

УДК 58.084.1/.085.2:582.912.42

Укоренение и адаптация регенерантов морозоустойчивых представителей рода *Rhododendron* к условиям *ex vitro*

Ю. Г. Зайцева, Е. В. Амброс, Т. И. Новикова

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, ул. Золотодолинская, 101, г. Новосибирск, 630090, Россия.
E-mail: ulianna_zaitseva@mail.ru

Ключевые слова: адаптация *ex vitro*, гидропонная установка, индолил-3-масляная кислота, укоренение *ex vitro*, *Rhododendron*.

Аннотация. Укоренение и адаптация являются лимитирующими стадиями для клонального микроразмножения растений, особенно у древесных. Представленное исследование направлено на изучение влияния различных обработок индолил-3-масляной кислотой (ИМК) на укоренение и адаптацию микропобегов шести морозостойких генотипов рододендронов в условиях *in vitro* и *ex vitro*. Испытывали два метода применения ИМК: непосредственное культивирование на среде Андерсона (АМ), дополненной 25,0 мкМ ИМК и 4-часовую импульсную обработку раствором 148,0 мкМ ИМК. После импульсной обработки ИМК микропобеги переносили либо в условия *in vitro* на безгормональную АМ, либо в условия *ex vitro*, используя гидропонику или смесь торфа и песка (1:1). Максимальный процент укоренения *in vitro* после импульсной обработки получен у вечнозеленых сортов ‘Helsinki University’ (75 %) и ‘Naaga’ (67 %), в то время как процент укоренения дальневосточных видов *R. sichotense*, *R. mucronulatum* и *R. schlippenbachii* составил всего 30–40 %. Укоренение *ex vitro* в гидропонике оказалось эффективным для вечнозеленых сортов; микропобеги *R. sichotense*, напротив, укоренялись слабо. Наилучший результат для всех исследуемых генотипов получен под действием импульсной обработки с последующим укоренением *ex vitro* в смеси торфа и песка (‘Helsinki University’ – 100 %, *R. mucronulatum* – 89 %, *R. sichotense* – 84 %, и *R. schlippenbachii* – 60 %). В результате исследования выявлены генотипические различия, проявляющиеся в частоте и интенсивности ризогенеза при всех вариантах укоренения. Разработанный протокол показал преимущества укоренения *ex vitro*: высокое качество корневой системы и надземной части, а также сокращение периода адаптации. Таким образом, предложенный метод может использоваться как для селекции и сохранения генетических ресурсов рододендронов, так и для коммерческого размножения.

Rooting and acclimatization to *ex vitro* conditions of regenerants of frost-resistant members of *Rhododendron*

Y. G. Zaytseva, E. V. Ambros, T. I. Novikova

Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
Zolotodolinskaya 101 st., Novosibirsk, 630090, Russia

Keywords: *ex vitro* acclimatization, *ex vitro* rooting, hydroponic system, indolyl-3-butyric acid, *Rhododendron*.

Summary. Rooting and acclimatization are limiting stages in clonal micropropagation, especially of woody plant species. This study aimed to evaluate effect of different treatments with indole-3-butyric acid (IBA) on *in vitro* and *ex vitro* rooting and acclimatization of microshoots of six winter-hardy rhododendron genotypes. Two methods of IBA applications: direct cultivation on Anderson’s medium (AM), supplemented with 25.0 μM IBA and 4-h liquid-pulse treatment with solution of 148.0 μM IBA were tested. After IBA pulse treatment microshoots were transferred either

to *in vitro* on hormone-free AM or *ex vitro* in a hydroponic system or mixture of peat and sand (1:1). Maximum *in vitro* rooting after IBA pulse treatment was observed for evergreen cultivars ‘Helsinki University’ (75 %) and ‘Haaga’ (67 %), whereas Far Eastern wild species *R. sichotense*, *R. mucronulatum*, and *R. schlippenbachii* showed 30–40 % rhizogenesis only. *Ex vitro* rooting in hydroponic system was efficient for evergreen rhododendrons, but *R. sichotense* microshoots formed roots poorly. The best results for all genotypes studied were obtained under IBA liquid-pulse treatment with *ex vitro* rooting in the mixture of peat and sand (‘Helsinki University’ – 100 %, *R. mucronulatum* – 89 %, *R. sichotense* – 84 %, and *R. schlippenbachii* – 60 %). Our research revealed genotype differences in rooting percent under all IBA treatment studied. The developed protocol demonstrated some advantages of *ex vitro* rooting including high quality of root and shoot systems and reduction of acclimatization period. Thus proposed method can be used for breeding and conservation of rhododendron germplasm, as well as for large-scale commercial propagation.

