

## NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 2, Number 320 (2017), 71 – 77

**A. K. Daurova, D. L. Daurov, K. K. Zhapar,  
D. V. Volkov, K. Zh. Zhambakin, M. Kh. Shamekova**

Institute of plant biology and biotechnology, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: ai\_ken.89@mail.ru

## PRODUCTION OF TRANSGENIC SWEET POTATO PLANTS WITH *DREB1A* GENE

**Abstract.** In this work presents the method for obtaining resistant to abiotic factors of sweet potato plants using Agrobacterium-mediated transformation. To date, the most successful among the various gene transfer strategies is the Agrobacterium-mediated transformation method. The best explant for genetic transformation of sweet potato was petiole 4 weeks old. During the optimization of the medium for regeneration, it was found that the MS medium containing auxin and cytokinin (NAA 1 mg/l Kinetin 1 mg/l) yielded higher regeneration than only cytokinin (BAP 1 mg/l). As a result of experiments on the Agrobacterium-mediated transformation of leaf discs, petiole and internode sweet potato using construct containing a target gene in *DREB1A 35S*, it was produced transgenic plants.

**Key words:** sweet potato, Agrobacterium-mediated transformation, *DREB1A*, explant, transgenic plant.

УДК 573.6.086.83 :577.21

**А. К. Даурова, Д. Л. Дауров, К. К. Жапар,  
Д. В. Волков, К. Ж. Жамбакин, М. Х. Шамекова**

РГП на ПХВ «Институт биологии и биотехнологии растений», Алматы, Казахстан

## ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ СЛАДКОГО КАРТОФЕЛЯ С ГЕНОМ *DREB1A*

**Аннотация.** В работе представлен метод получения устойчивых к абиотическим факторам растений сладкого картофеля с использованием агробактериальной трансформации. На сегодняшний день наиболее успешным среди различных стратегий переноса генов является агробактериальный метод трансформации. Наилучшим эксплантом для генетической трансформации батата являлся черешок 4-х недельного возраста. При проведении оптимизации питательной среды для регенерации, было установлено, что среда MS с добавлением ауксинов и цитокининов (НУК 1 мг/л и кинетин 1 мг/л) даёт более высокую регенерацию, чем среда только с цитокинином (БАП 1 мг/л). В результате экспериментов по агробактериальной трансформации листовых дисков, черешков и междоузлия сладкого картофеля с использованием конструкции, содержащей в качестве целевого гена *DREB1A 35S*, созданы трансгенные растения.

**Ключевые слова:** сладкий картофель, агробактериальная трансформация, *DREB1A*, эксплант, трансгенное растение.

**Введение.** Батат, сладкий картофель (лат *Ipomoea batatas*) выращивается в более чем в 100 странах в качестве ценного источника пищи, корма и промышленного сырья. Примерно 98,5% годового мирового производства производится в развивающихся странах, в Азии и странах

Африки к югу от Сахары (Данные FAOSTAT). Для Казахстана сладкий картофель может стать дополнительным диетическим продуктом, который расширит ассортимент для здорового и детского питания. Поскольку общеизвестно, что его клубни имеют такие полезные свойства как предупреждение заболеваний желудочно-кишечного тракта, как витаминное и общеукрепляющее средство. Батат теплолюбив и нормально растёт и развивается при температуре не ниже 20°C, оптимально 25–30°C [1].

Среди комплексных мер по повышению продуктивности важная роль принадлежит культивированию сельскохозяйственных растений с повышенной способностью успешно сопротивляться влиянию низких температур. Такие растения способны давать высокий стабильный урожай. Устойчивость растений к низким температурам подразделяют на холодостойкость и морозоустойчивость. Холодостойкость растений – способность теплолюбивых растений переносить низкие положительные температуры. Теплолюбивые растения сильно страдают при положительных пониженных температурах. Внешними симптомами страдания растений являются увядание листьев, появление некротических пятен. Морозоустойчивость растений – способность растений переносить отрицательные температуры. Двулетние и многолетние растения, растущие в умеренной полосе, периодически подвергаются воздействию низких отрицательных температур. Разные растения обладают неодинаковой устойчивостью к этому воздействию [2].

