

## РАЗМНОЖЕНИЕ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* НЕКОТОРЫХ МОРОЗОУСТОЙЧИВЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *RHODODENDRON*

Ю.Г. Зайцева, Т.И. Новикова

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,  
630090, Новосибирск, Золотодолинская, 101, e-mail: [ulianna\\_zaitseva@mail.ru](mailto:ulianna_zaitseva@mail.ru)

Разработаны эффективные системы введения в культуру *in vitro* и прямой регенерации побегов из флоральных эксплантов морозоустойчивых генотипов рода *Rhododendron* L., перспективных для ландшафтного дизайна и селекционных программ: полувечнозеленого вида *R. sichotense* Pojark. и вечнозеленого сорта 'Pohjola's Daughter'. В качестве флоральных эксплантов использовали пестик с цветоножкой. Испытывали влияние различных концентраций тидиазурона (ТДЗ) и комбинаций ТДЗ с 2-изопентиладенином (2-иР) и индолил-3-масляной кислотой (ИМК), а также с зеатином. Регенерация побегов происходила непосредственно из тканей цветоножки. В ходе исследования выявлены генотипические различия морфогенных реакций флоральных эксплантов 'Pohjola's Daughter' и *R. sichotense*. Для индукции регенерации из флоральных эксплантов 'Pohjola's Daughter' оптимальной была среда Андерсона (АМ), дополненная 2.5 мкМ ТДЗ в сочетании с 73.8 мкМ 2-иР и 15.0 мкМ ИМК, тогда как для регенерации *R. sichotense* достаточным является присутствие в АМ только 1.0 мкМ ТДЗ. Максимальное число побегов на эксплант, полученных при культивировании эксплантов на средах оптимального состава, у 'Pohjola's Daughter' составило  $26.21 \pm 5.26$ , у *R. sichotense* –  $17.40 \pm 3.07$ . Разработанные протоколы клонального микроразмножения, основанные на прямой регенерации из флоральных эксплантов *R. sichotense* и 'Pohjola's Daughter', могут быть использованы для сохранения генетических ресурсов, разработки селекционных программ и коммерческого размножения.

**Ключевые слова:** *Rhododendron*, прямая регенерация, флоральные экспланты, тидиазурон.

## *IN VITRO* PROPAGATION OF SOME FROST-RESISTANT GENOTYPES OF GENUS *RHODODENDRON*

Yu.G. Zaytseva, T.I. Novikova

Central Siberian Botanical Garden, SB RAS,  
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101, e-mail: [ulianna\\_zaitseva@mail.ru](mailto:ulianna_zaitseva@mail.ru)

The efficient systems of *in vitro* establishment and direct shoot regeneration from floral explants of frost-resistant genotypes of *Rhododendron* L. genus promising for landscaping and breeding (semi-evergreen species *R. sichotense* Pojark. and evergreen cultivar 'Pohjola's Daughter') were developed. The isolated pistil with pedicle was used as a floral explant. The effects of various thidiazuron (TDZ) concentrations and TDZ combinations with 2-isopentyladenin (2-iP) and indolyl-3-butyric acid (IBA) as well as with zeatin were tested. The regeneration occurred directly from pedicle tissues. The study revealed the genotypic differences between morphogenic responses of 'Pohjola's Daughter' and *R. sichotense* floral explants. To induce the regeneration from 'Pohjola's Daughter' floral explants, the optimum medium was Andersen's medium (AM) supplemented with 2.5  $\mu$ M TDZ in combination with 73.8  $\mu$ M 2-iP and 15.0  $\mu$ M IBA whereas the presence of 1.0  $\mu$ M TDZ was sufficient for *R. sichotense* regeneration. The maximum of shoots per explant obtained when explants culturing on optimum composition of AM amounted to  $26.21 \pm 5.26$  for 'Pohjola's Daughter' and  $17.40 \pm 3.07$  for *R. sichotense*. The developed clonal micropropagation protocols based on the direct shoot regeneration from floral explants *R. sichotense* and 'Pohjola's Daughter' can be used for genetic resources conservation, breeding program development and commercial large-scale propagation.

