

СОХРАНЕНИЕ И РАЗМНОЖЕНИЕ *RHODODENDRON SCHLIPPENBACHII* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ БИОТЕХНОЛОГИИ

Ю.Г. Зайцева, Т.И. Новикова

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

Разработан протокол клонального микроразмножения *R. schlippenbachii* из семян, показавших высокую всхожесть и неглубокий тип покоя. Испытано действие цитокининов: зеатина и тидиазулона (ТДЗ) на морфогенный потенциал проростков. Наибольшая частота регенерации (100 %) была достигнута в присутствии 1.0 мкМ ТДЗ или 2.5 мкМ зеатина в питательной среде Андерсона (АМ). Прямой органогенез происходил как за счет активации пазушных меристем, так и посредством закладки адвентивных почек на гипокотиле эксплантов, при этом максимальное число побегов на эксплант отмечалось под действием 1.0 мкМ ТДЗ. Культивирование регенерантов на безгормональной АМ позволило получить удлиненные побеги и преодолеть аномалии, вызванные воздействием ТДЗ. Наибольшая доля укорененных растений наблюдается после импульсной обработки побегов 148.0 мкМ индолил-3-масляной кислоты в течение 4 часов с последующим переносом в условия *ex vitro* в смесь торфа и песка. Полученные результаты могут быть включены в программы по сохранению этого редкого полиморфного высокодекоративного вида и созданию новых сортов на его основе.

Ключевые слова: *Rhododendron schlippenbachii*, размножение *in vitro*, зеатин, тидиазурон.

CONSERVATION AND PROPAGATION OF *RHODODENDRON SCHLIPPENBACHII* USING BIOTECHNOLOGICAL METHODS

Yu.G. Zaytseva, T.I. Novikova

Central Siberian Botanical Garden, SB RAS,
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101, e-mail: ulianna_zaitseva@mail.ru

A protocol for *R. schlippenbachii* micropropagation from seeds revealed the high germinating capacity and shallow type of dormancy was developed. The effect of cytokinins such as zeatin and thidiazuron (TDZ) on morphogenic potential of *R. schlippenbachii* seedling was tested. The highest regeneration rate (100 %) was achieved in the presence of 1.0 μ M TDZ or 2.5 μ M of zeatin in Anderson's nutrient medium (AM). The direct organogenesis occurred both through activation of axillary meristems and differentiation of adventitious buds on explants hypocotyl. The maximum number of shoots per explant was obtained under 1.0 μ M TDZ. The cultivation of regenerants on hormone-free AM allowed to obtain the elongated shoots and to overcome the anomalies caused by TDZ treatment. The largest percentage of rooting plants was achieved after pulse treatment with 148.0 μ M indolyl-3-butyric acid for 4 hours followed by transferring to *ex vitro* conditions in mixture of peat and sand. The results could be included in the program for conservation of this rare polymorphic ornamental species and creation of new varieties on its basis.

Key words: *Rhododendron schlippenbachii*, *in vitro* propagation, zeatin, thidiazuron.

ВВЕДЕНИЕ

Rhododendron schlippenbachii Maxim. – редкий дальневосточный вид, произрастающий в Хасанском районе Приморского края, на территории Корейского полуострова и Северо-Восточного Китая, обладает высокими декоративными качествами и является ценным ресурсным растением. Рододендрон Шлиппенбаха – листопадный раскидистый кустарник около 2 м высотой. Листья собраны по 5 на конце побегов, клиновидно-обратнойцевидные до 10 см в длину. Цветки по 3–6

с нежным ароматом. Венчик бледно-розовый с пурпурными крапинками, реже белый, около 7–10 см в диаметре. *R. schlippenbachii* – морозостойкий вид, отличающийся полиморфизмом окраски венчика и нуждающийся в продолжительном вегетационном периоде (180–200 дней) (Вриш, 2011). Предпочитает слабокислую, хорошо дренированную или сухую щебнистую почву. В природных условиях у *R. schlippenbachii* существуют несколько форм по срокам цветения, которые можно

объединить в группы: ранне-, средне- и поздно-цветущие. Разница в сроках цветения между первой и последней группами составляет 25–30 дней (Петухова, 2006; Врищ, 2011). Такие особенности делают этот вид перспективным для селекционной работы.

