

С.С. Беккужина, А.О. Рахимжанова  
А.К. Талканбаева, Ш. А. Манабаева

Национальный центр биотехнологии КН МОН РК, Казахстан, г. Нур-Султан,  
(E-mail: manabayeva@biocenter.kz)

## Индукция каллусогенеза в культуре изолированных семян *Cistanche Deserticola*

**Аннотация.** Цистанхе (*C. deserticola*) относится к числу ценных технических растений флоры Казахстана. Ценность цистанхе обусловлена высоким содержанием в столонах различных полисахаридов, иридоидов, и других биологически активных веществ, которые в восточных странах широко используется, как исходное сырье для производства множества фармакологически активных соединений широкого спектра действия: повышения тонуса, потенции, антиоксидантной активности. Однако, к настоящему времени природные запасы цистанхе существенно истощены, что делает актуальным как проблему сохранения этого вида, так и поиск источников для получения биологически активных веществ. Известно, что культура клеток высших растений является альтернативным способом получения биомассы редких растений. В данной работе приведены результаты работ по оптимизации методов получения каллусных культур клеток из семян *C. deserticola*. Изучены ростовые характеристики, отобранных линий каллусных культур клеток цистанхе. Отмечены их отличительные особенности по гетерогенности и цвету, что служит доказательством синтеза различных вторичных метаболитов. Установлено, что предлагаемая методика получения каллусных культур клеток цистанхе достаточно эффективна.

**Ключевые слова:** цистанхе, *Cistanche deserticola*, гетерогенность культуры каллусов, культура клеток, фитогормоны.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2020-133-4-44-52>

*Работа выполнена при финансовой поддержке МОН РК (BR05236334 - Создание суспензионной культуры цистанхе пустынной (*Cistanche deserticola*) с целью получения веществ с биологической активностью»)*

**Введение.** Флора Казахстана является ценным и уникальным источником биологически активных веществ (БАВ), из 6000 видов растений 667 эндемики. Цистанхе солончаковая *Cistanche salsa*, произрастающая в пустыне содержит в 5 раз больше БАВ, чем женьшень [1, 2], и заслуженно называется казахстанским женьшенем или женьшень пустыни (Yong Jiang, Peng-Fei Tu, 2009) [3]. Ценность цистанхе обусловлена высоким содержанием в столонах различных полисахаридов, иридоидов, и других биологически активных веществ, которые в развитых странах широко используется как исходное сырье для производства множества фармакологически активных соединений широкого спектра действия т.д. [4].

В 2000 году цистанхе включили в Красную книгу Китая, с 2005 года заготовка цистанхе без контроля запрещена в России. Однако, без систематизации заготовок и научного подхода запасы растения со временем могут быть исчерпаны, как это произошло в Китае.

В Казахстане, ботаническая характеристика, а также ценные биохимические свойства цистанхе описаны в работах Каржаубековой Ж.Ж. с соавторами [5], лекарственное описание детально изучается в работах Сарсембаева К.Н., Г.Т. Барамысовой [6, 7] начались работы по разработке технологий получения гранул из экстракта цистанхе [1]. Фармакологические исследования детализируют, как фармацевтические ценные свойства, так и биохимические *Cistanche Deserticola* [8, 9].

В связи с ростом спроса мирового рынка на биологически активные вещества, получение ценных веществ вторичного синтеза методами культуры клеток и тканей является одним из альтернативных способов. Преимущества использования культуры клеток и тканей растений хорошо описаны еще в 1990-х годах [10, 11].

В настоящее время акцентируется внимание на возможности коммерческого успеха, и на должном уровне ведутся работы в мировой практике. В обзоре А.М. Носова [12] детально обсуждается, как преимущества, так и возможности коммерциализации получения веществ вторичного синтеза в культуре *in vitro*. Например, гарантированное получение растительной биомассы любого вида растений с заданными характеристиками независимо от сезона, климатических и погодных условий; высокие скорости получения биомассы, отсутствие в биомассе пестицидов, гербицидов, радиоактивных соединений и других поллютантов.