**Key words:** *Rhododendron*, direct regeneration, floral explants, thidiazuron.

## ВВЕДЕНИЕ

Род *Rhododendron* L. – крупнейший в семействе Вересковые (*Ericaceae* Juss.), включающий, по разным оценкам, от 800 до 1300 вечнозеленых, полувечнозеленых и листопадных видов и более

10 тыс. сортов (Кондратович, 1981). На территории Российской Федерации произрастают 16 видов рододендронов, причем 13 из них встречаются только на территории Сибири и Дальнего Востока

(Растительные ресурсы..., 2009). Рододендроны Азиатской части России – ценный генетический ресурс для ландшафтного дизайна и селекционных программ для создания высокодекоративных морозостойких форм и сортов, перспективных в условиях юга Западной Сибири. Одним из перспективных видов в этом отношении является *R. sichotense* Pojark. – дальневосточный морозостойкий ветвистый полувечнозеленый кустарник до 3 м высотой с темно-серой корой (Врищ, 2010). Листья 2–4 см длиной и 1–2 см шириной, листовая пластинка кожистая, толстоватая, сверху темная, оливково-зеленая, снизу желто-зеленая, к осени становится бурая или темно-фиолетовая. Цветочные почки от 1 до 8 на концах прошлогодних побегов одноцветковые до 5 см в диаметре. Окраска венчика варьирует от бледно-розовой и сиреневой до темно-розовой, малиновой и фиолетовой (Александрова, 2007). Вид произрастает на каменистых склонах и гребнях, на скалах и крупнокаменистых россыпях восточных склонов Сихотэ-Алиня. Образует подлесок в горных лиственных и темнохвойных лесах. Обильно цветет только на открытых местах. Предпочитает слабокислые или нейтральные почвы. По окраске венчика среди особей *R. sichotense* выделяют несколько разновидностей и форм: *R. sichotense* var. *roseuflorea* Vrisch – рододендрон сихотинский розовоцветковый; *R. sichotense* var. *roseo-ochroleuflorea* Vrisch – рододендрон сихотинский кремвоцветковый. Выделены две сезонные формы у рододендрона сихотинского: *R. sichotense* f. *praecox* Vrisch – раннецветущая и *R. sichotense* f. *serotinus* Vrisch – позднецветущая. Разница в сроках цветения этих форм составляет 10–20 дней. Существуют и переходные формы по срокам цветения. Рододендрон сихотинский форма мелкоцветковая – *R. sichotense* f. *parviflorus* Vrisch – рекомендован для введения в культуру благодаря неприхотливости и зимостойкости (Врищ и др., 2010б).

Помимо морозоустойчивых дикорастущих природных видов Азиатской России, представляют интерес как перспективные для озеленения и ландшафтного дизайна сибирских территорий вечнозеленые сорта рододендронов финской селекции, устойчивые к низким температурам. Одним из таких сортов является ‘Pohjola’s Daughter’ (или ‘Pohjolan Tytär’) – морозоустойчивый вечнозеленый плотный кустарник высотой до 1.3 м. Листья кожистые, блестящие, темно-зеленые. Бутоны фиолетовые. Цветки крупные светло-розовые, более темные в середине. Соцветия плотные, состоят из 15–20 цветков. Продолжительность жизни куста 30 лет. Цветет в первой половине мая, около 3-х недель. ‘Pohjola’s Daughter’ получен селекционерами по программе размножения рододендронов Хельсинского университета в результа-

те скрещивания материнского сорта ‘Cunningham’s White’ (*R. caucasicum* × *R. ponticum*) с гибридом *R. smirnowii*, произрастающим в знаменитом финском дендрарии “Мустила”.

Для сохранения генетических ресурсов, разработки селекционных программ и их коммерческой реализации необходимы эффективные технологии массового воспроизводства ценных генотипов рододендронов. Семенное воспроизводство как метод массового тиражирования имеет ряд ограничений в условиях Сибири. К его недостаткам можно отнести технические трудности, связанные с затратами на контроль микроклимата в теплице в зимний период, когда в условиях резких колебаний температур наиболее вероятен высокий выпад растений, дефицит семян для посева и длительный период получения коммерчески привлекательного посадочного материала. Поскольку рододендроны относятся к трудно укореняемым растениям, то черенкование как вегетативный метод размножения используют не для всех видов и сортов представителей рода. Для трудно укореняемых сортов рододендронов применяют размножение прививкой. Однако такой метод размножения требует наличия достаточного количества маточных растений для подвоя (Петухова, 2006).

