populus tremuloides*), трансформированной 35S CaMV-*rolC*, наблюдается типичный фенотип (карликовость, изменение формы листьев), который сохраняется после периода покоя (Nilsson et al., 1996). У растений же осины, трансформированной *rolC* с нативным промотором, фенотипические изменения сохраняются только до первого периода покоя, а двухлетние растения внешне не отличаются от контрольных (Tzfira et al., 1999). Для того, чтобы понять, какие механизмы могут лежать в основе подобных различий, необходимо разобраться в том, как работают промоторы, нативный и промотор вируса мозаики цветной капусты 35S CaMV. В то время, как 35S CaMV является известным, широко используемым промотором, про собственный промотор *rolC* известно гораздо меньше. В следующем разделе обзора собрана информация, посвященная нативному промотору гена *rolC*.

Промотор *rolC*

В отличие от промотора вируса мозаики цветной капусты 35S CaMV, под которым ген экспрессируется конститутивно, то есть постоянно во всех органах и тканях, активность нативного промотора *rolC* различается в тканях и изменяется с возрастом растения. Экспрессия *rolC* орган-специфична, достигает максимальных значений в корнях и уменьшается в ряду корень-стебель-цветок-лист (Schmülling et al., 1988; Sugaya et al., 1989; Guivarch et al., 1996). Внутри цветка *rolC* активнее всего экспрессируется в чашелистиках (Guivarch et al., 1996). С возрастом активность промотора *rolC* понижается в корнях и повышается в надземных частях, так для растений 6-недельного возраста максимальная активность зафиксирована в междоузлиях, а для 6–13-дневных – в корнях (Guivarch et al., 1996). На тканевом уровне для большинства изученных видов растений экспрессия *rolC* показана во флоэме (Matsuki et al., 1989; Sugaya et al., 1989; Nagata et al., 1995;), кроме того, у картофеля она также отмечена в клетках обкладки проводящего

пучка (Graham et al., 1997). В связи с этим было высказано предположение о возможном участии *rolC* в метаболизме или транспорте сахаров, поскольку во флоэме благодаря восходящему току продуктов фотосинтеза содержится много сахарозы. В цис-регуляторной области промотора *rolC* действительно был обнаружен чувствительный к сахарозе участок (–135...–94 от точки инициации транскрипции) (Sugaya, Uchimiya, 1992; Yokoyama et al., 1994). Несмотря на то, что в растении экспрессия *rolC* в большинстве случаев ограничена клетками флоэмы, на примере осины показано, что ген может быть индуцирован в любой клетке, пропитанной сахарозой (Nilsson et al., 1996). Помимо функции сигнальной молекулы, сахароза также может служить потенциальным субстратом для белка *rolC*. Оказывая положительное влияние на деление клеток, сахароза может способствовать закладке корней (Faiss et al., 1996; Nilsson, Olsson, 1997). В эмбриогенезе экспрессия *rolC* была детектирована в культуре клеток моркови в период формирования соматических эмбрионов при переносе на среду без 2,4-Д (2,4-D, Fujii, Uchimiya, 1991). У *N. tabacum* ген *rolC* экспрессируется в тканях зародыша (Sugaya, Uchimiya 1992), что может свидетельствовать о его участии в процессах закладки и формирования будущих органов растения. В процессе развития у трансформированных растений возникают морфологические изменения, которые пытались объяснить повышением уровня свободных цитокининов. Ранее для белкового продукта *rolC*, наработанного в гетерологичной системе, была показана цитокинин-β-глюкозидазная активность, в связи с чем и возникла данная гипотеза (Estruch et al., 1991). Белок *rolC* – продукт гена *rolC* – имеет массу 20,1 кДа (20100 Da, Slightom et al., 1986). Он локализован в цитоплазме, а глюкозид-связанные цитокинины находятся в вакуолях. Было высказано предположение, что белок *rolC* успевает расщепить конъюгаты раньше, чем они секвестрируются в вакуолях (Estruch et al., 1991). Позже с помощью конструкции с тетрациклин-индуцибельным промотором Файсс с коллегами показал, что не все глюкозиды являются потенциальными субстратами для цитокинин-β-глюкозидазы, продукта гена *rolC*. Кроме того, концентрация свободных цитокининов и их конъюгатов в экспериментальных растениях не отличалась от контрольной (Faiss et al., 1996), что опровергает предложенную ранее гипотезу. Файсс, в свою очередь, предположил, что цитокинин-β-глюкозидаза *rolC* косвенно воздействует на развитие растений благодаря участию в метаболизме сахаров (Faiss et al., 1996). Показано, что растения *N. tabacum*, трансформированные *rolC*, способны накапливать крахмал в зрелых тканях листа (Mohajjel-Shoja et al., 2011), а в клубнях трансформированного картофеля повышено содержание глюкозы и крахмала (Fladung, Gieffers, 1993). Таким образом, *rolC* действительно участвует в метаболизме углеводов у растений, что согласуется с локализацией активности промотора в тканях флоэмы. У взрослых растений *N. tabacum* экспрессия *rolC*

по одним данным ограничена протофлоэмой и сопровождающимися клетками (Schmülling et al., 1988; Sugaya et al., 1989; Guivarch et al., 1996), по другим – *rolC* также экспрессируется в корневых кончиках и в железистых клетках на кончиках трихом (Hu et al., 2003). Предполагают, что регуляция экспрессии *rolC* в *N. tabacum* может осуществляться с помощью тех же механизмов, которые контролируют активность трихом-специфичных генов и генов, специфичных для элементов проводящей системы. В пользу данной гипотезы свидетельствует высокий уровень сходства последовательностей промоторов *rolC* и трихом-специфичных генов *GLABROUS1* (*GL1*) и *GLABRA2* (*GL2*), а также наличие в промоторе *rolC* регуляторного элемента (AACG/TG), похожего на регуляторную область промотора гена *myb* у *Hordeum vulgare* (Hu et al., 2003) и С-связанного (C-related) элемента (CCGAC) (Jaglo et al., 2001). Как белки Myb, так и С-связанные элементы участвуют в адаптации растений к различного рода стрессам (Ganesan et al., 2012; Jaglo et al., 2001), в том числе к засухе. Возможно, данные регуляторные последовательности вносят вклад в развитие специфического фенотипа в результате действия *rolC* (Pavlova et al., 2013). Активность промотора *rolC* в концах трихом может быть использована для регуляции биосинтеза вторичных метаболитов, синтезируемых в железистых клетках культурного табака (Gao et al., 1995). Несмотря на то, что механизм регуляции путей биосинтеза посредством *rolC* у растений не установлен, очевидно, что этот ген способен активировать вторичные метаболические процессы. Некоторые вторичные метаболиты обеспечивают защитные свойства растений, повышая их устойчивость к фитопатогенам или делая их менее привлекательными для травоядных животных и насекомых (Pieterse et al., 2012; Naseem, Dandekar, 2012). Таким образом, *rolC* способен повышать защиту растений путем усиления синтеза ряда метаболитов, за счет активации, регулирующих их Myb-факторов и С-связанных элементов. В культуре клеток женьшеня также показана корреляция экспрессии *rolC* с активностью β-1,3-глюканазы, которая принадлежит к семейству белков защиты растений PR-2 (Kiselev et al., 2006).

