

УДК 574.91:582.688.32

Особливості стерилізації різних експлантів рододендронів (*Rhododendron L.*) і введення їх в умови *in vitro*

В. І. Войтовська¹, О. А. Українець², М. Ю. Осіпов², С. А. Масловата²¹Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України, вул. Клінічна, 25, м. Київ, 03110, Україна, e-mail: vvojtovska6@gmail.com²Уманський національний університет садівництва, вул. Інститутська, 1, м. Умань, 20305, Україна

Мета. Встановити вплив умов стерилізації і тип експланта для отримання асептичної культури представників роду рододендронів *Rhododendron L.* **Методи.** Біотехнологічні, лабораторний, аналітичний, статистичний. **Результати.** Встановлено, що за 70 % концентрації розчину мила і експозиції 10–15 хвилин із триразовим промиванням можливо отримати додатково стерильного насіння до 33 %, а проростків 29 %. Найефективнішим був варіант із концентрацією первинного стерилізатора 50 %, що забезпечував отримання додатково стерильного насіння 37 % і проростків 31 %. Найгіршим був розчин первинного стерилізатора 20 %, за якого встановлено стерильного насіння 15 % і проростків – 8 %. Білизна 35 % за концентрації до 10 хвилин дозволяє отримати стерильність насіння 78 % і проростків – 65 %, із них життєздатними отримано: насіння – 67 % і проростків – 57 %, що було одним із найкращих результатів із досліджуваних варіантів. Найнижчі показники стерильних експлантів відмічено у варіантів із пероксидом водню (H₂O₂). Насіння становило лише – 23 % стерильних, а проростки – 12 %. Життєздатність насіння була в межах до 14 %, а у проростків до 34 %. Результати досліджень вказують, що за комплексного використання 35 % розчину Білизни та 50 % Бradoфену можливо отримати стерильного насіння від 83 до 95 % та проростків від 83 до 91 %. Крім того, життєздатних експлантів за даного поєднання встановлено: у насіння від 76 до 85 %, а у проростків від 67 до 82 %. Найефективнішим поєднанням можна відмітити 35 % розчин Білизни і 50 % Бradoфен за експозиції 10 хвилин. Стерильність становила 94 % у насіння та 90 % у проростків, життєздатність: 83 та 80 % відповідно. Доцільно відмітити і відсутність некротичних тканин у проростків. **Висновки.** Незалежно від концентрації найоптимальнішою експозицією було використання 10–15 хвилин. Залежно від типу експлантів та використання первинного стерилізатора отримано стерильного насіння вищий відсоток порівняно із проростками. Концентрація дихлориду ртуті 0,4 % та 0,2 % забезпечувала найнижчий відсоток життєздатних експлантів як насіння, так і проростків. В останніх її застосування призводило до часткових опіків листової поверхні. Тому використання дихлориду ртуті 0,4 % та 0,2 % є недоцільним для стерилізації рослинного матеріалу представників роду *Rhododendron L.* Найефективнішим для стерилізації насіння представників роду *Rhododendron L.* є використання 35 % розчину Білизни за експозиції 10 хвилин. Проростки доцільно стерилізувати за експозиції 8 хвилин, а збільшення призводить до вищого відсотку некротичного матеріалу.

Ключові слова: експозиція; концентрація; тип експланту; життєздатність; стерильність.

Вступ

Одним із найбільших є рід *Rhododendron L.*, який налічує понад 1300 видів та близько 12000 сортів. Розмноження *Rhododendron L.* здійснюють насінням і вегетативно. Використання насіння є більш ефективним, тому що насіння може пережити несприятливі умови краще, ніж живці. Однак насінневий спосіб розмноження має істотний недолік: сіянці зацвітають вперше пізніше, ніж при вегетативному розмноженні – на 3–10 рік в залежності від виду. До того ж схожість насіння рододендронів зберігається при правильному зберіганні всього 1–2 роки, а потім різко знижується [1–5].

За отримання рослин із живців існує проблема з їх укоріненням. Навіть за використання стимуляторів росту укорінення рослин деяких генотипів відбувається лише у 40–60 % матеріалу [6–9].

Войтовська В. І., Українець О. А., Осіпов М. Ю., Масловата С. А. Особливості стерилізації різних експлантів рододендронів (*Rhododendron L.*) і введення їх в умови *in vitro*. Новітні агротехнології. 2020. № 8. doi: <https://doi.org/10.47414/na.8.2020.231231>.