Причины повреждения и гибели растений под действием пониженных температур различны: увеличение проницаемости мембран, разобщение окислительного фосфорилирования и дыхания, фотосинтетического фосфорилирования и темновой фазы фотосинтеза, нарушение белкового синтеза и накопление токсичных веществ [3, 4].

Стандартные методы селекции демонстрируют ограниченную успешность при получении холодоустойчивых сельскохозяйственных растений, поскольку для большинства чувствительных к холоду растений возникает необходимость в межвидовой или даже в межродовой гибридизации.

Генная инженерия представляет собой наиболее эффективный подход для увеличения толерантности растений к биотическим и абиотическим факторам, которые позволят не только переносить целевые гены из одних организмов в другие, но и направленно регулировать экспрессию собственных генов растений, комбинируя различные транскрипционные промоторы и трансляционные энхансеры [5-7].

В настоящее время проблема повышения холодоустойчивости растений решается различными генно-инженерными методами, наиболее действенным среди которых следует признать получение трансгенных растений, конститутивноэкспрессирующих ряд белков, имеющих отношение к холодовой адаптации растений. В числе этих белков нужно назвать ряд транскрипционных факторов (*CBF1/DREB1a*, *Thp1*, *MYBS3*, *ZAT12*, *HOS10*, *abi3*) [8].

Введение чужеродных генов в растения через генетическую трансформацию является весьма перспективным дополнением традиционной селекции. Использование агробактериальной трансформации остается наиболее успешным среди различных стратегий переноса генов, так как при этом не требуется сложного оборудования; и этот метод обладает большей возможностью для получения ожидаемого результата, чем альтернативный биобаллистический метод трансформации [9, 10].

Сладкий картофель – новая сельскохозяйственная культура в Республики Казахстан, который может стать существенным дополнением в рационе здорового и диетического питания в республике. В связи с этим создание устойчивых к биотическим и абиотическим факторам сортов сладкого картофеля могут далее использоваться в селекционном процессе для создания новых сортов и гибридов для повышения урожайности при возделывании в различных регионах Казахстана.

**Методы исследования.** Исходным материалом для трансформации служили 3 линии сладкого картофеля полученные из департамента Системы Инжиниринга Растений, Корейского Института Биологии и Биотехнологии.

Конструкция, содержащая ген *DREB1A* – любезно предоставлена автором конструкции Карповой О.В. и др.

Экспланты нарезали на сегменты размером приблизительно 0,3–0,5×0,3–0,5 см и выдерживали, периодически перемешивая в течение получаса в подготовленной агробактериальной суспензии. Затем, подсушивали фильтровальной бумагой и переносили в те же чашки Петри.

Культивирование продолжалось в течение 2 суток на свету в условиях термальной комнаты. После этого экспланты отмывали, подсушивали и переносили на агаризованную среду для каллусообразования (MS [11] с добавлением 1 мг/л 2,4Д, 1 мг/л ИУК и 500 мг/л Цефотаксима для элиминации бактерий. Через 5–7 суток культивирования в условиях термостата (24°C) их пассировали на среду того же состава. Формирование каллуса при этом продолжалось на свету в течение следующих 7–10 дней. Для регенерации использовали две среды MS с добавлением 1 мг/л БАП и MS с добавлением НУК 1 мг/л и кинетина 1 мг/л с пониженным содержанием антибиотика 250 мг/л цефотаксима. Спустя 4 недели сформировавшиеся зеленые побеги пересаживали на безгормональную среду MS с канамицином 80 мг/л, а остальные каллусы пассировали снова на среду того же состава. Формирование корней происходило в этих условиях без дополнительной инициации.