Однако рост и прирост клеток к культуре *in vitro* имеет и недостатки, например, недостаточный объем целевого продукта для эффективного производства, чувствительность клеток к механическим воздействиям и т.д., но есть успешные работы по получению фенольных соединений, алкалоидов, изопреноидов. Достигнуты успехи по конечному выходу биомассы в культуре *in vitro*, например, из стеблевых эксплантов цистанхе 9,29 г сухого веса на литр суспензионной культуры, где содержание эхинацеиды 12,14%, и астеозида 2,17%. При добавлении метилового жасмоната 200 мкм отмечено, что выход продукта в 2 раза выше, чем у дикого растения. Показано, что на повышение эффективности выхода PhGs положительно влияет и гидролизат казеина [13].

Синтез вторичных метаболитов в культуральных условиях происходит в гетерогенной клеточной системе. В одних случаях синтез веществ вторичного обмена больше чем в интактных растениях, но бывает и так, когда необходимые метаболиты не синтезируются, а также могут синтезироваться и *de novo* вещества. Информации и ответы на подобные и многие другие вопросы на сегодня являются скудными. Несмотря на известные факты о преимуществах суспензионной культуры для получения активных соединений, есть и трудности методологического характера. Необходимы и теоретические разработки для отдельно взятых специфических сорных растений с богатым синтезом вторичных соединений, как цистанхе.

Таким образом, индукция каллусных тканей и определение особенностей их роста и развития, а также отбор по консистенции и цвету гетерогенной клеточной массы имеет первостепенное значение. Необходимо проводить подбор оптимальных условий для наработки клеточной массы, отобранных линий, в достаточном объеме для дальнейшей наработки клеточной суспензии.

**Материалы и методы.** В качестве объекта исследований использовали вид *C. deserticola*, собранный с долины «Бетпак дала» Южно-Казахстанской области. На рисунке 1 представлены стебель-столоны, коробочки с семенами и коробочки с семенами в разрезе.

Для инициации каллусных культур в качестве экспланта использовали семена *C. deserticola*. Стерилизацию семян провели с применением стерилизующих агентов: 70% этанол, 10% раствор гипохлорита натрия и твина-20.

Для индукции каллусообразования использовали питательные среды отличающихся по составу минеральной основы и концентрации регуляторов роста (таблица 1)[8].

Культивирование каллусов проводили в темноте при 25-27°C и 70% относительной влажности воздуха.

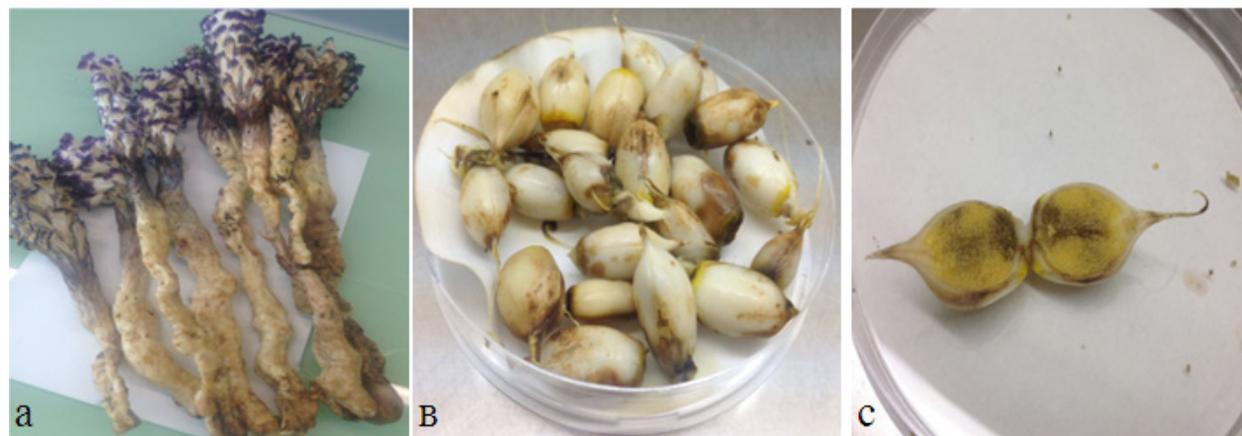


Рис. 1 *C. deserticola*: а - стебель -столоны; в -коробочки с семенами; г-коробочка с семенами в разрезе.

