ẢNH HƯỞNG CỦA VẬT LIỆU NUÔI CẤY ĐẾN SỰ TẠO MÔ SẸO VÀ 2,4-D ĐẾN KHẢ NĂNG HÌNH THÀNH PHÔI SOMA TỪ CÂY NGÔ (*Zea mays* L.) TRONG ĐIỀU KIỆN IN VITRO

Trần Thị Phương Hạnh[1], Trịnh Thị Huyền Trang[1]

Ngày nhận bài: 14/03/2024; Ngày phản biện thông qua: 20/04/2024; Ngày duyệt đăng: 25/04/2024

TÓM TẮT

Khả năng tái sinh của cây trồng nói chung phụ thuộc nhiều vào kiểu gen của thực vật. Đối với cây ngô, vấn đề tái sinh gặp rất nhiều khó khăn, hầu hết các cây ngô có khả năng tái sinh kém và phụ thuộc vào môi trường nuôi cấy và một số yếu tố khác. Kết quả nghiên cứu về nguồn vật liệu nuôi cấy cũng như ảnh hưởng của auxin đến phát sinh hình thái là tiền đề cho các nghiên cứu chuyển gen, tạo dòng phục vụ cho công tác chọn tạo giống cây trồng. Mô sẹo đều được hình thành từ các nguồn mẫu rễ, diệp tiêu và phôi non trong đó phôi non *được cảm ứng tạo mô sẹo tốt nhất trên m*ôi trường MS bổ sung NAA 4 mg/l kết hợp $AgNO_3$ với nồng độ 10 mg/l sau 3 tuần nuôi cấy trong điều kiện tối hoàn toàn. Môi trường MS bổ sung 2,4-D 2 mg/l thích hợp cho hình thành cấu trúc phôi từ mô sẹo: tỷ lệ mẫu tạo phôi (64,33%), số phôi (7,33 phôi), kích thước phôi (3,91 mm) sau 5 tuần nuôi cấy (2 tuần đầu trong tối, 3 tuần tiếp theo trong điều kiện chiếu sáng 2000 lux).

Từ khóa: *Chất điều hòa sinh trưởng thực vật, cây ngô, mô sẹo, phôi soma.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây ngô (*Zea mays* L.) được xem như một trong ba loại cây trồng quan trọng nhất, bên cạnh lúa mì và lúa gạo, cung cấp lương thực chủ yếu cho dân số thế giới. Ngô là loại ngũ cốc hàng đầu trong công nghệ sinh học, nhằm duy trì và nâng cao sản xuất ngũ cốc nhằm hỗ trợ dân số đang tăng nhanh (USDA, 2023). Ở Việt Nam, ngô là loại cây lương thực quan trọng chỉ đứng thứ hai sau cây lúa. Ngô là thức ăn chính đối với các loại gia cầm, vật nuôi và là nguồn thu nhập quan trọng của nhiều nông dân. Cây ngô không chỉ biết đến bởi giá trị kinh tế và giá trị dinh dưỡng cao mà còn là một cây trồng quan trọng, có khả năng khai thác tốt trên các loại đất khó khăn, trên các vùng đồi núi, vùng khô hạn. Năm 2022, sản lượng ngô ở Việt Nam 4,41 triệu tấn. Tuy nhiên, Việt Nam vẫn là một trong hai quốc gia có khối lượng nhập khẩu ngô tăng trưởng nhanh nhất Đông Nam Á và thứ 5 thế giới. (Tổng cục thống kê, 2023; USDA, 2023).

