

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG PHÁT SINH MÔ SẸO PHÔI HÓA VÀ MỨC ĐỘ TÁI SINH CÂY HOÀN CHỈNH TỪ PHÔI NON CỦA MỘT SỐ DÒNG NGÔ VIỆT NAM

Nguyễn Văn Đông¹, Phạm Thị Lý Thu¹, Trịnh Thị Minh Thùy¹, Hà Văn Chiến, Tạ Kim Nhung¹, Lê Thị Thu Vê¹, Phan Xuân Hào², Lê Huy Hàm¹.

¹Viện Di truyền nông nghiệp

²Viện Nghiên cứu Ngô

TÓM TẮT

Cây ngô (*Zea mays* L.) là một trong ba cây được trồng phổ biến nhất trên thế giới. Kỹ thuật chuyển gen đã được áp dụng đối với cây ngô để tạo ra nhiều giống ngô biến đổi gen. Tuy nhiên, chuyển gen vào đối tượng thực vật này vẫn là một hướng nghiên cứu gặp nhiều khó khăn do hầu hết các giống ngô địa phương có đặc tính nông học quý thường có khả năng tái sinh kém và các dòng ngô mô hình không thích ứng được trong điều kiện khí hậu nước ta. Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành khảo sát khả năng tái sinh từ phôi non của 45 dòng ngô Việt Nam thuộc ba nhóm ngô tẻ, ngô nếp và ngô ngọt, sử dụng dòng đối chứng là dòng ngô mô hình HR8 có khả năng tái sinh cao. Kết quả thu được 4 dòng ngô tẻ VH1, VH11, VH19, VH29, 3 dòng ngô nếp VHN9, VHN10, VHN16 và 2 dòng ngô ngọt VHD2, VHD5 có khả năng tái sinh cao, đồng thời mang một số đặc tính nông học tốt. Môi trường tạo mô sẹo có bổ sung 20 g/l sucrose và 10 g/l glucose dưới tác dụng kết hợp của 0,3 mg/l BAP và 1,5mg/l 2,4-D đã cải thiện rõ rệt khả năng tái sinh của các dòng ngô đặc biệt là dòng ngô ngọt VHD1. Đây là nghiên cứu đầu tiên, đã lựa chọn được các dòng ngô Việt Nam có khả năng tái sinh cao. Các dòng ngô này sẽ được sử dụng làm nguồn vật liệu cho nghiên cứu chuyển gen, tạo ra các dòng ngô biến đổi gen có khả năng thích ứng tốt trong điều kiện Việt Nam và mang các đặc tính nông học quý, góp phần rút ngắn thời gian chọn tạo giống.

Từ khóa: Cây ngô, chất điều hòa sinh trưởng, mô sẹo, phôi non, tái sinh

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngô là cây lương thực quan trọng trên thế giới và được gieo trồng khắp với sản lượng hàng năm cao hơn bất kỳ cây lương thực nào, với tầm quan trọng của mình, ngô đã trở thành đối tượng chuyển gen từ khá lâu. Các cây ngô chuyển gen đã nhận được bằng nhiều phương pháp khác nhau. Tuy nhiên, một quy trình nuôi cấy mô có hiệu quả với tần số tái sinh cao vẫn là một đòi hỏi cần thiết đối với hầu hết các nghiên cứu chuyển gen (Jones, 2009).

Những dòng ngô mô hình có khả năng tái sinh tốt thường có nguồn gốc ôn đới, vì thế khi trồng ở vùng khí hậu nhiệt đới như Việt Nam thì cho kết quả rất thấp do điều kiện thời tiết không thích hợp. Trong khi đó các dòng ngô Việt Nam, tuy thích nghi với điều kiện môi trường nhưng khả năng tái sinh lại không cao nên cũng rất khó để sử dụng làm vật liệu cho các nghiên cứu biến nạp gen. Để khắc phục hạn chế trên trong nghiên cứu này chúng tôi khảo sát khả năng tái sinh từ phôi non của một số dòng ngô Việt Nam, nhằm mục đích tìm ra các dòng ngô chọn lọc có khả năng tái sinh cao đồng thời mang đặc tính

nông học quý, tạo nguồn vật liệu ban đầu cho biến nạp gen.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Chúng tôi sử dụng 45 dòng ngô Việt Nam (do Viện Nghiên cứu Ngô và Viện Di truyền Nông nghiệp) cung cấp. Trong số 45 dòng ngô này, có 28 dòng ngô tẻ, 12 dòng ngô nếp, 5 dòng ngô ngọt và 01 dòng mô hình HR8 làm đối chứng.