Таблица 1. Состав питательных сред для инициации каллусообразования

| Вещество             | Количество на 1 л среды |             |
|----------------------|-------------------------|-------------|
|                      | Среда 1                 | Среда 2     |
| Минеральная основа   | МС                      | Гамборга В5 |
| Сахароза             | 20 г                    | 20 г        |
| Гидролизат казеина   | 0,8 мг                  | 0,8 мг      |
| Витамины Гамборга В5 | 1,0 мг                  | 1,0 мг      |
| 2,4-Д                | 1,0 мг                  | 1,0 мг      |
| БАП                  | 2,0 мг                  | 0,1 мг      |
| ГКЗ                  | 10,0 мг                 | 10,0 мг     |
| Аскорбиновая кислота | 1,0 мг                  | 1,0 мг      |

**Результаты исследований.** Культуральные условия являются важными и, возможно, решающим моментом успешного проведения экспериментов для индуцирования каллусных тканей, продуцирующих ценные метаболиты

На первых этапах исследований проводили оптимизацию условий культивирования, модифицируя питательные среды.

При индуцировании каллусных тканей наблюдали сильный выброс фенольных соединений, который подавляет пролиферацию клеток. Для ингибирования выброса фенольных соединений в питательные среды добавляли антиоксиданты - поливинилпирролидон, нитрат серебра, активированный уголь, аскорбиновая кислота. Полное ингибирование фенольных выбросов наблюдали на питательной среде 2 с нитратом серебра в концентрации 5 мг/л и аскорбиновой кислотой в концентрации 1 мг/л, где так же отмечена активная пролиферация каллусов цистанхе пустынной.

На данном этапе исследований каллусы условно разделили на 3 линии: I линия - светлые каллусы, II линия - темно-серые (промежуточные) и III линия - черные каллусные ткани. Проллиферирующие каллусные ткани к концу каждого пассажа характеризовались изменением цвета, например, каллусы белого цвета темнели или наоборот из темно-коричневых и черных каллусов наблюдали индукцию светлых каллусов. Причем пролиферацию темных каллусов из светлых наблюдали на двух вариантах сред от 40% до 57%, чем индукция светлых тканей из темных каллусов (таблица 2).

Таблица 2 – Каллусообразующая способность, отобранных линий цистанхе

| Среды   | Коли-во каллусов, всего (шт) | I линия |                   | II линия    |                    | III линия  |                    |
|---------|------------------------------|---------|-------------------|-------------|--------------------|------------|--------------------|
|         |                              | Светлые | % индукция темных | Темно-серые | % индукция светлых | черные     | % индукция светлых |
| Среда 1 | 182                          | 58      | 40                | 54          | 8                  | 70         | 29                 |
| Среда 2 | 461                          | 106     | 57                | 156         | 12                 | 199        | 14                 |
| CV      |                              | 82±0,29 | 48,5±0,18         | 105±0,49    | 10±0,20            | 134,5±0,48 | 21,5±0,35          |

Отбор каллусных тканей цистанхе по цвету является важным моментом при синтезе вторичных метаболитов, так как разные популяции клеток могут метаболизировать различные вещества. Дубильные вещества, синтезируемые цистанхе, могут быть ингибиторами целевого продукта метаболизма культуры цистанхе. Поэтому, в последующих экспериментах провели отбор каллусных линий по цвету от черного до светлых каллусных тканей, как показано на рисунке 2.