Культуру агробактерии наращивали в 5 мл жидкой среде LB, дополненной 100 мг/л канамицина, на качалке при 180 об/мин в течение 24 часов при 29°C в темноте. Затем ночную культуру центрифугировали при 3000 оборотах в минуту в течение 10 мин при температуре 4°C, ресуспендировали до  $O.P.=0,6$  в жидкой среде MS с добавлением ацетосирингона 250 мкМ, инкубировали 1 ч в темноте при 4°C и полученную суспензию использовали для инфицирования.

Для подтверждения вставки целевого гена из этих растений была выделена ДНК (с помощью метода СТАВ) и проведен ПЦР анализ. Для амплификации фрагмента гена длиной 800 п. н. использовали праймеры *DRIA*: 5' – TGATCCATGG ACTCATTTTC TGCT – 3'; *TMV-AS*: 5' – AATCCGTTAT TTATTATGCA TCTTGACTAC – 3'. Для реакционной смеси брали 100 нг геномной ДНК каждого образца, по 0,1 мкМ каждого из праймеров, 0,2 мкМ *dNTP*, 0,05 единицы (*u*) *Taq* полимеразы. Общий объем смеси составлял 20 мкл. Программа амплификации: денатурация 94 °C, 15 мин; 35 циклов – 57 °C, 1 мин; 72 °C, 1 мин; 94 °C, 1 мин; заключительный цикл – 5 мин при 72 °C. Продукты ПЦР анализировали при помощи электрофореза в 1% агарозном геле в TBE (Трис-боратный электродный) буферной системе.

**Результаты исследования.** Для получения устойчивых к низким температурам растений сладкого картофеля использовали ген транскрипционного фактора (ТФ) *DREB1A*. *DREB1A* относится к субсемейству *DREB*, впервые был обнаружен у модельного объекта *Arabidopsis thaliana* L. Гены кодирующие *DREB1A* индуцируются пониженной температурой. Существует два предположения о возможной регуляции активности *DREB1A*: влияние на стабильность белка со стороны других факторов и возможное фосфорилирование аминокислотных остатков. Фосфорилирование активирует белки транскрипционных факторов, экспрессирующихся на конститутивном уровне, которые связываются с цис-элементами других ТФ и активируют их. В конечном итоге продукты генов-мишеней приводят к развитию устойчивости. Экспрессия гена *DREB1A* индуцируется через 10-15 минут после начала действия холода, достигает максимума через 2-3 часа и возвращается к начальному уровню через 24 часа [12].

Согласно литературным данным, для трансформации сладкого картофеля наиболее эффективными эксплантами являются листовые диски, черешки и междоузлие [13]. В нашем эксперименте мы использовали 4-хнедельные регенеранты сладкого картофеля, полученные из апикальных меристем, из которых были взяты вышеуказанные экспланты для инокуляции в агробактериальной суспензии (рисунок 1).

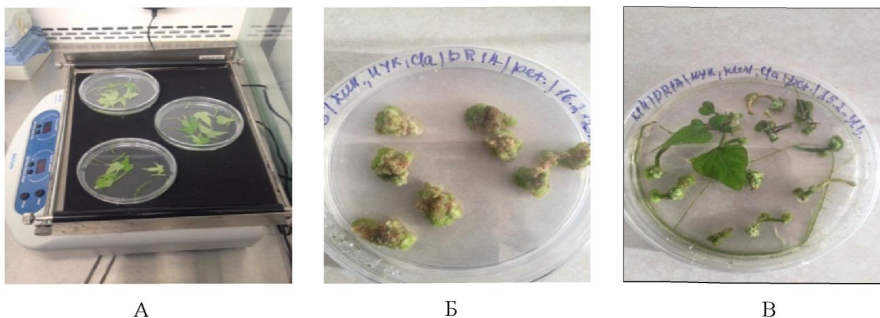


Рисунок 1 – Трансформация батата.  
А – инфицирование эксплантов; Б – образовавшиеся трансгенные каллусы после 3 недель;  
В – регенерация из каллусов после 4 недель

В ходе экспериментов по трансформации использовались листовые диски, черешки и междоузлия растений полученные в культуре изолированных меристем. Агробактерия содержала генетическую конструкцию *DREB1A* с *35S* промотером. В результате их кокультивирования было получено 12 регенерантов сладкого картофеля, которые были пересажены на селективную питательную среду с канамицином 80 мг/л (рисунок 2). В условиях *invitro* различий в темпах роста, укоренения, размерах растений исходных и трансформированных линий выявлено не было.



