

Д.Л.Дауров<sup>1</sup>, К.Ж.Жамбакин<sup>1</sup>, Д.В.Волков<sup>1</sup>, М.Х.Шамекова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии и биотехнологии растений,  
г. Алматы, Казахстан

## **ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ-МОДИФИЦИРОВАННОЙ КУКУРУЗЫ, УСТОЙЧИВОЙ К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ**

---

**Аннотация.** Обсуждаются методы получения кукурузы, устойчивой к стрессовым факторам. Предложена информация о происхождении и существующих традиционных методах селекции получения новых сортов и гибридов кукурузы. Отмечено, что генетическая инженерия может значительно повысить эффективность селекционного процесса. Проанализированы известные в настоящее время гены, контролирующие устойчивость к различным видам абиотических и биотических стрессов. Рассмотрены способы введения чужеродного гена с использованием агробактериального и биобаллистического метода трансформации. Использование генетически модифицированных растений может привести к получению сортов кукурузы с повышенной устойчивостью к засолению, засухе, холоду, болезням и вредителям, что актуально для Казахстана. Методы генетической инженерии позволяют осуществлять перенос целевых генов в геном кукурузы, однако они нуждаются в усовершенствовании.

**Ключевые слова:** кукуруза, трансген, селекция, кукуруза генетически модифицированное растение, селекция кукурузы.



**Түйіндеме:** Ұсынылған шолу мақаласында стресс факторларға тезімді жүгері еамдшн алу әдістері талқыланды. Жүгерінің шығу тарихы мен жаңа сорттарын, будандарын алудың дәстүрлі әдістері жайлы ақпарат берілген. Генетикалық инженерияның селекциялық Үрдістердің тиімділігін айтарлықтай арттыруы жайлы көрсетілген. Әр түрлі абиотикалық және биотикалық стресс түрлеріне тезімділігін бақылайтын қазіргі уақытта белгілі гендер, агробактериялық және биобаллистикалық трансформация әдістерін қолдану арқылы бөгде гендерді енгізу тәсілдері талданған. Генетикалық модифицирленген өсімдіктерді пайдалану, Қазақстан үшін өзекті болып келетін, түрлі зиянкестерге және ауруларға, сортаңдануға, құрғақшылыққа, суыққа тезімділігі жоғары жүгері сорттарын алуға мүмкіндік береді.

**Түйінді сөздер:** жүгері, трансген, селекция, генетикалық модифицирленген өсімдік.



**Abstract.** In the present review article discusses the methods of producing maize resistant to stress factors. Information on the origin and existing conventional breeding methods to obtain new varieties and hybrids of maize. It is noted that genetic engineering can significantly improve the efficiency of the selection process. Currently known genes were analyzed controlling resistance to various kinds of abiotic and biotic stresses, methods for introducing foreign genes using agrobacterial transformation and biolistic method. The use of genetically modified plants may result in maize varieties with increased resistance to salinity, drought, cold, diseases and pests, which is important for Kazakhstan.

**Key words:** maize, transgene, maize selection, genetically modified plants.

**Введение.** Кукуруза является одной из наиболее распространенных зерновых культур в мире. По данным Всемирной организации по вопросам продовольствия и сельского хозяйства (FAO), на 2012 г. по площади возделывания кукуруза (177 млн. га.) уступает только пшенице (216 млн. га.), а по объёму собранного урожая занимает 1-е место (875 млн. т.). В то время как в Казахстане посевная площадь кукурузы составила 97 тыс. га.

В соответствии с программой по развитию агропромышленного комплекса в Республике Казахстан на 2013-2020 гг. «Агробизнес – 2020», спрос на кукурузу к 2020 г. достигнет порядка 1 млн. т в зерне в основном для животноводства и должен быть обеспечен местной продукцией. Как указал Президент Республики Казахстан, озвучивая Стратегию «Казахстан – 2050», новый политический курс состоявшегося государства» (г. Астана, 2012 г.): «Высокие темпы роста мирового народонаселения резко обостряют продовольственную проблему. Нам вполне по силам совершить качественный рывок в сельскохозяйственном производстве». Такой качественный рывок возможен только при условии разработки современных, высокоэффективных агротехнологий. В связи с этим в последующем Послании главы государства Н.Назарбаева народу Казахстана «Казахстанский путь – 2050: Единая цель, единые интересы, единое будущее» (Астана, 2014 г.) отмечено, что «важно не отставать от времени, и наряду с производством естественного продовольствия, вести разработку генномодифицированных культур».

По данным FAO, основными потребителями кукурузы на 2010-2014 г. среди стран мира были США и Китай. На долю США приходилось 28,4-34,5 % всех продаж кукурузы в мире, на долю Бразилия, занимающей 3-е место по данному показателю, в среднем 5,5 %, Мексики – 4-е место и соответственно 3,3 %. Основными лидирующими странами в посевных площадях кукурузы в мире являются США, Китай, Бразилия, Мексика, и Аргентина, что составляет 75 % мирового производства [1].