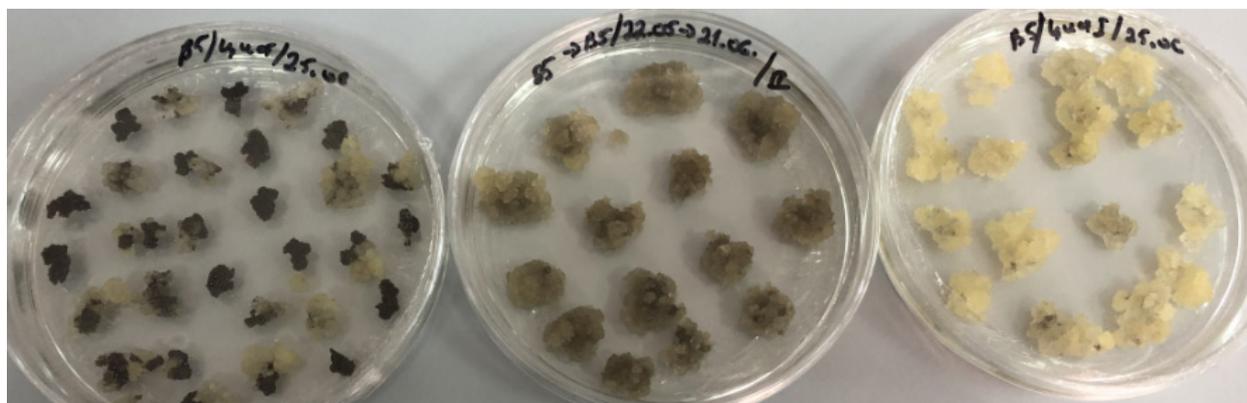


Рис. 2. Видоизменения цвета каллусной ткани цистанхе на питательной среде B5

Традиционно для большинства растений каллусы имеют желтые, белые, светло-коричневые цвета. В культуре цистанхе темные каллусные линии составляют наибольшее количество каллусной массы, например, 29% на среде 1 и 14% на среде 2, а промежуточные каллусные линии образуются в малом количестве на обоих вариантах сред. Большинство темных каллусных линий также, как и светлые были жизнеспособными, т.е. доля жизнеспособных клеток составила 70% и более.

При пассировании каллусной ткани из среды 2 на питательную среду 1, содержащей: ГКЗ -10,0 мг/л, 2,4Д-1,0 мг/л, БАП-2,0 мг/л, образовались темно-серые каллусные ткани, а затем вновь получена популяция, с преобладанием светло-желтых клеток. На рисунке 3 можно наблюдать интенсивное изменение и образование светло-желтых клеток.

Светло-желтая популяция клеток на среде MS более плотная, чем клеточные массы, полученные на среде B5. Все результаты данного эксперимента по цвету и структуре клеточных популяций являются важными для определения, в каких клетках происходит интенсивный синтез продуктов вторичного обмена.

Значительный прирост каллусной ткани отмечен для I-ой линии, клеточные популяции III-ей линии не делились активно, но при этом клетки не теряли жизнеспособность в длительной беспересадочной культуре. Разработка технологий длительного культивирования является важным моментом при культивировании лекарственных растений, так как дает возможность

депонирования каллусных тканей с последующей пролиферацией клеток, синтезирующих ценные метаболиты.

Кроме того, данные клеточные массы индуцируют светлые каллусные ткани, которые при пассировании на новую питательную среду с 9 на 10 пассаж на среде с добавлением 2,4-Д дали прирост в 4-5 раз больше, чем на ранних пассажах (рисунок 4).

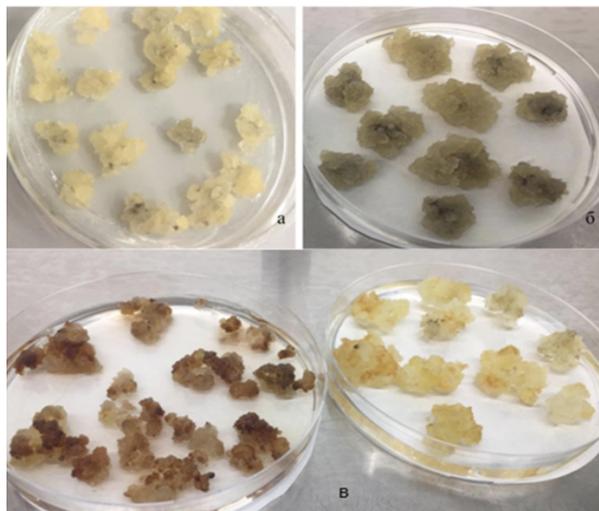


Рис. 3 Изменение по структуре и по цвету каллусной массы цистанхе: а и б- на среде 1; в - на среде.