Таким образом, вегетативное размножение не может служить основой для массового производства качественного посадочного материала рододендронов. Биотехнологические методы размножения древесных растений, основанные на культуре клеток, тканей и органов *in vitro*, позволяют преодолеть трудности традиционных способов размножения рододендронов, связанные с массовым получением качественного посадочного материала, а также решить проблему сохранения редких и высокодекоративных видов рододендронов.

Важным фактором, определяющим успешность технологии клонального микроразмножения, является выбор типа экспланта для введения в культуру ткани. Флоральные экспланты рододендронов имеют ряд преимуществ перед другими типами эксплантов, главными из которых являются низкий уровень контаминации и более продолжительный временной интервал для изоляции бутонов из условий *ex vitro* (Meyer, 1982; Dai et al., 1987; Pogany, Line Berger, 1990). Более того, флоральные экспланты можно использовать для получения новых сортов рододендронов при помощи генетической трансформации (Piqueras et al., 2010). Создание системы регенерации с использованием флоральных эксплантов позволяет проводить отбор форм с необходимой оригинальной окраской венчика в полевых условиях. Поскольку цветение рододендронов продолжается в среднем 2–3 недели и при этом зачастую отмечается неравномерное раскрытие цветочных почек (Петухова, 2006), для

введения в культуру *in vitro* возможен отбор закрытых генеративных почек выбранного генотипа.

Исследования регенерационного потенциала флоральных эксплантов рододендронов немногочисленны и в основном касаются вечнозеленых видов и сортов рододендронов. В 1982 г. М.М. Мейер предложил протокол микроразмножения с использованием изолированной завязи с цветоножкой для *R. catawbiense* (Meyer, 1982). Регенеранты были получены непрямым путем из изолированных завязей с цветоножкой под действием традиционно используемых для рододендронов регуляторов роста: 2-изопентиладанина (2-iP) и индолил-3-уксусной кислоты. Прямой органогенез в культуре флоральных эксплантов представителей рода *Rhododendron* показан при использовании тиазурина (ТДЗ) (Murthy et al., 1998). При культивировании изолированных пыльников 'P.J.M. hybrids' на средах, содержащих различные комбинации 2iP с ТДЗ, были одновременно получены адвентивные побеги, флоральные структуры и каллус (Shevade, Preece, 1991; Huetteyman, Preece, 1993). С. Томсон и Д. Гертнер (Tomson, Gertner,

2003) использовали для микроразмножения прямую регенерацию побегов непосредственно из тканей флоральных эксплантов 'Nova Zembla' и 'Trina' под действием ТДЗ (0.05–1.0 мг/л) в комбинации с 2-iP и индолил-3-масляной кислотой (ИМК). Подобные результаты получены Д. Сикуранза и Н.А. Митковским (Sicuranza, Mitkowski, 2007) для *R. catawbiense* 'English Roseum'. Однако в силу генотипических различий приемы микроразмножения, разработанные для вечнозеленых рододендронов, могут быть не эффективными в отношении дикорастущих листопадных или полувечнозеленых видов (Zaytseva et al., 2016).

Цель настоящего исследования – создание систем прямой регенерации побегов из флоральных эксплантов дикорастущего вида *R. sichotense* и вечнозеленого сорта 'Pohjola's Daughter' с использованием различных цитокининов, включая ТДЗ. Полученные результаты будут служить основой дальнейшей селекции морозостойких сортов с различной окраской венчика, а также для сохранения генетических ресурсов и коммерческого воспроизводства.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

**Стерилизация эксплантов.** Стерилизацию бутонов *R. sichotense* и 'Pohjola's Daughter' проводили в несколько этапов: 1 – погружение на 2 мин в 70%-й этиловый спирт; 2 – замачивание на 15 мин в 5%-м растворе коммерческого отбеливателя (Доместос, Unilever, Россия), что в пересчете на гипохлорит натрия составило 0.2 %; 3 – стерилизация в 0.1%-м растворе  $\text{AgNO}_3$  в течение 15 мин. Асептический материал промывали трехкратно в стерильной дистиллированной воде.