Поряд з традиційними методами вегетативного розмноження (живцями, щепленням, відводками, поділом куща) існує і метод клонального мікророзмноження рослин. В даний час перевага його перед традиційними методами вегетативного і насінневого розмноження рослин незаперечна. Клональне мікророзмноження дозволяє отримати велику кількість посадкового матеріалу в досить стислі терміни. Ця технологія розроблена і успішно застосовується для отримання вільного від патогенів посадкового матеріалу рододендронів [10–14]. За вегетативного способу розмноження цвітіння і зрілість саджанців настає значно раніше, ніж за насінневого. Також за цього способу розмноження молоді рослини зберігають всі ознаки і властивості материнської рослини, що дуже важливо для збереження типових ознак окремих форм та сортів [15].

Сьогодні у світі широко використовують біотехнологічні методи, які дозволяють не тільки розмножувати рослини, але і створювати нові форми. Відомі і давно відпрацьовані техніки клонального мікророзмноження багатьох сільськогосподарських культур, як-от цукрові буряки, цикорій, картопля, суніці, кукурудза і багато інших. Крім того клональне мікророзмноження досить успішно використовують і в тиражуванні цілого ряду декоративних культур [16]. Роботи з рододендронами в Україні майже не проводились або дуже рідко через імпортування рослин із-за кордону. Однак надзвичайно важливо зазначити, що в Українських Карпатах на луках субальпійської зони росте занесений до Червоної книги Рододендрон карпатський (*Rhododendron myrtifolium*), а також є створені та інтродуковані колекції цих рослин [17].

Важливою умовою для успішного культивування органів або тканин в умовах *in vitro* є отримання асептичної культури із вихідного матеріалу. Введення будь-яких експлантів і їх подальше культивування неможливе без розробки методики стерилізації вихідного матеріалу, адже інфекції на поверхні експлантів в штучних умовах швидко розвиваються та спричиняють не тільки гальмування розвитку досліджуваного матеріалу, але і його загибель [18].

Враховувати у виборі стерилізації необхідно і те, що органи рослин, які використовують в якості ініціальних експлантів, складаються із ніжних і молодих тканин, які можуть отримати опіки при взаємодії з хімічними речовинами, що в свою чергу призводить до некрозу [19].

Для кожного виду рослин та експланту в більшості випадків спосіб стерилізації, стерилізуючі агенти та їх концентрації і експозиції підбирають експериментально [20]. Тому, дослідити умови стерилізації для отримання асептичної культури представників роду рододендронів є актуальним.

Мета досліджень – встановити вплив умов стерилізації і тип експланта для отримання асептичної культури представників роду рододендронів *Rhododendron* (L.).

Матеріали та методика досліджень

Дослідження проводили в Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України. Матеріали та інструменти, посуд і живильні середовища готували згідно із загальноприйнятими методиками [21–24]. Для стерилізації і введення в культуру *in vitro* були використані проростки і непроросле насіння рододендронів.

У дослідах вивчали первинну і вторинну стерилізації. Для первинної використовували промивання в проточній воді експлантів з нейтральним миючим засобом (мило господарське або звичайне) від 20 до 70 % розчину і експозицію від 5 до 30 хвилин. А для вторинної стерилізації проводили дослідження за використання різних стерилізуючих агентів та концентрацій від 0,2 до 45 % та експозицій від 2 до 25 хвилин. В якості стерилізаторів було випробувано розчини: дихлорид ртуті (сулема), гіпохлорити натрію і кальцію, перекис водню, хлорамін, Білізна, Доместос, етанол 70 %, Аноліта, Люмакс-Хлор 1000, Брадофен 50 %.

Експланти, які простерилізували після видалення залишків стерилізатора промиванням у дистильованій воді (5 хв.), висаджували на модифіковане живильне середовище. Через 7 діб визначали ефективність стерилізації – відсоток стерильних й інфікованих експлантів у кожному варіанті. До кожного варіанту входило по 10 рослинних об'єктів. Ефективність введення в штучні умови визначали через 20 діб після висаджування на живильне середовище за кількістю експлантів, у яких спостерігали розвиток досліджуваних об'єктів, від кількості стерильних експлантів.

Культивування проводили в термальних приміщеннях за температури 24 ± 2 °С, освітленні 3000–4000 лк, відносній вологості 65–70 % та фотоперіоді – 16 годин.

Цифровий матеріал оброблено згідно з загальноприйнятими методами [25].

Результати досліджень

Насіння представників роду *Rhododendron* (L.) за розмірами від 2 до 4 мм (рис. 1). Тому, враховуючи таку особливість, первинну стерилізацію проводили з використанням розчину мила господарського або звичайного з різною концентрацією та недовготривалою експозицією.