Заключение

Эффекты *rol*-генов в трансформированных растениях активно изучают с 80-х годов прошлого века, но несмотря на значительный объем накопленных данных, многие вопросы, касающиеся механизмов и особенностей действия *rolC* в растениях, на сегодняшний день остаются без ответов. При этом очевидно, что *rolC* вызывает множественные физиологические и биохимические изменения у трансформированных растений, от изменения высоты побега, формы листа и количества цветков, до активации процессов вторичного метаболизма. Хотя экспрессия *rolC* приводит к множественным эффектам, растения-трансформанты могут различаться по сте-

пени проявления этих эффектов в зависимости от того, под каким промотором работает ген. Изменение формы и размера вегетативных и генеративных органов трансформантов исходно объясняли влиянием *rolC* на соотношение свободных форм фитогормонов, а также на изменение чувствительности растения к гормонам (Schmülling et al., 1993; Spena et al., 1989). Однако отсутствие единой картины в экспериментах не позволяет построить модель взаимодействия *rolC* с гормональной системой растений. Следовательно, можно предположить наличие иных путей влияния *rolC* на ростовые процессы растений. В качестве альтернативной гипотезы рассматривают участие *rolC* в метаболизме сахаров (Nilsson, Olsson, 1997; Mohajjel-Shoja et al., 2011). Способность сахарозы индуцировать *rolC*, как и локализация активности промотора *rolC* в тканях флоэмы, служат в пользу данной гипотезы, однако молекулярные механизмы остаются неизученными. Известно о наличии чувствительного к сахарозе участка в промоторе гена *rolC*, а также о сходстве участков его промотора с различными регуляторными областями иных генов, что может объяснить множественные эффекты гена *rolC*. Возможно, дальнейшие исследования в данном направлении могли бы прояснить сигнальные пути, в которых *rolC* задействован в растении. Использование гена *rolC* для трансформации различных видов растений позволит получить новые сорта декоративных растений, низкорослых, «пышных» и обильно цветущих за счет ветвистых побегов, с измененной формой и цветом листьев (Casanova et al., 2005). Способность *rolC* повышать устойчивость к фитопатогенам и иным факторам стресса представляет особый интерес для сферы сельского хозяйства, а влияние на вторичный метаболизм – для фарминдустрии и косметологии. Несмотря на то, что молекулярные механизмы действия *rolC* в растениях активно изучают (Bulgakov et al., 2013; Mauro et al., 2017), на сегодняшний день они не установлены. Так же, возможно, остаются еще не выявленными функции гена *rolC* для растений. В геномах природно-трансгенных растений *rolC* часто остается интактным и экспрессируется, что наводит на мысль о возможной важной роли данного гена для растений (Matveeva, Sokornova, 2016; Chen, Otten, 2017; Otten, 2018;). Дальнейшие исследования функций гена *rolC*, его структуры и механизмов действия помогут приблизиться к пониманию роли, которую данный ген играет в растениях, а также станут ценным вкладом в селекцию новых сортов декоративных, сельскохозяйственных и лекарственных растений.

References/Литература

- Bell R.L., Scorza R., Srinivasan C., Webb K. Transformation of Beurre Bosc Pear with the *rolC* gene. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1999;124(6):570-574.
- Bettini P., Baraldi R., Rapparini F., Melani L., Mauro M. L., Bindi D., Buiatti M. The insertion of the *Agrobacterium rhizogenes rolC* gene in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) affects plant architecture and endogenous auxin and abscisic acid levels. *Scientia Horticulturae*. 2010;123(3):323-328. DOI: 10.1016/j.scientia.2009.09.013
- Boase M.R., Winefield C.S., Lill T.A., Bendall M.J. Transgenic regal pelargoniums that express the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* exhibit a dwarf floral and vegetative phenotype. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2004;40(1):46-50. DOI: 10.1079/IVP2003476
- 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*. *Journal of Natural Products*. 2000;63(9):1249-1252. DOI: 10.1021/np990614l
- Bulgakov V.P., Khodakovskaya M.V., Labetskaya N.V., Chernoded G.K., Zhuravlev Y.N. The impact of plant *rolC* oncogene on ginsenoside production by ginseng hairy root cultures. *Phytochemistry*. 1998;49:1929-1934. DOI: 10.1016/S0031-9422(98)00351-3
- Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Khodakovskaya M.V., Glazunov V.P., Zvereva E.V., Fedoreyev S.A., Zhuravlev Y.N. Effects of salicylic acid, methyl jasmonate, etephone and cantharidin on anthraquinone production by *Rubia cordifolia* callus cultures transformed with *rolB* and *rolC* genes. *Journal of Biotechnology*. 2002;97(3):213-221. DOI: 10.1016/S0168-1656(02)00067-6
- Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Shkryl Y.N., Glazunov V.P., Fedoreyev S.A., Zhuravleva Y.N. 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;217:349-355. DOI: 10.1007/s00425-003-0996-5
- Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Shkryl Y.N., Fedoreyev S.A., Zhuravlev Y.N. The *rolB* and *rolC* genes activate synthesis of anthraquinones in *Rubia cordifolia* cells by mechanism independent of octadecanoid signaling pathway. *Plant Science*. 2004;166:1069-1075. DOI: 10.1016/j.plantsci.2003.12.027
- Bulgakov V.P., Aminin D.L., Shkryl Y.N., Gorpenchenko T.Y., Veremeichik G.N., Dmitrenok P.S., Zhuravlev Y.N. Suppression of reactive oxygen species and enhanced stress tolerance in *Rubia cordifolia* cells expressing the *rolC* oncogene. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2008;21(12):1561-1570. DOI: 10.1094/mpmi-21-12-1561
- Bulgakov V.P., Shkryl Y.N., Veremeichik G.N., Gorpenchenko T.Y., Vereshchagina Y.V. Recent Advances in the Understanding of *Agrobacterium rhizogenes*-Derived Genes and Their Effects on Stress Resistance and Plant Metabolism. In: P. Doran (ed). *Biotechnology of Hairy Root Systems. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Vol. 134. Berlin, Heidelberg: Springer; 2013. p.1-22. DOI: 10.1007/10_2013_179
- Bulgakov V.P., Veremeichik G.N., Grigorchuk V.P., Rybin V.G., Shkryl Y.N. The *rolB* gene activates secondary metabolism in Arabidopsis calli via selective activation of genes encoding MYB and bHLH transcription factors. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2016;102:70-79. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.02.015
- Cardarelli M., Mariotti D., Pomponi M., Spano L., Capone I., Costantino P. *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA genes capable of inducing hairy root phenotype. *Molecular and General Genetics*. 1987;209:475-480. DOI: 10.1007/bf00331152
- Casanova E., Zuker A., Trillas M.I., Moysset L., Vainstein A. The *rolC* gene in carnation exhibits cytokinin- and auxin-like activities. *Scientia Horticulturae*. 2003;97(3-4):321-331. DOI: 10.1016/S0304-4238(02)00155-3
- Casanova E., Valdés A.E., Zuker A., Fernández B., Vainstein A., Trillas M.I., Moysset L. *rolC*-transgenic carnation plants: adventitious organogenesis and levels of endogenous auxin and cytokinins. *Plant Science*. 2004;167(3):551-560. DOI: 10.1016/j.plantsci.2004.04.029
- Casanova E., Trillas M.I., Moysset L., Vainstein A. Influence of *rol* genes in floriculture. *Biotechnology Advances*. 2005;23(1):3-39. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2004.06.002
- Chen K., Dorlhac de Borne F., Szegedi E., Otten L. Deep sequencing of the ancestral tobacco species *Nicotiana tomentosiformis* reveals multiple T-DNA inserts and a complex evolutionary history of natural transformation in the genus *Nicotiana*. *The Plant Journal*. 2014;80(4):669-682. DOI: 10.1111/tpj.12661

- Chen K., Otten L. Natural *Agrobacterium* transformants: recent results and some theoretical considerations. *Frontiers in Plant Science*. 2017;8:1600. DOI: 10.3389/fpls.2017.01600
- Dilshad E., Cusido R.M., Estrada K.R., Bonfill M., Mirza B. Genetic transformation of *Artemisia carvifolia* Buch with *rol* genes enhances artemisinin accumulation. *PLoS One*. 2015;10(10):e0140266. DOI: 10.1371/journal.pone.0140266
- Dubrovina A.S., Manyakhin A.Y., Zhuravlev Y.N., Kiselev K. Resveratrol content and expression of phenylalanine ammonia-lyase and stilbene synthase genes in *rolC* transgenic cell cultures of *Vitis amurensis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2010;88:727-736. DOI: 10.1007/s00253-010-2792-z
- Estruch J.J., Chriqui D., Grossmann K., Schell J., Spena A. The plant oncogene *rolC* is responsible for the release of cytokinins from glucoside conjugates. *The EMBO Journal*. 1991;10(10):2889-2895.