**Изоляция эксплантов и введение в культуру *in vitro*.** Из стерильных бутонов с помощью скальпеля извлекали пестик с цветоножкой (флоральный эксплант) и помещали горизонтально на питательные среды. Бутоны 'Pohjola's Daughter' изолировали от растений открытого грунта в начале мая перед началом цветения, затем стерилизовали и выделяли флоральные экспланты, которые помещали горизонтально на поверхность питательной среды Андерсона (АМ) (Anderson, 1984), содержащей 1.0 или 2.5 мкМ ТДЗ в комбинации 73.8 мкМ 2-iP и с 15.0 мкМ ИМК. Время культивирования составило 12 недель. Полученные конгломераты укороченных побегов переносили на безгормональную АМ (АМ0) для преодоления морфоанатомических аномалий. Подсчет числа побегов на эксплант проводили после 6 недель элонгации.

Бутоны *R. sichotense* изолировали из тепличных растений в феврале, стерилизовали, затем извлекали флоральные экспланты, которые помещали горизонтально на поверхность АМ0 для предкультивирования в течение 4 дней. Затем экс-

планты переносили на АМ, содержащую либо только 1.0 мкМ ТДЗ, либо 1.0 мкМ ТДЗ в сочетании с 2.5 мкМ зеатина. Флоральные экспланты культивировали на протяжении 8 недель. Полученные регенеранты переносили на АМ0 для вытягивания. Подсчет числа побегов на эксплант проводили после 6 недель элонгации.

Все регуляторы роста добавляли в питательные среды после автоклавирования. Культуры содержали под люминесцентными лампами с интенсивностью освещения  $40 \text{ ммоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$  при 16-часовом фотопериоде и  $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ . Для каждой обработки использовали по 10 эксплантов в трех повторностях. Изучение процессов морфогенеза в культуре *in vitro* осуществляли при помощи стереомикроскопа Carl Zeiss Stereo Discovery. V 12 с цветной цифровой камерой AxioVision 4.8 и программным обеспечением для получения, обработки и анализа изображений (Carl Zeiss, Germany) в Центре коллективного пользования ЦСБС СО РАН.

**Статистическая обработка результатов.** Все эксперименты выполнены в трехкратной повторности. Для каждого типа обработки регуляторами роста использовали минимум 10 эксплантов. Статистическую обработку и анализ полученных данных проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Excel 7.0 и Statistica 8. Данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок ( $M \pm m$ ). Для сравнения средних значений независимых выборок использовали многоранговый тест Дункана (однофакторный дисперсионный анализ).



## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Регенерация побегов из флоральных эксплантов 'Pohjola's Daughter'.** Исследование регенерационной способности флоральных эксплантов вечнозеленого морозостойчивого сорта финской селекции 'Pohjola's Daughter' проводили на основе методики, предложенной С. Томсон и Д. Гертнер (Tomson, Gertner, 2003). Морфогенный ответ флоральных эксплантов отмечали уже на 7 день культивирования на АМ, содержащей традиционные для микроразмножения регуляторы роста (74 мкМ 2-іР и 15 мкМ IAA), дополненные 2.5 мкМ ТДЗ. На этом этапе наблюдали увели-

чение размеров цветоножки, в то время как рост завязи со столбиком прекратился. На 8 неделе культивирования у 50 % эксплантов происходило формирование выпячиваний (табл. 1). Появление структур в виде почек и укороченных розеточных побегов зафиксировали на 12 неделе культивирования (рис. 1, а). Морфогенез побегов из флоральных эксплантов протекал асинхронно, поскольку одновременно происходило как развитие уже дифференцированных зачатков почек, так и формирование новых выпячиваний и почек.