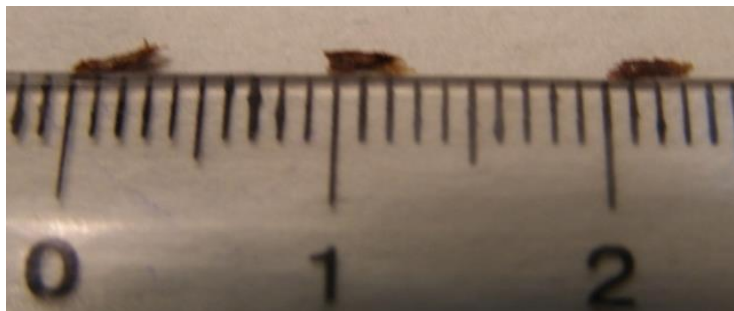


Рис. 1. Насіння рододендронів

Встановлено, що незалежно від концентрації найоптимальнішою експозицією було використання 10–15 хвилин. Збільшення експозиції не забезпечувало істотної різниці у варіантах. Не забезпечує достатнього промивання дистильованою водою експлантів 1 та 2 рази. Доцільніше проводити промивання тричі, що задовольняє краще промивання експлантів та виведення із тканин первинного стерилізатора. Концентрація розчину первинного стерилізатора істотно впливала на відсоток стерильних експлантів. Так, встановлено, що за 70 % концентрації розчину мила і експозиції 10–15 хвилин із триразовим промиванням можливо отримати додатково стерильного насіння до 33 %, а проростків 29 %. Найефективнішим був варіант із концентрацією первинного стерилізатора 50 %, що забезпечував отримання додатково стерильного насіння 37 % і проростків 31 %. Найгіршим варіантом був розчин первинного стерилізатора 20 %, за якого встановлено стерильного насіння 15 % і проростків – 8 %. За використання розчинів 30 і 40 % було відмічено майже однаковий відсоток стерильного насіння 20 і 22 % та проростків – 10 і 13 %. Отже, залежно від типу експлантів та використання первинного стерилізатора отримано стерильного насіння вищій відсоток порівняно із проростками (рис. 2).

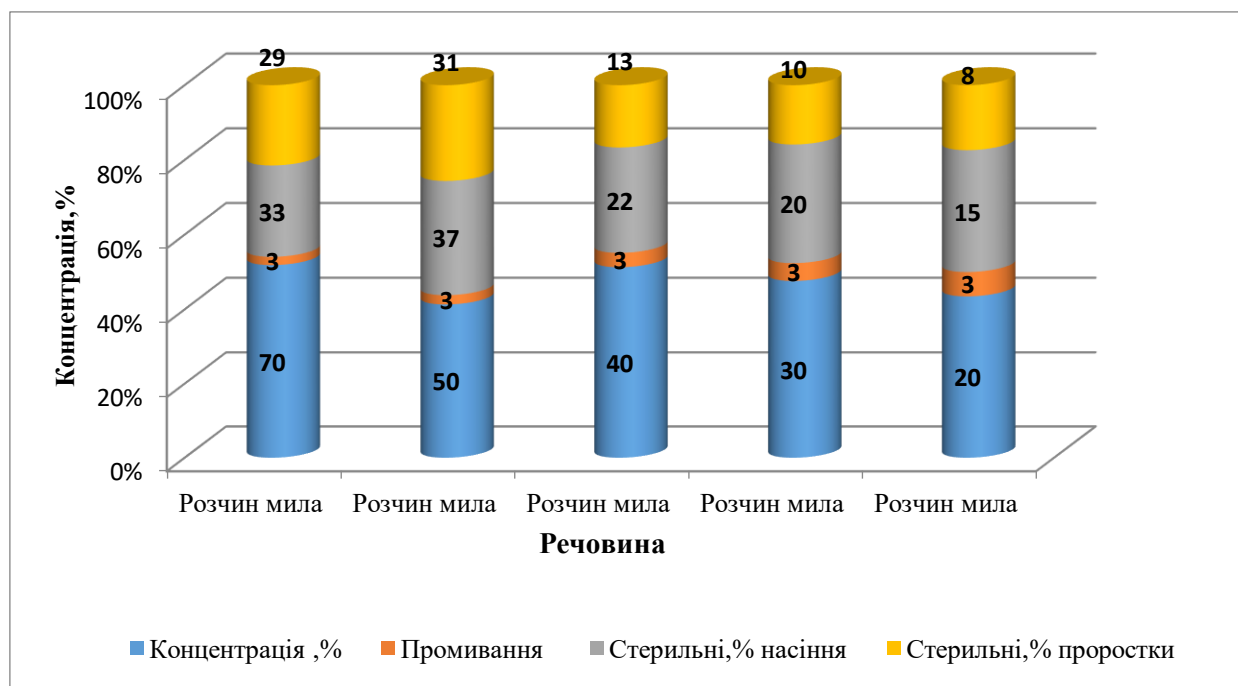


Рис. 2. Стерильність експлантів залежно від первинної стерилізації

Вторинну стерилізацію з метою отримання асептичної культури представників роду *Rhododendron* (L.) проводили за використання стерильних агентів. Встановлено, що найагресивнішим із досліджуваних стерилізаторів є дихлорид ртуті. За його використання отримано високий відсоток стерильного насіння (97 %), але нежиттєздатного (0 %). Проростки за

даної речовини також були стерильні (66 %), але нежиттєздатні (0 %). Концентрація дихлориду ртуті 0,4 % та 0,2 % забезпечувала найнижчий відсоток життєздатних експлантів як насіння, так і проростків. В останніх її застосування призводило до часткових опіків листової поверхні. Тому використання дихлориду ртуті 0,4 % та 0,2 % є недоцільним для стерилізації рослинного матеріалу представників роду *Rhododendron* (L.).