Hiện tượng phát sinh phôi soma (somatic embryogenesis) trực tiếp hay tạo mô sẹo có khả năng sinh phôi (embryogenic) góp phần quan trọng trong công tác nhân giống, tạo giống cây trồng (Nhựt và cộng sự, 2012). Khả năng tái sinh của cây trồng nói chung phụ thuộc nhiều vào kiểu gen của thực vật. Đối với cây ngô, vấn đề tái sinh gặp rất nhiều khó khăn, hầu hết các cây ngô có khả năng tái sinh kém và phụ thuộc vào môi trường nuôi cấy và một số yếu tố khác (Armstrong và Green, 1985). Bùi Mạnh Cường và cộng sự (2012), từ 154 nguồn nguyên liệu tổ hợp lai, xác định được 19 nguồn nguyên liệu có tỷ lệ tái tạo phôi (từ 9,5% - 11,9%), tái sinh cây cao (10,4% - 10,7%), sử dụng tạo dòng đơn bội kép. Khuất Hữu Trung và công sự (1999), thăm dò khả năng tạo callus và tái sinh cây của phôi non và noãn chưa thụ tinh phục vụ công tác chọn tạo giống ngô ghi nhận, môi trường 2,4-D tần suất tái tạo mô sẹo của noãn chưa thụ tinh cao hơn so với môi trường nuôi cấy có bổ sung dicamba. Các giai đoạn sinh lý của nguồn mẫu cấy cũng ảnh hưởng đến khả hình thành mô sẹo và phát sinh hình thái. Trong nuôi cấy bao phấn, giai đoạn thu cờ thích hợp khi cờ vừa nhú lên trong cuống lá với các bao phấn chứa đựng tiểu bào tử một nhân muộn hoặc hai nhân sớm (Nguyễn Hữu Đống và cộng sự, 2012). Guruprasad và cộng sự (2016), nghiên cứu sự hình thành mô sẹo và phát sinh hình thái từ phôi non và phôi trưởng thành của giống ngô lai MU 2092 ghi nhận, mô sẹo được hình thành trên môi trường N6 có bổ sung 2,4- D 4 mg/l cảm ứng tạo phôi với tần số 90% .Trong khuôn khổ bài báo này, chúng tôi trình bày một số kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn mẫu cấy khác nhau và một số yếu tố môi trường đến khả năng tạo mô sẹo và phát sinh phôi soma của giống ngô lai đơn LVN146 có nguồn gốc Việt Nam làm tiền đề cho các nghiên cứu chuyển gen, tạo dòng phục vụ cho công tác chọn tạo giống cây trồng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Giống ngô LVN146 do Viện Nghiên Cứu Ngô

[1]Khoa Khoa học Tự Nhiên và Công nghệ, Trường Đại học Tây Nguyên;
Tác giả liên hệ: Trần Thị Phương Hạnh; ĐT: 0988861311; Email: ttphanh@ttn.edu.vn.

(Đan Phượng, Hà Nội) cung cấp, độ thuần di truyền ≥ 99,9%, tỷ lệ nảy mầm ≥ 86%, độ ẩm ≤ 11%.

2.2. Phương pháp

Lớp mỏng tế bào thu được từ các bộ phận khác nhau gồm rễ (CR), lá non (CL) của cây *in vitro* 10 ngày tuổi và tử diệp (CD) của cây *in vitro* 4 ngày tuổi nảy mầm từ hạt ngô. Rễ và bao lá mầm được cắt thành các đoạn 1 cm; Lá được cắt thành các mảnh khoảng 1 cm^2, tạo các vết thương; Lớp mỏng phôi non (CP) được lấy từ bắp non sau khi thụ phấn 14 ngày, mẫu bắp thí nghiệm được giữ ở 4^0C trong thời gian 10 ngày trước khi tách phôi. Khử trùng bề mặt ngoài của bắp bằng ethanol 70^0 với thời gian xử lý 2 phút.

Môi trường nuôi cấy được sử dụng là môi trường đa lượng và vi lượng theo thành phần khoáng của môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962), bổ sung thêm các thành phần: vitamin Morel, saccharose hoặc glucose 30 g/l tùy theo từng thí nghiệm, $AgNO_3$ tùy theo từng thí nghiệm, Agar (công ty TNHH Hải Long, Hải Phòng sản xuất): 6 g/l, chất điều hòa sinh trưởng auxin (NAA, 2,4-D), casein tùy theo từng thí nghiệm. Môi trường được chỉnh pH = 5,8 (chỉnh bằng NaOH 1N và HCl 1N), được hấp khử trùng bằng autoclave ở nhiệt độ 121°C và áp suất 1atm trong thời gian 17 phút.