Phương pháp

Phương pháp tách, nuôi cấy phôi non và tái sinh cây

Bấp non sau khi thụ phấn khoảng 15 - 18 ngày được thu để tách phôi trong điều kiện vô trùng. Phôi non được cấy trong môi trường với cách đặt phôi theo mô tả của Green và Phillips (1975). Tạo mô sẹo, tái sinh cây theo quy trình của Phạm Thị Lý Thu (2007).

Nhằm mục đích cải thiện khả năng tái sinh cây

từ phôi non của các dòng ngô chọn lọc, chúng tôi sẽ lựa chọn trong mỗi nhóm hai dòng ngô điển hình làm vật liệu nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố chính đến khả năng tạo mô sẹo và tái sinh cây. Thành phần môi trường nuôi cấy thay đổi tùy thuộc vào từng thí nghiệm.

Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng

Trồng và theo dõi sự sinh trưởng, phát triển của các dòng ngô thí nghiệm tại Trại Thí nghiệm của Viện Di truyền nông nghiệp. Đánh giá một số chỉ tiêu nông học của các dòng ngô thí nghiệm theo tiêu chuẩn trồng trọt 10TCN do Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ban hành.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Đánh giá khả năng phát sinh mô sẹo phôi hóa và tái sinh cây từ phôi non của các dòng ngô Việt Nam

Chúng tôi tiến hành khảo sát khả năng tạo mô sẹo và tái sinh cây từ phôi non của 28 dòng ngô tẻ, 12 dòng ngô nếp và 5 dòng ngô ngọt. Kết quả thể hiện ở bảng 1.

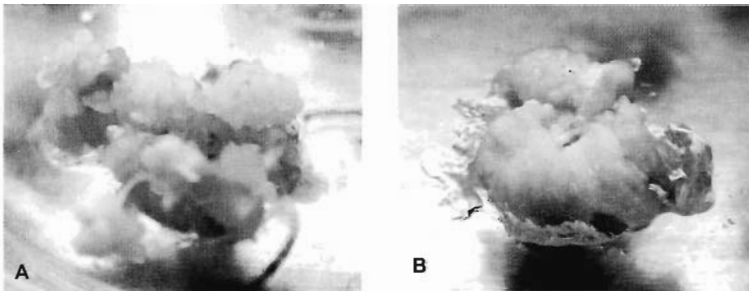
Từ các kết quả nghiên cứu *in vitro* chúng tôi nhận thấy so với dòng mô hình HR8 khả năng tạo mô sẹo

và tái sinh cây của một số dòng ngô tẻ VH1, VH11, VH19, VH29, dòng ngô nếp VHN5, VHN10, VHN16 tỏ ra không hề thua kém. Trong số các dòng ngô tẻ dòng VH1, VH11, VH19, VH26 và VH29 có tỷ lệ tạo mô sẹo phôi hóa cao. Đáng chú ý là dòng VH1, VH11, VH26 và VH29, mô sẹo tạo thành đa phần là mô sẹo loại II, có màu vàng tươi, xốp, dễ bật chồi và khả năng tái sinh tốt (Hình 1A). Riêng dòng VH11 khi chuyển sang môi trường tái sinh rất ít xuất hiện chồi lá theo cụm mà đa phần là chồi cây hữu hiệu.

Các dòng ngô ngọt có tỷ lệ tạo mô sẹo thấp hơn, tuy nhiên dòng VHD2 và VHD5 có tỷ lệ tái sinh cây tương đối tốt, có thể sử dụng làm vật liệu cho các thí nghiệm chuyển gen sau này.

Các dòng VH4, VH7, VH28, VCV9... có khả năng tạo mô sẹo cao nhưng tỷ lệ tái sinh thấp, hoặc đều chết khi chuyển sang môi trường tái sinh.