На противагу дихлориду ртуті, 35 % розчин Білизни за концентрації до 10 хвилин дозволив отримати стерильність насіння 78 % і проростків – 65 %, із них життєздатними отримано: насіння 67 % і проростків – 57 %, що було одним із найкращих результатів із досліджуваних варіантів.

Використання в якості стерильного агента етанолу 70 % дозволяє вказати на таку закономірність: стерильність насіння була 49 %, а у проростків – 46 %, із них отримано життєздатних 56 % насіннєвого матеріалу і 44 % проростків.

Найнижчі показники стерильних експлантів відмічено у варіантів із пероксидом водню (H₂O₂). Насіння становило лише – 23 % стерильних, а проростки – 12 %. Життєздатність насіння була в межах до 14 %, а у проростків до 34 %. Проте за такої стерилізації відмічено значну кількість інфікованого матеріалу.

Хлорамін (NH₂Cl) в якості стерильного агенту мав показники у насіння 45 %, а у проростків – 26 %. Однак життєздатність експлантів була надзвичайно низькою – від 12 до 16 %.

Гіпохлорит натрію (NaClO) та гіпохлорит кальцію (Ca(ClO)) за використання для стерилізації мали майже однакові показники. Стерильність насіння за цих агентів становила від 66 до 71 % у насіння та від 48 до 42 % у проростків. Показник життєздатності у насіння варіював від 54 до 44 %, а у проростків – від 36 до 32 % відповідно (рис. 3).

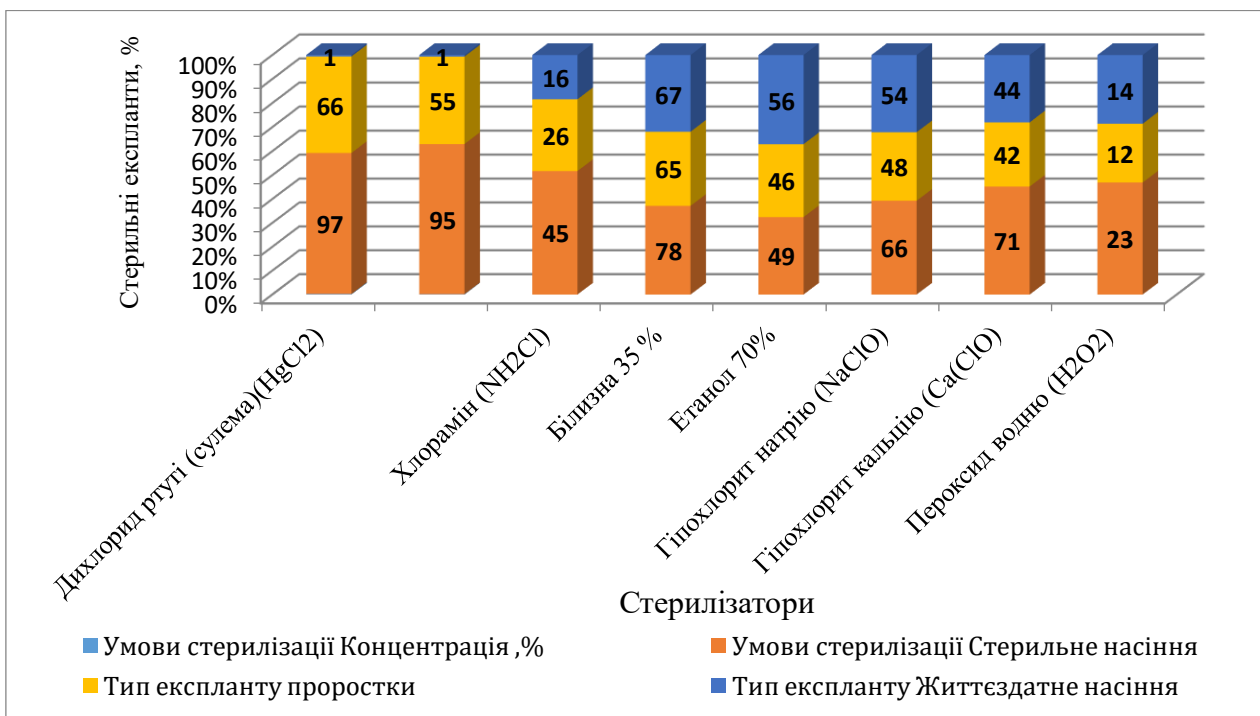


Рис. 3. Асептичні культури представників роду *Rhododendron* (L.) за використання стерилізуючих речовин і типу експланта

Найефективнішим для стерилізації насіння представників роду *Rhododendron* (L.) є використання 35 % розчину Білизни за експозиції 10 хвилин. Проростки доцільно стерилізувати за експозиції 8 хвилин, а збільшення призводить до вищого відсотку некторичного матеріалу (рис. 4).