Введение

Представители рода *Rhododendron* L. (рододендрон) семейства Ericaceae Juss. насчитывают около 1000 видов (Chamberlain et al., 1996) и множество сортов и гибридов. Благодаря высочайшим декоративным свойствам, рододендроны широко используются в озеленении и ландшафтном дизайне в Европе и Северной Америке, однако, невысокая морозоустойчивость многих сортов ограничивает их культивирование в суровых климатических условиях Западной Сибири. Дикорастущие дальневосточные виды *Rhododendron mucronulatum* Turcz., *R. sichotense* Pojark. и *R. schlippenbachii* Maxim. являются ценным генетическим ресурсом для селекции, поскольку отличаются не только морозоустойчивостью, но и характеризуются значительным полиморфизмом по форме куста, окраске венчика и срокам цветения, а также способностью произрастать на слабокислых почвах (Petukhova, 2006; Vrishch et al., 2010). Некоторые из дикорастущих видов (*R. mucronulatum*, *R. schlippenbachii*) нуждаются в охране в силу возрастающей антропогенной нагрузки в естественных ареалах (Kharkevich, Katchura, 1981; Nedoluzhko, Koldaeva, 2008; Pavlova, 2008). Кроме того, значительный интерес представляют морозостойкие вечнозеленые финские сорта ‘Haaga’ и ‘Helsinki University’, а также североамериканский сорт *R. catawbiense* ‘Grandiflorum’, отличающийся и устойчивостью к высокой инсоляции (Van Veen, 1969). Указанные виды и сорта рододендронов могут быть не только рекомендованы для выращивания в сибирских условиях, но и служить исходным материалом для дальнейшей селекции и получения новых сортов на их основе.

В настоящее время клональное микро размножение является наиболее эффективной технологией массового воспроизводства рододендронов (Briggs et al., 1988; Preece, Immel, 1991; Hsia, Korban, 1997; Pavingerova, 2009), которая

позволяет за короткий период времени получить оздоровленный и генетически однородный посадочный материал высокого качества вне зависимости от сезона и климатических условий региона. Однако культивирование растений *in vitro* способствует появлению ряда морфологических, анатомических и физиологических аномалий у микропобегов, затрудняющих перевод регенерантов в условия *ex vitro* (Pospisilova et al., 1999; Hazarika, 2006). Следствием этого являются низкая частота ризогенеза *in vitro* и высокая гибель регенерантов при адаптации к нестерильным условиям теплиц или открытого грунта, ограничивающие использование метода клонального микро размножения для массового воспроизводства ценных генотипов (Chandra et al., 2010). В последние годы значительные усилия исследователей направлены на поиск способов оптимизации и условий размножения рододендронов *in vitro* (Eeckhaut et al., 2010), в то время как процессы укоренения и адаптации микроклонов к условиям *ex vitro* недостаточно освещены в литературе.

Протоколы укоренения и адаптации разработаны для некоторых представителей рода *Rhododendron*. В качестве наиболее эффективного стимулятора ризогенеза у микроклонов большинства генотипов используют индолил-3-масляную кислоту (ИМК) (Almeida et al., 2005; Filipenia et al., 2009). Однако размножение *in vitro* представителей рода осложнено генотипическими различиями морфогенных реакций на всех этапах клонального микро размножения, включая особенности ризогенеза и адаптации, что особенно ярко проявляется при культивировании листопадных, полувечнозеленых и вечнозеленых видов и сортов, поэтому выбор того или иного способа применения ИМК определяется экспериментально для каждого генотипа (Briggs et al., 1994; Eeckhaut et al., 2010; Zaytseva et al., 2016).

Цель представленной работы – разработать и оптимизировать протоколы укоренения и адаптации к условиям *ex vitro* микропобегов шести морозоустойчивых генотипов рода *Rhododendron*: полувечнозеленых и листопадных дикорастущих видов *R. sichotense*, *R. mucronulatum*, *R. schlippenbachii* и вечнозеленых сортов *R. catawbiense* 'Grandiflorum', 'Helsinki University', 'Haaga'. Разработка протоколов укоренения и адаптации имеет не только практическое значение, открывая перспективы получения высококачественного посадочного материала декоративных морозостойких рододендронов для Сибирского региона, но и позволит выявить генотипические различия морфогенных реакций рододендронов на этом этапе микроразмножения.

Материалы и методы

Растительный материал и условия культивирования

В качестве объектов исследования использовали 3 дикорастущих вида рода *Rhododendron*: *R. mucronulatum*, *R. sichotense*, *R. schlippenbachii* и 3 сорта: *R. catawbiense* 'Grandiflorum', 'Helsinki University' и 'Haaga'. Выбор объектов для исследования обусловлен, главным образом, морозоустойчивостью, высокой декоративностью и способностью произрастать в условиях юга Западной Сибири.

Микроклоны культивировали на питательной среде Андерсена (АМ) (Anderson, 1984), дополненной 30,0 г/л сахарозы, 6,0 г/л Бактоагара (Panreac, Испания) и регуляторами роста растений: 24,5 мкМ 2-изопентиладенина и 5,7 мкМ β-индолилуксусной кислоты. До автоклавирования pH среды доводили до 5,0 путем добавления по каплям 1 н раствора КОН. Регуляторы роста вносили в питательную среду после автоклавирования в стерильных условиях.

Культивирование микрорастений проводили при интенсивности освещения люминесцентными лампами 40 мкМоль м⁻² с⁻¹ и 16-часовом фотопериоде при температуре 23 ± 2 °С.

