

РЕГЕНЕРАЦИЯ РАСТЕНИЙ ИЗ КУЛЬТУРЫ ГЕНЕТИЧЕСКИ ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КОРНЕЙ И КАЛЛУСА БАРВИНКА МАЛОГО *VINCA MINOR L.* И НАПЕРСТЯНКИ ПУРПУРНОЙ *DIGITALIS PURPUREA L.*

Л.Г. ЛЕШИНА, О.В. БУЛКО

Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, Киев
E-mail: llioshina@ukr.net

Из культуры генетически трансформированных корней и каллусной культуры наперстянки пурпурной и барвинка малого получены растения-регенеранты. Установлено, что органогенез в культуре трансформированных корней этих растений на безгормональной среде происходит спонтанно, но с разной эффективностью. Корни наперстянки в результате прямой регенерации образуют побеги с частотой до 60 %. Для барвинка частота спонтанной регенерации составляет 3,7 %. Добавление к среде В5 1 мг/л БАП, 0,1 мг/л НУК и 5 % сахарозы увеличивает регенерационную способность барвинка до 19,1 %. Установлены морфологические отличия растений-регенерантов от интактных растений, которые характерны для Ri-трансформантов, а именно усиление роста корневой системы, плагиотропность корней, усиленное побегообразование, укорочение междоузлий и изменение листовой пластины.

Ключевые слова: генетически трансформированные корни, hairy roots, регенерация растений, *Vinca minor L.*, *Digitalis purpurea L.*

Введение. На сегодняшний день в культуру *in vitro* введено более 140 видов растений, трансформированных *Agrobacterium rhizogenes*, для большинства из которых получены растения-регенеранты. Трансформанты имеют ряд преимуществ по сравнению с интактными растениями и растениями-регенерантами, полученными иными методами. Так, с помощью спонтанной регенерации побегов из Ri-трансформированных тканей можно получать побеги, минуя стадию каллусообразования, что позволяет избежать соматональной вариабельности. Кроме того, Ri-регенеранты используются при изучении физиологической устойчивости к гербицидам, и из культуры корней можно получить растения, размножение которых затруднено.

Изменение фенотипа трансформантов-регенерантов позволяет применять их в декоративном садоводстве, а регенерационную спо-

собность корней — при создании «искусственных семян» [1, 2].

В результате исследований отмечен ряд сходных черт, которые приобретает большинство растений после Ri-трансформации: 1) морфологические, характеризующиеся карликовым фенотипом, укорочением междоузлий, ветвлением стебля, усилением корнеобразования, изменением формы, размера и цвета листьев и цветков; 2) физиологические, показывающие раннее цветение, большую его продолжительность, снижение фертильности пыльцы, усиленное побегообразование в условиях *in vitro* и *in vivo*; 3) биохимические, заключающиеся в изменении метаболизма растительного организма, вызванном как переносом *rol*-генов, так и введением генов интереса [3–5]. Ранее нами была инициирована культура каллусных клеток наперстянки пурпурной (*Digitalis purpurea L.*) и барвинка малого (*Vinca minor L.*), проведена трансформация этих растений почвенной бактерией *A. rhizogenes*, получены культуры трансгенных корней и методом ПЦР подтверждена их генетическая трансформация [6–8].

Целью настоящей работы являлось изучение спонтанной и индуцированной регенерации наперстянки и барвинка из морфогенных образований в трансгенных корнях и каллусной культуре, а также анализ морфологической изменчивости полученных регенерантов.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили каллусные культуры барвинка малого и наперстянки пурпурной, а также культуры корней, полученные в результате трансформации этих растений *A. rhizogenes*, штамм R-1601 [6–8].

Цитологический анализ образцов проводили на временных неокрашенных влажных препаратах в световом тринокулярном микроскопе KONUS BIOREX-3 со встроенной фотокамерой при увеличении $\times 100$, $\times 400$.