У дослідженнях вивчали вплив готових стерилізуючих розчинів, таких як: Аноліта, Люмакс-Хлор 1000, Брадофен 50 %. Встановлено, що істотний вплив на стерильність експлантів відмічено за використання Брадофен 50 %.

Результати досліджень вказують, що за комплексного використання 35 % розчину Білизни та 50 % Брадофену можливо отримати стерильного насіння від 83 до 95 % та проростків від 83 до

91 %. Крім того, життєздатних експлантів за даного поєднання встановлено: у насіння від 76 до 85 %, а у проростків від 67 до 82 %.

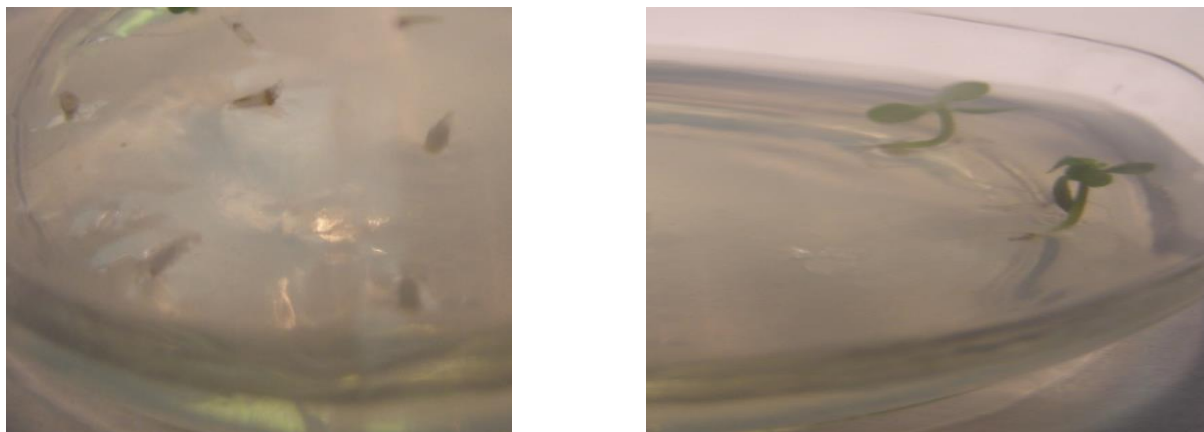


Рис. 4. Стерильне насіння (а) і проростки рододендронів (б) на живильних середовищах

Встановлено, що за експозиції Білизни 10 хвилин, а Бradoфену – 3 хв стерильність забезпечується на рівні 83 % незалежно від типу експланту, а життєздатність у насіння 76 %, а у проростків – 67 %. Збільшення 50 % Бradoфену до 5 хв дозволяє отримати майже однакову стерильність 86 і 85 %, а життєздатність – у насіння 78 % і проростків 73 %. Експозиція 8 хв Бradoфену забезпечує стерильність на рівні 90 і 88 %, а життєздатність матеріалу 80 і 75 %.

Найефективнішим поєднанням можна відмітити 35 % розчин Білизни і 50 % Бradoфен за експозиції 10 хв. Стерильність становила 94 % у насіння та 90 % у проростків, життєздатність – 83 та 80 % відповідно. Доцільно відмітити і відсутність некротичних тканин у проростків (рис. 5).