Рисунок 2 – Трансформированные регенеранты батат на селективной среде с канамицином

Результаты культивирования *invitro* представлены в таблице. Следует отметить, что практически все культивируемые экспланты показали высокую степень каллусогенеза. Однако процесс регенерации происходил из единичных каллусов. На процесс регенерации существенно влияет содержание ауксинов в питательной среде. Так, в результате эксперимента регенерация растений из каллусов происходила только на питательной средесодержащая гормоны НУК 1 мг/л и кинетин 1 мг/л (ауксин и цитокинин), а на питательной среде с БАП 1 мг/л (только цитокинин), регенерации растений не происходило. В связи с чем, данные в таблице приведены только по одной питательной среде с ауксином.

Поскольку в трансформированной конструкции содержится ген устойчивости к антибиотику канамицину, отбор трансформированных регенерантов проводился на среде с канамицином (80 мг/л). После скрининга, из предположительно трансгенных 12 растений-регенерантов выжило 2 растения (таблица).

Получение трансформированного сладкого картофеля

Наименование линии	Экспланты	Количество трансформированных каллусов	Получено регенерантов	Выжилорегенерантов после скрининга на канамицине
К 14	Листовые диски	36	3	–
	Черешки	22	4	1
	Междоузлия	24	2	
К 12	Листовые диски	54	–	–
	Черешки	33	3	1
	Междоузлия	36	–	
К 5	Листовые диски	19	–	–
	Черешки	12	–	–
	Междоузлия	12	–	–

На рисунке 2 представлены результаты анализа регенерантов, полученных в процессе кокультивирования с агробактерией. Как видно из рисунка только выжившие при канамицине растения показали наличие вставки целевого гена *DREB1A* (рисунок 2).

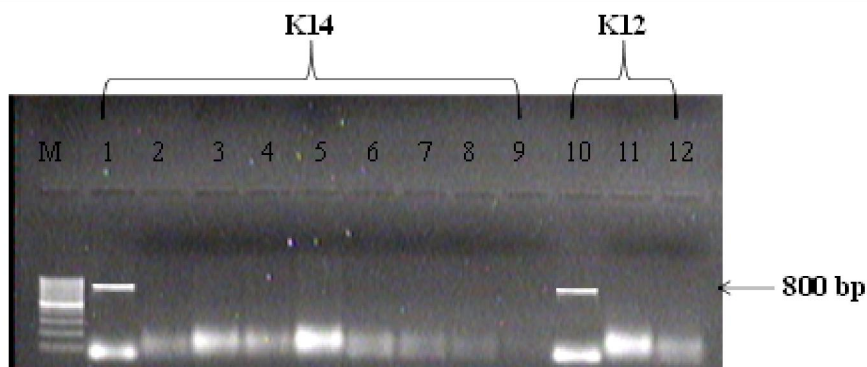


Рисунок 2 – Результаты электрофореза в 1,2 %-ном агарозном геле ДНК-продуктов, полученных методом ПЦР с использованием гена *DREB1A*: М – маркер, 1000 бп; дорожки: 1, 10 – трансгенные регенеранты; дорожки: 2-9, 11, 12 – регенеранты не являющимся трансгенами

Таким образом, в результате проведенных экспериментов, получено два трансформированных растения сладкого картофеля. Следует отметить, что до настоящего времени экспрессия гена транскрипционного фактора *DREB1A* была изучена только в таких растениях как рапс, табак и рис [14, 15]. В последующих экспериментах нам необходимо изучить степень экспрессии гена *DREB1A* в полученных трансгенных растениях сладкого картофеля. А именно, выяснить насколько повышается холодоустойчивость полученных нами трансформированных линий сладкого картофеля.