Индукция ризогенеза в условиях *in vitro* и *ex vitro*

Микропобеги, полученные в результате культивирования на питательной среде описанного выше состава укореняли в условиях *in vitro* или *ex vitro*.

Для стимуляции ризогенеза использовали два подхода: непосредственное культивирование

на АМ, дополненной 25,0 мкМ ИМК или 4-часовую импульсную обработку в растворе 148,0 мкМ ИМК. Под импульсной обработкой понимали погружение микропобегов на 4 часа в водный раствор ИМК заданной концентрации. Для дальнейшего ризогенеза после импульсной обработки регенеранты помещали либо в условия *in vitro*, т.е. инокулировали на безгормональную среду АМ (АМ0), либо переносили в условия *ex vitro* в гидропонную установку или в субстрат для укоренения.

Для приготовления субстрата кислый верховой торф (pH = 4,0–5,0) смешивали со стерильным кварцевым песком в соотношении 1:1 (по объему). Приготовленный субстрат засыпали в специальные кюветы, в качестве дренажа использовали керамзит.

В гидропонной установке укореняли микропобеги *R. sichotense*, 'Helsinki University' и 'Haaga'. Использовали модифицированную гидропонную установку, аналогичную системе «Минивит». Питательный раствор для гидропонной установки готовили по прописи АМ, уменьшив в два раза концентрацию микро- и макроэлементов и исключив все органические компоненты (сахарозу, витамины и др.). Для интенсивного корнеобразования и адаптации в гидропонной установке использовали двухстадийный протокол, разработанный Н. А. Вечерниной (Vechernina et al., 2008). Кювету для гидропоники заполняли по очереди двумя разными растворами: первые 3 недели использовали раствор № 1 (с повышенным содержанием фосфатов), затем, оставшиеся 3 недели, – раствор № 2 (с повышенным содержанием нитрата аммония) (табл. 1).

Продолжительность этапа укоренения при всех типах обработки ауксином и условиях укоренения составила 6 недель, после чего были подсчитаны следующие параметры: процент укоренившихся микропобегов, количество и длина корней, процент микропобегов с вторичными корнями и высота побегов. Для каждой из обработок использовали по 20 микрорастений каждого из исследуемых видов и сортов, все эксперименты выполнены в трехкратной повторности. Изучение процессов ризогенеза проводили при помощи оборудования Центра коллективного пользования ЦСБС СО РАН: стереомикроскопа Carl Zeiss Stereo Discovery V 12 с цветной фотокамерой AxioCam HRc и программным обеспечением для приема, обработки и анализа изображений AxioVision 4.8 (Carl Zeiss, Germany).

Таблица 1

Состав питательного раствора для укоренения и адаптации регенерантов исследованных видов и сортов *Rhododendron* в гидропонной установке

Компоненты питательного раствора	Раствор № 1, концентрация, мг/л	Раствор № 2, концентрация, мг/л
NH ₄ NO ₃	200,000	400,000
KNO ₃	240,000	240,000
MgSO ₄ *7H ₂ O	185,000	185,000
CaCl ₂ *2H ₂ O	220,000	220,000
NaH ₂ PO ₄ *H ₂ O	380,000	190,000
Sequestren 138	50,000	50,000
MnSO ₄ *H ₂ O	8,450	8,450
ZnSO ₄ *7H ₂ O	4,300	4,300
H ₃ BO ₃	3,100	3,100
KI	0,150	0,150
CoCl ₂ *6H ₂ O	0,013	0,013
CuSO ₄ *5H ₂ O	0,013	0,013
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	0,125	0,125

Адаптация укорененных микропобегов к условиям *ex vitro*

Адаптацию укорененных растений проводили в смеси торфа и песка (1:1) в течение 6 недель. В течение первых 2-х недель создавали условия повышенной влажности под пленкой, затем пленку открывали на короткое время, постепенно увеличивая продолжительность пребывания укорененных регенерантов в условиях пониженной влажности. Растения выращивали под люминесцентными лампами с интенсивностью освещения 27 мкмоль м⁻²·с⁻¹ при 16-часовом фотопериоде и 23 ± 2 °С. Адаптированные растения пересаживали в горшки (d = 10 см) с почвенной смесью для азалий («Сад Чудес», Россия) и переносили в теплицу или открытый грунт.

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку и анализ полученных данных проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Excel 7.0 и Statistica 8.0. Данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок (M ± m). Для сравнения средних значений независимых выборок использовали многокритериальный тест Дункана (однофакторный дисперсионный анализ). Размер выборки составил 20 микрорастений каждого из исследуемых видов и сортов.

Результаты и их обсуждение

Влияние способа обработки ИМК на укоренение регенерантов в условиях *in vitro*

Как было отмечено выше, для выявления оптимального способа индукции ризогенеза ис-

пользовали два способа обработки ИМК в условиях *in vitro*: (1) непосредственное культивирование на АМ, дополненной 25,0 мкМ ИМК или (2) 4-часовую импульсную обработку в растворе 148,0 мкМ ИМК с последующим переносом на АМ0.