2.2.1. Phương pháp tạo mô sẹo

Các mẫu cấy trên được đặt trên môi trường MS có bổ sung: vitamin Morel, saccharose 30 g/l, NAA 4 mg/l kết hợp với $AgNO_3$ với nồng độ 10 mg/l. Các mẫu được đặt trong tối ở điều kiện nhiệt độ 22 ± 2°C và ẩm độ 55%. Chỉ tiêu theo dõi: thời gian hình thành mô sẹo, % mẫu hình thành mô sẹo, gia tăng trọng lượng tươi, gia tăng trọng lượng khô.

2.2.2. Phương pháp tạo phôi từ mô sẹo

Mô sẹo 3 tuần tuổi (ở nghiệm thức cho mô sẹo tốt nhất) được cắt thành các mảnh nhỏ kích thước 1 x 1 cm chuyển sang môi trường tạo phôi (môi trường MS cơ bản có bổ sung: vitamin Morel, 500 mg/l casein, 30 g đường glucose, 15 mg/l AgNO3 và kết hợp với 2,4-D có nồng độ 0 mg/l; 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l và 2,5 mg/l nuôi cấy trong tối thời gian 2 tuần sau đó chuyển sang điều kiện chiếu sáng với cường độ ánh sáng 2000 ± 300 lux, thời gian chiếu sáng 12/24, nhiệt độ 22 ± 2°C và độ ẩm 55% ± 10%. Theo dõi sự phát sinh phôi theo thời gian nuôi cấy: % mẫu tạo phôi, số phôi, kích thước phôi.

Xử lý số liệu

Các số liệu ghi nhận được xử lý thống kê bằng phần mềm Statistical Program cientific System (SPSS) phiên bản 22.0. Sự sai biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của vật liệu nuôi cấy lên khả năng tạo mô sẹo