Промышленная заготовка, срезка побегов для выгонки и лесные пожары в местах естественного произрастания приводят к снижению численности популяций и ставят под угрозу существование этого вида. *R. schlippenbachii* занесен в Красную книгу РФ, а также в региональные сводки редких растений (Красная книга Приморского края, 2008; Красная книга РФ, 2008), ему присвоена категория редкости 2 (V). В естественной среде произрастания рододендрон Шлиппенбаха размножается семенами, однако в связи с высокой антропогенной нагрузкой семенное возобновление вида затруднено. Хотя всхожесть семян в лабораторных условиях составляет 95–98 %, многие исследователи отмечают низкую эффективность семенного размножения в условиях интродукции (Врищ, Родионова, 2009). Методы клонального микроразмножения позволят преодолеть указанные трудности, получить качественный посадочный материал с использованием семян и создать коллекцию форм *R. schlippenbachii* (по окраске венчика и срокам цветения), что будет способствовать не только размножению, но и сохранению этого вида в “живых” коллекциях и банке культур *in vitro*. При введении в культуру и микроклональном размножении дикорастущих и, особенно, редких видов, в качестве исходного материала предпочтительно использовать семена, поскольку таким образом

обеспечивается генетическое разнообразие вида и сохранение его в коллекциях *in vitro* (Benson et al., 2000). Кроме того, использование проростков в качестве эксплантов позволяет получить широкий спектр морфогенных реакций за счет высокого регенерационного потенциала.

Для некоторых видов и сортов рододендронов зарубежной селекции разработаны эффективные протоколы микроразмножения (Eeckhaut et al., 2010). В основе создания таких технологий лежит детальное изучение особенностей морфогенеза и регенерации побегов из различных типов эксплантов. Традиционно для получения микроклонов в культуре *in vitro* используют питательную среду по прописи Андерсона (АМ), дополненную 73.8 мкМ 2-изопентиладенина (2-иР) и 22.8 мкМ индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) (Anderson, 1984). Влияние различных концентраций зеатина (Зеа) и тидиазурина (ТДЗ) – мощного индуктора морфогенеза в культуре *in vitro* у древесных растений – на регенерационный потенциал проростков *R. schlippenbachii* не изучено. В связи с этим настоящее исследование направлено на выявление морфогенного потенциала проростков *R. schlippenbachii* под действием различных концентраций зеатина, а также ТДЗ в культуре *in vitro* и создание протоколов клонального микроразмножения этого редкого вида, включая такие важные этапы, как укоренение и адаптацию микроклонов к условиям *ex vitro*. Результаты исследования могут быть использованы при интродукции и репатриации растений микроклонального происхождения в естественные фитоценозы, а также в селекционной работе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Стерилизация и проращивание семян. Для получения стерильной культуры семена *R. schlippenbachii*, полученные из Ботанического сада-института ДВО РАН (сбор 2011 г.), стерилизовали в 0.2%-м растворе натрия гипохлорита (20 % “Доместос”; Unilever, Россия) в течение 20 мин с последующей 4-кратной промывкой в стерильной дистиллированной воде. Стерильные семена *R. schlippenbachii* помещали по 60 штук в чашки Петри на поверхность водного раствора агара (0.6 %). Затем их проращивали под люминесцентными лампами с интенсивностью освещения $40 \text{ мкМоль} \times \text{м}^{-2} \times \text{с}^{-1}$ при 16-часовом фотопериоде и температуре $23 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$. При расчете всхожести проросшими считали семена, у которых появились семядоли. Энергию прорастания подсчитывали за 12 дней, интервал для расчетов выбирали экспериментально, поскольку нет ГОСТа для показателей всхожести семян исследуемых видов рода *Rhododendron*.