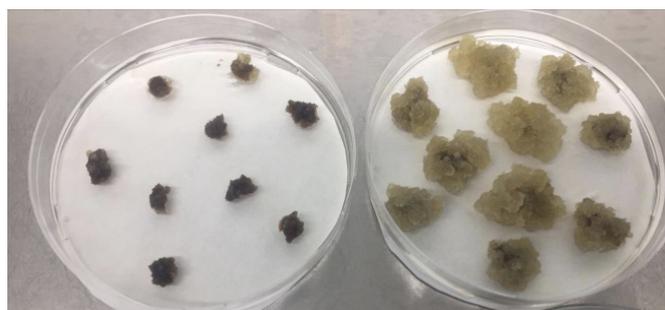


Рис. 4 Нарработка биомассы на среде 2 с 2,4-D в концентрации 1,0 мг/л +ГКЗ 10,0 мг/л+БАП 0,5 мг/л.

Измерения прироста массы каллусов проводили в течении 30 дней культивирования на питательных средах 1 и 2. При визуальном анализе каллусных тканей в течение цикла выращивания отмечается, что каллус цистанхе на питательной среде 1 плотно структурированные, твердые, клетки округлые, овальные, обособленные друг от друга, а каллусная ткань, выращиваемая, на питательной среде 2 отличалась своей рыхлостью. Окраска каллусных тканей варьировалась от светлого до темно-коричневого. Измерения проводились взвешиванием массы сырого каллуса в первый день пассажа, на 14 день и на 30 день пассирования (рисунок 5,6).

Таким образом, результаты, полученные в данной серии экспериментов свидетельствуют о том, что в связи с неординарностью синтеза различных метаболитов в интактных растениях цистанхе, так и в культуре *in vitro* индуцируются гетерогенные клеточные массы при визуальной оценке. Окончательные результаты, какие популяции клеток будут отличаться по содержанию ценных веществ вторичного синтеза будут определены в процессе дальнейших биохимических анализов.

Для дальнейшей успешной работы в лаборатории разрабатывается технологический процесс получения суспензионной культуры для цистанхе пустынной и определение спектра био-

логически активных веществ, например, фенилпропаноидов, обладающих иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами.

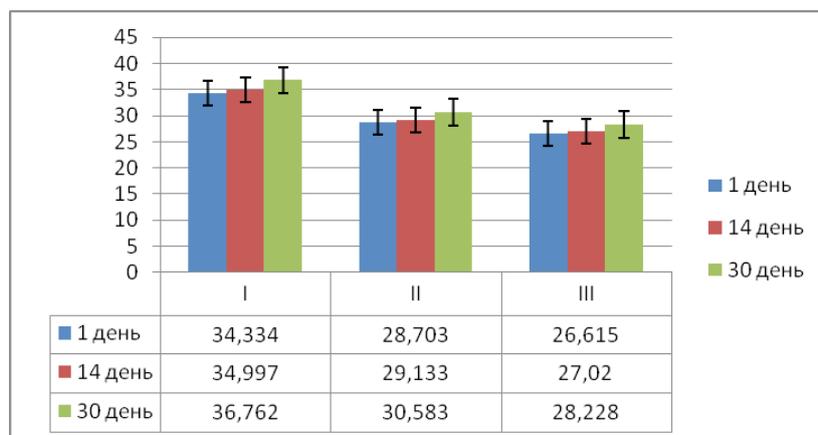


Рис. 5 Измерение прироста каллусов на среде 1.

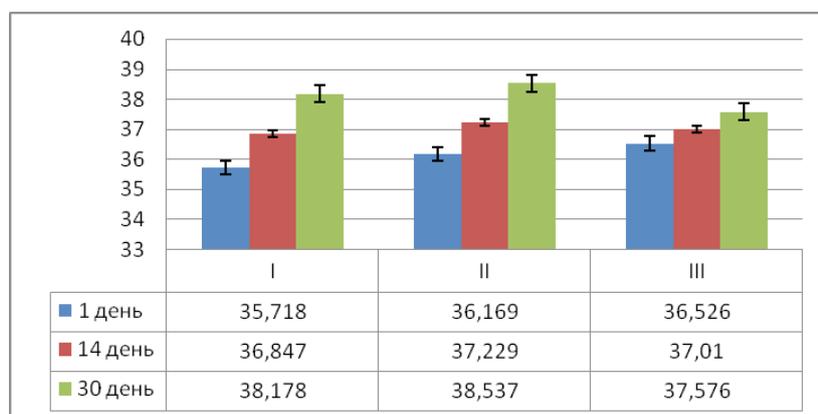


Рис. 6 Измерение прироста каллусов на среде 2.