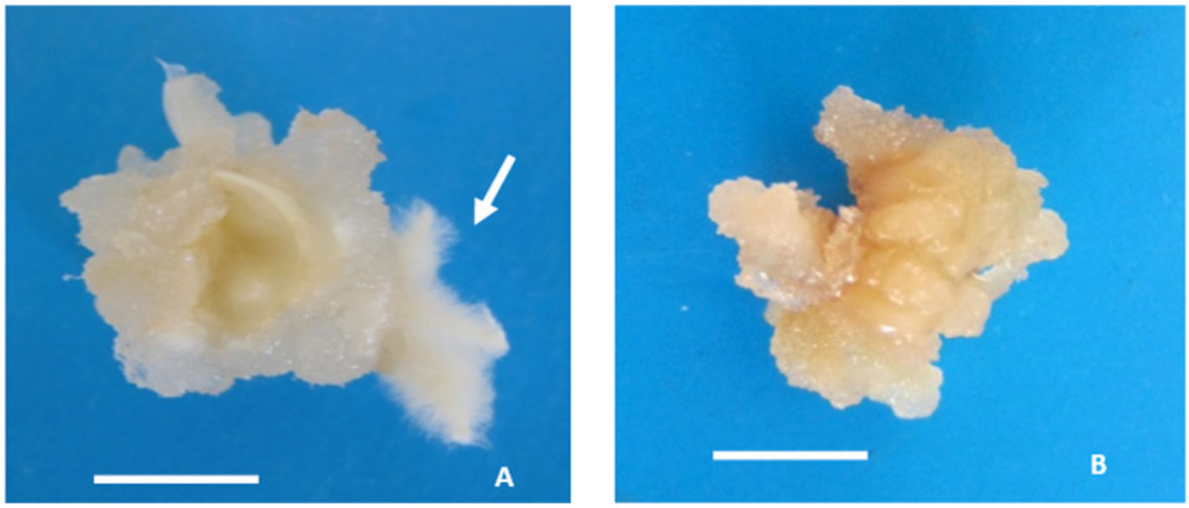
Trong điều kiện tối hoàn toàn, ở hầu hết các nghiệm thức có bổ sung NAA và $AgNO_3$, nguồn mẫu rễ và phôi non đều hình thành mô sẹo sau 3 ngày nuôi cấy và 1 tuần nuôi cấy (diệp tiêu), không có sự xuất hiện mô sẹo trong 5 tuần nuôi cấy từ nguồn mẫu lá. Mô sẹo bắt đầu xuất hiện tại các rìa của nguồn mẫu, xung quanh mặt ngoài của mẫu, ở những nơi tiếp xúc với môi trường. Ở tuần thứ 2, mô sẹo tăng sinh nhanh chóng và chiếm toàn bộ bề mặt của mẫu cấy. Sang tuần thứ 3, mô sẹo tăng sinh mạnh, các tế bào bề ngoài mô sẹo tách rời nhau làm mô sẹo trở nên xốp, mô sẹo bên trong chắc. Các nhóm tế bào này tiếp tục duy trì sự phân chia và bắt đầu chuyển sang hóa nâu ở tuần thứ 5. Một số mẫu cấy có hình thành rễ. Nồng độ NAA 4 mg/l và $AgNO_3$ 10 mg/l thích hợp cho sự hình thành mô sẹo từ các nguồn mẫu cấy (rễ, phôi non, diệp tiêu, không phù hợp cho mẫu lá), trong đó, mô sẹo được hình thành từ phôi non là tốt nhất, gia tăng trọng lượng tươi (6,26 g) và gia tăng trọng lượng khô (1,15 g) cao hơn hẳn các nguồn mẫu rễ và diệp tiêu (bảng 1). Kết quả này tương tự kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Lý Thu và công sự (2003), Nguyễn Văn Trường và cộng sự (2013). Điều này có thể được giải thích là do dưới tác động của NAA, các tế bào bắt đầu phân chia mạnh mẽ và có sự biến đổi hình dạng, tế bào kéo dài ở ngày thứ 3 sau nuôi cấy. Sang tuần thứ 2, do auxin kích thích hoạt động của bơm proton màng nguyên sinh chất, giúp H^+ được bơm ra vách tế bào làm pH của vách giảm. Sự giảm pH làm cho vài nối giữa extensin, hemicellulose, các hợp chất pectic với cellulose bị phá vỡ, Ca^{2+} nối liền các chuỗi hợp chất bị loại đi, enzyme thủy giải được hoạt hóa (β-glucanase, các proteinase) làm vách trở nên lỏng lẻo (Mai Trần Ngọc Tiếng, 2001). Vì vậy, ở tuần thứ 3, dưới tác động của NAA, các tế bào mô sẹo ở ngoài cùng có xu hướng tách rời nhau, làm mô sẹo trở nên xốp. $AgNO_3$ kích thích quá trình tạo mô sẹo, duy trì sự phân chia của tế bào bằng cách ngăn cản sự hình thành ethylen nội sinh (tạo ra bởi sự tổn thương của các mẫu nuôi cấy và quá trình nuôi cấy in vitro) (Songstad và cộng sự, 1992). Ngoài tác động của nguồn auxin ngoại sinh, auxin nội sinh trong mẫu cấy cũng có vai trò quan trọng trong phân chia tế bào và phát sinh hình thái (Mai Trần Ngọc Tiếng, 2001). Phôi non là nơi tổng hợp nhiều auxin để thu hút dinh dưỡng về nuôi trái và hạt (Bùi Trang Việt, 2016). Do đó có thể là lý do nguồn mẫu cấy phôi non có

khả năng cho mô sẹo tốt hơn các mẫu cấy còn lại. Mô sẹo săn chắc xen kẽ với mô sẹo xốp rất thích hợp với sự phát sinh hình thái (hình 1).