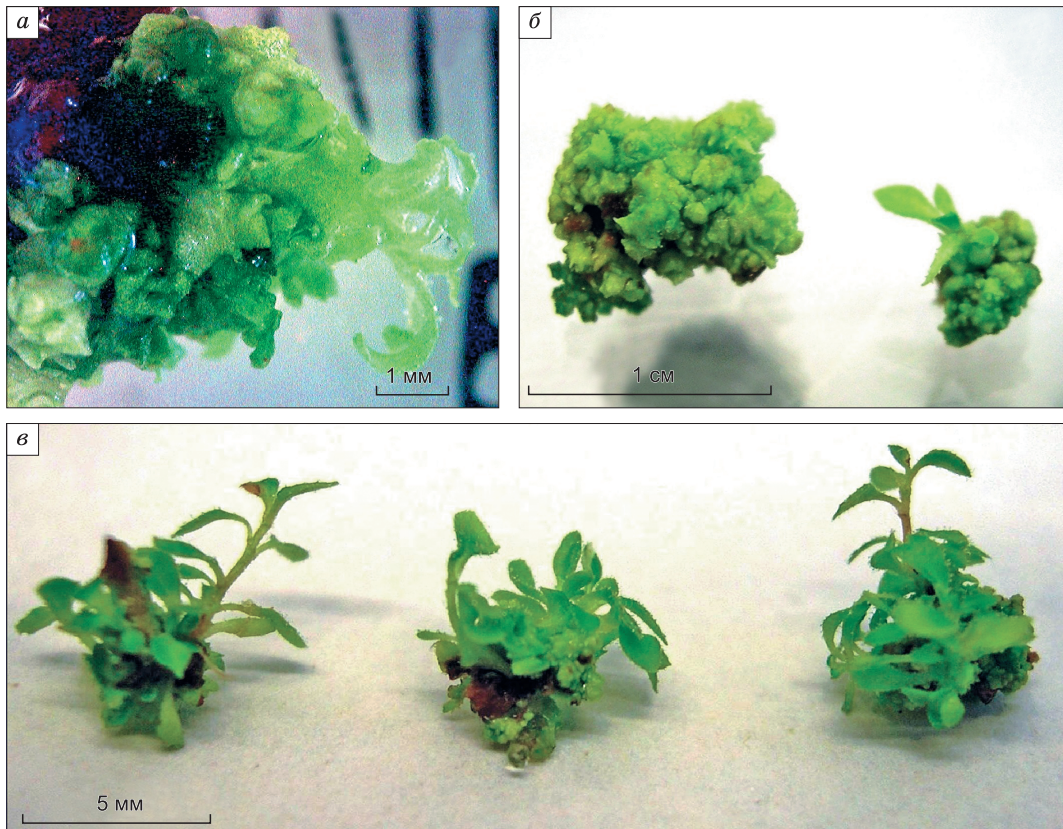
Снижение концентрации ТДЗ до 1.0 мкМ в комбинации с теми же регуляторами роста оказалось неэффективным и привело к гибели эксплантов; регенерацию не наблюдали.

После переноса эксплантов 'Pohjola's Daughter' на среды для элонгации (АМ0) почки и укороченные побеги дали начало побегам *de novo* с нормальным строением (см. рис. 1, в). Число побегов на эксплант, полученное после элонгации, составило 26.21 шт. (см. табл. 1). Однако нами отмечено, что не все вновь образованные выпячивания способны формировать почки и полноценные побеги на средах для элонгации (см. рис. 1, б).

Таблица 1

**Влияние концентрации ТДЗ на регенерационный потенциал флоральных эксплантов 'Pohjola's Daughter'**

Регуляторы роста растений, мкМ	Частота регенерации, %	Число побегов на эксплант, шт.	Высота побегов, мм
1.0 ТДЗ + 73.8 2-іР + 15.0 ИМК	0	–	–
2.5 ТДЗ + 73.8 2-іР + 15.0 ИМК	50	26.21 ± 5.26	1.2 ± 0.20



**Рис. 1.** Регенерация побегов *de novo* из флоральных эксплантов 'Pohjola's Daughter':

а – почки и укороченные побеги на поверхности цветоножки, полученные при культивировании на АМ, содержащей 73.8 мкМ 2-іР, 15.0 мкМ ИМК и 2.5 мкМ ТДЗ; б – выпячивания, не развившиеся в побеги после элонгации; в – побеги, полученные после 6 недель элонгации на АМ0.