Đối với nhóm ngô nếp, các dòng VHN5, VHN7, VHN10, VHN16 cho tỷ lệ phôi hóa và tái sinh tương đối tốt, trong đó các dòng VHN5, VHN10 và VHN16 cho tỷ lệ tái sinh cao nhất, đạt 22,4 - 28,5%, tương đương với dòng mô hình HR8 (22,5%). Tương tự, ở nhóm ngô ngọt dòng VHD2 và VHD5 cho tỷ lệ phôi hóa và tái sinh khá ổn định, cao hơn hẳn so với các dòng ngô ngọt khác, đạt 22,0 - 24,3%.



Hình 1. Hai dạng mô sẹo phôi hóa thường xuất hiện từ phôi ngô non nuôi cấy. **A.** Mô sẹo của dòng VH11 (dạng II), vàng tươi, xốp có khả năng tái sinh cao. **B.** Mô sẹo của dòng VH6 (dạng I), trắng, cứng và khó tái sinh thành cây.



Hình 2. Tạo mô sẹo phôi hóa và tái sinh chồi ở dòng ngô tẻ VH1. **A.** Mô sẹo phôi hóa tạo thành từ phôi non; **B.** Tái sinh chồi hữu hiệu thông qua mô sẹo.

Bảng 1. Khả năng tạo mô sẹo và tái sinh cây từ phôi non của các dòng ngô Việt Nam.

STT	Dòng	Số phôi nuôi cấy	Số mô sẹo phôi hóa tạo thành	Tỷ lệ tạo mô sẹo phôi hóa (%)	Số cây tái sinh	Tỷ lệ tái sinh cây (%)
Ngô tẻ						
1	VH1	415	390	94,0	104	26,6
2	VH3	320	145	45,3	26	17,7
3	VH4	180	156	86,7	5	6,7
4	VH5	152	120	78,9	5	7,9
5	VH6	102	71	69,6	0	-
6	VH7	123	98	79,7	4	4,5
7	VH8	194	8	4,1	0	-
8	VH9	279	80	28,7	10	12,5
9	VH10	201	6	3,0	0	-
10	VH11	216	168	77,8	53	31,7
11	VH13	156	4	2,6	0	-
12	VH15	98	5	5,1	0	-
13	VH16	156	116	74,4	23	20,2
14	VH18	210	53	25,2	0	-
15	VH19	375	295	78,7	72	24,5
16	VH20	136	86	63,2	0	-
17	VH23	129	14	10,9	5	39,0
18	VH24	117	3	2,6	0	-
19	VH26	143	119	83,2	56	47,0
20	VH27	201	152	75,6	0	-
21	VH28	175	163	93,1	27	16,6
22	VH29	96	91	94,8	40	44,4
23	VH30	174	42	24,1	0	-
24	VH32	103	83	80,6	21	25,3
25	VH33	105	50	47,6	6	11,8
26	VH40	126	67	53,2	18	26,6
27	VCV2	205	76	37,1	11	14,2
28	VCV9	177	129	72,9	22	17,1
Ngô nếp						
1	VHN1	106	104	98,1	0	-
2	VHN5	125	104	83,2	29	27,5
3	VHN6	147	100	68,0	26	26,0
4	VHN7	183	174	95,1	26	15,1
5	VHN8	184	10	5,4	0	-
6	VHN9	196	48	24,5	6	23,1
7	VHN10	150	143	95,3	32	22,4
8	VHN11	174	40	23,0	0	-
9	VHN14	103	3	2,9	0	-
10	VHN15	121	72	59,5	0	-
11	VHN16	168	121	72,0	34	28,5
12	VHN29	105	72	68,6	14	19,1
Ngô ngọt						
1	VHD1	132	25	18,9	2	9,1
2	VHD2	178	121	68,0	27	22,0
3	VHD3	135	83	61,5	0	-
4	VHD4	141	3	2,1	0	-
5	VHD5	160	118	73,8	29	24,3
Dòng mô hình						
1	HR8	160	151	94,3	34	22,5

Đánh giá một số đặc tính nông học của các dòng ngô Việt Nam

Trong số 45 dòng ngô Việt Nam khảo sát, chúng tôi lựa chọn 16 dòng ngô có khả năng tái sinh tương đối tốt (6 dòng ngô tẻ, 6 dòng ngô nếp và 4 dòng ngô ngọt) để tiến hành các nghiên cứu đánh giá ngoài đồng ruộng. Các chỉ tiêu đánh giá bao gồm: thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, khả năng chống chịu, chiều dài bắp, đường kính bắp, tỷ lệ hạt/bắp, năng suất. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 2.