- Faiss M., Strnad M., Redig P., Doležal K., Hanuš J., Van Onckelen H., Schmülling T. 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. *The Plant Journal*. 1996;10(1):33-46. DOI: 10.1046/J.1365-3113.1996.10010033.X
- Fladung M. Transformation of diploid and tetraploid potato clones with the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* and characterization of transgenic plants. *Plant Breeding*. 1990;104(4):295-304. DOI: 10.1111/j.1439-0523.1990.tb00439.x
- 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 Breeding*. 1992;109(1):18-27. DOI: 10.1111/j.1439-0523.1992.tb00145.x
- Fladung M., Grossmann K., Ahuja M.R. Alterations in hormonal and developmental characteristics in transgenic *Populus* conditioned by the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes*. *Journal of Plant Physiology*. 1997;150:420-427. DOI: 10.1016/S0176-1617(97)80092-2
- Fladung M., Gieffers W. Resistance reactions of leaves and tubers of *rolC* transgenic tetraploid potato to bacterial and fungal pathogens. Correlation with sugar, starch and chlorophyll content. *Physiology and Molecular Plant Pathology*. 1993;42:123-132. DOI: 10.1006/pmpp.1993.1010
- Fujii N., Uchimiya H. Conditions favorable for the somatic embryogenesis in carrot cell culture enhance expression of the *rolC* promoter-GUS fusion gene. *Plant Physiology*. 1991;95(1):238-241. DOI: 10.1104/pp.95.1.238
- Ganesan G., Sankaramasubramanian H.M., Harikrishnan M., Ashwin G., Parida A. A MYB transcription factor from the grey mangrove is induced by stress and confers NaCl tolerance in tobacco. *Journal of Experimental Botany*. 2012;63(12):4549-4561. DOI: 10.1093/jxb/ERS135
- Gao Z., Liu G., Fu Y. A study on the glandular trichomes and their secretory cell in the leaves of aromatic tobacco plants. *Acta Agriculturae Universitatis Henanensis*. 1995;30:329-346.
- Giovannini A., Zottini M., Morreale G., Spena A., Allavena A. Ornamental traits modification by *rol* genes in *Osteospermum ecklonis* transformed with *Agrobacterium tumefaciens*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. 1999;35(1):70-75. DOI: 10.1007/s11627-999-0012-2
- Graham M.W., Craig S., Waterhouse P.M. Expression patterns of vascular-specific promoters *RoIc* and *Sh* in transgenic potatoes and their use in engineering PLRV-resistant plants. *Plant Molecular Biology*. 1997;33:729-735. DOI: 10.1023/A:1005726918110
- Guivarch A., Spena A., Noin M., Besnard C., Chriqui D. The pleiotropic effects induced by the *rolC* gene in transgenic plants are caused by expression restricted to protophloem and companion cells. *Transgenic Research*. 1996;5(1):3-11. DOI: 10.1007/BF01979917
- Hu Y., Chen B., Ni T., Li N., Lin Z. Promoter of the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* can be strongly regulated in glandular cell of transgenic tobacco. *Molecular Biotechnology*. 2003;24(2):121-125. DOI: 10.1385/MB:24:2:121
- Intrieri M.C., Buiatti M. The horizontal transfer of *Agrobacterium rhizogenes* genes and the evolution of the genus *Nicotiana*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2001;20(1):100-110. DOI: 10.1006/mpev.2001.0927
- Inyushkina Y.V., Kiselev K.V., Bulgakov V.P., Zhuravlev Y.N. Specific genes of cytochrome P450 monooxygenases are implicated in biosynthesis of caffeic acid metabolites in *rolC*-transgenic culture of *Eritrichium sericeum*. *Biochemistry (Moscow)*. 2009;74:917-924. DOI: 10.1134/S0006297909080148
- Ismail H., Dilshad E., Waheed M.T., Sajid M., Kayani W.K., Mirza B. 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;6(2):215. DOI: 10.1007/s13205-016-0533-4
- Jaglo K.R., Kleff S., Amundsen K.L., Zhang X., Haake V., Zhang J.Z., Deits T., Thomashow M.F. Components of the Arabidopsis C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species. *Plant Physiology*. 2001;127:910-917. DOI: 10.1104/pp.010548
- Kaneyoshi J., Kobayashi S. Characteristics of transgenic trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* Raf.) possessing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid. *Journal of Japanese Society of Horticultural Science*. 1999;68:734-738. DOI: 10.2503/jjshs.68.734