Влияние ТДЗ и зеатина на регенерационный потенциал флоральных эксплантов *R. sichotense*

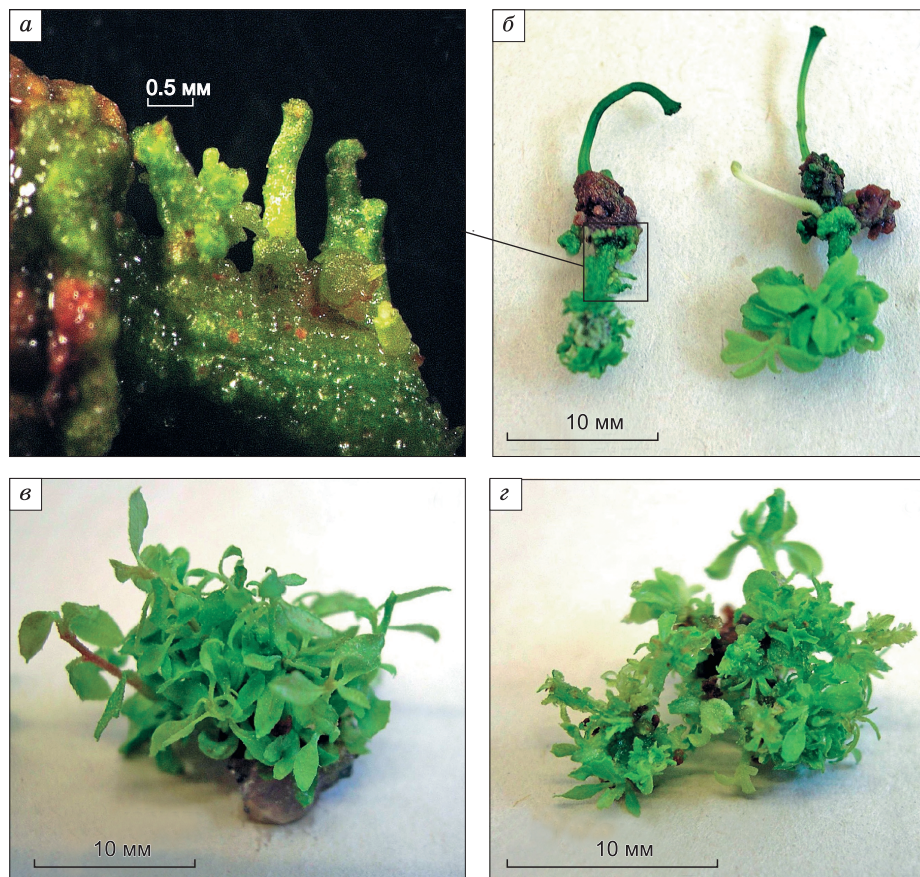
Регуляторы роста растений, мкМ	Частота регенерации, %	Число побегов на эксплант, шт.	Высота побегов, мм
1.0 ТДЗ	100	17.40 ± 3.07 a	10.57 ± 0.93 a
1.0 ТДЗ + 2.5 зеатина	100	17.14 ± 3.53 a	7.70 ± 0.45 b

*Примечание.* Данные представлены в виде  $M \pm m$ ; значения, за которыми следуют одинаковые буквы, не имеют достоверного отличия друг от друга в соответствии с тестом Дункана при  $p = 0.05$ .

**Регенерация побегов из флоральных эксплантов *R. sichotense*.** Регуляторы роста, используемые при регенерации из флоральных эксплантов 'Pohjola's Daughter', не вызвали морфогенных реакций у флоральных эксплантов *R. sichotense*. Поэтому потребовалось исследовать влияние других регуляторов роста в сочетании с тидиазуроном, в частности зеатина. Кроме того, для уменьшения воздействия стрессовых факторов, вызванных изоляцией эксплантов и обработкой регуляторами роста, был использован прием предкультивирования на АМ0. Через 4 дня предкультивирования на АМ0 все части эксплантов пропорционально увеличились в размерах. Через 10 дней после переноса на питательные среды, содержащие 1.0 мкМ ТДЗ или 1.0 ТДЗ в сочетании с 2.5 мкМ зеатина, длина цветоножек эксплантов увеличилась. Появление морфогенных структур на цветоножке флоральных эксплантов отмечено через 3 недели. Через 6 недель культивирования морфогенный ответ дали 100 % флоральных эксплантов *R. sichotense* вне зависимости от гормонального состава индукционных сред (табл. 2). Регенеранты, иницииро-

ванные в присутствии только ТДЗ и в сочетании этого регулятора роста с зеатином, различались по высоте побегов и степени развития (рис. 2, в, г).