В кукурузе содержатся ценные для человеческого организма витамины и минеральные вещества, витамины группы В, витамин С, РР, фосфор, калий, фтор, молибден, медь, йод и др. Кукуруза достаточно калорийная культура: в 100 г содержит около 100 ккал [2]. Как основной источник крахмала, пищевых масел и клейковины кукуруза употребляется в пищу, а также содержится в различных очищенных и переработанных пищевых продуктах. Крахмал кукурузы используется при производстве лекарственных препаратов, вязкого волокна, декстриновых клеев, а также в бумажной, горнодобывающей, строительной отрасли промышленности [3]. Масло кукурузы является прекрасным сырьем, из которого получают дорогие краски, мыло и даже заменители резины. Белок, содержащийся в зерне кукурузы, применяется для изготовления искусственного волокна, имеющего сходство с шерстью. Кукуруза остается основным источником пищи во многих уголках мира. Во всем мире около 116 млн. т кукурузы потребляется человеком [4].

Кукуруза широко используется для производства биогаза и имеет один из самых высоких показателей выхода газа на 1 т урожая. Из кукурузы производят более 6000 м метана с 1 га, который применяется для электроэнергии и промышленного электроснабжения [5]. Кукуруза также широко используется в качестве сырья для биоэтанола. Около 40 % урожая в США перерабатывается для получения кукурузного этанола, из 1 т производят около 400-500 л биоэтанола [6].

Низкая урожайность кукурузы в Казахстане и его высокая себестоимость были определяющими показателями низкой конкурентоспособности по сравнению с другими кормовыми и зер-

новыми культурами. Определяющими признаками для кукурузы в Казахстане должны стать устойчивость к засухе и более короткий вегетационный период выращивания на зерно в северных регионах.

*Происхождение и методы селекции.* Кукуруза (*Zea mays L.*) – одна из древнейших сельскохозяйственных культур. Точных данных о том, когда человек начал ее выращивать, нет, но археологические раскопки в Мексике, в странах Центральной и Южной Америки свидетельствуют об ее использовании в культуре уже 4500 лет назад. Некоторые исследователи считают, что эта культура была известна еще ранее. Раскопки вблизи современного центра Мехико свидетельствуют, что кукуруза произрастала в диком виде еще 60 тыс. лет назад [7]. Древнейшие находки кукурузы в Мексике (шт. Оахака и Пуэбла) датируются 4250 г. и 2750 г. до н.э. Кукурузные початки в те времена были в диком виде и не превышали 3–4 см в длину. Инки, майи и ацтеки использовали кукурузу в пищу в виде недоразвитых початков, лепешек, жаренных и вареных зерен. Учитывая то, что ископаемые початки и пыльца кукурузы были найдены в Центральной Америке, где встречаются ее дикие родственники (теосинте и трипсакум), практически все исследователи считают родиной кукурузы Центральную Америку [8]. В Европе кукуруза впервые использовалась как экзотическая садовая культура, но скоро была признана ценнейшей продовольственной культурой, обладающей более высокой продуктивностью, нежели другие культуры [9]. В диком виде кукуруза сейчас не встречается, а дикие виды из семейства злаковых – теосинте и трипсакум имеют только сходство. Кроме того, современная кукуруза – это результат продолжительных изменений, происходивших при культурном возделывании и селекции [10].

Для создания устойчивых к стрессовым факторам линий кукурузы, а также повышения урожайности и продуктивности сельскохозяйственных культур, применяют различные методы селекции. Одним из традиционных методов, используемых для получения новых сортов, является скрещивание между собой

генотипов с различными наследственными факторами и получение гибридов, которые могут обладать признаками и свойствами родительских форм [11]. Далее проводится многолетний отбор лучших форм и доведение их до перспективных гомозиготных линий. При скрещивании таких различных линий иногда при высокой комбинационной способности удается получить гибриды, значительно превосходящие по своим количественным показателям родительские формы. То есть имеет место эффект гетерозиса (гр. *heteroiosis* – «изменение, превращение»). С помощью гетерозиса происходит увеличение жизнеспособности и количественных признаков гибридных растений. Данный эффект происходит за счет наследования определённого набора аллелей различных генов от своих гомозиготных родителей [12].

Несмотря на значительные успехи традиционной селекции кукурузы, возникла потребность в разработке новых более эффективных методов. Селекция создания новых сортов – это очень трудоемкий и длительный процесс. При этом один из основных недостатков традиционных методов селекции заключается в неспецифичности полученных результатов [13]. Эффект гетерозиса проявляется только у гибридов первого поколения при значительном снижении у второго и дальнейшим отсутствием в последующих семенных поколениях. Данные последних лет показывают, что генетическая инженерия может стать хорошим подспорьем традиционной селекции и значительно повысить ее эффективность [14].