Влияние регуляторов роста на регенерационный потенциал эксплантов. В качестве эксплантов использовали проростки с удаленными корешками, которые переносили на агаризованные среды АМ, дополненные различными регуляторами роста. Испытывали действие ТДЗ (1.0 мкМ), зеатина в концентрациях 1.0; 2.5; 5.0 и 10.0 мкМ и сочетания 5.0 мкМ зеатина с 5.0 мкМ ИУК. В качестве контроля использовали АМ, содержащую 24.5 мкМ 2-иР и 5.7 мкМ ИУК. Через 8 недель инокуляции эксплантов на питательные среды определяли частоту морфогенного ответа, коэффициент размножения. Подсчет числа побегов на эксплант, полученных под действием ТДЗ, был возможен только после дополнительной элонгации на безгормональной питательной среде (АМ0). Коэффициент размножения в конгломератах подсчитывали через 8 недель элонгации. Все регуляторы роста, включая ТДЗ, добавляли в питательные среды после автоклавирования. Культу-

ры выращивали под люминесцентными лампами с интенсивностью освещения $40 \text{ мкМоль} \times \text{м}^{-2} \times \text{с}^{-1}$ при 16-часовом фотопериоде и температуре $23 \pm 2^\circ \text{C}$. Изучение процессов морфогенеза в культуре *in vitro* проводили при помощи стереомикроскопа Carl Zeiss Stereo Discovery V 12 (Carl Zeiss, Germany) с цветной фотокамерой AxioVision 4.8 и программным обеспечением для приема, обработки и анализа изображений (на базе ЦКП ЦСБС СО РАН).

Укоренение и адаптация регенерантов к условиям *ex vitro*. Полученные регенеранты укореняли в условиях *in vitro* или *ex vitro*. Для стимуляции ризогенеза использовали два подхода: 1) непосредственное культивирование на АМ, дополненной 25.0 мкМ ИМК или 2) 4-часовую импульсную обработку в растворе 148.0 мкМ ИМК. После импульсной обработки регенеранты поме-

щали для укоренения либо на АМ0 в условиях *in vitro*, либо высаживали *ex vitro* в смесь торфа (рН = 4.0–5.0) и песка (в соотношении 1:1). Адаптацию укорененных растений проводили в смеси торфа и песка (1:1) в течение 6 недель под пленкой, в условиях повышенной влажности. Растения культивировали под люминесцентными лампами с интенсивностью освещения $27 \text{ мкМоль} \times \text{м}^{-2} \times \text{с}^{-1}$ при 16-часовом фотопериоде и $23 \pm 2^\circ \text{C}$. Адаптированные растения пересаживали в горшки 10 см в диаметре с почвенной смесью для азалий (Сад Чудес, Россия) и переносили в теплицу.

Статистическую обработку и анализ полученных данных проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Excel 7.0 и Statistica 8.0. Все эксперименты выполнены в трех повторностях. Данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок ($M \pm m$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Прорастание семян. Для достижения высоких показателей всхожести при работе с семенами в культуре *in vitro* следует учитывать естественные условия их прорастания. Для большинства представителей рода *Rhododendron* характерно поверхностное прорастание семян. Следовательно, важным фактором для их прорастания является достаточная освещенность. Ключевая роль освещенности при прорастании семян рододендронов показана в работах многих авторов (Кондратович, 1981; Александрова, 2007; Кокшеева, 2009). Немаловажным фактором для прорастания семян рододендронов считается температурный режим. Для активного прорастания семян представителей рода *Rhododendron* необходима температура воздуха в пределах $18\text{--}22^\circ \text{C}$ (Центалович, 1984; Петухова, 2006).

В условиях *in vitro* прорастание *R. schlippenbachii* наблюдали через 4–6 дней после инокуляции. Формирование проростков из семян исследуемых видов отмечено после 10 дней культивирования, причем все проростки имели нормальное строение и окраску (рис. 1). Длительность прорастания семян составила 20 дней. Массовое прорастание семян *R. schlippenbachii* наблюдали на 12-й день. Общая всхожесть семян *R. schlippenbachii* была на уровне 96 %, энергия прорастания – 43 %. Полученные нами показатели всхожести семян изучаемых видов выше, чем полученные другими исследователями в нестерильных условиях (Кокшеева, 2009).

Таким образом, семена *R. schlippenbachii* находились в вынужденном покое и сразу проросли при освещенности $40 \text{ мкМоль} \times \text{м}^{-2} \times \text{с}^{-1}$ и фотопериоде 16/8, без дополнительной обработки, хотя в ряде исследований для улучшения всхожести семян рододендронов используют предобработки

регуляторами роста, в том числе гибберелловой кислотой (Singh et al., 2010). Следовательно, для семян *R. schlippenbachii* характерен неглубокий физиологический тип эндогенного покоя (тип V_1), согласно классификации М.Г. Николаевой (1985). Ранее нами была показана такая же особенность прорастания *in vitro* семян *R. dauricum* (Зайцева, Новикова, 2014). Неглубокий покой и высокие показатели всхожести семян *R. schlippenbachii* позволяют в короткие сроки получить экспланты для введения в культуру *in vitro*. Подобные результаты получены при исследовании всхожести семян *R. ponticum* в условиях *in vitro* (Cantos et al., 2007).