- Kiselev K.V., Kusaykin M.I., Dubrovina A.S., Bezverbnny D.A., Zvyagintseva T.N., Bulgakov V.P. The *rolC* gene induces expression of a pathogenesis-related β -1, 3-glucanase in transformed ginseng cells. *Phytochemistry*. 2006;67(20):2225-2231. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.07.019
- Koshita Y., Nakamura Y., Kobayashi S., Morinaga K., Introduction of the *rolC* gene into the genome of the Japanese persimmon causes dwarfism. *Journal of Japanese Society of Horticultural Science*. 2002;71:529-531. DOI: 10.2503/jjshs.71.529
- Kyndt T., Quispe D., Zhai H., Jarret R., Ghislain M., Liu Q., Gheysen G., Kreuze J.F. The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: an example of a naturally transgenic food crop. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(18):5844-5849. DOI: 10.1073/pnas.1419685112
- Kurioka Y., Suzuki Y., Kamada H., Harada H. Promotion of flowering and morphological alterations in *Atropa belladonna* transformed with a CaMV 35S-*rolC* chimeric gene of the Ri plasmid. *Plant Cell Reports*. 1992;12(1):1-6. DOI: 10.1007/BF00232412
- Landi L., Capocasa F., Costantini E., Mezzetti B. *ROLc* strawberry plant adaptability, productivity, and tolerance to soil-borne disease and mycorrhizal interactions. *Transgenic Research*. 2009;18(6):933-942. DOI: 10.1007/s1248-009-9279-7
- Lee C., Wang L., Ke S., Qin M., Cheng Z-M. Expression of the *rolC* gene in transgenic plants of *Salpiglossis sinuata* L. *Horticultural Science*. 1996;31:571. DOI: 10.21273/HORTSCI.31.4.571e
- Martin-Tanguy J., Corbinau F., Burtin D., Ben-Hayyim G., Tepfer D. 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 Science*. 1993;93(1-2):63-76. DOI: 10.1016/0168-9452(93)90035-X
- Matsuki R., Onodera H., Yamauchi T., Uchimiya H. Tissue-specific expression of the *rolC* promoter of the Ri plasmid in transgenic rice plants. *Molecular and General Genetics*. 1989;220:12-16. DOI: 10.1007/BF00260849
- Matveeva T.V., Bogomaz D.I., Pavlova O.A., Nester E.W., Lutova L.A. Horizontal gene transfer from genus *Agrobacterium* to the plant *Linaris* in nature. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2012;25(12):1542-1551. DOI: 10.1094/MPMI-07-12-0169-R
- Matveeva T.V., Sokornova S.V. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated Transformation of Plants for Improvement of Yields of Secondary Metabolites. In: A. Pavlov, T. Bley (eds). *Bioprocessing of Plant In Vitro Systems. Reference Series in Phytochemistry*. Cham (Switzerland): Springer; 2016. p.161-202. DOI: 10.1007/978-3-319-32004-5_18-1
- Matveeva T.V., Otten L. Widespread occurrence of natural genetic transformation of plants by *Agrobacterium*. *Plant Molecular Biology*. 2019;101(4):415-437. DOI: 10.1007/s11103-019-00913-y
- Mauro M.L., Costantino P., Bettini P.P. The never-ending story of *rol* genes: a century after. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2017;131(2):201-212. DOI: 10.1007/s1240-017-1277-5
- Michael T., Spena A. The plant oncogenes *rolA*, *B*, and *C* from *Agrobacterium rhizogenes*. In: K.M.A. Gartland, M.R. Davey (eds) *Agrobacterium Protocols. Methods in Molecular Biology*.

- 1995;44:207-222. DOI: 10.1385/0-89603-302-3:207
- Mitiouchkina T.Y., Dolgov S.V. Modification of chrysanthemum plant and flower architecture by *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* introduction. *Acta Horticulturae*. 2000;508:163-172. DOI: 10.17660/ActaHortic.2000.508.21
- Mohajjel-Shoja H., Clément B., Perot J., Alioua M., Otten L. Biological activity of the *Agrobacterium rhizogenes*-derived *rolC* gene of *Nicotiana tabacum* and its functional relation to other *plast* genes. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2011;24(1):44-53. DOI: 10.1094/MPMI-06-10-0139
- Nagata N., Kosono S., Sekine M., Shinmyo A., Syono K. 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 and Cell Physiology*. 1995;36(6):1003-1012. DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a078842
- Naseem M., Dandekar T. The role of auxin-cytokinin antagonism in plant-pathogen interactions. *PLoS Pathogens*. 2012;11:e1003026. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003026
- Nilsson O., Moritz T., Imbault N., Sandberg G., Olsson O. Hormonal characterization of transgenic tobacco plants expressing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* T₁-DNA. *Plant Physiology*. 1993;102(2):363-371.