Генная инженерия растений – это эффективный подход для получения растений с заданными свойствами, которая позволяет не только переносить целевые гены из одних организмов в другие, но и направленно регулировать работу собственных генов растений, комбинируя различные молекулярно-биохимические системы клетки. Кроме того, с помощью этого метода для селекции кукурузы можно использовать огромное количество генов, выделенных из других видов. При этом в последнее время для генетической трансформации растений используются гены, выделенные у растений. Следовательно, с помощью генетической инженерии можно не только улучшить те или иные, имею-

щие качества у растения, как при традиционной селекции, но и производить совершенно новые генотипы, которые невозможно получить традиционными методами. Создание растений с заданными свойствами, такими, как устойчивость к абиотическим и биотическим факторам среды, позволит получать новые гибриды и сорта растений с повышенной продуктивностью и качеством, способные произрастать в зонах рискованного земледелия Казахстана. Таким образом, кукуруза может стать одной из основных культур для пищевых, кормовых и технических целей в стране. В связи с этим метод генной инженерии для селекции кукурузы является перспективным направлением в биотехнологии растений в Казахстане [15].

*Методы, применяемые для трансформации кукурузы.* Значительные успехи в области культивирования *in vitro* на искусственных питательных средах позволили управлять процессами морфогенеза и регенерации растений. Появилась возможность в качестве экспланта, исходного материала для культивирования использовать изолированные клетки, ткани и органы. В связи с этим данные методы стали основой для использования в генетической инженерии. Основным методом введения чужеродных генов в растения кукурузы является биобаллистический метод трансформации, называемый иначе «биологической баллистикой», «методом бомбардмента» или «методом генной пушки». Суть этого метода заключается в установках микрочастиц золота или вольфрама с нанесенной на них ДНК, которыми ускоряют при помощи сжатого гелия и проникают в ДНК клетки мишени, как следствие, в ядро, что повышает эффективность трансформации [16].

Другим методом переноса генов является агробактериальный метод трансформации, т. е. перенос чужеродных генов в реципиентный геном растений осуществляется с помощью *Agrobacterium tumefaciens*. Целевой ген клонируют в подходящий вектор, который содержит нуклеотидные Т-ДНК. Такая конструкция трансформируется в подходящий штамм *E. coli*, размножается и переносится в клетки агробактерий, содержащую Т1-плазмиду или бинарную векторную плазмиду с генами вирулентнос-

ти. В результате содержащий целевой ген внедряется в геном растительной клетки при помощи инкубации поврежденных клеток растений [17]. В качестве эксплантов кукурузы используют каллусы незрелых зародышей [18-23].

Биобаллистический способ трансформации имеет такие недостатки, как низкая эффективность, нестабильность, малая емкость вводимых конструкций и высокая стоимость. На настоящий момент значительно большую экономическую эффективность и стабильность результатов обеспечивает введение генов с помощью агробактериальной трансформации [24]. Так, трансформация на устойчивость растений кукурузы к абиотическим стрессам проведена с использованием незрелых зародышей, полученных из каллуса инбредных линий с помощью биобаллистического метода с использованием генетической конструкции *PCA-35S-DREB*, несущий *Arabidopsis* транскрипционный фактор *DREB1A* под контролем промотора *CaMV35S* и селективным маркером *bar*. Для оптимизации параметров генной пушки были использованы расстояния в 6 и 9 см. Результаты показали, что выстрел на расстоянии 9 см при предварительной обработке позволяет улучшить транзientную экспрессию гена в эксплантах. ПЦР-анализ подтвердил наличие *DREB1A* и *bar* генов в одном из 11 трансформантов [25].

С помощью биобаллистической трансформации были получены линии кукурузы с несколькими агрономически важными генами, которые придали устойчивость к различным вредителям, к гербицидам сплошного действия и болезням [26]. Одним из критических этапов при трансформации является перенос Т-ДНК в клетки растений. Для кукурузы предложены разработки [27-31], которые с успехом применяются с целью агробактериальной трансформации. Был проведен скрининг на способность восприимчивости клетки к агробактериальной трансформации апикальных меристем побега и каллусов, полученных из незрелых зародышей. Агробактериальную трансформацию проводили с использованием штаммов LBA4404, несущих векторы *pBI121* и *pCB001*, с генами неомицинфосфотрансферазы (*nptII*) и Р-глюкуронидазы (*uidA*) под контролем промотора нопалинсинтазы

(*nos*) и 35S промотора вируса мозаики цветной капусты. Для активации *Agrobacterium tumefaciens* в течение 1 ч перед трансформацией в суспензию вводили ацетосирингон (3,5 dimethoxy 4 hydroxyacetophenone, As) в концентрации 200 цМ. Трансформацию инбредных линий проводили путём кокультивирования эксплантов с *Agrobacterium tumefaciens*. Предпочтительным оказалось использование в качестве эксплантов каллусов незрелых зародышей, имевших высокий уровень восприимчивости клетки к агробактериальной трансформации [32].