Для получения эмбриоидов использовали корневые инокуляты длиной 0,4–0,5 см и небольшие ($\approx 0,5 \text{ см}^2$) фрагменты каллусной массы, которые переносили на твердую питательную среду МС [9] с половинным содержанием солей азота (МС 1/2N) и на среду Гамборга (B5) [10] с 5%-ным содержанием сахарозы и добавлением 0,7 % агара. Инкубировали в темноте при температуре $26 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Морфогенные образования культивировали в световом блоке при 16-часовом фотопериоде, световой интенсивности 2000–3000 лк и температуре $26 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Культуры поддерживали субкультивированием каждые 25–30 сут.

Действие экзогенных фитогормонов изучали, добавляя в среду для регенерации различные сочетания ауксинов и цитокининов (0,1 мг/л НУК; 1 мг/л НУК; 1 мг/л НУК + 0,1 мг/л БАП; 1 мг/л НУК + 0,1 мг/л кинетин; 0,1 мг/л ИМК; 0,5 мг/л ИМК; 0,1 мг/л ИМК + 0,5 мг/л БАП; 0,4 мг/л ИМК + 0,5 мг/л БАП; 1 мг/л БАП; 1 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК).

Контрольные растения, полученные из семян введением в культуру *in vitro* по стандартной методике, поддерживали субкультивированием каждые 35–40 сут.

Регенерационную способность оценивали по отношению количества корневых инокулятов, на которых образовывались почки, корни или пролиферирующая каллусная масса, к общему их количеству.

Массу растения, площадь листа, форму листовых пластины, длину корней, плагиотропность, размер междоузлий, количество побегов, ветвление стебля анализировали на третьем пассаже, после пересадки апикальной части растения (как опытного, так и контрольного) на 25–30-е сутки. Площадь листа и длину корней вычисляли, как приведено в руководстве [11].

Результаты обработаны статистически по Лакину [12]. Данные в таблице и на диаграмме показаны в виде средних арифметических значений и их стандартных отклонений. Компьютерная обработка данных проведена с помощью программы Excel, стандартного пакета программ Microsoft Office XP («Microsoft», США).

Результаты исследований и их обсуждение. В основе процесса регенерации растения лежит свойство тотипотентности, благодаря которому соматическая клетка в определенных

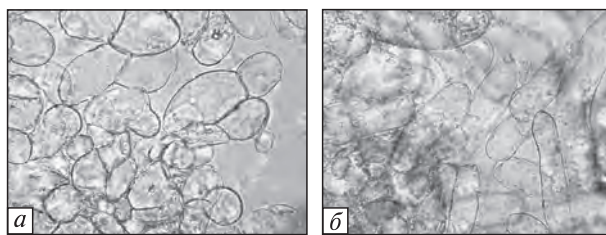


Рис. 1. Клетки культуры каллуса на 25-е сутки культивирования: *a* – барвинок малый; *b* – наперстянка пурпурная

условиях способна полностью реализовать наследственную информацию и обеспечить развитие целого растения. На цитологических препаратах из культуры каллуса мы наблюдали первый этап морфогенеза – первичную специализацию клеток, их цитодифференциацию.

На рис. 1 представлены каллусные клетки обеих культур. Они состоят из зон меристематических клеток и зон вакуолизованных клеток паренхиматозной природы. Основная масса клеток барвинка округлые, неоднородные, в основном меристематические, имеющие плотную клеточную стенку и включения запасных веществ (рис. 1, *a*). Клетки наперстянки также имеют плотную клеточную стенку, ядро, вакуоли, но кроме меристематических округлых, которые в меньшинстве, видны удлиненные паренхимные и большие стареющие прозенхимные клетки (рис. 1, *b*).