- Nilsson O., Little C.H.A., Sandberg G., Olsson O. Expression of two heterologous promoters, *Agrobacterium rhizogenes rolC* and cauliflower mosaic virus 35S, in the stem of transgenic hybrid aspen plants during the annual cycle of growth and dormancy. *Plant Molecular Biology*. 1996;31(4):887-895. DOI: 10.1007/bf00019475
- Nilsson O., Olsson O. Getting to the root: The role of the *Agrobacterium rhizogenes rol* genes in the formation of hairy roots. *Physiologia Plantarum*. 1997;100:463-473. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1997.tb03050.x
- Oono Y., Kanaya K., Uchimiya H. Early flowering in transgenic tobacco plants possessing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid. *The Japanese Journal of Genetics*. 1990;65(1):7-16. DOI: 10.1266/jjg.65.7
- Otten L. The *Agrobacterium* phenotypic plasticity (*Plast*) genes. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2018;418:375-419. DOI: 10.1007/82_2018_93
- Ovadis M., Zuker A., Tzfira T., Ahroni A., Shklarman E., Scovel G., Itzhaki H., Ben-Meir Vainstein A. Generation of transgenic carnation plants with novel characteristics by combining micro-projectile bombardment with *Agrobacterium tumefaciens* transformation. *Plant Biotechnology and In Vitro Biology in the 21st Century*. 1999;36:189-192. DOI: 10.1007/978-94-011-4661-6_44
- Palazón J., Cusidó R.M., Roig C., Piñol M.T. Effect of *rol* genes from *Agrobacterium rhizogenes* TL-DNA on nicotine production in tobacco root cultures. *Plant Physiology and Biochemistry*. 1997;35:155-62.
- Palazón J., Cusidó R.M., Roig C., Piñol M.T. Expression of the *rolC* gene and nicotine production in transgenic roots and their regenerated plants. *Plant Cell Reports*. 1998a;17:384-390. DOI: 10.1007/s002990050411
- Palazón J., Cusidó R.M., Gonzalo J., Bonfill M., Morales S., Piñol M.T. Relation between the amount of *rolC* gene product and indole alkaloid accumulation in *Catharantus roseus* transformed root cultures. *Journal of Plant Physiology*. 1998b;153:712-718. DOI: 10.1016/S0176-1617(98)80225-3
- Pavlova O.A., Matveyeva T.V., Lutova L.A. *Rol*-GENES of *Agrobacterium rhizogenes*. *Ecological genetics*. 2013;11(1):59-68. [In Russian] (Павлова О.А., Матвеева Т.В., Лутова Л.А. *Rol*-гены *Agrobacterium rhizogenes*. *Экологическая генетика*. 2013;11(1):59-68). doi: 10.17816/ecogen11159-68
- Pieterse C.M.J., Van der Does D., Zamioudis C., Leon-Reyes A., Van Wees S.C.M. Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Development Biology*. 2012;28:489-521. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154055
- Riker A.J., Banfield W.M., Wright W.H., Keitt G.W., Sagen H.E. Studies on infectious hairy root of nursery apple trees. *Journal of Agricultural Research*. 1930;41(7):507-540.
- Sawada H., Ieki H., Oyaizu H., Matsumoto S. Proposal for rejection of *Agrobacterium tumefaciens* and revised descriptions for the genus *Agrobacterium* and for *Agrobacterium radiobacter* and *Agrobacterium rhizogenes*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1993;43(4):694-702.