Метод агробактериальной трансформации детально разработан для двудольных растений, но почти не используется для однодольных. Хотя в литературе встречаются отдельные сообщения о применении метода агробактериальной трансформации к зерновым, однако для кукурузы он практически не разработан. Известные примеры удачного использования агробактериальной трансформации на зерновых дают надежду на то, что данный метод возможно использовать и для кукурузы. Разработан способ агробактериальной трансформации, который заключается в длительном культивировании каллусов незрелых зародышей на агробактериальном газоне [33]. Для трансформации использовали штамм *LBA4404* с плазмидой *pBI121*, содержащей ген неомизинфосфотрансферазы II (*nptII*), под контролем промотора агробактериального гена нопалинсинтетазы (*nos*), и ген Р-глюкуронидазы (*uidA*), под контролем промотора 35S вируса мозаики цветной капусты. При этом проявление некроза в тканях и гибель клеток отсутствовали. У полученных растений пшеницы показана экспрессия генов неомизинфосфотрансферазы и Р-глюкуронидазы [34]. Показано наследование введенных генов. Авторы надеются, что разработанный метод будет универсален для широкого круга генотипов кукурузы [35].

*Гены применяемые для генетической трансформации кукурузы.* Засуха, холод, засоление и патогены, как правило, нарушают физиологические процессы в растениях и приводят к накоплению токсических веществ, вызывающих гибель растений [36]. Устойчивость к определенному признаку контролируется



различными генами. Более того, устойчивость достигается биохимическими механизмами, например синтезом антиоксидантов, транскрипционных факторов, регулирующих экспрессию генов. То есть устойчивость растений определяется многими генами, которые дополняют друг друга для достижения эффективной защиты [37]. В то же время за последние десятилетия молекулярная биология и генетика достигли больших успехов в области расшифровки геномов растений, что позволило определить гены, отвечающие за те или иные ценные признаки сельскохозяйственных культур, в том числе контролирующие устойчивость к стрессовым факторам среды. Таким образом, появилась возможность искусственно создавать генетические конструкции, размножать их и использовать для внедрения в растения, применяя различные векторные системы. В дальнейшем такие генно-модифицированные растения, несущие определенный ген с повышенной устойчивостью к стрессовым факторам, используются для создания сортов с повышенной урожайностью и качеством. Кроме того, отмечается, что возделывание таких сортов может повлиять на улучшение экологического состояния природы и сделают более органическими продукты питания для человека за счет сокращения использования пестицидов [38].

*Гены на устойчивость к абиотическим стрессовым факторам кукурузы.* Наиболее распространенным абиотическим стрессом является засуха, которая ограничивает рост растений и продуктивность во всем мире, с разрушительными экономическим и социологическим последствиям. Как следствие, стало актуальным получение засухоустойчивых растений и выращивание генетически модифицированной кукурузы [39]. Был идентифицирован и клонирован ген аннексина 1 на устойчивость к засухе из *Arabidopsis thaliana* [40]. Аннексин положительно влияет на механизм стрессоустойчивости растений при засухе. Ген *Annexinp35* был выделен из ДНК растений в соответствии с методикой E.Kranz [41], и клонирован в вектор pCAMBIA1300 и трансформирован в растения кукурузы. Также выявлено в ходе многочисленных исследований, что глицинбетаин играет большую роль в механизме защиты растений при различных стрессовых

условиях. С помощью генной инженерии были получены засухоустойчивые растения кукурузы, способные синтезировать глицинбетаин (ГБ) с помощью ведения двух трансгенов, саркозин метилтрансферазы (*ApGSMT2*) [42] и гена диметилглицин метилтрансферазы (*ApDMT2*) [43], полученных из бактерии *Aphanothece halophytica* с убиквинтиновым промотором (*Ubiquitin*). Саузерн-блоттинг и ПЦР-анализ показал, что оба гена были интегрированы в геном кукурузы и имели повышенный уровень экспрессии в условиях засухи, что способствовало накоплению глицинбетаина в листьях трансгенных растений кукурузы, а также повышенное накопление сахаров, аминокислот, высокое содержание хлорофилла, и более высокую скорость фотосинтеза и биомассы [44]. Это свидетельствует о том, что глицинбетаин обеспечивает жизненно важную защиту от стресса, вызванного засухой. Сделан вывод о том, что совместная экспрессия *ApGSMT2* и *ApDMT2* кукурузы является эффективным подходом к повышению абиотической стрессоустойчивости для кукурузы [45]. С помощью внесения бактериального *betA* гена, кодирующего холиндегидрогеназу, были получены солеустойчивый трансгенные растения кукурузы, в которых отмечено накопление глицинбетаина, способствующее увеличению зеленой массы у трансформированных растений на 80 % по сравнению с контролем, выращенных при 300 мМ NaCl [46].