Установлено, что для всех исследуемых видов и сортов рододендронов наиболее эффективным способом укоренения является импульсная обработка побегов в водном растворе 148,0 мкМ ИМК (рис. 1). При этом частота укоренения побегов под действием импульсной обработки более чем в два раза превышала аналогичные показатели при укоренении на среде, содержащей 25,0 мкМ ИМК у всех испытанных генотипов. Нередко, под действием 25,0 мкМ ИМК на базальном конце некоторых микропобегов развивался каллус.

На этом этапе проявились и генотипические различия исследуемых растений. Максимальный процент укоренения в результате импульсной обработки выявлен у вечнозеленых сортов: у 'Helsinki University' и 'Naaga' (в среднем 75 и 67 % соответственно) (рис. 1). Импульсная обработка микропобегов дикорастущих видов *R. sichotense*, *R. mucronulatum* и *R. schlippenbachii* вызвала ризогенез только у 30–40 % микропобегов, однако этот прием оказался эффективнее по сравнению с непосредственным культивированием на АМ, дополненной 25,0 мкМ ИМК. Невысокий процент укоренения в результате импульсной обработки отмечен у побегов вечнозеленого сорта *R. catawbiense* 'Grandiflorum' (рис. 1).

Разработанный Б. А. Бриггсом с соавторами способ индукции ризогенеза на АМ, содер-

жащей 25,0 мкМ, широко используется как эффективный способ укоренения вечнозеленых рододендронов как в лабораторных, так и в промышленных масштабах (Briggs et al., 1994). В работах белорусских авторов показана эффективность более низких концентраций ИМК (5,0 и 10,0 мкМ) для индукции корнеобразования у вечнозеленых сортов, включая 'Helsinki University' и 'Наага' (Filipenia et al., 2009; Kutas, 2009). Однако авторами показана довольно низкая частота укоренения и отмечено формирование каллуса наряду с развитием адвентивных корней, что может негативно отразиться в дальнейшем на адаптации этих микропобегов к условиям *ex vitro* (Filipenia et al., 2009). Нами получены ана-

логичные результаты при использовании ауксин-содержащей среды для укоренения и отмечено, что повышение концентрации ИМК до 25,0 мкМ неэффективно. Увеличить выход укорененных микропобегов и предотвратить каллусогенез у исследуемых генотипов позволил принципиально иной способ укоренения, основанный на короткой импульсной обработке ИМК в высокой концентрации, запускающей программу ризогенеза, и последующем формировании корней на безгормональной среде в условиях *in vitro*. Однако укорененным таким способом микропобегам необходима адаптация к условиям *ex vitro*, а корневая система, сформированная в условиях *in vitro*, слабо развита (табл. 2).

Таблица 2

Влияние условий *in vitro* и *ex vitro* на степень развития корневой системы регенерантов некоторых представителей рода *Rhododendron* после импульсной обработки ИМК

Вид или сорт	Способ укоренения после импульсной обработки ИМК	Количество корней, шт.	Длина корней, см	Растения с корнями 2-го порядка, %	Высота побегов, см
<i>R. mucronulatum</i>	<i>in vitro</i> на АМ0	2,00 ± 0,63 а	0,72 ± 0,23 а	40	1,32 ± 0,11 а
	<i>ex vitro</i> (торф : песок)	6,41 ± 0,61 б	1,60 ± 0,09 б	88	2,90 ± 0,22 б
<i>R. sichotense</i>	<i>in vitro</i> на АМ0	2,32 ± 1,01 а	1,02 ± 0,61 а	70	2,17 ± 0,52 а
	<i>ex vitro</i> (торф : песок)	6,33 ± 1,73 б	1,71 ± 0,44 а	100	2,64 ± 0,63 а
<i>R. schlippenbachii</i>	<i>in vitro</i> на АМ0	0,75 ± 0,11 а	1,25 ± 0,25 а	0	1,01 ± 0,09 а
	<i>ex vitro</i> (торф : песок)	1,08 ± 0,14 б	3,78 ± 0,86 б	77	1,61 ± 0,31 б
<i>R. catawbiense</i> 'Grandiflorum'	<i>in vitro</i> на АМ0	1,33 ± 0,21 а	0,48 ± 0,03 а	0	1,37 ± 0,10 а
	<i>ex vitro</i> (торф : песок)	4,00 ± 0,34 б	0,59 ± 0,04 а	85	1,73 ± 0,13 б
'Helsinki University'	<i>in vitro</i> на АМ0	1,95 ± 0,34 а	0,37 ± 0,02 а	0	1,26 ± 0,35 а
	<i>ex vitro</i> (торф : песок)	5,48 ± 0,25 б	1,03 ± 0,13 б	100	1,70 ± 0,11 б

Примеч.: «а» и «а» – для образца при использовании двух способов укоренения нет статистически значимых отличий в соответствии с тестом Дункана при $p = 0,05$; «а» и «б» – статистически значимые различия при $p = 0,05$.