Kết quả đánh giá các đặc tính nông học của một số dòng ngô Việt Nam cho thấy các dòng ngô tẻ có các đặc tính nông học khá đồng đều và ổn định. Đáng chú ý nhất là dòng VH1 có năng suất cao hơn

hẳn các dòng khác và đây cũng là dòng cho kết quả tái sinh cao (Bảng 2). Trong khi đó các dòng ngô nếp có các chỉ tiêu nông học chênh lệch khá nhiều. Dòng ngô VHN6, VHD1 và VHD2 có năng suất khá cao nhưng lại có dấu hiệu bệnh nhiều hơn các dòng khác.

Nghiên cứu cải thiện khả năng tái sinh từ phối non của các dòng ngô chọn lọc

Kết quả nghiên cứu thu được trên bảng 1 và 2 cho thấy một số dòng ngô thí nghiệm cho phản ứng tái sinh *in vitro* cao đồng thời biểu hiện các đặc tính nông học ưu việt. Tuy nhiên, để có thể sử dụng được các dòng ngô này làm vật liệu cho chuyên gen, chúng tôi đã tiến hành các nghiên cứu cải thiện khả năng tái sinh của chúng.

Bảng 2. Kết quả đánh giá một số đặc tính nông học của các dòng ngô Việt Nam.

STT	Dòng	TGST (ngày)	Cao cây (cm)	Chống chịu (điểm)			Dài bắp (cm)	Đ.kính (cm)	TL hạt/bắp (%)	Năng suất (tạ/ha)
				Đục thân	Đóm lá	Khô vắn				
Ngô tẻ										
1	VH1	115	167,6	2	2	2	15,5	3,5	81,3	35,4
2	VH3	108	145,3	2	1	1	15,7	4	76,5	22,5
3	VH4	115	165,5	2	2	2	12,6	3,6	80,2	28,7
4	VH9	108	142,3	2	2	2	13,5	3,4	81,5	22,3
5	VH11	108	154,3	1	2	1	14,1	3,7	79,8	26,7
6	VH19	107	145,4	2	2	1	13,7	3,3	81,1	24,5
Ngô nếp										
7	VHN5	104	135,9	1	1	1	7,9	3,7	69,3	18,2
8	VHN6	95	117,7	2	2	2	11,4	3,7	73,5	22,4
9	VHN7	93	126,1	1	2	3	8,6	3,7	68,7	17,2
10	VHN9	93	92	2	1	1	7,6	3,5	69,1	17,5
11	VHN10	96	94,5	2	2	2	9,7	3,2	72,4	17,8
12	VHN16	95	108,9	1	1	1	11,9	3,2	73,8	18,4
Ngô ngọt										
13	VHD1	130	65	3	3	1	13,5	3,8	14,0	40,4
14	VHD2	100	40	2	3	2	11,4	3,3	12,0	30,0
15	VHD3	90	35	2	2	2	10,5	3,2	12,0	32,0
16	VHD5	135	50	2	2	2	13,0	3,4	14,0	35,0

Bảng 3. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tạo mô sẹo từ phôi non của một số dòng ngô chọn lọc của Việt Nam.