Bảng 1. Sự hình thành mô sẹo ở các nguồn mẫu trên môi trường MS có bổ sung 4 mg/l NAA và 10 mg/l $AgNO_3$ sau 5 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức	Thời gian hình thành mô sẹo	% mẫu hình thành mô sẹo	Gia tăng trọng lượng tươi (g)	Gia tăng trọng lượng khô (g)
CR	3 ngày	100%	0,19 ± 0,009^{c}	0,10 ± 0,006^{c}
CL	-	0%	1,09 ± 0,014^{b}	0,31 ± 0,009^{b}
CD	7 ngày	100%	0,17 ± 0,071^{c}	0,12± 0,008^{c}
CP	3 ngày	100%	6,26 ± 0,024^{a}	1,15 ± 0,013^{a}

*Chú thích: *Những chữ khác nhau (a, b, c) trong cùng một cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $P \leq 0,05$ trong Duncan's test.*



Hình 1. Mô sẹo từ phôi non, mũi tên trắng chỉ rễ

Ghi chú: (A): Mô sẹo 3 tuần tuổi; (B): Mô sẹo 5 tuần tuổi; thanh Bar: 1 cm

3.2. Ảnh hưởng của ồng độ 2,4-D đến sự hình thành phôi soma từ mô sẹo

Mô sẹo tốt nhất 3 tuần tuổi được hình thành từ phôi non được cấy chuyền sang môi trường tạo phôi. Sự cảm ứng chất điều hòa sinh trưởng ngoại sinh (2,4-D) thể hiện rõ rệt. Sau 1 tuần nuôi cấy có sự tăng sinh tế bào hình thành các khối tế bào tạo phôi nhú ra khỏi bề mặt mô sẹo (xuất hiện các nốt nhỏ li ti). Đến tuần thứ 2, các cấu trúc dạng phôi hình cầu được hình thành với kích thước tương đối nhỏ khó nhìn thấy bằng mắt thường sự thay đổi này. Nhưng đến tuần thứ 3, phôi soma đã phát triển khá tốt về kích thước mắt thường có thể quan sát dễ dàng. Các cấu trúc dạng phôi phát triển thay đổi về hình dạng và kích thước ở thời gian này chúng có dạng hình cầu hay hình tim màu vàng nhạt (hình 3). Kết quả của sự phát sinh phôi từ mô sẹo trên các môi trường khác nhau được ghi nhận (Bảng 2, hình 2, 3).

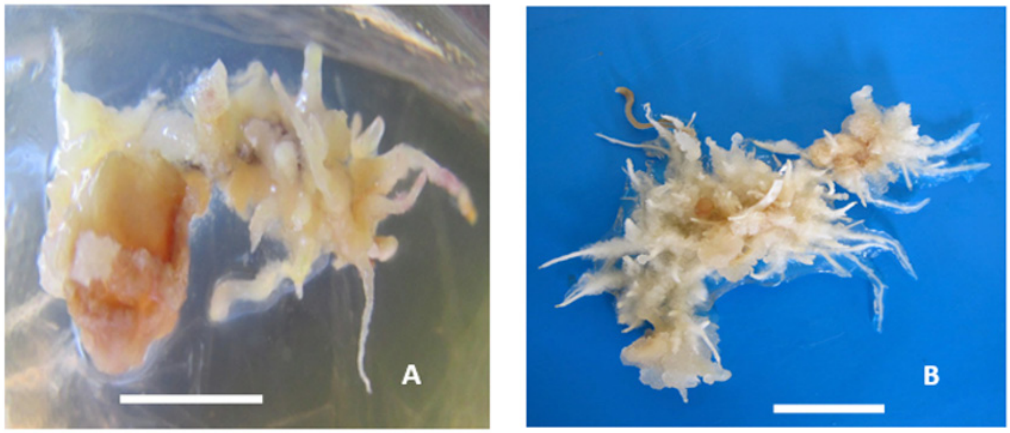
Từ Bảng 2 cho thấy, môi trường không có bổ sung 2,4-D không có sự hình thành cấu trúc dạng phôi, chỉ có sự xuất hiện rễ sau 1 tuần khi cấy chuyền. Ở các tuần tiếp theo, rễ tiếp tục phân chia tăng lên về số lượng và kích thước (Hình 2). Môi trường có bổ sung 2,4-D, mô sẹo đều phôi hóa. Khả năng mô sẹo phôi hóa tỷ lệ với sự tăng nồng độ 2,4-D từ 0,5 – 2 mg/l, trong đó, môi trường có bổ sung 2,4-D 2 mg/l (nghiệm thức P5) có tỷ lệ mẫu tạo phôi soma (64,33%), số phôi (7,33 phôi), kích thước phôi (3,91 mm) cao nhất.