### Список литературы

- 1 Датхаев У.М., Капсалямова Э.Н., Буханбаева М.Д. Цистанхе солончаковый как перспективный источник при получении гранул // Вестник КазНМУ. – 2014. – №5. – С.52-53.
- 2 Каржаубекова Ж.Ж., Гемеджиева Н.Г. Фитохимическое исследование растений рода цистанхе (*Cistanche hoffmngg. Etlink*) // Вестник КазНУ. – 2013. – №3. – С.388-390.
- 3 Jiang Y., Tu P.F. Analysis of chemical constituents in *Cistanche* species // Journal of Chromatography A. – 2009. – С.1970-197.
- 4 Kobayashi H., Karasawa H., Miyase T., Fukushima S. Studies on the constituents of *cistanche* Herba. II: Isolation and structures of new iridoids, cistanin and cistachlorin // Chemical and pharmaceutical bulletin. – 1984, – Vol.32, №5. – P.1729-1734.
- 5 Каржаубекова Ж.Ж., Гемеджиева Н.Г., Набиева Ж.С. К фитохимическим исследованиям *Cistanche salsa* (OROBANCHACEAE) // Химия растительного сырья. – 2016. – №4. – С.123-130.
- 6 Сарсембаев К.Н., Барамысова Г.Т., Джиембаева Б.Ж., Кожамжарова Л.С., Исабаев С.О., Колосова Н.Г., Иманбаева А.А. Морфологические биохимические особенности казахстанских популяций цистанхе сомнительной // Химический журнал Казахстана. – 2009. – №1. – С.5-10.

7 Барамысова Г.Т., Джиембаева Б.Ж., Кожамжарова Л.С., Исабаев С.О., Колосова Н.Г., Сарсембаев К.Н. Констируирование наночистиц на основе столонов цистанхе сомнительной // Вестник Алматинского института энергетики и связи. – Алматы, – 2010, №1. – С.87-90.

8 Wang T, Xie X.V., Ma Y.C. *Cistanche deserticola* «Desert Ginseng»// A Review the American Journal of Chinese Medicine. – 2012. – Vol.406, №6. – P.1123-1141.

9 Zhang A., Li Q., Yang X., Yang Y. Immunostimulatory activity of water-extractable polysaccharides from *Cistanche deserticola* as a plant adjuvant in vitro and in vivo // PLoS ONE – 2018. – Vol.13. – P.1086-1105.

10 Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений in vitro и биотехнологии на их основе // Учебное пособие. – М.: – 1999. – 158 с.

11 Носов А.М. Регуляция синтеза вторичных соединений в культуре клеток растений / Биология культивируемых клеток и биотехнология растений // Ред. Р.Г. Бутенко. – М.: Наука. – 1991. – С.5-20.

12 Носов А.М. Использование клеточных технологий для промышленного получения биологически активных веществ растительного происхождения // Биотехнология. – 2010. – №5. – С.7-24.

13 Liu X., Yan Y., Liu Y., Mo T., Song X., Wang Y., Chen Q., Zhao Y., Shi S, Tu P. Cell culture establishment and regulation of two phenylethanoid glycosides accumulation in cell suspension culture of desert plant *Cistanche tubulosa* // Plant cell, tissue and organ culture. – 2018. – Vol.134. – P.107-118.