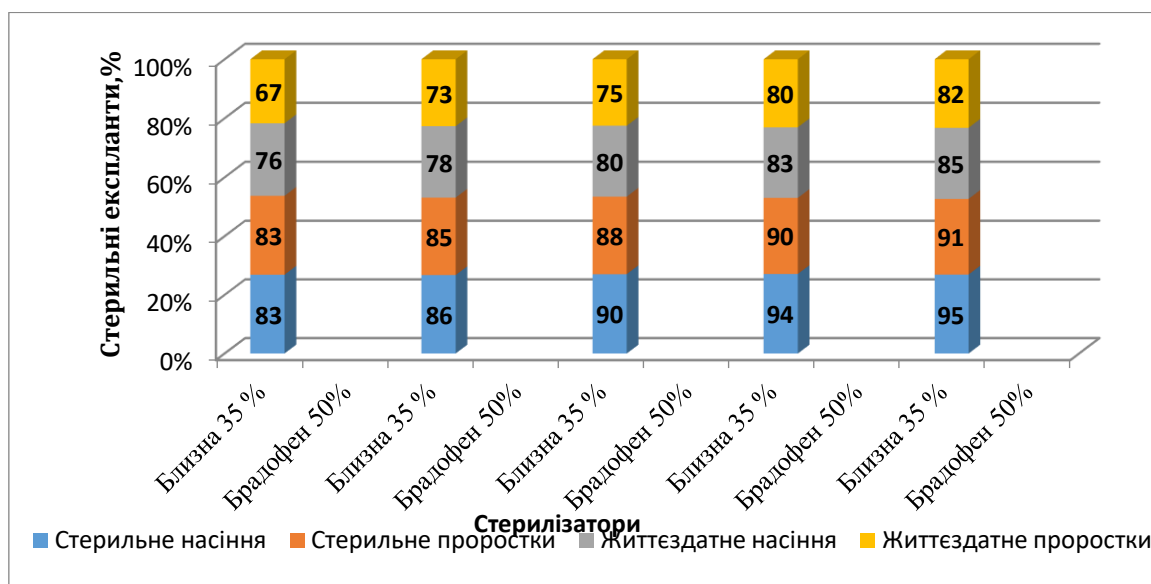


Рис. 5. Вплив стерильних речовин на стерильність і життєздатність експлантів

Збільшення експозиції 50 % Бradoфену до 12 хвилин неістотно підвищило відсоток стерильності і цей показник становив у насіння 95 %, а у проростків – 91 %. Життєздатних залежно від типу експланту було 85 і 82 % відповідно. Однак до 7 % встановлено невротизацію рослинних тканин. Тому подальше збільшення експозиції є недоцільним і неефективним.

Висновки

Незалежно від концентрації найоптимальнішою експозицією було використання 10–15 хв. Залежно від типу експлантів та використання первинного стерилізатора отримано стерильного насіння вищій відсоток порівняно із проростками.

Концентрація дихлориду ртуті 0,4 % та 0,2 % забезпечувала найнижчий відсоток життєздатних експлантів як насіння, так і проростків. В останніх її застосування призводило до часткових опіків листової поверхні. Тому використання дихлориду ртуті 0,4 % та 0,2 % є недоцільним для стерилізації рослинного матеріалу представників роду *Rhododendron* (L.).

Найефективнішим для стерилізації насіння представників роду *Rhododendron* (L.) є використання 35 % розчину Білизни за експозиції 10 хвилин. Проростки доцільно стерилізувати за експозиції 8 хвилин, а збільшення призводить до вищого відсотку некторичного матеріалу.

Використана література

1. Черевченко Т. М. Ботанічні сади та дендропарки – головні осередки інтродукційних досліджень та збереження різноманіття рослин. *Теоретичні та прикладні аспекти інтродукції рослин і зеленого будівництва* : Матер. II Міжнар. конф. Умань, 2002. С. 11–16.
2. Петухова И. П. Рододендроны на юге Приморья. Интродукция, культура. Владивосток, 2006. 131 с.
3. 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.
4. Баранова Т. В. Рододендроны. Особенности экологии, размножения, выращивания. Saarbrücken : Lambert Academic Publishing, 2012. 69 с.
5. Баранова Т. В., Николаев Е. А. Рододендроны в Центральном Черноземье. Saarbrücken : Lambert Academic Publishing, 2012. 72 с.
6. Вологодина О. С. *Rhododendron mucronulatum* Turcz., *Rh. sichotense* Pojark.: формовое разнообразие, онтогенез, культура : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток : Биол.-почв. ин-т ДВО РАН, 2007. 18 с.
7. Lanying Zh., Yongqing W., Li Zh. Genetic diversity and relationship of *Rhododendron* species based on RAPD analysis. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 2008. Vol. 3, Iss. 4. P. 626–631.
8. Pavingerova D. The influence of thidiazuron on shoot regeneration from leaf explants of fifteen cultivars of *Rhododendron*. *Biol. Plant*. 2009. Vol. 54. P. 797–799. doi: 10.1007/s10535-009-0147-3