Bảng 2. Ảnh hưởng của 2,4-D đến sự hình thành cấu trúc dạng phôi từ mô sẹo

Nghiệm thức	Môi trường	% mẫu tạo phôi	Số phôi soma trên mẫu cấy	Kích thước phôi soma (mm) sau khi cấy chuyền sang môi trường tạo phôi				
				Tuần 1	Tuần 2	Tuần 3	Tuần 4	Tuần 5
P1	MS	0	0	_	_	_	_	_
P2	MS có bổ sung 2,4-D 0,5 mg/l	17,66% ± 2,33^{d}	1,66 ± 0,33^{d}	0,59 ± 0,01^{d}	1,04 ± 0,18^{cd}	1,31 ± 0,091^{d}	1,47 ± 0,20^{d}	1,61 ± 0,02^{d}
P3	MS có bổ sung 2,4-D 1 mg/l	30,66% ± 4,67^{cd}	4 ± 0,58^{bc}	0,84 ± 0,04^{c}	1,64 ± 0,02^{b}	1,78 ± 0,003^{bc}	1,95 ± 0,01^{c}	2,15 ± 0,19^{c}
P4	MS có bổ sung 2,4-D 1,5 mg/l	42,33% ± 2,33^{b}	5,66 ± 0,33^{b}	1,35 ± 0,01^{b}	1,76 ± 0,02^{ab}	1,98 ± 0,030^{b}	2,18 ± 0,09^{ab}	2,53 ± 0,02^{b}
P5	MS có bổ sung 2,4-D 2 mg/l	64,33% ± 8,09^{a}	7,33 ± 0,33^{a}	1,42 ± 0,02^{a}	1,97 ± 0,02^{a}	2,06 ±0,06^{a}	2,48 ± 0,09^{a}	3,91 ± 0,06^{a}
P6	MS có bổ sung 2,4-D 2,5 mg/l	40,33% ± 2,00^{b}	3,66 ± 0,33^{c}	1,32 ± 0,05^{b}	1,24 ± 0,01^{c}	1,83 ± 0,03^{b}	2,21 ± 0,05^{ab}	3,03 ± 0,03^{b}

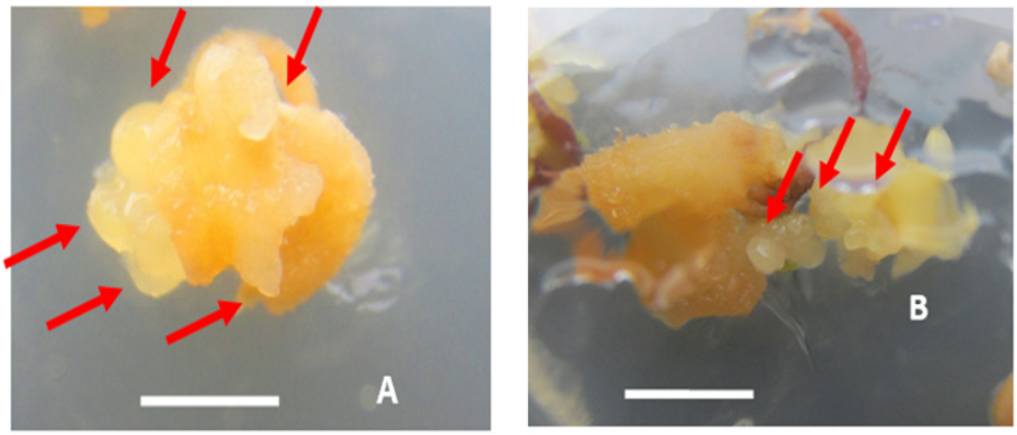
*Chú thích: *Những chữ khác nhau (a, b, c) trong cùng một cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với P ≤ 0,05 trong Duncan's test.*