Белки *DREB (CBF)* транскрипционного фактора имеют большое значение в регуляции экспрессии генов и толерантности при низких температурах, засухи и высокого солевого стресса у высших растений. Ген *TsCBF1* из двудольного галофита *Thellungiella halophila* был перенесен в однодольные растения кукурузы. ПЦР и Саузерн-блот анализ показал, что ген *TsCBF1* был интегрирован в геном трансгенных растений и сохранялся в семенных поколениях [47]. После 14 дней обработки на засухоустойчивость трансгенные растения показали повышенную устойчивость к засухе, а также более высокую урожайность зерна при засухе, по сравнению с нетрансгенной линией кукурузы. Таким образом, доказано, что ген *TsCBF1* может использоваться для засухоус-

тойчивости растений кукурузы и для улучшения толерантности к другим абиотическим стрессам [48].

Белок транскрипционного фактора *Y(AtNF\_YB1)* семейства *A. thaliana* улучшает засухоустойчивость растений благодаря ранее неизвестному гену. Гомологичный ген обнаружен у кукурузы *ZmNFYB2*, растения кукурузы с усиленной экспрессией гена демонстрировали повышенную стойкость к засухе по ряду параметров, включая содержание хлорофилла, состояние устьиц, температуру листьев, снижение скручивания листьев и поддержание фотосинтеза. В условиях засухи трансгенные растения имеют повышенную урожайность [49]. Экспрессия митоген-активируемой протеинкиназы табака *NPK1* индуцировала окислительный сигнальный каскад, что приводило к холодо-, жаро-, соли- и засухоустойчивости трансгенных растений кукурузы [50, 51]. На сегодняшний день насчитывается около 15 тропических генотипов кукурузы, которые успешно трансформированы и несут ген устойчивости к абиотическим стрессовым факторам. Это такие гены, как *Annexinp35*, *Annat1*, *NHX1*, *XvPrx2*, *XvSAP1*, *IPT*, *CBF1*, *ZmDREB*, *amiRNA1* и *amiRNA3* [52].

*Гены на устойчивость к биотическим стрессовым факторам кукурузы.* Лимитирующими факторами при выращивании кукурузы в мире являются болезни и вредители, которые вызывают потерю зерен приблизительно около 11 % от общего объема производства [53]. Впервые гибриды кукурузы, устойчивые к различным видам вредителей, вводимые посредством методов биотехнологии, были коммерциализированы в 1996 г. в США. Генно-модифицированные растения кукурузы, содержащие ген *Cry Vt*-токсина, полученный из бактерии *Bacillus Thuringiensis*, делали растения устойчивыми против некоторых насекомых-вредителей, таких, как кукурузный мотылек, хлопковая совка и другие чешуекрылые вредители, с которыми трудно бороться с помощью применения инсектицидов. Линии, содержащие *Vt*-токсин, удобны для защиты растений, снижения затрат на химические инсектициды, а также улучшения качества зерна [54].

Растительная ткань состоит главным образом из целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина. Основным природным компонентом для защиты растений от внешней среды является лигнин. Лигнин (лат. *lignum* – «дерево»), природный полимер, входящий в состав растений, продукт биосинтеза. Лигнин расположен в клеточных стенках и межклеточном пространстве растений и скрепляет целлюлозные волокна [55]. Результаты многих исследований указывают на то, что более высокое содержание лигнина укрепляет клеточную стенку, которая защищает растительную клетку от воздействия внешней среды. Кукуруза подвергается нападению со стороны многочисленных патогенов. В частности, кукуруза может быть заражена грибковыми заболеваниями, вызванными *Fusarium*, в том числе болезнями початков (*F. roseum*, *F. graminearum*, *F. liseola*, *F. moniliforme*), болезнями обыкновенной или пыльной головни (*Ustilago zaeae*, *Ustilago maydis*), антракнозом (*Colletotrichum graminicola*), глазковой пятнистостью, гельминтоспориозом (*Helminthosporium turcicum*), ржавчиной (*Puccinia maydis*) и мучнистой росой [56]. Показана повышенная устойчивость к болезням *Fusarium* у растений кукурузы, содержание интрогрессии G2092 аллель гена *CoAOMT2*. По данным *GenBank*, у кукурузы устойчивость к грибным возбудителям кодируют 2 гена: ген *CCoAOMT1*, расположенный на хромосоме 6, и ген *CCoAOMT2*, расположенный на хромосоме 9 [57].

Немаловажное открытие было сделано учеными из университета Северной Каролины, которые обнаружили ген кукурузы *глутатион S-трансфераз*. Этот ген придает устойчивость к 3-м болезням: южной пятнистости листьев, серой пятнистости листьев и северной пятнистости листьев [58]. На сегодняшний день известны гибридные линии УН615 и УН6303, обладающие устойчивостью к различным болезням, таким, как серая пятнистость листьев и вирус мозаики кукурузы [59].

**Выводы.** Кукуруза является одной из основных стратегических культур для мирового сельского хозяйства. Однако в Казахстане ее широкое использование ограничено стрессовыми почвенно-климатическими условиями произрастания. Значитель-

ную помощь в повышении эффективности селекционного процесса для получения новых сортов в Казахстане может стать генетическая инженерия. Существующие методы генетической инженерии позволяют осуществлять перенос целевых генов в геном кукурузы. Однако данные методы нуждаются в усовершенствовании, в том числе и для кукурузы. При этом информация о структуре генов, отвечающих за устойчивость к абиотическим и биотическим факторам среды, с каждым годом обогащается. Успехи в области молекулярной биологии и генетики говорят о том, что генетический пул, в том числе растительных видов, будет обогащаться в геометрической прогрессии, что делает генетическую инженерию одним из самых перспективных направлений по созданию новых высокопродуктивных сортов сельскохозяйственных культур. В связи с этим в Казахстане необходимо сосредоточиться на развитии генетической инженерии растений.