Регенерация побегов под действием различных регуляторов роста. Проростки с удаленными корешками инокулировали на среды, содержащие различные регуляторы роста. Высокий уровень регенерации побегов из эксплантов

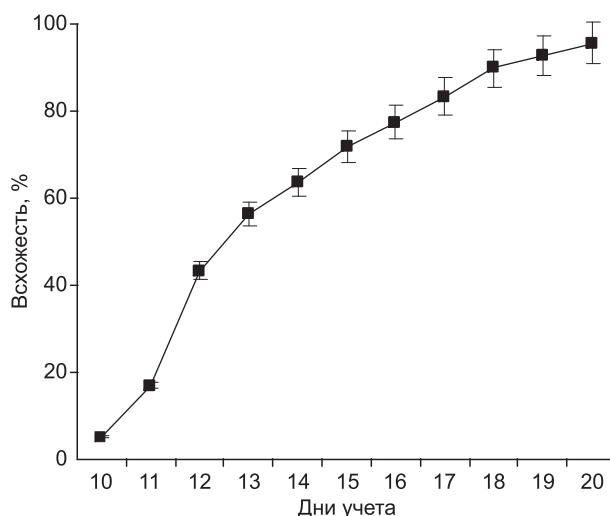


Рис. 1. Динамика всхожести семян *R. schlippenbachii* (данные приведены в виде $M \pm m$).

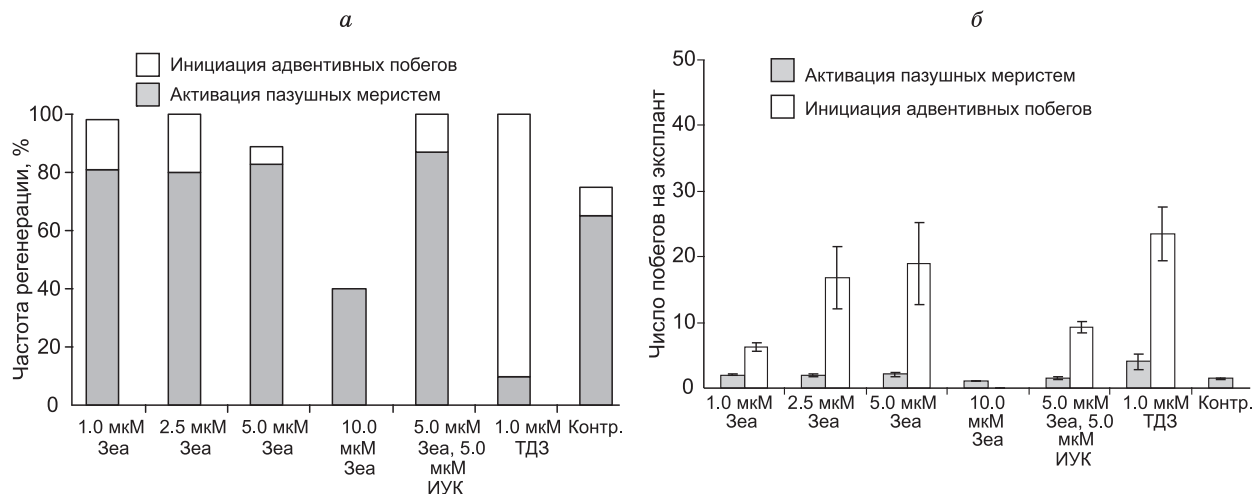


Рис. 2. Частота регенерации (а) и интенсивность образования (б) пазушных и адвентивных побегов из проростков *R. schlippenbachii* в зависимости от типа и концентрации регуляторов роста.

R. schlippenbachii наблюдали под действием пониженных концентраций зеатина и 1.0 мкМ ТДЗ, при этом происходила как активация пазушных меристем, так и закладка адвентивных почек на гипокотиле эксплантов. В ходе исследования различных концентраций зеатина 100%-й уровень регенерации получен в присутствии 2.5 мкМ этого цитокинина, причем из них у 20 % проростков сформировались адвентивные почки (рис. 2, а).