Tuy nhiên, khi nồng độ 2,4-D tăng 2,5 mg/l, tỷ lệ mẫu tạo phôi, số phôi giảm. Như vậy, môi trường có bổ sung 2,4-D 2 mg/l thích hợp cho sự tạo phôi từ mô sẹo của giống ngô LVN 146. Kết quả nghiên cứu này cũng giống như ghi nhận của Bùi Mạnh Cường và cộng sự (2012), Khuất Hữu Trung và cộng sự (2009) ở một số dòng ngô thuần. 2,4-D đóng vai trò quan trọng trong sự phân chia và biệt hóa tế bào đã được nhiều tác giả chứng minh trên các loài thực vật khác nhau (George and Klerk, 2008).



Hình 2. Rễ được hình thành gián tiếp qua mô sẹo môi trường MS đối chứng

Ghi chú: (A): Rễ 3 tuần tuổi; (B): Rễ 5 tuần tuổi; thanh Bar: 1 cm



Hình 3. Phôi soma được hình thành gián tiếp qua mô sẹo trên môi trường

Ghi chú: bổ sung 2mg/l 2,4D; mũi tên đỏ chỉ phôi*; thanh Bar: 1 cm (A): Cấu trúc dạng phôi sau khi cấy chuyền 3 tuần; (B): Cấu trúc dạng phôi sau khi cấy chuyền 5 tuần.*

4. KẾT LUẬN

Đối với giống ngô LVN 146:

Nguồn mẫu cấy phôi non thích hợp cho sự hình thành mô sẹo. Môi trường khoáng đa lượng, vi lượng MS có bổ sung vitamin Morel, saccharose 30 g/l, NAA 4 mg/l kết hợp với $AgNO_3$ với nồng độ 10 mg/l thích hợp cho sự hình thành mô sẹo từ phôi non.

Môi trường khoáng đa lượng, vi lượng MS có bổ sung vitamin Morel, 500 mg/l casein, 30 g đường glucose, 15 mg/l AgNO3 và kết hợp với 2,4-D 2 mg/l thích hợp cho hình thành cấu trúc dạng phôi từ mô sẹo: tỷ lệ mẫu tạo phôi (64,33%), số phôi (7,33 phôi), kích thước phôi (3,91 mm).

EFFECT OF CULTURE MATERIALS ON CALLUS INDUCTION AND 2,4-D ON SOMATIC EMBRYOS REGENERATION FROM MAIZE (*Zea mays* L.) UNDER IN VITRO CONDITIONS

Tran Thi Phuong Hanh[1], Trinh Thi Huyen Trang[1]

Received Date: 14/03/2024; Revised Date: 20/04/2024; Accepted for Publication: 25/04/2024

ABSTRACT

The ability of crop plants to regenerate depends largely on their genotype. For maize (Zea mays L.), regeneration is particularly challenging, as most maize plants exhibit poor regeneration capabilities, which are influenced by the culture medium and several other factors. Research findings on the source of culture materials and the impact of auxin on morphogenesis are fundamental for transgenic studies and creating lines for plant breeding purposes. Callus formation occurred from root samples, coleoptiles, and immature embryos, with immature embryos showing the best callus induction on MS medium supplemented with 4 mg/l NAA combined with 10 mg/l AgNO3 after 3 weeks of culture in complete darkness. The MS medium supplemented with 2 mg/l 2,4-D was suitable for forming embryogenic structures from callus, with the embryo formation rate (64.33%), the number of embryos (7.33 per callus), and the embryo size (3.91 mm) after 5 weeks of culture (2 weeks in darkness followed by 3 weeks under 2000 lux light conditions).