**С.С. Беккужина, А.О. Рахимжанова, А.К. Талканбаева, Ш.А. Манабаева**

*ҚР БҒМ ҒК «Ұлттық биотехнология орталығы» ШЖҚ РМК, Нұр-Сұлтан, Қазақстан*

### ***Cistanche Deserticola* оқшауланған тұқымдарының мәдениетінде каллусогенез индукциясы**

**Аңдатпа:** Цистанхе (*C. deserticola*) - Қазақстан флорасының құнды техникалық өсімдіктерінің қатарына жатады. Цистанхенің құндылығы әр түрлі полисахаридтердің, иридоидтардың және басқа да биологиялық белсенді заттардың столондарында жоғары болуына байланысты, олар Шығыс елдерінде кең спектрлі фармакологиялық белсенді қосылыстардың көптеген өндірісі үшін бастапқы шикізат ретінде кеңінен қолданылады: тонус, потенциал, антиоксиданттық белсенділіктің жоғарылауы. Алайда, қазіргі уақытта цистанхенің табиғи қорлары айтарлықтай азайған, бұл осы түрді сақтау мәселесі, оның биологиялық белсенді заттарын алудың балама көздерін іздестіруді өзекті етеді. Жоғары өсімдіктер жасушаларының өсіндісі сирек өсімдіктердің биомассасын алудың балама тәсілі болып табылатыны белгілі. Бұл жұмыста *C. deserticola* тұқымынан жасушалардың каллус өсінділерін алу әдістерін оңтайландыру бойынша жұмыс нәтижелері келтірілген. Цистанхе жасушаларының каллусты өсінділерінің бірнеше линиясы алынды, өсу динамикалары зерттелді. Алынған линиялардың өсу динамикасы талданды және түсі бойынша әртектілігі қарастырылды, түстерінің әртүрлілігі екінші реттік метаболиттердің синтезінің дәлелі болып табылады. Цистанхе жасушаларының каллус өсінділерін алудың ұсынылған әдістемесі өте тиімді екені белгіленді.

**Түйінді сөздер:** цистанхе, *Cistanche deserticola*, каллус ұлпаларының әртектілігі, жасуша өсіндісі, фитогормондар.

**S.S. Bekkuzhina, A.O. Rakhimzhanova, A.K. Talkanbayeva, S.A. Manabayeva**

*National Center for biotechnology, Kazakhstan, Nur-Sultan*

### **Induction of callusogenesis in a culture of isolated seeds of *Cistanche Deserticola***

**Abstract:** *Cistanche* (*C. deserticola*) - is one of the valuable technical plants of the Kazakhstan flora. The value of *cistanche* is due to the high content of various polysaccharides, iridoids, and other biologically active substances in the stolons, which are widely used in the eastern countries as feedstock for the production of many

pharmacologically active compounds with a wide spectrum of action: increasing tone, potency, antioxidant activity. However, to date, the natural reserves of cistanche are substantially depleted, which makes both the problem of preserving this species and the search for alternative sources of its biologically active substances urgent. It is known that the cell culture of higher plants is an alternative way to obtain rare plant biomass. This paper presents the results of work on optimizing methods for obtaining callus cell cultures from *C. deserticola* seeds. Several lines of callus cultures of cistanche cells were obtained, growth characteristics were studied. It was established that the proposed method for obtaining callus cultures of cistanche cells is quite effective, the obtained lines have good growth characteristics and differ in color, which is evidence of the synthesis of various secondary metabolites.