STT	Dòng	Nồng độ BAP (mg/l)	Số phôi nuôi cấy	Số mô sẹo phôi hóa tạo thành	Tỷ lệ tạo mô sẹo phôi hóa (%)
1	VH3	0,1	135	53	39,3
		0,3	125	65	52,0
		0,5	150	85	56,7
		0,7	156	53	34,0
2	VH11	0,1	123	87	70,7
		0,3	197	150	76,1
		0,5	169	101	59,8
		0,7	122	63	51,6
3	VHN6	0,1	98	60	61,2
		0,3	86	55	64,0
		0,5	76	37	48,7
		0,7	101	56	55,4
4	VHN10	0,1	123	108	87,8
		0,3	97	91	93,8
		0,5	150	116	77,3
		0,7	134	109	81,3
5	VHD1	0,1	97	22	22,7
		0,3	86	31	36,0
		0,5	103	28	27,2
		0,7	116	33	28,4
6	VHD5	0,1	93	61	65,6
		0,3	108	77	71,3
		0,5	116	81	69,8
		0,7	94	60	63,8
7	HR8	0,1	150	136	90,7
		0,3	157	153	97,5
		0,7	162	154	95,1

Ảnh hưởng của BAP tới sự hình thành mô sẹo từ phôi non

Vai trò của các chất điều hòa sinh trưởng trong nuôi cấy mô cây ngũ cốc đã được Bhaskaran và Smith (1990) tổng kết. Một số nghiên cứu cũng đã khẳng định 2,4-D là yếu tố không thể thiếu được đối với sự hình thành mô sẹo từ phôi ngô non (Armstrong, Green, 1985; Bohorova *et al.*, 1995; Carvalho *et al.*, 1997).

Việc sử dụng cytokinin kết hợp với auxin trong quá trình hình thành phôi soma từ các mẫu mô sẹo ở cây ngô cũng đã được nghiên cứu (Jones, 2009). Nghiên cứu của Huang và Wie (2004) cho thấy, việc bổ sung 2,4-D kết hợp với BAP vào môi trường nuôi

cây đã làm tăng đáng kể hiệu quả tạo mô sẹo phôi hóa. Hơn nữa, nghiên cứu của Ahmadabadi và đồng tác giả (2007) tiến hành tạo mô sẹo từ mô lá non của cây ngô cũng cho kết quả tái sinh được cải thiện khi bổ sung thêm BAP.

Trên cơ sở kết quả của các nghiên cứu trước, chúng tôi đã lựa chọn môi trường nuôi cấy có bổ sung 1,5 mg/l 2,4-D cho tạo mô sẹo từ phôi non nuôi cấy. Trong thí nghiệm này, chúng tôi đã tiến hành nuôi cấy phôi non của một số dòng ngô (VH3, VH11, VHN6, VHN10, VHD1 và VHD5) trong môi trường tạo mô sẹo có bổ sung BAP nồng độ từ 0,1 - 0,7 mg/l và 1,5 mg/l 2,4-D.

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của BAP đến khả năng

tạo mô sẹo từ phôi non được thể hiện trong bảng 3.

Nhìn chung, việc bổ sung BAP trong môi trường nuôi cấy có chứa 1,5 mg/l 2,4-D đã có ảnh hưởng tích cực đến khả năng tạo mô sẹo từ phôi non của một số dòng ngô. Tuy nhiên, ảnh hưởng này biểu hiện khác nhau giữa các dòng ngô tẻ, nếp và ngô ngọt. Đối với dòng ngô tẻ VH3, nồng độ BAP 0,5 mg/l tỏ ra ưu thế hơn. Đáng chú ý là số mô sẹo phôi hóa tạo thành từ phôi non dòng ngô ngọt VHD1 tăng

rõ rệt trong môi trường có bổ sung BAP và đạt giá trị cao nhất ở nồng độ BAP 0,3 mg/l (36%). Trong khi đó, khả năng tạo mô sẹo từ phôi non của hai dòng ngô nếp VHN6 và VHN10 dường như không được cải thiện dưới tác động của BAP.

Việc bổ sung BAP vào môi trường nuôi cấy cũng cho kết quả tạo mô sẹo khá quan đối với dòng mô hình, ở nồng độ 0,3 mg/l BAP, tỷ lệ này lên đến 97%. Mô sẹo xộp, có màu vàng tươi.

Bảng 4. Ảnh hưởng nguồn hydrat carbon đến khả năng tạo mô sẹo từ phôi non của một số dòng ngô chọn lọc của Việt Nam.