Влияние условий укоренения микропобегов после импульсной обработки ИМК и оптимизация этапа укоренения *ex vitro*

Дальнейшая оптимизация укоренения микропобегов исследуемых видов рододендронов проведена нами при помощи импульсной обработки ИМК с последующим ризогенезом в условиях *ex vitro*. Микропобеги, обработанные в водном растворе 148,0 мкМ ИМК в течение 4 часов, помещали в условия *ex vitro* в гидропонную установку или в смесь торфа (рН = 4,0–5,0) и песка, в соотношении 1:1.

Микропобеги *R. sichotense*, 'Helsinki University' и 'Наага' укореняли с использованием лабораторной гидропонной установки. Анализ полученных результатов показал различия исследуемых генотипов. Повышение частоты укоренения в гидропонной установке по сравнению с укоренением на АМ0 отмечено у сортов, относящихся к группе вечнозеленых: 'Helsinki University' и 'Наага', до 90 и 78 % соответственно. Микропобеги *R. sichotense*, напротив, укоренялись с меньшей частотой на гидропонике, чем на АМ0 (рис. 2а). Эффективность использования гидропоники

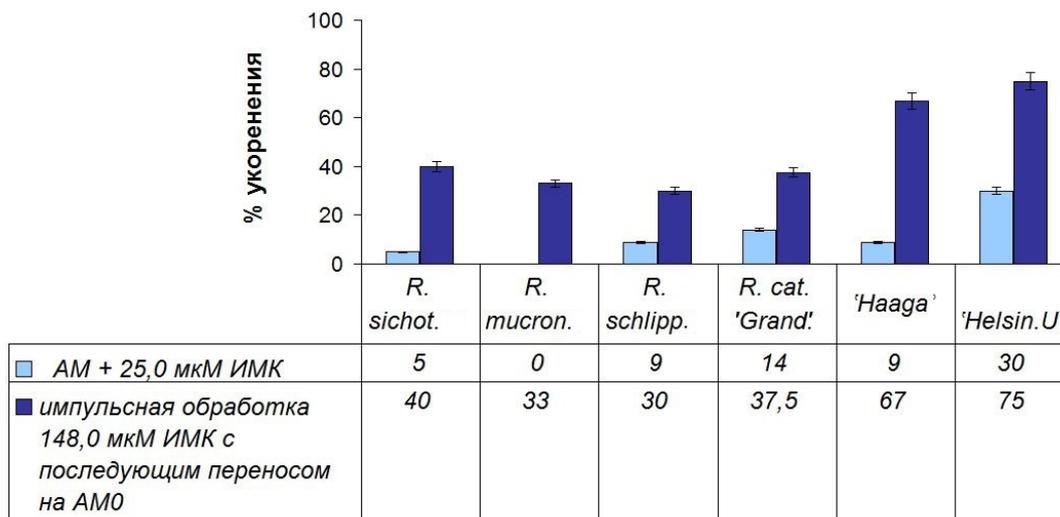


Рис. 1. Эффективность укоренения некоторых представителей рода *Rhododendron* в зависимости от способа применения ИМК. Данные представлены в виде среднего значения трех повторностей $M \pm m$, $n = 20$.