**Keywords:** cistanche, *Cistanche deserticola*, heterogeneity of callus tissues, callus cell culture, phytohormones

## References

- 1 Dathayev U. M., Kapsalyamova E.N., Buhanbayeva M.D. Cistanche solonchakovii kak perspektivnii istochnik pri polushenii granul [Cistanche saline as a promising source for the production of granules], Vestnik KazNMU. – 2014. – №5. – P.52-53. [in Russian]
- 2 Karzhaubekova Zh.Zh., Gemedzhiyeva N.G. Fotohimicheskoe issledovanie rastenii roda cistanche [Phytochemical study of plants of the cistanche genus] Cistanche hoffmngg. Etlink), Vestnik KazNU. – 2013. – №3. – P.388-390. [in Russian]
- 3 Jiang Y., Tu P.F. (2009) Analysis of chemical constituents in Cistanche species, Journal of Chromatography A. – P.1970-197.
- 4 Kobayashi H., Karasawa H., Miyase T., Fukushima S. (1984) Studies on the constituents of cistanche Herba. II: Isolation and structures of new iridoids, cistanin and cistachlorin, Chemical and pharmaceutical bulletin. – Vol.32, №5. – P.1729-1734.
- 5 Karzhaubekova Zh.Zh., Gemedzhiyeva N.G., Nabieva Zh.S. K fotohimicheskim issledovaniyam Cistanche Salsa [To phytochemical studies of Cistanche salsa] (OROBANCHACEAE), Himiya rastitel'nogo syr'ya. – 2016. – №4. – P.123-130. [in Russian]
- 6 Sarsembayev K.N., Baramysova G.T., Djiembayeva B.Zh., Kozhamzharova L.S., Isabayev S.O., Kolosova N.G., Imanbayeva A.A. Morfologicheskie biohimicheskie osobennosti kazhastanskih populyatsii cistanche somnitel'noi [Morphological biochemical features of Kazakhstan populations of Qinghanhe of dubious], Khimicheskii zhurnal Kazakhstana. – 2009. – №1. – P.5-10. [in Russian]
- 7 Baramysova G.T., Dzhizhiyembayeva B.ZH., Kozhamzharova L.S., Isabayev S.O., Kolosova N.G., Sarsembayev K.N. Konstruirovaniye nanochistits na osnove stolonov tsiskhankhe somnitel'noy [The construction of nanoparticles based on stolons of cistanche of dubious], Vestnik Almatinskogo instituta energetiki i svyazi. – Almaty, – 2010, №1. – P.87-90. [in Russian]
- 8 Wang T, Xie X.V., Ma Y.C. Cistanche deserticola «Desert Ginseng» A Review the American Journal of Chinese Medicine. – 2012. – Vol.406, №6. – P.1123-1141. [in Russian]
- 9 Zhang A., Li Q., Yang X., Yang Y. (2018) Immunostimulatory activity of water-extractable polysaccharides from Cistanche deserticola as a plant adjuvant in vitro and in vivo PLoS ONE. – Vol.13. – P.1086-1105.
- 10 Butenko R.G. Biologiya kletok vysshikh rasteniy in vitro i biotekhnologii na ikh osnove [Biology of cells of higher plants in vitro and biotechnology based on them]// Uchebnoye posobiye. – M.: – 1999. – P.158. [in Russian]
- 11 Nosov A.M. Regulyatsiya sinteza vtorichnykh soyedineniy v kul'ture kletok rasteniy Biologiya kul'tiviruyemykh kletok i biotekhnologiya rasteniy Red. R.G. Butenko [Regulation of the synthesis of secondary compounds in plant cell culture Biology of cultured cells and plant biotechnology]. – M.: Nauka. – 1991. – P.5-20. [in Russian]
- 12 Nosov A.M. Ispol'zovaniye kletochnykh tekhnologiy dlya promyshlennogo polucheniya biologicheskii aktivnykh veshchestv rastitel'nogo proiskhozhdeniya Biotekhnologiya [The use of cellular technologies for the industrial production of biologically active substances of plant origin], Biotechnology. – 2010. – №5. – P.7-24. [in Russian]

13 Liu X., Yan Y., Liu Y., Mo T., Song X., Wang Y., Chen Q., Zhao Y., Shi S., Tu P. (2008) Cell culture establishment and regulation of two phenylethanoid glycosides accumulation in cell suspension culture of desert plant *Cistanche tubulosa* Plant cell, tissue and organ culture. – Vol.134. – P.107-118.

**Сведения об авторах:**

**Беккужина С.С.** – автор для корреспонденции, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории генетической инженерии растений РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологии» МОН РК, Нур-Султан, Казахстан

**Талканбаева А.К.** – Лаборант лаборатории генетической инженерии растений РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК, магистрант 1-ого курса специальности биотехнология 6M070100 Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан.

**Рахимжанова А.Ө.** – Научный сотрудник РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологии» МОН РК, Нур-Султан, Казахстан .

**Манабаева Ш.А.** – Кандидат биологических наук, заведующий лабораторией генетической инженерии растений РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологии» МОН РК, доцент кафедры общей биологии и геномики, Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

**Bekkuzhina S.S.** – **corresponding author**, Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher of the Laboratory of Plant Genetic Engineering «National center for biotechnology», Nur-Sultan, Kazakhstan.

**Talkanbayeva A.K.** – laboratory assistant of the laboratory of Plants Genetic Engineering «National center for biotechnology», 1st year master's student specialty 6M070100 Biotechnology at the L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.

**Rakhimzhanova A.O.** – Researcher of the laboratory of Plants Genetic Engineering «National center for biotechnology», Nur-Sultan, Kazakhstan.

**Manabayeva S.A.** – Candidate of Biological Sciences, Head of the laboratory of Plants Genetic Engineering «National center for biotechnology», associate professor of Department of General Biology and Genomics at the L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.