STT	Dòng	Môi trường	Số phôi nuôi cấy	Số mô sẹo phôi hóa tạo thành	Tỷ lệ tạo mô sẹo phôi hóa (%)
1	VH3	C1	150	71	47,3
		C2	109	72	66,1
		C3	141	85	60,3
		C4	123	65	52,8
2	VH11	C1	116	99	85,3
		C2	97	87	89,7
		C3	106	91	85,8
		C4	156	112	71,8
3	VHN6	C1	134	82	61,2
		C2	148	105	70,9
		C3	152	82	53,9
		C4	136	56	41,2
4	VHN10	C1	98	89	90,8
		C2	129	123	95,3
		C3	141	124	87,9
		C4	136	110	80,9
5	VHD1	C1	109	38	34,9
		C2	111	54	48,6
		C3	98	38	38,8
		C4	109	39	35,8
6	VHD5	C1	116	76	65,5
		C2	117	85	72,6
		C3	124	80	64,5
		C4	97	65	67,0
7	HR8	C1	145	128	88,3
		C2	137	129	94,2
		C3	164	135	82,3
		C4	158	119	75,3

Ảnh hưởng của nguồn hydrat carbon đến khả năng tạo mô sẹo từ phôi non

Hydrat carbon có vai trò vô cùng quan trọng trong nuôi cấy mô tế bào, cung cấp nguồn dinh dưỡng cho các tế bào được nuôi cấy trong điều kiện nhân tạo. Ngoài ra, hydrat carbon còn ảnh hưởng đến tính thấm thấu của tế bào, giúp cho mô tế bào hấp thụ được các nguyên tố khoáng có trong môi trường nuôi cấy. Tuy nhiên, các nguồn hydrat carbon khác nhau có ảnh hưởng khác nhau đến sự tạo thành mô sẹo của các mô được nuôi cấy.

Chúng tôi tiến hành thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn hydrat carbon khác nhau đến khả năng tạo mô sẹo từ phôi non của ngô. Môi trường đã sử dụng nguồn hydrat carbon là sucrose hoặc sucrose kết hợp với một loại đường khác (glucose, sorbitol, maltose) được ký hiệu như sau:

Môi trường C1: 30 g/l sucrose; Môi trường C2: 20 g/l sucrose + 10 g/l glucose; Môi trường C3: 20 g/l sucrose + 10 g/l sorbitol; Môi trường C4: 20 g/l sucrose + 10 g/l maltose.

Rõ ràng rằng, ở các công thức thí nghiệm có sử dụng kết hợp hai loại đường đều cho tỷ lệ tạo mô sẹo khá cao. Trong khi đó, môi trường nuôi cấy chỉ sử dụng đường sucrose cho tỷ lệ tạo mô sẹo thấp hơn nhiều khi đem so sánh. Kết quả của thí nghiệm cho thấy phôi non của hầu hết các dòng ngô được nuôi cấy trong môi trường có bổ sung 20 g/l sucrose kết hợp với 10 g/l glucose cho tần số tạo mô sẹo và mô sẹo phôi hóa cao nhất. Ngay cả dòng VHD1 vốn có tỷ lệ tái sinh khá thấp, nhưng khi được nuôi trong môi trường C2 cũng cải thiện được đáng kể khả năng tái sinh.

KẾT LUẬN

Đây là nghiên cứu đầu tiên đánh giá khả năng phát sinh mô sẹo và tái sinh cây hoàn chỉnh từ phôi non của các dòng ngô Việt Nam được tiến hành ở nước ta. Trên cơ sở nghiên cứu 45 dòng ngô thuộc 3 nhóm ngô tẻ, nếp và ngô ngọt, chúng tôi đã lựa chọn được 4 dòng ngô tẻ VH1, VH11, VH19, VH29, 3 dòng ngô nếp VHN9, VHN10, VHN16 và 2 dòng ngô ngọt VHD2, VHD5 có khả năng tái sinh cao, đồng thời mang một số đặc tính nông học tốt. Mặt khác, việc bổ sung BAP và sử dụng nguồn carbon sucrose (20 g/l) kết hợp với glucose (10 g/l) trong

môi trường nuôi cấy đã cải thiện được khả năng tạo mô sẹo và tái sinh của các dòng ngô chọn lọc, đặc biệt là dòng ngô ngọt VHD1. Các dòng ngô này sẽ được sử dụng làm nguồn vật liệu cho nghiên cứu chuyển gen, tạo ra các dòng ngô biến đổi gen có khả năng thích ứng tốt trong điều kiện Việt Nam và mang các đặc tính nông học quý, góp phần rút ngắn thời gian chọn tạo giống.