9. Капустин В. В. Збереження інтродукційного та аборигенного рослинного різноманіття в умовах культури. *Інтродукція та збереження рослинного різноманіття*. 2000. Вип. 3. С. 5–7.
10. 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.
11. Eeckhaut T., Janssens K., Keyser E., Riek J. Micropropagation of *Rhododendron*. *Protocols for in vitro propagation of ornamental plants: Methods in molecular biology* / S. M. Jain, S. J. Ochatt (Eds.). New York : Humana Press, 2010. P. 141–152. doi: 10.1007/978-1-60327-114-1_14
12. 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.
13. Доронина Г. У. Оценка устойчивости и агротехника введения рододендронов в интродукционную культуру в условиях республики Марий Эл : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Йошкар-Ола : МарГУ, 2000. 22 с.
14. Дзюба О. І. Фізіологічні і біохімічні особливості рододендрона жовтого (*Rhododendron luteum* Sweet): аллелопатичний аналіз : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Київ : Ін-т. фізіології рослин і генетики НАН України, 2001. 22 с.
15. Almeida R., Goncalves S., Romano A. *In vitro* micropropagation of endangered *Rhododendron ponticum* L. subsp. *baeticum* (Boissier and Reuter) Handel-Mazzetti. *Biodiver. Conserv.* 2005. Vol. 14, Iss. 5. P. 1059–1069. doi: 10.1007/s10531-004-8413-3
16. Sharma C., Kaur M., Kaur A., Gosal S. S. *In vitro* plant regeneration studies in three indica rice varieties. *Int. J. Agric. Environ. Biotechnol.* 2012. Vol. 5, Iss. 4. P. 309–313.
17. Ванзар О. М., Романюк В. В. Перспективи вирощування рододендронів у Північній Буковині. Чернівці : Рута, 2005. 92 с.
18. Белокурова В. Б. Методи біотехнології в системі заходів зі збереження біорізноманіття рослин. *Цитология и генетика*. 2010. Т. 44, № 3. С. 58–72.
19. Васильева О. Г. Биолого-морфологические основы клонального микроразмножения некоторых представителей рода *Rhododendron* L. : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Москва : ГБС РАН, 2009. 22 с.
20. Костина В. М. Особенности фенольного метаболизма растений рода *Rhododendron* *in vivo* и *in vitro* : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Москва : Ин-т физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, 2009. 22 с.
21. Рябовол Л. О. Клональне мікророзмноження рослин : методичні рекомендації для проведення лабораторно-практичних занять з «Біотехнології рослин». Умань : УДАА, 2001. 16 с.
22. Зарубенко А. У., Тимчишин Г. В., Шумик М. І. Методичні рекомендації з розмноження та культивування рододендронів в Україні. Київ : Фітосоціоцентр, 2004. 30 с.