В результате дифференциации образуются меристемоподобные очаги, которые приобретают структуру и функции специализированных органов, в нашем случае корней. На цитологических препаратах корней наперстянки и барвинка четко виден осевой (центральный) цилиндр, внутри которого формируются первичные проводящие элементы (рис. 2, *a*, *b*). С цилиндром граничит слой клеток эндодермы с поясками Каспари. Паренхимные клетки мезодермы расположены вдоль проводящих образований (рис. 2, *a*). Из клеток эпibleмы формируются корневые волоски (рис. 2, *b*). Развитие корневой апикальной меристемы показано на рис. 2, *в*. Зона роста представлена меристематическими клетками, способными к постоянному и интенсивному делению.

В ходе наших исследований мы установили, что после трансформации одного и того же

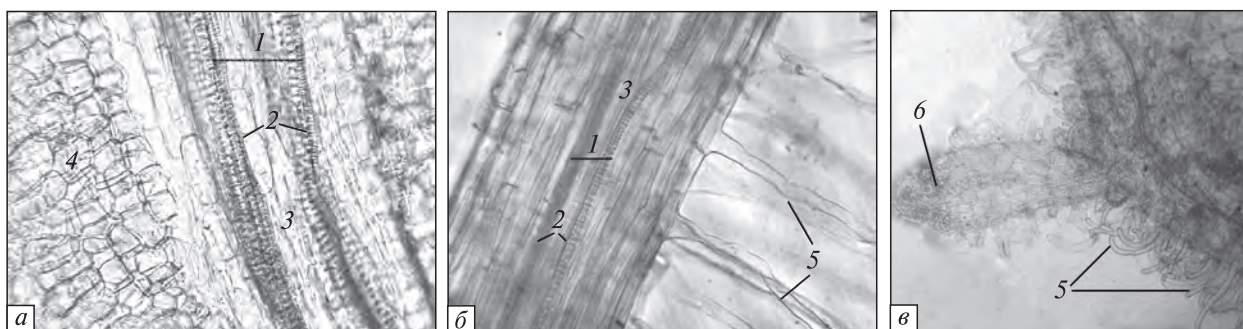


Рис. 2. Строение корня в культуре генетически трансформированных корней: *a* – барвинка малого; *б*, *в* – наперстянки пурпурной; 1 – осевой цилиндр; 2 – эндодерма с поясками Каспари; 3 – проводящие элементы; 4 – клетки мезодермы; 5 – корневые волоски; 6 – апикальная меристема

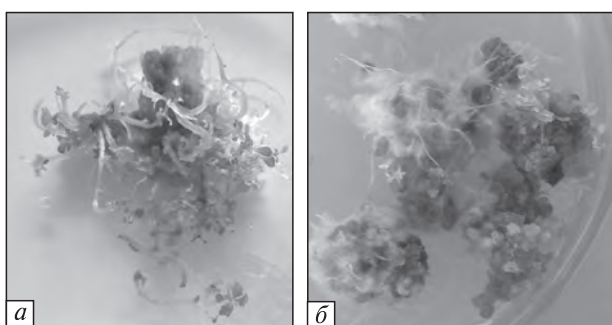


Рис. 3. Регенерация из культуры генетически трансформированного корня наперстянки пурпурной: *a* – побегообразование; *б* – морфогенная дифференциация

растения разными штаммами агробактерии с разной частотой образуются корни различного фенотипа. Так, трансформация *D. purpurea* штаммом R-1601 стимулирует образование пушистых светло-коричневых корней с большим количеством корневых волосков, частота трансформации составляет 85–100 %. Инокуляция штаммом 15834 дает начало появлению тонких, светлых и вытянутых корней с частотой трансформации от 35 до 45 % при культивировании трансгенных корешков в темноте на безгормональной среде В5. На половине корневых эксплантов наперстянки после переноса трансформантов на свет формировались множественные побеги (рис. 3, *a*), 38 % образовали каллус, из клеток которого при дальнейшем пассировании на свету также формировались побеги (рис. 3, *б*), давшие через 30–45 дней после переноса на среду для корнеобразования (МС + 0,1 мг/л НУК) полноценные растения.