Keywords: *Callus, maize, plant growth regulator, Somatic embryos regeneration.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

Bùi Mạnh Cường, Mai Xuân Triệu, Ngô Hữu Tình (2012). *Tuyển tập một số kết quả nghiên cứu khoa học & phát triển cây ngô Việt Nam*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, 712 tr.

Nguyễn Hữu Đống, Phạm Xuân Hội, Phan Đức Trực, Khuất Hữu Trung, Nguyễn Văn Cương, Đào Thanh Bằng, Trần Hồng Uy (1995). Những kết quả bước đầu trong việc nuôi cấy bao phấn và noãn ngô *in vitro*. *Tạp chí Di truyền và Ứng dụng*, (2), tr 1-2.

Mai Trần Ngọc Tiếng (2001). *Thực vật cấp cao*. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia TP. HCM.

Tổng cục thống kê (2023). *Niên giám Thống kê Việt Nam.* Nhà xuất bản thống kê, 1268 tr.

Nguyễn Văn Trường, Bùi Mạnh Cường, Nông Văn Hải, Nguyễn Thị Thu Hoài, Đoàn Thị Bích Thảo (2013). Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường đến khả năng tạo mô sẹo từ nuôi cấy phôi non trên nguồn vật liệu ngô Việt Nam. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam, Số 01 (31), tr 73-78

Bùi Trang Việt (2016). *Sinh lý thực vật đại cương*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

[1]*Faculty of Natural Sciences and Technology, Tay Nguyen University;*
Corresponding author: Tran Thi Phuong Hanh; Tel: 0988861311; Email: ttphanh@ttn.edu.vn.

Phạm Thị Lý Thu (2003). Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường và tuổi phôi đến khả năng tái sinh cây từ phôi non dòng ngô nhập nội HR8, HR9. *Tạp chí di truyền học và ứng dụng,* (3), tr28 -32.

Khuất Hữu Trung, Nguyên Mỹ Giang, Nguyễn Bích Thủy, Đào Thị Thanh Bằng, Nguyễn Hữu Đống, Bùi Mạnh Cường (1999). Thăm dò khả năng tạo callus và tái sinh cây của phôi non và noãn chưa thụ tinh phục vụ công tác chọn tạo giống ngô. *Tạp chí di truyền và ứng dụng*, (1), tr 8-12.

Tài liệu tiếng nước ngoài

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

Nhut D.T., Vinh, B.V.T., Hien T.T., Huy N.P., Nam N.B., Chien H.X. (2012). Effects of spermidine, proline and carbohydrate sources on somatic embryogenesis from main root transverse thin cell layers of Vietnamese ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et. Grushv.). *Afr. J. Biotechnol*., 11(5): 1084-1091.

Guruprasad M., Sridevi V., Vijayakumar G. and Kumar M.S. (2016). Plant regeneration through callus initiation from mature andimmature embryos of maize (*Zea mays* L.*). Indian J. Agric. Res*., 50 (2): 135-138

George E.F., Hall M.A. and Klerk G.J. (2008). *Plant Propagation by Tissue Culture. 3rd Edition*. Springer, The Netherland.

Songstad D.D., Petersen W,L. and Armstrong C.L. (1992), Establishment of friable embryogenic (type II) callus from immature tassels of Zea mays (Poaceae). *American Journal of Botany,* 79 (7): 761-764.

USDA (2023). Adoption of Genetically Engineered Crops in the U.S. https://www.ers.usda.gov/data-products/adoption-of-genetically-engineered-crops-in-the-u-s/