Так, регенеранты, полученные под воздействием только ТДЗ, представляли собой укороченные дифференцированные побеги и почки (см. рис. 2, б справа), при сочетании ТДЗ с зеатином регенеранты представлены видоизмененными почками или зачатками почек (см. рис. 2, а, б слева).



**Рис. 2.** Регенерация побегов *R. sichotense* из флоральных эксплантов:

а – регенерация почек и выпячиваний под действием 1.0 мкМ ТДЗ и 2.5 мкМ зеатина; б – регенерация побегов под действием 1.0 мкМ ТДЗ и 2.5 мкМ зеатина (слева) и 1 мкМ ТДЗ (справа); в – *de novo* побеги, инициированные при помощи 1.0 мкМ ТДЗ, после элонгации; г – *de novo* побеги, инициированные при помощи 1.0 мкМ ТДЗ и 2.5 мкМ зеатина, после элонгации.

Число побегов на эксплант после элонгации в течение 6 недель на АМО составило в среднем 17 шт. и существенно не зависело от комбинаций регуляторов роста в испытанных вариантах сред (см. табл. 2). Однако отмечены различия в морфологии вновь образованных побегов (см. рис. 2, в, г). Конгломераты побегов, морфогенез которых был индуцирован под действием 1.0 мкМ ТДЗ в сочетании с 2.5 мкМ зеатина, состояли из большего числа укороченных витрифицированных побегов, для которых необходима дополнительная элонгация. Средняя высота побегов в таких конгломератах была меньше, чем у побегов, полученных на фоне ТДЗ (см. табл. 2).

На основании полученных результатов по регенерации побегов *de novo* из флоральных экплантов вечнозеленого сорта 'Pohjola's Daughter' и дикорастущего вида *R. sichotense* выявлены генотипические различия в морфогенных реакциях на действие изученных концентраций и комбинаций регуляторов роста растений. Установлено, что при использовании системы регенерации из флоральных экплантов, разработанной С. Томсон и Д. Гертнер (Tomson, Gertner, 2003) для вечнозеленых видов рододендронов и основанной на действии ТДЗ в сочетании с 2-иР и ИМК, получены регенеранты из флоральных экплантов вечнозеленого сорта 'Pohjola's Daughter'. Однако этот протокол оказался неэффективным для *R. sichotense*, более того, для индуцирования морфогенных реакций этого вида потребовалась разработка двухступенчатой системы регенерации, включающей предкультивирование флоральных экплантов на безгормональной среде и культивирование на сре-

дах с регуляторами роста. Использование зеатина на второй стадии связано с более высокой эффективностью этого регулятора роста при пролиферации побегов у рододендронов по сравнению с 2-иР (Fordham et al., 1982; Hsia, Korban, 1997). Кроме того, зеатин имеет синергетический эффект с ТДЗ (Wondyifraw, Surawit, 2006). В ходе исследования установлено, что флоральные экпланты *R. sichotense* обладают высоким регенерационным потенциалом и для индукции морфогенеза достаточно использовать только ТДЗ без каких-либо других регуляторов роста. Морфогенный потенциал цветоножек флоральных экплантов исследуемых генотипов, возможно, связан с индуцированным при помощи ТДЗ перепрограммированием вставочных меристем на запуск процессов побегообразования. Подобный эффект перепрограммирования морфогенеза клеток под действием ТДЗ описан у многих видов растений (Gill, Saxena, 1992).