Однако превышение оптимальных концентраций зеатина в индукционной среде приводило к снижению доли эксплантов, способных к морфогенному ответу, при этом сократилась и частота образования адвентивных почек. Присутствие 1.0 мкМ ТДЗ вызвало прямой органогенез у 100 % эксплантов. Эффект ТДЗ на адвентивное побегообразование был существенно выше (90 %), чем индукция этого процесса низкими концентрациями зеатина. Полученные данные свидетельствуют о том, что ТДЗ не только эффективно снимает апикальное доминирование, но и является эффективным триггером для запуска программы дедифференциации клеток и приобретения компетенции к дальнейшему морфогенезу. Полученные таким образом адвентивные почки имеют значительно больший потенциал для размножения, чем активация пазушных меристем.

Использование проростков в качестве эксплантов позволяет оценить их морфогенный потенциал в ответ на воздействие различными экзогенными регуляторами роста. В работе М. Кантос с соавторами (Cantos et al., 2007) отмечена возможность образования из тканей проростков *R. ponticum* одновременно побегов и каллуса. При индукции морфогенеза из разных изолированных частей проростков *R. smirnowii*, *R. catawbiense* и некоторых других на среде АМ, содержащей 73.8 мкМ 2-іР и 22.8 мкМ ИУК, показано, что

наибольшим регенерационным потенциалом обладает апекс проростка, а регенерационный потенциал других частей проростков – семядолей, эпикотили и гипокотили – низок (Кутас, 2009). В этих экспериментах регенерация достигалась за счет снятия апикального доминирования и активации пазушных меристем. Нами установлена высокая регенерационная способность тканей гипокотили *R. schlippenbachii*, которая связана со структурно-функциональной целостностью проростка как экспланта и с высокой индукционной способностью зеатина и ТДЗ. В связи с накоплением ТДЗ в тканях экспланта и устойчивостью этого соединения к ферментативному окислению наблюдаемый эффект снятия апикального доминирования и закладка вторичных адвентивных почек сохраняются в последующем пассаже на АМ0.

Побеги, полученные посредством активации пазушных меристем, и адвентивные побеги существенно различались по высоте и степени развития (рис. 3, б), поэтому коэффициент размножения *R. schlippenbachii* считали отдельно для пазушных и адвентивных побегов. Подсчет числа побегов, полученных за счет активации пазушных меристем, возможен уже после 8 недель культивирования на индукционных средах, а число адвентивных побегов на эксплант удалось подсчитать только после 6 недель элонгации на АМ0 (рис. 3, в, г). Максимальное число как пазушных, так и адвентивных побегов на эксплант получено под действием 1.0 мкМ ТДЗ: в среднем 4 и 23 побега на эксплант соответственно (см. рис. 3, б). Из испытанных концентраций зеатина наиболее эффективной для микроразмножения *R. schlippenbachii* является 2.5 мкМ. Следует заметить, что под влиянием ТДЗ формируются укороченные побеги, для которых необходима элонгация. Конгломераты адвентивных побегов, образованных *de novo*