Из 21 % листовых и стеблевых эксплантов барвинка на безгормональной среде В5 развивались корни, на некоторых из них формировались спонтанные побеги. Частота побегообразования составляла 3,7 %. Остальная часть эксплантов формировала каллус. Ранее авторами работы [13] было показано образование побегов на корневых инокулятах, полученных после трансформации *V. minor* агробактериальным штаммом DC-AR2, но только на среде с добавлением 1 мг/л НУК. Невысокую интенсивность образования побегов у барвинка можно объяснить видовой спецификой. Трансгенные корни других растений имеют еще более низкую частоту побегообразования, например, у огурца этот показатель составляет лишь 1,6 % [14].

Для усиления регенерационной способности культуры корней барвинка в питательную среду добавляли экзогенные фитогормоны (рис. 4), в качестве основы использовали среду В5 с содержанием сахарозы 5 %. Добавление только ауксина (варианты: 0,1 мг/л НУК; 1 мг/л НУК; 0,1 мг/л ИМК; 0,5 мг/л ИМК) стимулировало ризогенез с единичными случаями побегообразования. Цитокинины в малых количествах не оказывали заметного влияния на корни *V. minor*, а добавление 1 мг/л БАП или 1 мг/л кинетина вызывало потемнение корневых инокулятов и дальнейшую гибель. Сочетание ауксинов и цитокининов стимулировало побегообразование. При добавлении в среду 1 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК у 19,1 % культуры корней появлялись морфогенные образования, которые на свету развивались в полноценные побеги.

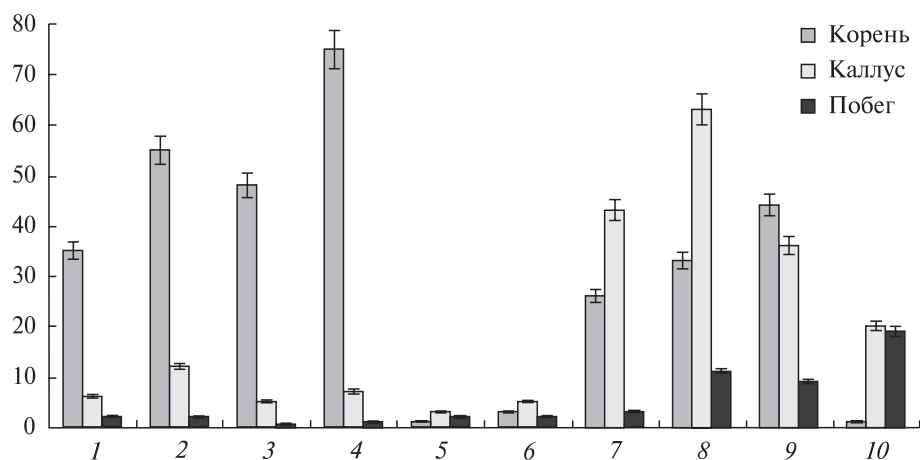


Рис. 4. Влияние экзогенных фитогормонов на регенерацию барвинка малого: по вертикали – корневые инокулянты с реакцией, %; по горизонтали – варианты опыта: 1 – 0,1 мг/л НУК; 2 – 1 мг/л НУК; 3 – 0,1 мг/л ИМК; 4 – 0,5 мг/л ИМК; 5 – 1 мг/л БАП; 6 – 1 мг/л кинетина; 7 – 0,1 мг/л БАП + 1 мг/л НУК; 8 – 0,1 мг/л кинетина + 1 мг/л НУК; 9 – 0,5 мг/л БАП + 0,4 мг/л ИМК; 10 – 1 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК

Полученные в опытах регенеранты пересаживали на среду для укоренения, используя уже испробованные сочетания и концентрации гормонов. Наиболее эффективным оказалось добавление к среде В5 0,5 мг/л ИМК (75 % корнеобразования), 0,5 мг/л БАП + 0,4 мг/л ИМК (64 %) и 1 мг/л НУК (55 %). После укоренения растения поддерживали субкультивированием на среде МС.