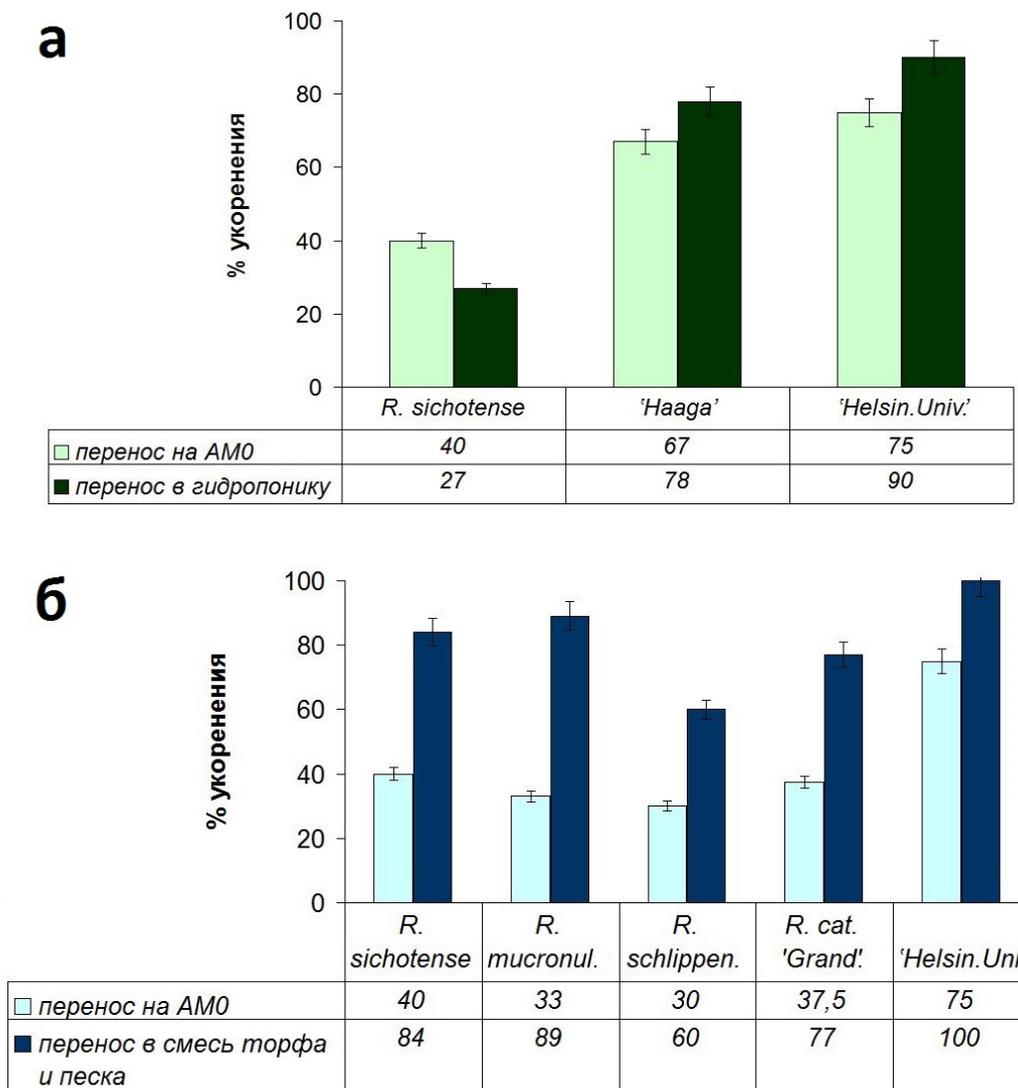


Рис. 2. Частота ризогенеза микропобегов представителей рода *Rhododendron*, индуцированного импульсной обработкой 148,0 мкМ ИМК, в условиях *ex vitro*: а – в гидропонной системе; б – в смеси торфа и песка (1:1). Данные представлены в виде среднего значения трех повторностей $M \pm m$, $n = 20$.

на этапе адаптации растений клонального происхождения показана во многих работах (Nhut et al., 2006; Vechernina et al., 2008; Erst et al., 2012). Полученные нами данные показали перспективность применения гидропоники для укоренения и адаптации вечнозеленых представителей рода

Rhododendron, но не для полувечнозеленых видов.

Для укоренения *R. sichotense*, *R. mucronulatum*, *R. schlippenbachii*, *R. catawbiense* 'Grandiflorum' и 'Helsinki University' после импульсной обработки использовали смесь торфа и песка.



Рис. 3. Укоренение под действием импульсной обработки 148,0 мкМ ИМК и адаптация к условиям *ex vitro* микроклонов исследуемых представителей рода *Rhododendron*: а – микропобеги *R. sichotense*, укорененные в условиях *in vitro*, через 6 недель; б – *R. sichotense*, укорененные в условиях *ex vitro*, через 6 недель; в – *R. mucronulatum*, укорененные в условиях *ex vitro*, через 6 недель; г – *R. schlippenbachii*, укорененные в условиях *ex vitro*, через 6 недель; д – укоренение *R. mucronulatum* в смеси торфа и песка; е – адаптированные растения в кассетах с почвенной смесью; ж – адаптированные растения в теплице в горшках с почвенной смесью через 6 месяцев после начала укоренения; з – цветение *R. mucronulatum* на второй год после вывода из условий *in vitro*.

Использование этого подхода позволило существенно увеличить выход укорененных, адаптированных растений. Так, процент укоренения микроклонов сорта ‘Helsinki University’ составил 100 %, *R. mucronulatum* – 89 %, а *R. sichotense* – 84 % (рис. 2б). При этом у всех исследуемых генотипов корневая система и надземные органы получили лучшее развитие и имели более высокие значения морфологических показателей (наличие корней второго порядка, число и длина корней, высота побегов) по сравнению с растениями, укорененными в условиях *in vitro*. (табл. 2, рис. 3а–г). Растения, полученные таким способом, не нуждались в дополнительной адаптации, и уже через 2–3 месяца рододендроны, пересаженные в кассеты с почвенной смесью (рис. 3е), переносили в теплицу (рис. 3ж) или в условия открытого грунта. Через год после вывода из условий *in vitro* растения микроклонального происхождения видов *R. mucronulatum* и *R. sichotense* переходили в генеративное состояние (рис. 3з).

Анализируя результаты проделанной работы по оптимизации этапов укоренения и адаптации, следует отметить, что использованная нами импульсная обработка 148,0 мкМ ИМК в течение 4 ч. с последующим укоренением *ex vitro* в смеси торфа и песка является эффективным способом, который позволил получить наибольший выход укорененных растений изучаемых представителей рода *Rhododendron*. Ранее на других ви-

дах рододендронов установлена эффективность предобработки регенерантов в водном растворе ИМК с последующим культивированием побегов *in vitro* на АМ0 (Vasilyeva, 2009) или *ex vitro* в смеси торфа и песка (Almeida et al., 2005). Укоренение *ex vitro* имеет ряд преимуществ: полноценное развитие корней, интенсивное развитие побегов и сокращение времени адаптации растений различных таксонов, что находит отражение в работах многих авторов (Benmahioul et al., 2012; Leva, 2012; Phulwaria, Shekhawat, 2013) и подтверждено результатами нашего исследования. Кроме того, укоренение *ex vitro* объединяет два заключительных этапа клонального микро-размножения: укоренение и адаптацию, и по разным оценкам экономит от 35 до 75% стоимости всего процесса размножения *in vitro* (Debergh et al., 1981). Предложенная методика укоренения может быть использована как для селекции и сохранения генофонда рододендронов, так и для крупномасштабного коммерческого размножения.