- Schmülling T., Schell J., Spena A. Single genes from *Agrobacterium rhizogenes* influence plant development. *The EMBO Journal*. 1988;7:2621-2629. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1988.tb03114.x
- Schmülling 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. *The Plant Journal*. 1993;3:371-382. DOI: 10.1046/j.1365-313X.1993.t01-20-00999.x
- Shkryl Y.N., Veremeichik G.N., Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Fedoreyev S.A., Zhuravlev Y.N. Individual and combined effects of the *rolA*, *B* and *C* genes on anthraquinone production in *Rubia cordifolia* transformed calli. *Biotechnology and Bioengineering*. 2008;100:118-125. DOI: 10.1002/bit.21727
- Shkryl Y.N., Veremeichik G.N., Bulgakov V.P., Gorpechenko T.Y., Aminin D.L., Zhuravlev Y.N. Decreased ROS level and activation of antioxidant gene expression in *Agrobacterium rhizogenes* pRiA4-transformed calli of *Rubia cordifolia*. *Planta*. 2010;232:1023-1032. DOI: 10.1007/s00425-010-1237-3
- Scorza R., Zimmermann T.W., Cordts J.M., Footen K.J., Ravelonandro M. Horticultural characteristics of transgenic tobacco expressing the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1994;119(5):1091-1098. DOI: 10.21273/JASHS.119.5.1091
- Slightom J., Durand-Tardif M., Jouanin L., Tepfer D. Nucleotide sequence analysis of TL-DNA of *Agrobacterium rhizogenes* agropine type plasmid. Identification of open reading frames. *Journal of Biological Chemistry*. 1986;261:108-121. DOI: 10.1016/S0021-9258(17)42439-2
- Souq F., Coutos-Thevenot P., Yean H., Delbard G., Maziere Y., Barbe J.P., Boulay M. Genetic transformation of roses, 2 examples: one on morphogenesis, the other on anthocyanin biosynthetic pathway. Second International Symposium on Roses. *Acta Horticulturae*. 1996;424:381-388. DOI: 10.17660/ActaHortic.1996.424.73
- Spena A., Schmülling T., Koncz C., Schell J. Independent and synergistic activity of *rolA*, *B* and *C* loci in stimulating abnormal growth in plants. *The EMBO Journal*. 1987;6:3891-3899. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1987.tb02729.x
- Spena A., Aalen R.B., Schulze S.C. Cell-autonomous behavior of the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* during leaf development: a visual assay for transposon excision in transgenic plants. *The Plant Cell*. 1989;1(12):1157-1164. DOI: 10.105/tpc.1.12.1157
- Sugaya S., Hayakawa K., Handa T., Uchimiya H. Cell-specific expression of the *rolC* gene of the T₁-DNA of Ri plasmid in transgenic tobacco plants. *Plant and Cell Physiology*. 1989;30(5):649-653. DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a077789
- Sugaya S., Uchimiya H. Deletion analysis of the 5'-upstream region of the *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid *rolC* gene required for tissue-specific expression. *Plant Physiology*. 1992;99(2):464-467. DOI: 10.1104/pp.99.2.464
- 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;14:49-54. DOI: 10.1007/PL00009753
- White F.F., Garfinkel D.J., Huffman G.A., Gordon M.P., Nester E.W. Sequence homologous to *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA in the genome of uninfected plants. *Nature*. 1983;301:348-350. doi: 10.1038/301348a0
- Winefield C., Lewis D., Arathoon S., Deroles D. Alteration of petunia plant form through the introduction of the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes*. *Molecular Breeding*. 1999;5:543-551. DOI: 10.1023/A:1009638401275
- Yokoyama R., Hirose T., Fujii N., Aspuria E.T., Kato A., Uchimiya H. The *rolC* promoter of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid is activated by sucrose in transgenic tobacco plants. *Molecular and General Genetics*. 1994;244:15-22. DOI: 10.1007/BF00280182
- Young J.M., Kuykendall L.D., Martinez-Romero E., Kerr A., Sawada H. A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie et al. 1998 as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola*, and *R. vitis*. *International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology*. 2001;51(1):89-103. doi:10.1099/00207713-51-1-89.
- Zuker A., Tzfira T., Scovel G., Ovadis M., Shklarman E., Itzhaki H.,

Vainstein A. *RolC*-transgenic carnation with improved horticultural traits: quantitative and qualitative analyses of greenhouse-grown plants. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2001;126(1):13-18. DOI: 10.21273/JASHS.126.1.13