**Выводы.** Результаты агробактериальной трансформации сладкого картофеля показали, лучшим эксплантом для генетической трансформации батата является черешок 4-х недельного возраста. При проведении оптимизации питательной среды для регенерации, было установлено, что среда MS с добавлением ауксинов и цитокининов (НУК 1 мг/л и кинетин 1 мг/л) даёт более высокую регенерацию, чем среда только с цитокинином (БАП 1 мг/л).

В результате экспериментов по агробактериальной трансформации листовых дисков, черешков и междоузлия сладкого картофеля с использованием конструкции, содержащей в качестве целевого гена *DREB1A35S*, созданы трансгенные растения. Полученные линии могут быть использованы в качестве исходного материала в селекции холодоустойчивого сладкого картофеля.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] H. R. Luo, M. Santa maria<sup>1</sup>, J. Benavides, D. P. Zhang, Y. Z. Zhang and M. Ghislain. Rapid genetic transformation of sweetpotato (*Ipomoea batatas*(L.) Lam) via organogenesis// African journal of biotechnology, 2006, 5 (20). – P. 1851-1857. ISSN 1684-5315
- [2] Stacy Winfield, Rodrick Lawtoni, Henry Daniell, and Sarwan K. Dhir. Transformation of sweet potato tissues with green-fluorescent protein gene// In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant, 2001, 37.– P. 648-653. DOI:10.1079/IVP2001208
- [3] Trischuk R.G., Schilling B.S., Wisniewski M., Gusta L.V. Freezing stress: Systems biology to study cold tolerance, “Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants// Springer, 2006. – P. 131-155.
- [4] Maruyama K., Takeda M., Kidokoro S., Yamada K., Sakuma Y., Urano K., Fujita M., Yoshiwara K., Matsukura S., Morishita Y., Sasaki R., Suzuki H., Saito K., Shibata D., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Metabolic pathways involved in cold acclimation identified by integrated analysis of metabolites and transcripts regulated by DREB1A and DREB2A// Plant Physiology, 2009, 150.– P. 1972-1980.
- [5] Sanghera G.S., Wani S.H., Hussain W., Singh N.B. Engineering cold stress tolerance in crop plants// Current Genomics, 2011, 12. – P.30-43.
- [6] Hye Jin Choi, Thummala Chandrasekhar, Hyo-Yeon Lee, Kyung-Moon Kim. Production of herbicide-resistant transgenic sweet potato plants through *Agrobacterium tumefaciens* method// Plant Cell Tiss Organ Cult., 2007, 91. – P.235-242. DOI 10.1007/s11240-007-9289-1
- [7] Guo-qing song, hideohonda, and ken-ichiyamaguchi. Efficient *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) From stem explants using a two-step kanamycin-hygromycin selection method// In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant, 2004, 40. – P.359-365. DOI: 10.1079/IVP2004539
- [8] Я.С. Колодяжная, Н.К. Куцоконь, Б.А. Левенко, О.С. Сютикова, Д.Б. Рахметов, А.В. Кочетов. Трансгенные растения толерантные к абиотическим стрессам. 2009. №2. С. 72-93
- [9] Maria I.C.S. Gama, Rui P. Leite JR., Antonio R. Cordeiro & Daniel J. Cantliffe. Transgenic sweet potato plants obtained by *Agrobacterium tumefaciens* -mediated transformation// Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1996, 46.– P.237-244.