Для изучения процесса регенерации из каллусной культуры барвинка использовали каллус, полученный нами ранее [6]. При субкультивировании каллуса на среде МС 1/2N с добавлением 1 мг/л НУК и 5 % сахарозы наблюдали появление биполярной структуры соматического эмбриоида, особенность которого заключалась в том, что корень был сверху, а зеленая часть соприкасалась с каллусными клет-

Морфологические показатели растений-регенерантов *D. purpurea* и *V. minor* в условиях *in vitro* на 25-е сутки культивирования

Признак	<i>D. purpurea</i>			<i>V. minor</i>		
	Контроль	КТК	КК	Контроль	КТК	КК
Масса, г	5,07 ± 0,23	8,45 ± 0,12	6,31 ± 0,13	0,14 ± 0,22	0,22 ± 0,24	0,19 ± 0,18
Площадь листа, см ²	3,63 ± 0,17	2,04 ± 0,24	2,82 ± 0,27	0,46 ± 0,37	0,61 ± 0,36	0,58 ± 0,15
Изменение формы листовой пластины	–	+	–	–	–	–
Длина корня, см	6,51 ± 0,22	11,46 ± 0,21	8,72 ± 0,27	2,61 ± 0,24	6,28 ± 0,11	4,13 ± 0,12
Плагиотропность корней	–	+	–	–	+	–
Воздушные корни	–	+	–	–	+	+
Длина междоузлий, см	–	–	–	1,93 ± 0,27	1,27 ± 0,18	1,31 ± 0,25
Количество побегов, шт.	1,42 ± 0,19	10,29 ± 0,24	4,83 ± 0,14	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0
Ветвление стебля	–	–	–	–	+	+

Примечание. КТК – растение-регенерант из культуры трансформированных корней; КК – растение-регенерант из каллусной культуры. «+» – морфологический фенотип присутствует, «–» – отсутствует.

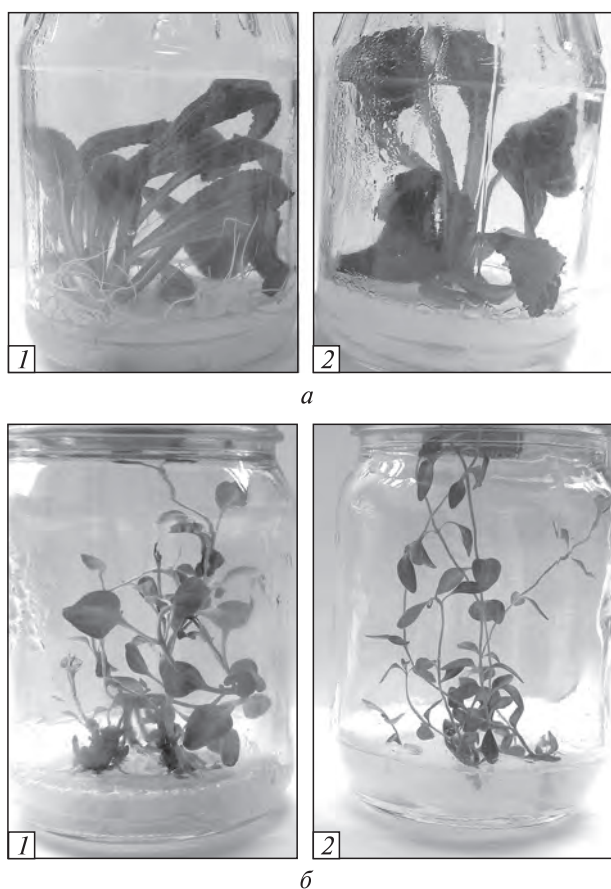


Рис. 5. Морфологические отличия трансформантов от интактных растений в условиях *in vitro*: *a* – наперстянка пурпурная; *b* – барвинок малый; 1 – растение-регенерант; 2 – контрольное нетрансформированное растение