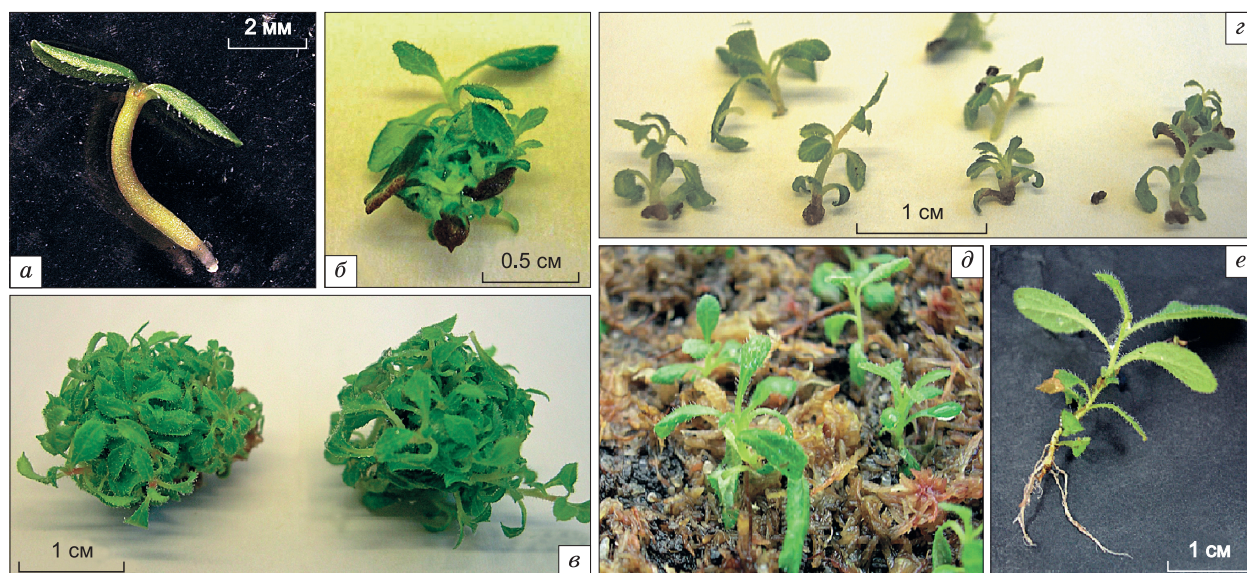


Рис. 3. Клональное микроразмножение *R. schlippenbachii* с использованием проростков в качестве эксплантов:

а – проросток, полученный в культуре *in vitro*; *б* – регенерация адвентивных побегов на гипокотиле эксплантов под действием 1.0 мкМ ТДЗ; *в* – конгломерат побегов после элонгации на АМ0; *г* – разделение конгломератов на отдельные побеги ($h \geq 5$ мм); *д* – укоренение регенерантов в смеси торфа и песка после импульсной обработки ИМК; *е* – укорененное растение.

под действием ТДЗ и зеатина, имели аномальное развитие: укороченные, витрифицированные побеги с удлинненными ланцетовидными листочками. Некоторые авторы отмечают необратимость этих изменений (Tomsone et al., 2004). Однако нами установлено, что при культивировании таких конгломератов на среде для элонгации (АМ0) через 8 недель регенеранты *R. schlippenbachii* приобретают нормальное строение и способны к дальнейшему укоренению и адаптации.

Укоренение и адаптация регенерантов. Культивирование растений в условиях *in vitro* способствует появлению ряда морфологических, анатомических и физиологических аномалий, которые затрудняют перевод растения в условия *ex vitro* (Pospisilova et al., 1999; Nazarika, 2006). В связи с этим побеги, полученные в культуре *in vitro*, необходимо подготовить к переходу на автотрофное питание и к пересадке в субстрат в условия *ex vitro*. Для стимуляции ризогенеза используют природные и синтетические ауксины. В некоторых исследованиях доказана эффективность воздействия

ИМК для укоренения микроклонов *Rhododendron* в условиях *in vitro* (Филипеня и др., 2009; Eeckhaut et al., 2010). В то же время показана эффективность предобработки регенерантов в водном растворе ИМК с последующим культивированием побегов *in vitro* на АМ0 (Васильева, 2009). При этом выбор того или иного способа укоренения и адаптации определяется экспериментально для каждого вида.

Первоначальной задачей на этом этапе исследования стал подбор оптимального способа аппликации ИМК: 1) непосредственное культивирование на АМ, дополненной 25.0 мкМ ИМК или 2) 4-часовая импульсная обработка в растворе 148.0 мкМ ИМК с последующим переносом на АМ0. В ходе анализа полученных данных установлено, что для всех исследуемых видов и сортов рододендронов наиболее эффективным способом укоренения оказалась импульсная обработка побегов. Однако последующее развитие корней в условиях *in vitro* привело к укоренению только 30 % регенерантов (см. таблицу). Использование смеси

Влияние способов обработки ИМК и условий *in vitro* и *ex vitro* на частоту укоренения и степень развития корневой системы регенерантов *R. schlippenbachii*

Способ обработки ИМК, мкМ	Условия укоренения	Частота укоренения, %	Число корней**	Длина корней**, см	Растения с корнями 2-го порядка, %
25.0	<i>in vitro</i> (АМ0)	0	–	–	–
Импульсная обработка*	<i>in vitro</i> (АМ0)	30	0.75 ± 0.11	0.72 ± 0.23	0
	<i>ex vitro</i> (торф : песок)	60	1.08 ± 0.14	1.25 ± 0.25	77

* Замачивание побегов в растворе 148.0 мкМ ИМК в течение 4 часов.