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện trong khuôn khổ đề tài thuộc Chương trình Công nghệ sinh học Nông nghiệp, với sự tham gia phối hợp của Viện Nghiên cứu Ngô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ahmadabadi M, Ruf S, Bock R (2007) A leaf-based regeneration and transformation system for maize (*Zea mays* L.). *Transgenic Rep* 16: 437-448.

Armstrong CL, Green CE (1985) Establishment and maintenance of friable, embryogenic maize callus and involvement of L-proline. *Planta* 164: 207-214.

Bhaskaran S, Smith RA (1990) Regeneration in cereal tissue culture: a review. *Crop Sci* 30: 1328-1336.

Bohorova NE, Luna B, Briton RM, Huerta LD, Hoistington DA (1995) Regeneration potential of tropical, and subtropical, midaltitude, and highland maize inbreds. *Maydica* 40: 275-281.

Carvalho CHS, Bohorova N, Bordallo PN, Abreu LL, Valicente FH, Bressan W, Paiva E (1997) Type II callus production and plant regeneration in tropical maize genotypes. *Plant Cell Rep* 17: 73-76.

Green CE, Phillips RL (1975) Plant regeneration from tissue culture of maize. *Crop Sci* 15: 417-421.

Huang XQ, Wie ZL (2004) High-frequency plant regeneration through callus initiation from mature embryos of maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Rep* 22: 793-800.

Jones TJ (2009) Maize tissue culture and transformation: the first 20 Years. In *Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement Biotechnology in Agriculture and Forestry*, vol. 63, Kriz AL, Larkins BA (eds), Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Phạm Thị Lý Thu (2007) Nghiên cứu xây dựng hệ thống tái sinh từ phôi non và xác định phương pháp chuyển gen thích hợp ở ngô. *Luận án Tiến sĩ Sinh học, Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.*

STUDY ON INDUCTION OF EMBRYOGENETIC CALLUS AND PLANT REGENERATION CAPACITY FROM IMMATURE EMBRYOS OF VIETNAM MAIZE LINES

Nguyen Van Dong^{1,*}, Pham Thi Ly Thu¹, Trinh Thi Minh Thuy¹, Ha Van Chien, Ta Kim Nhung¹, Le Thi Thu Ve¹, Phan Xuan Hao², Le Huy Ham¹.

¹*Institute of Agricultural Genetics*

²*Institute of Maize Research*

SUMMARY

Maize (*Zea mays* L.) is one of the world three most widely cultivated crops. Many maize transgenic lines were developed by application of transformation technology. However, the transformation researches were limited due to almost edible lines showed poor regeneration response. We have evaluated different formulations for callus induction of 46 maize lines include flint corn, waxy corn, sweet corn and one model line (HR8) have proven to be responsive to the *in vitro* conditions considered in this work. The results revealed 6 flint corn lines (VH1, VH11, VH19, VH29), 3 waxy corn lines (VHN9, VHN10, VHN16) and 2 sweet corn lines (VHD2, VHD5) showing the high efficiency in embryogenic callus formation and good agricultural characters. The medium supplemented sucrose (20 g/l) and glucose (10 g/l) combining with BAP 0.3 mg/l and 2,4-D 1.5 mg/l significantly improved the frequency of embryogenic callus induction of these lines, especially VDH1 sweet corn line. This was the first report which has defined the selected maize lines of Vietnam giving high regeneration ability. They will be used as material sources for maize transformation research, producing genetically modified lines adapted with Vietnam's weather, reducing the time for breeding.

Keywords: *Callus, corn (Zea mays L.), grow regulato, immature embryos, regeneration*

* Author for correspondence: Tel: 84-4-37557161; E-mail: dongjircas@yahoo.com