Таким образом, разработанные эффективные протоколы клонального микроразмножения из флоральных экплантов, основанные на прямом пути регенерации, открывают новые перспективы в дальнейшем использовании ценных морозоустойчивых генотипов рододендронов в коммерческом воспроизводстве и селекции новых сортов.

В статье использовался материал из Биоресурсной коллекции ЦСБС СО РАН, УНУ "Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте", USU 440534.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 17-04-00782.

## ЛИТЕРАТУРА

- Александрова М.С. Рододендроны. М., 2007. 96 с.
- Врищ Д.Л. Род рододендрон (*Rhododendron* L.) на Сихотэ-Алине: география, экология, генезис, хозяйственные перспективы // Вестн. КрасГАУ. 2010. С. 64–71.
- Врищ Д.Л., Майоров И.С., Урусов В.М., Варченко Л.И. Экология видов и форм рододендронов Сихотэ-Алиня // Вестн. Тихоокеан. гос. экон. ун-та. 2010. С. 110–124.
- Кондратович Р.Я. Рододендроны в Латвийской ССР: биологические особенности культуры. Рига, 1981. 303 с.
- Растительные ресурсы России: дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность / Под ред. А.Л. Буданцева. СПб.; М., 2009. 513 с.
- Петухова И.П. Рододендроны на юге Приморья. Интродукция, культура. Владивосток, 2006. 131 с.
- Anderson W.C. A revised tissue culture medium for shoot multiplication of *Rhododendron* // J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1984. V. 109. P. 343–347.
- Dai C., Lambeth V.N., Taven R., Mertz D. Micropropagation of *Rhododendron prinophyllum* by ovary culture // HortScience. 1987. V. 22. P. 491–493.
- Fordham I., Stimart D.P., Zimmerman R.H. Axillary and adventitious shoot proliferation of Exbury azaleas *in vitro* // HortScience. 1982. V. 17. P. 738–739.
- Gill R., Saxena P.K. Direct somatic embryogenesis and regeneration of plant from seedling explants of peanut (*Arachis hypogae* L.): promotive role of thidiazuron // Can. J. Bot. 1992. V. 70. P. 1186–1192.
- Hsia C.N., Korban S.S. The influence of cytokinins and ionic strength of Anderson's medium on shoot establishment and proliferation of evergreen azalea // Euphytica. 1997. V. 93. P. 11–17.
- Huetteman C.A., Preece J.E. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture // Plant Cell Tiss. Org. 1993. V. 33. P. 105–119.
- Meyer M.M. *In vitro* propagation of *Rhododendron catawbiense* from flower buds // HortScience. 1982. V. 17. P. 891–892.

- Murthy B.N.S., Murch S.J., Saxena P.K.** Thidiazuron: A potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis // *In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant*. 1998. V. 34. P. 267–275.
- Piqueras A., Alburquerque N., Folta K.M.** Explants Used for the Generation of Transgenic Plants / Kole C., Michler C., Abbott A.G., Hall T.C. (Eds.) // *Transgenic Crop Plants*. Berlin; Heidelberg, 2010. P. 31–56.
- Pogany M.F., Lineberger R.D.** Phenotypic variation during micropropagation of the chimeral *Rhododendron* 'President Roosevelt' // *Plant Cell Tiss. Org.* 1990. V. 21. P. 201–209.
- Shevade A., Preece J.E.** Shoot organogenesis from floral organs of *Rhododendron* 'P.J.M. Hybrids' // *HortScience*. 1991. V. 26. P. 749.
- Sicuranza J., Mitkowski N.A.** The production of callus, shoot, and rooted plantlets of *Rhododendron catawbiense* 'English Roseum' from florets // *HortScience* 2007. V. 42. P. 410–411.
- Tomsone S., Gertnere D.** *In vitro* shoot regeneration from flower and leaf explants in *Rhododendron* // *Biol. Plant*. 2003. V. 46. P. 463–465.
- Wondyifraw T., Surawit W.** Synergistic effects of some plant growth regulators on *in vitro* shoot proliferation of korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) Jansen) // *Afr. J. Biotechnol.* 2006. V. 5. P. 1894–1901.
- Zaytseva Y.G., Poluboyarova T.V., Novikova T.I.** 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*. 2016. V. 52. P. 56–63.