- [10] D. Sihachakr, R. Haicour, J.M. CavalcanteAlves, I. Umboh, D. Nzoghe, A. Servaes& G. Ducreux. Plant regeneration in sweet potato (*Ipomoea batatas*L., Convolvulaceae), *Euphytica*, 1997, 96.–P.143-152.
- [11] Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol Plant*, 1962, 15.– P.473–497
- [12] Lee S.C., Won H.K., An K., An G., Kim S.R. Ectopic expression of a cold-inducible transcription factor, *CBF1/DREB1b*, in transgenic rice (*Oryza sativa* L.), *Mol. Cells.*, 2004, 18.– P.107-114.
- [13] Otani, M., Wakita, Y. and Shimada, T. Genetic transformation of sweet potato (*ipomoea batatas* (l.) lam.) by *agrobacterium tumefaciens*, *Acta Hort. (ISHS)*, 2001, 560.– P.193-196. DOI: 10.1007/BF00235252
- [14] Е.А. Шадьмова, А.М. Писаренко, Р.М. Наргилова, О.В. Карпова, Б.К. Исаков. Получение генетически модифицированных растений табака *Nicotianatabacum*с повышенной толерантностью к пониженным температурам // Вестник КазНУ. Серия биология, 2014, 1/2 (60):391-394
- [15] Р.М. Наргилова, О.В. Карпова, А.М. Писаренко, Б.К.Исаков. Трансляция *in vitro* синтетических мРНК *HvNHX3*, *AtDREB1A* и *AtDREB2A*, Вестник КазНУ. Серия биология. 2013. №3/1(59).С.149-152

#### REFERENCES

- [1] H. R. Luo, M. Santa maria1, J. Benavides, D. P. Zhang, Y. Z. Zhang and M. Ghislain. Rapid genetic transformation of sweetpotato(*ipomoea batatas*(l.) Lam) via organogenesis, *African journal of biotechnology*, 2006, 5 (20):1851-1857. ISSN 1684–5315(in Eng)
- [2] Stacy Winfield, RodrickLawtoni, Henry Daniell, and SarwanK. Dhir. Transformation of sweet potato tissues with green-fluorescent protein gene, *In Vitro Cell. Dev. Biol.ÐPlant*, 2001,37:648-653. DOI:10.1079/IVP2001208(in Eng)
- [3] TrischukR.G., SchillingB.S., WisniewskiM., GustaL.V. Freezingstress: Systemsbiologytostudycoldtolerance, “Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants”, Eds.: K.V. MadhavaRao, A.S. Raghavendra and K. Janardhan Reddy, Netherlands: Springer, 2006:131-155.(in Eng)
- [4] Maruyama K., Takeda M., Kidokoro S., Yamada K., Sakuma Y., Urano K., Fujita M., Yoshiwara K., Matsukura S., Morishita Y., Sasaki R., Suzuki H., Saito K., Shibata D., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Metabolic pathways involved in cold acclimation identified by integrated analysis of metabolites and transcripts regulated by DREB1A and DREB2A, *Plant Physiology*, 2009, 150:1972-1980.(in Eng)
- [5] Sanghera G.S., Wani S.H., Hussain W., Singh N.B. Engineering cold stress tolerance in crop plants, *Current Genomics*, 2011,12:30-43.(in Eng)
- [6] Hye Jin Choi ,Thummala Chandrasekhar, Hyo-Yeon Lee, Kyung-Moon Kim. Production of herbicide-resistant transgenic sweet potato plants through *Agrobacterium tumefaciens* method, *Plant Cell Tiss Organ Cult.*, 2007, 91: 235-242. DOI 10.1007/s11240-007-9289-1(in Eng)
- [7] Guo-qing song, hideohonda, and ken-ichiyamaguchi. Efficient *agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of sweet potato (*ipomoea batatas* (l.) Lam.) From stem explants using a two-step kanamycin–hygromycin selection method, *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*, 2004, 40:359-365. DOI: 10.1079/IVP2004539(in Eng)
- [8] Y.S. Kolodyazhnaya, N.K. Kutsokon, B.A. Levenko, O.S. Cyutikova, D.B. Rakhmetov, A.V. Kochetov. Transgenic plants tolerant to abiotic stresses, *Citology and Genetics*, 2009, 2:72-93 (in Rus)
- [9] Maria I.C.S. Gama, Rui P. Leite JR., Antonio R. Cordeiro& Daniel J. CantliffeCenargen/Embrapa C.I. Transgenic sweet potato plants obtained by *Agrobacterium tumefaciens* -mediated transformation, *Plunt Cell, Tissue and Organ Culture*, 1996, 46:237-244.(in Eng)
- [10] D. Sihachakr, R. Haicour, J.M. CavalcanteAlves, I. Umboh, D. Nzoghe, A. Servaes& G. Ducreux. Plant regeneration in sweet potato (*Ipomoea batatas*L., Convolvulaceae), *Euphytica*, 1997, 96:143-152. (in Eng)
- [11] Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol Plant*, 1962, 15:473–497(in Eng)
- [12] Lee S.C., Won H.K., An K., An G., Kim S.R. Ectopic expression of a cold-inducible transcription factor, *CBF1/DREB1b*, in transgenic rice (*Oryza sativa* L.), *Mol. Cells.*, 2004.,18:107-114.(in Eng)
- [13] Otani, M., Wakita, Y. and Shimada, T. Genetic transformation of sweet potato (*ipomoea batatas* (l.) lam.) by *agrobacterium tumefaciens*, *Acta Hort. (ISHS)*, 2001,560:193-196. DOI: 10.1007/BF00235252(in Eng)
- [14] Y.A. Shadyмова, А.М. Писаренко, R.M. Nargilova, O.V. Karpova, B.K. Isakov. Obtaining genetically modified tobacco plant *Nicotianatabacum* with increased tolerance to low temperatures, *KazNU Bulletin. Biology series*, 2014, 1/2 (60):391-394 (in Rus)
- [15] M. Rufina Nargilova, Oxana V. Karpova, Alyona M. Pissarenko, Bulat K. Isakov. Elaboration of technology for obtaining of genetically modified canola plants, *KazNU Bulletin. Biology series* 2013, 3/1(59):149-152 (in Rus)