** Данные представлены виде $M \pm m$.

торфа и песка (1:1) как субстрата для укоренения после импульсной обработки позволило существенно увеличить выход укорененных и адаптированных растений (60 %). При этом корневая система растений при адаптации в смеси торфа и песка лучше развита по сравнению с растениями, укорененными в условиях *in vitro* (см. рис. 3, з, е).

Индукция ризогенеза на АМ, содержащей 25.0 мкМ ИМК, была предложена Б.А. Бриггсом с соавторами (Briggs et al., 1994) как эффективный способ укоренения вечнозеленых рододендронов в промышленных масштабах. В работах белорусских авторов рассмотрена эффективность более низких концентраций ИМК (1.0 и 2.0 мг/л) для индукции корнеобразования у вечнозеленых сортов рододендронов (Кутас, 2006; Филипеня и др., 2009). Также отмечено и формирование каллуса наряду с развитием адвентивных корней, что может негативно отразиться в дальнейшем на адаптации этих

растений к условиям *ex vitro* (Филипеня и др., 2009). Использование импульсной обработки ИМК позволяет предотвратить каллусогенез. Эффективность импульсной обработки для индукции ризогенеза показана и на других видах и сортах рода *Rhododendron* (Almeida et al., 2005; Васильева, 2009; Зайцева, Новикова, 2014). Укоренение в условиях *ex vitro* после импульсной обработки ИМК предотвращает развитие ряда аномалий корневой системы, возникающих в условиях *in vitro*, что способствует повышению частоты ризогенеза и развитию полноценной корневой системы у регенерантов. Укоренение *ex vitro* имеет ряд преимуществ: полноценное развитие корней, интенсивное развитие побегов и сокращение времени адаптации растений, что отражается в работах многих авторов (Benmahiou et al., 2012; Leva, 2012; Phulwaria, Shekhawat, 2013) и подтверждается в нашем исследовании.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разработан протокол клонального микроразмножения *R. schlippenbachii*, включающий проращивание семян и получение эксплантов, собственно микроразмножение, элонгацию регенерантов с последующим укоренением и адаптацией к условиям *ex vitro*. Показано, что семена перспективны в качестве источника эксплантов для введения в культуру *in vitro*, поскольку они имеют неглубокий тип покоя и высокую всхожесть. Для массового получения микроклонов *R. schlippenbachii* рекомендуется использовать среду АМ, дополненную 1.0 мкМ ТДЗ или 2.5 мкМ зетатина. Причем регенерация происходит как за счет активации пазушных меристем, так и посредством

закладки адвентивных почек на гипокотиле. Культивирование полученных регенерантов на АМ0 способствует элонгации побегов и преодолению аномалий, возникших под действием ТДЗ.

Разделение побегов на адвентивные и пазушные позволит использовать разработанную систему регенерации как для сохранения исходных генотипов, так и, возможно, для селекционной работы с целью получения новых форм. Применение семян в качестве исходного материала при клональном микроразмножении рододендронов целесообразно в качестве составной части различных программ по сохранению редких ценных генотипов, таких как *R. schlippenbachii*.