Благодарности

В статье использовался материал из коллекции USU_440534, УНУ «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте», созданной на базе ЦСБС СО РАН.

Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН № АААА-А17-117012610051-5.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Almeida R., Goncalves S., Romano A. 2005. In vitro micropropagation of endangered *Rhododendron ponticum* L. subsp. *baeticum* (Boissier and Reuter) Handel-Mazzetti. *Biodiver. Conserv.* 14(5): 1059–1069. DOI:10.1007/s10531-004-8413-3
- Anderson W. C. 1984. A revised tissue culture medium for shoot multiplication of rhododendron. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109(3): 43–347.
- Benmahioul B., Dorion N., Kaid-Harche M., Daguin F. 2012. Micropropagation and *ex vitro* rooting of Pistachio (*Pistacia vera*). *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 108(2): 353–358. DOI: 10.1007/s11240-011-0040-6
- Briggs B. A., McCulloch S. M., Edick L. A. 1988. Micropropagation of azaleas using thidiazuron. *Acta Hort.* 227: 330–333. DOI: 10.17660/ActaHortic.1988.227.60
- Briggs B. A., McCulloch S. M., Caton L. A. 1994. In vitro propagation of *Rhododendron*. *Acta Hort.* 364: 21–26. DOI: 10.17660/ActaHortic.1994.364.1
- Chamberien D. F., Hyam R., Argent G., Fairweather G., Walter K. S. 1996. *The genus Rhododendron, its classification and synonymy*. Royal Botanic Garden, Edinburgh, 181 pp.
- Chandra S., Bandopadhyay R., Kumar V., Chandra R. 2010. Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. *Biotechnol. Lett.* 32: 1199–1205. DOI: 10.1007/s10529-010-0290-0
- Debergh P. C., Maene L. J. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Sci. Hort.* 14(4): 335–345. DOI: 10.1016/0304-4238(81)90047-9
- Eeckhaut T., Janssens K., Keyser E., Riek J. 2010. Micropropagation of *Rhododendron*. In: *Protocols for in vitro propagation of ornamental plants: Methods in molecular biology*. Eds. Jain S. M., Ochatt S. J. Humana Press, New York, 141–152 pp. DOI: 10.1007/978-1-60327-114-1_14
- Erst A. A., Novikova T. I., Karakulov A. V., Zaytseva Y. G. 2012. Adaptation of *Rhododendron hybridum* regenerants to *ex vitro* conditions. *Belgorod State University Scientific Bulletin: Natural sciences* 19(9): 44–49 [In Russian].