ками. Однако впоследствии после формирования соматического зародыша и отделения его от материнской культуры из него развилось полноценное растение, отличающееся от интактного большей массой, усиленным ветвлением, увеличением листовой пластинки и интенсивным образованием воздушных корней. Подобным образом нами в дальнейшем получены еще ряд растений-регенерантов как соматических эмбриоидов, так и растений, появившихся в результате органогенеза. Все они внешне отличаются от интактных растений. Выявленные морфологические изменения у регенерантов, выращенных *in vitro* (как спонтанных, так и индуцированных), представлены в таблице. Трансформанты наперстянки, полу-

ченные из культуры корней, в отличие от контрольных растений меньше размером, имеют зауженную листовую пластину, множественное побегообразование и большое количество ветвящихся плагиотропных корней, которые растут по стенкам культуральной банки (рис. 5, *a*). Прирост биомассы трансформированных растений связан в основном с увеличением количества боковых корней и интенсивным побегообразованием. Регенеранты из каллусной культуры имеют лишь незначительные морфологические отличия от контрольных растений.

Одним из самых частых морфологических проявлений трансформации растений почвенной агробактерией есть изменение листьев и цветков. Так, при изучении наперстянки шерстистой *D. lanata* в половине случаев наблюдали умеренную морщинистость листьев [15], однако в нашем случае ни у одной линии трансформантов морщинистости не было. Отмечали изменение формы листа за счет его сужения и небольшого скручивания, что описывали и другие авторы [16].

Масса трансформированного барвинка на 37 % превышала массу контрольного растения за счет увеличения размеров листовой пластины и корневой системы (рис. 5, *b*). Корни трансформированного растения были длиннее контрольных в 2–3 раза (таблица). У растений также активно образовывались воздушные корни с множеством корневых волосков, у регенерантов увеличилась площадь листа, но изменения формы пластины не наблюдалось. Характерным отличием было также ветвление стебля и укорочение междоузлий у вегетативных побегов трансформантов.

Морфологические изменения у растений, трансформированных *A. rhizogenes*, многими исследователями объясняются встраиванием в их ядерный геном Т-ДНК, содержащей *rol*-гены. Показано, что экспрессия *rolA*-гена является основным фактором, определяющим морщинистость листьев и уменьшение размера листьев и цветков [17], *rolB*-ген способен индуцировать образование придаточных корней и усиливать развитие меристем [18, 19]. Продукт *rolC*-гена может вызывать карликовость растений в результате снижения апикального доминирования и укорочения междоузлий, уменьше-

ние и изменение листовой пластины и цветков, снижение количества пыльцы [20]. Однако установлено, что трансформированные растения приобретают классический «hairy roots» синдром в результате синергического действия более чем одного *rol*-локуса [18, 21]. Выявлено также, что *rol*-гены могут влиять на метаболизм растительных гормонов и чувствительность клеток к гормонам [22, 23], а это может приводить к спонтанной регенерации и изменению морфологии растения-регенеранта.

Выводы. В результате проделанной работы установлено, что органогенез в культуре трансформированных корней на безгормональной среде происходит спонтанно, но с разной эффективностью. Наперстянка имеет более высокий морфогенетический потенциал, который реализуется через прямую регенерацию побегов с частотой до 60 %, для барвинка частота спонтанной регенерации составляет 3,7 %. Перенос каллуса наперстянки на свет вызывает появление морфогенных образований. Добавление к среде В5 1 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК и 5 % сахарозы увеличивает регенерационную способность культуры трансформированных корней барвинка до 19,1 %. Выращивание каллусных клеток барвинка на среде МС 1/2N с добавлением 1 мг /л НУК и 5 % сахарозы приводит к соматическому эмбриогенезу.