**А. К. Даурова, Д. Л. Дауров, Қ. Ж. Жапар,  
Д. В. Волков, Қ. Ж. Жамбакин, М. Х. Шамекова**

РМК шаруашылық жүргізу құқығындағы «Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты»,  
Алматы, Қазақстан

### ***DREB1A* ГЕНІМЕН ТӘТТІ КАРТОПТЫҢ ТРАНСГЕНДІ ӨСІМДІГІН АЛУ**

**Аннотация.** Жұмыста агробактериалық трансформацияны қолдану арқылы абиотикалық факторларға төзімді тәтті картоп өсімдігін алу әдісі ұсынылған. Қазіргі таңда гендерді тасымалдау әр түрлі стратегиясы ішінде ең жетістіктісі болып келеді. Тәтті картоптың генетикалық трансформация сы үшін ең жетістіктісі 4 апталық эксплант. Регенерация үшін қолайлы коректіе ортаны оңтайландыру кезінде ауксин және цитокинин қосылған MS (НСҚ 1 мг/л және кинетин 1 мг/л) тек қана цитокинин (БАП 1 мг/л) бар коректік ортаға қарағанда жоғары регенерация көрсеткен. Тәтті картоптың жапырақ дисктерін, сабын және буынаралықтарын *DREB1A 35S* гені бар конструкция көмегімен өткізілген агробактериалық трансформация тәжірибесі нәтижесінде трансгенді өсімдіктері алынған.

**Түйін сөздер:** тәтті картоп, агробактериалық трансформация, *DREB1A*, эксплант, трансгенді өсімдік.

#### **Сведения об авторах:**

Даурова А.К. – магистрант КазНАУ, Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Қазақстан, ai\_ken.89@mail.ru, 3947267

Дауров Д.Л., магистрант КазНАУ, Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Қазақстан, dias.daurov@mail.ru, 3947267

Жапар Қ.Ж., докторант КазНАУ, Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Қазақстан, zhapar.zk@gmail.com, 3947267

Волков Д.В., магистр, Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Қазақстан, spiritdem@gmail.com, 3947267

Жамбакин Қ.Ж., д.б.н. профессор, член.корр. НАН РК, Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Қазақстан, zhambaki@mail.ru, 3947267

Шамекова М.Х., PhD, ассоц.профессор, Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Қазақстан, shamekov@gmail.com, 3947267