- (Эрст А. А., Новикова Т. И., Каракулов А. В., Зайцева Ю. Г. Адаптация регенерантов *Rhododendron hybridum* к условиям *ex vitro* // Научные ведомости БелГУ: естественные науки, 2012. Т. 19, № 9. С. 44–49).
- Filipenia V. L., Garbatsevich V. I., Antipova T. V.** 2009. Microclonal propagation of *Rhododendron* × *hybridum* hort. *Physiology and biochemistry of cultivated plants* 41(6): 516–522 [In Russian]. (Филипеня В. Л., Горбацевич В. И., Антипова Т. В. Микрклональное размножение *Rhododendron* × *hybridum* hort. // Физиология и биохимия культурных растений, 2009. Т. 41. С. 516–522).
- Hazarika B. N.** 2006. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. *Sci. Hort.* 108: 105–120. DOI: 10.1016/j.scienta.2006.01.038
- Hsia C. N., Korban S. S.** 1997. The influence of cytokinins and ionic strength of Anderson's medium on shoot establishment and proliferation of evergreen azalea. *Euphytica* 93(1): 11–17. DOI: 10.1023/A:1002945922280
- Kharkevich S. S., Katchura N. N.** 1981. *Redkiye vidy rasteniy sovetskogo Dalnego Vostoka i ikh okhrana* [Rare species of plants of the Soviet Far East and their protection]. Nauka Publishers, Moscow, 234 pp. [In Russian]. (Харкевич С. С., Качура Н. Н. Редкие виды растений советского Дальнего Востока и их охрана. М.: Наука, 1981. 234 с.).
- Kutas E. N.** 2009. *Klonalnoye mikrorazmnozheniye rododendronov i ikh prakticheskoye ispolzovaniye* [Clonal micropropagation of rhododendrons and their practical use]. Belorusskaya nauka, Minsk, 131 pp. [In Russian]. (Кутас Е. Н. Клональное микроразмножения рододендронов и их практическое использование. Минск: Белорусская наука, 2009. 131 с.).
- Leva A.** 2012. Innovative protocol for “*ex vitro* rooting” on olive micropropagation. *Cent. Eur. J. Biol.* 6(3): 352–358. DOI: 10.2478/s11535-011-0010-3
- Nedoluzhko V. A., Koldaeva M. N.** 2008. *Rhododendron shlippenbachii*. In: *Krasnaya kniga Primorskogo kraya: rasteniya* [The Red Data Book of Primorye Territory: plants]. Apelsin, Vladivostok, 121–122 pp. [In Russian]. (Недолужко В. А., Колдаева М. Н. Рододендрон Шлиппенбаха // Красная книга Приморского края: растения. Владивосток: Апельсин, 2008. С. 121–122).
- Nhut D. T., Hahn N. T. M., Tuan P. Q., Nguyet T. M., Tram N. T. H., Chinh N. C., Nguyen N. H., Vinh D. N.** 2006. Liquid culture as a positive condition to induce and enhance quality and quantity of somatic embryogenesis of *Lilium longiflorum*. *Sci. Hort.* 110(1): 93–97. DOI: 10.1016/j.scienta.2006.05.015
- Pavingerova D.** 2009. The influence of thidiazuron on shoot regeneration from leaf explants of fifteen cultivars of *Rhododendron*. *Biol. Plant* 54:797–799. DOI: 10.1007/s10535-009-0147-3
- Pavlova N. S.** 2008. *Rhododendron shlippenbachii*. In: *Krasnaya kniga Rossiyskoy Federatsii: rasteniya i griby*. [The Red Data Book of the Russian Federation: plants and mushrooms]. Moscow, 204–205 pp. [In Russian]. (Павлова Н. С. Рододендрон Шлиппенбаха // Красная книга Российской Федерации: растения и грибы. М., 2008. С. 204–205).
- Petukhova I. P.** 2006. *Rhododendrony na yuge Primorya. Introduktsiya, kultura* [Rhododendrons in the south of Primorye]. Vladivostok, 131 pp. [In Russian]. (Петухова И. П. Рододендроны на юге Приморья. Интродукция, культура. Владивосток, 2006. 131 с.).
- Phulwaria M., Shekhawat N. S.** 2013. An efficient *in vitro* shoot regeneration from immature inflorescence and *ex vitro* rooting of *Arnebia hispidissima* (Lehm). DC. – A red dye (Alkannin) yielding plant. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 19(3): 435–441. DOI: 10.1007/s12298-013-0171-9
- Pospisilova J., Ticha I., Kadlec P., Haisel D., Plzakova S.** 1999. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. *Biol. Plant* 42(4): 481–497. DOI: 10.1023/A:1002688208758
- Preece J. E., Imel M. R.** 1991. Plant regeneration from leaf explants of *Rhododendron* ‘P. J. M. Hybrids’. *Sci. Hort.* 48: 159–170. DOI: 10.1016/0304-4238(91)90163-S
- Van Veen T.** 1969. *Rhododendron in America*. Sweeney Krist Dimm, Portland, 176 pp.
- Vasilyeva O. G.** 2009. *Biologo-morfologicheskiye osnovy klonalnogo mikrorazmnozheniya nekotorykh predstaviteley roda Rhododendron L.* [Biology and morphological bases of clonal micropropagation of some members of the genus *Rhododendron L.*: abstract of the thesis of candidate of biological sciences]. Moscow, 20 pp. [In Russian]. (Васильева О. Г. Биолого-морфологические основы клонального микроразмножения некоторых представителей рода *Rhododendron L.*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. 2009. М., 20 с.).
- Vechnina N. A., Tavartkiladze O. K., Borodulina I. D., Erst A. A.** 2008. Adaptatsiya rasteniy-regenerantov s ispolzovaniyem gidropniki [Adaptation of regenerated plants using hydroponics]. *Izvestiya of Altai State University Journal* 3: 7–10 [In Russian]. (Вечернина Н. А., Таварткиладзе О. К., Бородулина И. Д., Эрст А. А. Адаптация растений-регенерантов с использованием гидропоники // Известия АлтГУ, 2008. Т. 3. С. 7–10).
- Vrishch D. L., Varchenko L. I., Urusov V. M.** 2010. *Rhododendron L.* on Sikhote-Alin: geography, ecology, genesis, economic prospects. *The bulletin of KrasGAU* 10: 64–71 [In Russian]. (Врищ Д. Л., Варченко Л. И., Урусов В. М. Род рододендрон (*Rhododendron L.*) на Сихотэ-Алине: география, экология, генезис, хозяйственные перспективы // Вестник КрасГАУ, 2010. Т. 10. С. 64–71).
- Zaytseva Y. G., Poluboyarova T. V., Novikova T. I.** 2016. Effects of thidiazuron on *in vitro* morphogenic response of *Rhododendron sichotense* Pojark. and *Rhododendron catawbiense* cv. Grandiflorum leaf explants. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 52(1): 56–63. DOI: 10.1007/s11627-015-9737-2