ЛИТЕРАТУРА

- Александрова М.С. Рододендроны природной флоры СССР. М., 1975. 112 с.
- Александрова М.С. Рододендроны. М., 2007. 96 с.
- Васильева О.Г. Биолого-морфологические основы клонального микроразмножения некоторых представителей рода *Rhododendron* L.: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2009. 20 с.
- Врищ Д.Л. Эколого-биологические особенности *Rhododendron schlippenbachii* Maxim. на северной границе ареала и перспективы использования его в озеленении // Вестн. ДВО РАН. 2011. № 2. С. 118–123.
- Врищ Д.Л., Роднова Т.В. *Rhododendron schlippenbachii* Maxim. Формовое разнообразие, онтогенез // Растения в муссонном климате: Материалы V науч. конф. (Владивосток, 20–23 окт. 2009 г.). Владивосток, 2009. С. 253–258.
- Зайцева Ю.Г., Новикова Т.И. Клональное микроразмножение *Rhododendron dauricum* // Вестн. НГУ: биология, клиническая медицина. 2014. Вып. 12. С. 26–32.
- Кокшеева И.М. Оптимизация методики проращивания семян представителей рода *Rhododendron* L. // Вестн. КрасГАУ. 2009. Вып. 3. С. 80–83.
- Кондратович Р.Я. Рододендроны в Латвийской ССР: биологические особенности культуры. Рига, 1981. 303 с.
- Красная книга Приморского края: растения. Владивосток, 2008. 688 с.
- Красная книга Российской Федерации: растения и грибы. М., 2008. 855 с.
- Кутас Е.Н. Клональное микроразмножение рододендронов и их практическое использование. Минск, 2009. 188 с.
- Николаева М.Г. Покой семян // Физиология семян. М., 1985. С. 125–183.
- Петухова И.П. Рододендроны на юге Приморья. Интродукция, культура. Владивосток, 2006. 131 с.
- Филипеня В.Л., Горбацевич В.И., Антипова Т.В. Микроклональное размножение *Rhododendron × hybridum hort* // Физиология и биохимия культурных растений. 2009. Т. 41, № 6. С. 516–522.

- Центалович В.Г.** Особенности морфологии и биологии семян рододендрона сихотинского // Экологические проблемы семеноведения интродуцентов. Рига, 1984. С. 134.
- Almeida R., Goncalves S., Romano A.** In vitro micropropagation of endangered *Rhododendron ponticum* L. subsp. *baeticum* (Boissier and Reuter) Handel-Mazzetti // Biodivers. Conserv. 2005. No. 14. P. 1059–1069.
- Anderson W.C.** A revised tissue culture medium for shoot multiplication of *Rhododendron* // J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1984. V. 109. P. 343–347.
- Benmahioul B., Dorion N., Kaid-Harche M., Daguin F.** Micropropagation and *ex vitro* rooting of Pistachio (*Pistacia vera*) // Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 2012. V. 108. P. 353–358.
- Benson E., Danahar J.E., Pimbley I.M., Anderson C.T., Wake J.E., Daley S., Adams L.K.** In vitro propagation of *Primula scotica*: a rare Scottish Plant // Biodivers. Conserv. 2000. V. 9. P. 711–726.
- Briggs B.A., McCulloch S.M., Caton L.A.** In vitro propagation of *Rhododendron* // Acta Hort. 1994. V. 364. P. 21–26.
- Cantos M., Linan J., Garcia J.L., GarciaLinan M., Dominguez M.A., Troncoso A.** The use of *in vitro* culture to improve the propagation of *Rhododendron ponticum* subsp. *baeticum* (Boiss. et Reuter) // Central Europ. J. Biol. 2007. V. 2. P. 297–306.
- Beckhaut T., Janssens K., Keyser E., Riek J.** Micropropagation of *Rhododendron* // Protocols for *in vitro* propagation of ornamental plants: Methods in molecular biology. 2010. V. 589. P. 141–152.
- Hazarika B.N.** Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants // Sci. Hort. 2006. V. 108. P. 105–120.
- Leva A.** Innovative protocol for “ex vitro rooting” on olive micropropagation // Cental. Europ. J. Biol. 2012. V. 6. P. 352–358.
- Phulwaria M., Shekhawat N.S.** An efficient *in vitro* shoot regeneration from immature inflorescence and rooting of *Arnebia hispidissima* (Lehm). DC. – A red dye (Alkannin) yielding plant // Physiol. Mol. Biol. Plants. 2013. V. 19. P. 435–441.
- Pospisilova J., Ticha I., Kadlec P., Haisel D., Plzakova S.** Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions // Biol. Plantarum. 1999. V. 42. P. 481–497.
- Singh S.K., Gurung B., Rai L.K., Nepal L.H.** The influence of temperature, light and pre-treatment on the seed germination of critically endangered Sikkim Himalayan *Rhododendron* (*R. niveum* Hook f.) // J. Amer. Sci. 2010. V. 6. P. 172–177.
- Tomsone S., Gertnere D., Novikova D.** The influence of thidiazuron on shoot regeneration and proliferation of rhododendrons *in vitro* // Acta Univ. Latv. Ser. Biology. 2004. V. 676. P. 239–242.