### Список литературы

1 *Seonghyu S. et al.* Impact of the consecutive days of visible wilting on growth and yield during tassel initiation in maize (*Zea Mays L.*) // *Journal of Crop Science and Biotechnology.* – 2015. – Vol. 18. – P. 219-229.

2 *Seema S., Sandeep K., Sneh G.* Maize Utilisation in Food Bioprocessing: An Overview // *Maize: Nutrition Dynamics and Novel Uses.* – 2014. – Vol. 5. – P. 119-134.

3 *Narpinder S., Amritpal K., Khetan Sh.* Maize: Grain Structure, Composition, Milling, and Starch Characteristics // *Maize: Nutrition Dynamics and Novel Uses.* – 2014. – Vol. 3. – P. 65-76.

4 *Tahany N., Samiha O., Ahmed T.* Combating Adverse Consequences of Climate Change on Maize Crop // *Major Crops and Water Scarcity in Egypt,* 2016. – P. 53-68.

5 *Seungdo K., Bruce E., Pam K.* Energy Requirements and Greenhouse Gas Emissions of Maize Production in the USA // *BioEnergy Research.* – 2014. – Vol. 7. – P. 753-764.

6 *Pratima B.* Production of Bioethanol // *Advances in Bioethanol*, 2013. – P. 21-53.

7 *Claire S.* Maize: Origins and Development // *Encyclopedia of Global Archaeology*, 2014. – P. 4612-4614.

8 *John E.* Scientific. Botanical and Biological Research on Maize // *Maize Cobs and Cultures: History of Zea mays L.*, 2010. – P. 85-147.

9 *Nafziger E.D.* Growth and production of maize: mechanized cultivation // *Soils, plant growth and crop production*. – 2010. – Vol. 1.

10 *Edward S., Natalie M.* Maize origins, Domestication, and Selection // *Genetic and origins of crops*. – 2005. – Vol. 4. – P. 67-87.

11 *Joshua R., John E.* Traditional Breeding, Genomics-Assisted Breeding, and Biotechnological Modification of Forest Trees and Short Rotation Woody Crops // *Wood-Based Energy in the Northern Forests*, 2013. – P. 79-99.

12 *Amel R., Marcelo J., J. Miranda B.* Heterosis // *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. – 2010. – Vol. 6. – P. 477-529.

13 *Netsanet H., Shimelis H., Mark L.* Heterosis and combining ability analysis of slow rusting stem rust resistance and yield and related traits in bread wheat // *Euphytica*. – 2010. – Vol. 207. – P. 501-514.

14 *Evan S., Juliane W., Melanie O., Eugene Z., Ben H., Ian L.* Genetic Engineering for Microalgae Strain Improvement in Relation to Biocrude Production Systems // *Biomass and Biofuels from Microalgae*. – 2010. – Vol. 2. – P. 191-249.

15 *Rodomiro O.* Genetic Engineering and Transgenic Breeding // *Plant Breeding in the Omics Era*. – 2015. – P. 103-123.

16 *Yongsheng Z., Xiaoyan Y., Aifang Y., Guosheng L., Juren Z.* Stability of inheritance of transgenes in maize (*Zea mays L.*) lines produced using different transformation methods // *Euphytica*. – 2005. – Vol. 144. – P. 11-22.

17 *Wang D., Zhao Q., Zhu D., Guangming A., Jingjuan Y.* Particle-Bombardment-Mediated Co-Transformation of Maize with a Lysine Rich Protein Gene (*sb401*) from potato // *Euphytica*. – 2006. – Vol. 150. – P. 75-85.

18 *Duncan D.R., Widholm J.M.* Improved plant regeneration from maize callus cultures using 6\_benzylaminopurine // *Plant Cell Rep.* – 1988. – Vol. 7. – P. 452-455.

19 Lu C., Vasil V., Vasil I.K. Improved efficiency of somatic embryogenesis and plant regeneration in tissue cultures of maize (*Zea mays* L.) // Theor. Appl. Genet. – 1983. – Vol. 66. – P. 285-289.

20 Songstad D.D., Duncan D.R., Widholm J.M. Effect of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, silver nitrate, and norbornadiene on plant regeneration from maize callus cultures // Plant Cell Rep. – 1988. – Vol. 7. – P. 262-265.

21 Ishida Y., Hiei Y., Komari T. *Agrobacterium*-mediated transformation of maize // Nature protocols. – 2007. – Vol. 2. – P. 1614-1621.