Установлено, что растения-регенеранты из культуры трансгенных корней и культуры каллуса имеют морфологические отличия от интактных растений. У трансформированной наперстянки таковыми являются увеличение побегообразования, уменьшение и сужение листовой пластины, плагиотропность и усиленное развитие корневой системы. У трансформированного барвинка – это усиление корнеобразования и удлинение корня, появление воздушных корней, ветвление стебля, укорочение междоузлий и незначительное увеличение размеров листовой пластины.

Полученные нами результаты подтверждают данные о том, что фенотипические изменения имеют сходные черты у различных видов растений – Ri-трансформантов, различия же могут быть вызваны отличиями в эндогенном гормональном статусе и тем, что каждая исходная клетка, из которой образуется регенерант, имея свою собственную генетическую программу, от-

вечает на эндогенные и экзогенные сигналы специфично.

PLANTS REGENERATION FROM HAIRY ROOTS CULTURES OF PERIWINKLE *VINCA MINOR* L. AND FOXGLOVE PURPLE *DIGITALIS PURPUREA* L.

L. Lioshina, O. Bulko

Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry NAS of Ukraine, Kyiv
E-mail: llioshina@ukr.net

Plants regenerated from hairy roots and calluses of foxglove purple and periwinkle have been obtained. It was found that organogenesis in hairy root culture occurs spontaneously on hormone-free medium but with different efficiencies. The frequency of direct shoot formation from root cultures was up to 60 % in *Digitalis* and 3,7 % in *Vinca*. Addition of 1 mg/l BA, 0,1 mg/l NAA and 5 % sucrose to B5 medium increased regenerative capacity of *Vinca* roots up to 19,1 %. Regenerated plants showed morphological features typically seen in Ri-transgenic systems. They include growth and plagiotropism of the root system, increased shoot formation, changed leaf morphology and short internodes.

РЕГЕНЕРАЦІЯ РОСЛИН ІЗ КУЛЬТУРИ ГЕНЕТИЧНО ТРАНСФОРМОВАНОГО КОРИННЯ БАРВІНКА МАЛОГО *VINCA MINOR* L. І НАПЕРСТЯНКИ ПУРПУРОВОЇ *DIGITALIS PURPUREA* L.

Л.Г. Льошина, О.В. Булко

Із культури генетично трансформованого кореня і калусної культури наперстянки пурпурової та барвінка малого отримано рослини-регенеранти. Встановлено, що органогенез в культурі трансформованого коріння на безгормональному середовищі відбувається спонтанно, але з різною ефективністю. Коріння наперстянки у результаті прямої регенерації утворюють пагони з частотою до 60 %. Для барвінка частота спонтанної регенерації становить 3,7 %. Додавання до середовища В5 1 мг/л БАП, 0,1 мг/л НУК і 5 % сахарози збільшує регенераційну здатність барвінка до 19,1 %. Встановлено морфологічні відмінності рослин-регенерантів від інтактних рослин, що характерні для Ri-трансформантів, а саме збільшення кореневої системи, плагиотропність коріння, посилене пагоноутворення, зміна листової пластины та вкорочення міжвузля.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Kuzovkina I., Schneider B.* Genetically transformed root cultures – generation, properties and application in plant sciences // *Progress in Botany* / Eds K.