22 Frame B., Main M., Schick R., Wang K. Genetic transformation using maize immature zygotic embryos / Plant Embryo Culture. Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology. – Springer Science Business Media. – 2011. – Vol. 710. – P. 327-341.

23 Frame B.R., Shou H., Chikwamba R.K. et al. *Agrobacterium-tumefaciens* – Mediated transformation of maize embryos using a standard binary vector system // Plant Physiol. – 2002. – Vol. 129. – P. 13-22.

24 Mamontova E.M., Velikov V.A., Volokhina I.V., Chumakov M.I. *Agrobacterium*-mediated *in planta* transformation of maize germ cells // Russian Journal of Genetics. – 2010. – Vol. 46. – P. 501-504.

25 Razi Z., Rahnema H. Factors affecting delivery of DREB1A gene in maize B73 split-seeds via biolistic system // Iranian journal of genetics and plant breeding, 2012. – Vol. 1. – P. 36-43.

26 Chien-Yuan K., Shin-Hui H., Chiu-Mei L. A low-pressure gene gun for genetic transformation of maize (*Zea mays* L.) // Plant Biotechnology Reports. – 2008. – Vol. 2. – P. 267-270.

27 Shou H., Frame B/R., Whitham S.A., Wang K. Assessment of transgenic maize events produced by particle bombardment or *Agrobacterium*-mediated transformation // Molecular Breeding. – 2004. – Vol. 13. – P. 201-208.

28 Ishida Y., Satto h., Hiei Y., Komari T., Kumashiro T. High efficiency transformation of maize (*Zea mays* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens* // Nat. Biotech. – 1996. – Vol. 14. – P. 745-750.

29 Sairam R.V., Parani M., Franklin G. et al. Shoot meristem: an ideal explant for *Zea mays* L. transformation // *Genome*. – 2003. – Vol. 46. – P. 323-329.

30 Sidorov V., Gillertson L., Addae P., Duncan D. Agrobacterium-mediated transformation of seedling-derived maize callus // *Plant Cell Rep.* – 2006. – Vol. 25. – P. 320-328.

31 Gelvin S.B. Agrobacterium and plant genes involved in T-DNA transfer and integration // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2000. – Vol. 51. – P. 223-256.

32 Myeong J., Emily W., Jackie K., Maryanne Y., Jenny B., Wutt L. Agrobacterium-mediated high-frequency transformation of an elite commercial maize (*Zea mays* L.) inbred line // *Plant Cell Reports*. – 2014. – Vol. 33. – P. 1767-1777.

33 Hiroshi Y. Monolayer-Protected Metal Nanoclusters with Chirality: Synthesis, Size Fractionation, Optical Activity and Asymmetric Transformation // *Handbook of Nanoparticles*, 2016. – P. 191-216.

34 Ahmed B., Hala F., Hesham T., William E., Magdy A., Rongda Q. Evidence for non-proteinaceous inhibitor(s) of P-glucuronidase in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaf and root tissues // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 2005. – Vol. 82. – P. 11-17.

35 Danilova S.A., Kusnetsov V.V., Dolgikh Yu.I. A novel efficient method for maize genetic transformation: Usage of agrobacterial monolayer // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2009. – Vol. 56. – P. 258-263.

36 Yong G. et al. A maize phytochrome-interacting factor 3 improves drought and salt stress tolerance in rice // *Plant Molecular Biology*. – 2015. – Vol. 87. – P. 413-428.

37 Carena M.J. Maize commercial hybrids compared to improved population hybrids for grain yield and agronomic performance // *Euphytica*. – 2005. – Vol. 141. – P. 201-208.

38 Leszek A., Kathryn K., Howard D., Randy R., Ka-Lai Chang. Thomas K. Stable transformation of maize: the impact of feeder cells on protoplast growth and transformation efficiency // *Plant Cell Reports*. – 1989. – Vol. 8. – P. 292-295.

39 Muhammad A., Muhammad A.M., Rahime C. Global Achievements in Drought Tolerance of Maize // *Plant Breeding and Genetics*. – 2015. – P. 37-43.



40 Dorota K., Greg C., Grazyna G., Janusz D., Krzysztof F., Araceli C., Bartłomiej F., Stanley R., Jacek H. The Role of Annexin1 in Drought Stress in Arabidopsis // *Plant Physiology*. – 2009. – Vol. 150. – P. 1394-1410.

41 Kranz E., Lorz H. In vitro fertilization of maize by single egg and sperm cell protoplast fusion mediated by high calcium and high pH // *Zygote*. – 1994. – Vol. 2. – P. 125-128.

42 Shih-Y., Mei-L., Shu-J., Yu-Ch. Characterization of osmolyte betaine synthesizing sarcosine dimethylglycine N-methyltransferase from *Methanohalophilus portucalensis* // *Archives of Microbiology*. – 2009. – Vol. 191. – P. 735-743.

43 Robert L. Dimethylglycine // *Encyclopedia of Autism Spectrum Disorders*. – 2013. – P. 976-977.

44 Huijun Zh., Hezhong D., Weijiang L., Yi S., Shouyi Ch., Xiangqiang K. Increased glycine betaine synthesis and salinity tolerance in AhCMO transgenic cotton lines // *Molecular Breeding*. – 2009. – Vol. 23. – P. 289-298.

45 Chunmei H., Ying H., Qiang L., Tieshan L., Chunxiao L., Liming W., Juren Z. Co-expression of genes *ApGSMT2* and *ApDMT2* for glycinebetaine synthesis in maize enhances the drought tolerance of plants // *Molecular Breeding*. – 2013. – Vol. 31. – P. 559-573.

46 Lilius G., Holmberg N., Bulow L. Enhanced NaCl stress tolerance in transgenic tobacco expressing bacterial choline dehydrogenase // *Biotechnol.* – 1996. – Vol. 14. – P. 177-180.

47 Shabir H., Saroj K., Mohammad A., Vinay K., Sena M. Transgenic Approaches for Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants // *Advances in Plant Breeding Strategies: Agronomic, Abiotic and Biotic Stress Traits*. – 2016. – P. 345-396.

48 Ning L., Feng G., Aifang Y., Juren Z. Over-expression of TsCBF1 gene confers improved drought tolerance in transgenic maize // *Molecular Breeding*. – 2010. – V. 26. – P. 455-465.

49 Machuka J., Oduor R., Runo S., Rasha A., Matheka J., Bedada L., Seth M., Kuria E., Masiga C., Mugoya C. Genetic engineering of maize for drought tolerance in Eastern and Central Africa // *Agricultural Research in Eastern and Central Africa – ASARECA*. – 2015. – P. 1-9.

50 *Mattana M., Biazzì E., Consonni R.* et al. Overexpression of *Osm5b4* enhances compatible solute accumulation and increases stress tolerance of *Arabidopsis thaliana* // *Physiol. Plant.* – 2005. – Vol. 125. – P. 212-223.

51 *Frame B., Main M., Schick R., Wang K.* Genetic transformation using maize immature zygotic embryos / Thorpe T.A., Yeung E.C. (eds) *Plant Embryo Culture. Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology.* – Springer Science\_Business Media. – 2011. – Vol. 710. – P. 327-341.

52 *Kovtun Y., Chiu W.L., Tena G., Sheen J.* Functional analysis of oxidative stress activated mitogen activated protein kinase cascade in plants // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2000. – Vol. 97. – P. 2940-2945.

53 *Shou H., Bordallo P., Wang K.* Expression of the *Nicotiana* protein kinase (NPK1) enhanced drought tolerance in transgenic maize // *J.Exp. Bot.* – 2004. – Vol. 55. – P. 1013-1019.

54 *Richard L., Ramon A., Bergvinson D., Jarrad R., Zhen Y., Michael J.* The Present and Future Role of Insect-Resistant Genetically Modified Maize in IPM // *Integration of Insect-Resistant Genetically Modified Crops within IPM Programs.* – 2008. – Vol. 5. – P. 119-158.

55 *Yves B., Audrey C., Marcal S., Jacqueline G.* Toward the identification of genes underlying maize QTLs for lignin content, focusing on colocalizations with lignin biosynthetic genes and their regulatory MYB and NAC transcription factors // *Molecular Breeding.* – 2015. – P. 1-23.

56 *Rodriguez C., Kanobe C., Shanahan J., Robertson A.* Seed treatments enhance photosynthesis in maize seedlings by reducing infection with *Fusarium spp.* and consequent disease development in maize // *European Journal of Plant Pathology.* – 2009. – Vol. 126. – P. 343-347.

57 *Massimo M., Fabio F., Virgilio B., Giovanna D., Laurence S., Luciana C., Mario M.* Tolerance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* AG4 of transgenic tobacco expressing the maize ribosome-inactivating protein b-32 // *Transgenic Research.* – 2011. – Vol. 6. – P. 393-402.

58 *Milligan A., Daly A., Parry M., Lazzeri P., Jepson I.* The expression of a maize glutathione S-transferase gene in transgenic wheat confers herbicide tolerance, both in planta and in vitro // *Molecular Breeding*. – 2012. – Vol. 7. – P. 301-315.

59 *Jorg R., Anthony S., George K.* Integration of Insect-Resistant Genetically Modified Crops within IPM Programs // *Progress in Biological Control*. – 2008. – Vol. 5. – P. 1-26.

**Дауров Диас Ламзарович**, магистр, e-mail: [dias.daurov@mail.ru](mailto:dias.daurov@mail.ru)

**Жамбакин Кабыл Жапарович**, доктор биологических наук, профессор,  
email: [zhambaki@mail.ru](mailto:zhambaki@mail.ru)

**Волков Дмитрий Владимирович**, магистр,  
e-mail: [spiritdem@gmail.com](mailto:spiritdem@gmail.com)

**Шамекова Малика Хабидулаевна**, магистр PhD,  
e-mail: [shamekov@gmail.com](mailto:shamekov@gmail.com)