- Esser et al. – Berlin : Springer-Verlag, 2006. – 67. – P. 275–314.
2. Кузовкина И.Н., Вдовитченко М.Ю. Генетически трансформированные корни как модель изучения физиологических и биохимических процессов корневой системы целого растения // Физиология растений. – 2011. – 58, № 5. – С. 787–796.
 3. Casanova E., Trillas M.I., Moysset L., Vainstein A. Influence of *rol* genes in floriculture // Biotech. Adv. – 2005. – 23, № 1. – P. 3–39.
 4. Christey M.C., Braun R.H. Production of hairy root cultures and transgenic plants by *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation // Meth. Mol. Biol. – 2005. – 286. – P. 47–60.
 5. Christey M.C. Use of *Ri*-mediated transformation for production of transgenic plants // In Vitro Cell Dev. Biol. Plant. – 2001. – 37. – P. 687–700.
 6. Лешина Л.Г., Булко О.В., Галкин А.П. Отримання і характеристика калусної і суспензійної культури барвінка малого *Vinca minor* // Фактори експериментальної еволюції організмів. – К.: Логос, 2009. – Т. 7. – С. 161–166.
 7. Лешина Л.Г. Особливості культивування і ростові характеристики калусної та суспензійної культури клітин *Digitalis purpurea* L. // Физиология растений: проблемы та перспективи розвитку – К.: Логос, 2009. – Т. 2. – С. 607–612.
 8. Лешина Л.Г., Булко О.В. *Agrobacterium rhizogenes*-опосредованная трансформация и регенерация двух видов растений из семейства *Aposynaceae* // Физиология та біохімія культур. рослин. – 2011. – 43, № 6. – С. 533–539.
 9. Murashige I., Scoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – 15, № 3. – P. 473–497.
 10. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. – 1968. – 46, № 5. – P. 417–421.
 11. Марковская Е.Ф., Сысоева М.И., Трофимова С.А., Курец В.К. Математические методы определения некоторых биометрических показателей у растений. – Петрозаводск, 1988. – 35 с.
 12. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
 13. Tanaka N., Takao M., Matsumoto T. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation and regeneration of *Vinca minor* L. // Plant Tissue Cult. Lett. – 1994. – 11, № 3. – P. 191–198.
 14. Feng B., Zhao C.H., Wang G.L. Transformation of *Cucumis sativus* by *A. rhizogenes* and regeneration of transformed hairy root // J. Liaoning Norm. Univ. – 2000. – 23. – P. 171–174.
 15. Pradel H., Dumke-Lebmann U., Dietrich B., Luckner M. Hairy root cultures of *Digitalis lanata*. Secondary metabolism and plant regeneration // J. Plant Physiol. – 1997. – 151. – P. 209–215.
 16. Koga M., Hirashima K., Nakahara T. The transformation system in foxglove (*Digitalis purpurea* L.) using *Agrobacterium rhizogenes* and traits of the regenerants // Plant Biotechnol. – 2000. – 17, № 2. – P. 99–104.
 17. Sinkar V.P., White F.F., Nester E.W., Gordon M.P. *rolA* locus of the *Ri* plasmid directs developmental abnormalities in transgenic tobacco plants // Genes Dev. – 1988. – 2. – P. 688–697.
 18. Schmiilling T., Schell J., Spena A. Single genes from *Agrobacterium rhizogenes* influence plant development // EMBO J. – 1988. – 7. – P. 2621–2629.
 19. Koltunow A.M., Johnson S.D., Lynch M. Expression of *rolB* in apomictic hieracium piloselloides vill. Causes ectopic meristems in planta and changes in ovule formation, where apomixis initiates at higher frequency // Planta. – 2001. – 214. – P. 196–205.
 20. 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 Cell. Dev. Biol. – 2004. – 40. – P. 46–50.
 21. Spena A., Schmiilling T., Koncz C., Schell J.S. Independent and synergistic activity of *rolA*, *B* and *C* loci in stimulating abnormal growth in plants // EMBO J. – 1987. – 6, № 13. – P. 3891–3899.
 22. Binns A.N., Costantino P. The *Agrobacterium* oncogenes // The Rhizobiaceae. – Dordrecht : Kluwer Press, 1998. – P. 251–266.
 23. Meyer A.D., Tempé J., Costantino P. Hairy root : A molecular overview. Functional analysis of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA genes // Plant-microbe interactions. – St. Paul : APS Press, 2000. – P. 93–139.

Поступила 06.11.12