23. Trigiano R. N., Gray D. J. *Plant Tissue Culture. Development, and Biotechnology*. CRS Press, 2016. 608 p.
24. Us-Camas R., Rivera-Solís G., Duarte-Aké F. et al. Invitro culture: an epigenetic challenge for plants. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 2014. Vol. 118. P. 187–201. doi: 10.1007/s11240-014-0482-8
25. Ермантраут Е. Р., Присяжнюк О. І., Шевченко І. Л. Статистичний аналіз агрономічних дослідних даних у пакеті Statistica 6.0. Київ : ПоліграфКонсалтинг, 2007. 55 с.

References

- Cherevchenko, T. M. (2002). Botanical gardens and arboreta – the main centers of introductory research and conservation of plant diversity. In *Teoretychni ta prykladni aspekty introduktsii roslyn i zelenoho budivnytstva: mater. II Mizhnar. konf.* [Theoretical and applied aspects of plant introduction and green building: Proc. II Int. Conf.] (pp. 11–16). Uman : N.p. [in Ukrainian]
- Petukhova, Y. P. (2006). *Rhododendrony na yuge Primor'ya. Introduktsiya, kul'tura* [Rhododendrons in the south of Primorye. Introduction, culture]. Vladivostok: N.p. [in Russian]
- Vrishh, D. L., Varchenko, L. I., & Urusov, V. M. (2010). The genus *Rhododendron L.* in the Sikhote-Alin: geography, ecology, genesis, economic prospects. *Vestnik KrasGAU*, 10, 64–71.
- Baranova, T. V. (2012). *Rhododendrony. Osobennosti ekologii, razmnozheniya, vyrashchivaniya* [Rhododendrons. Features of ecology, reproduction, cultivation]. Saarbrücken: Lambert Academic Publishing. [in Russian]
- Baranova, T. V., & Nikolaev, E. A. (2012). *Rhododendrony v Tsentral'nom Chernozem'e* [Rhododendrons in the Central Black Earth Region]. Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing. [in Russian]
- Vologdina, O. S. (2007). *Rhododendron mucronulatum Turcz., Rh. sichotense Pojark.: formovoe raznoobrazie, ontogenez, kul'tura* [Rhododendron mucronulatum Turcz., Rh. sichotense Pojark.: Form diversity, ontogeny, culture] (Extended Abstract of Cand. Biol. Sci. Diss.). Vladivostok: N.p. [in Russian]
- Lanying, Zh., Yongqing, W., & Li, Zh. (2008). Genetic diversity and relationship of *Rhododendron* species based on RAPD analysis. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 3(4), 626–631.
- 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
- Kapustyn, V. V. (2000). Preservation of introductory and aboriginal plant diversity in culture. *Introduktsiia ta zberezhennia roslynnoho riznomanittia* [Introduction and preservation of plant diversity], 3, 5–7. [in Ukrainian]
- Filipenya, V. L., Gorbatsevich, B. I., & Antipova, T. V. (2009). Microclonal reproduction of *Rhododendron × hybridum* Hort. *Fiziologiya i biokhimiya kul'turnykh rasteniy* [Physiology and biochemistry of cultivated plants], 41, 516–522. [in Russian]
- Eeckhaut, T., Janssens, K., Keyser, E., & Riek, J. (2010). Micropropagation of *Rhododendron*. In S. M. Jain & S. J. Ochatt (Eds.), *Protocols for in vitro propagation of ornamental plants: Methods in molecular biology* (pp. 141–152). New York: Humana Press. doi: 10.1007/978-1-60327-114-1_14
- Erst, A. A., Novikova, T. I., Karakulov, A. V., & Zaytseva Yu. G. (2012). Adaptation of *Rhododendron hybridum* regenerants to *ex vitro* conditions. *Nauchnye vedomosti BelGU: estestvennye nauki* [Scientific bulletin of BelSU: natural sciences], 19(9), 44–49. [in Russian]
- Doronina, G. U. (2000). *Otsenka ustoychivosti i agrotekhnika vvedeniya rododendronov v introduktsionnyu kul'turu v usloviyakh respubliki Mariy El* [Assessment of stability and agricultural technology for the introduction of rhododendrons into the introduction culture in the conditions of the Republic of Mari El] (Extended Abstract of Cand. Biol. Sci. Diss.). Yoshkar-Ola: MarGU. [in Russian]
- Dziuba, O. I. (2001). *Fiziologichni i biokhimichni osoblyvosti rododendrona zhovtoho (Rhododendron luteum Sweet)* [Physiological and biochemical features of rhododendron yellow (*Rhododendron luteum Sweet*): allelopathic analysis] (Extended Abstract of Cand. Biol. Sci. Diss.). Kyiv: Instytut fiziologii roslyn i henetyky NAN Ukrainy. [in Ukrainian]
- 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
- Sharma, C., Kaur, M., Kaur, A., & Gosal, S. S. (2012). *In vitro* plant regeneration studies in three indica rice varieties. *Int. J. Agric. Environ. Biotechnol.*, 5(4), 309–313.
- Vanzar, O. M., & Romaniuk, V. V. (2005). *Perspektyvy vyroshchuvannya rododendroniv u Pivnichnii Bukovyni* [Prospects for growing rhododendrons in Northern Bukovina]. Chernivtsi: Ruta. [in Ukrainian]
- Belokurova, V. B. (2010). Methods of biotechnology in the system of measures for the conservation of plant biodiversity. *Tsytolohiya i genetika* [Cytology and genetics], 44(3), 58–72. [in Ukrainian]
- Vasil'eva, O. G. (2009). *Biologo-morfologicheskie osnovy klonal'nogo mikrorazmnozheniya nekotorykh predstaviteley roda Rhododendron L.* [Biological and morphological bases of clonal micropropagation of some representatives of the genus *Rhododendron L.*] (Extended Abstract of Cand. Biol. Sci. Diss.). Moscow: GBS RAN. [in Russian]

20. Kostina, V. M. (2009). *Osobennosti fenol'nogo metabolizma rasteniy roda Rhododendron in vivo i in vitro* [Biological and morphological bases of clonal micropropagation of some representatives of the genus *Rhododendron* L.] (Extended Abstract of Cand. Biol. Sci. Diss.). Moscow: Instytut fiziologii rasteniy imeni K. A. Timiryazeva RAN. [in Russian]

21. Riabovol, L. O. (2001). *Klonalne mikroroznozhennia roslyn: metodychni rekomendatsii dlia provedennia laboratorno-praktychnykh zaniat z «Biotekhnologii roslyn»* [Clonal microreproduction of plants: guidelines for laboratory and practical classes on "Plant Biotechnology"]. Uman: UDAA. [in Ukrainian]

22. Zarubenko, A. U., Tymchyshyn, H. V., & Shumyk, M. I. (2004). *Metodychni rekomendatsii z rozmnozhennia ta kultyvuvannia rododendroniv v Ukraini* [Methodical recommendations for reproduction and cultivation of rhododendrons in Ukraine]. Kyiv: Fitosotsiotsentr. [in Ukrainian]

23. Trigiano, R. N., & Gray, D. J. (2016). *Plant Tissue Culture. Development, and Biotechnology*. CRS Press.

24. Us-Camas, R., Rivera-Solís, G., & Duarte-Aké, F. (2014). In vitro culture: an epigenetic challenge for plants. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.*, 118, 187–201. doi: 10.1007/s11240-014-0482-8

25. Ermantraut, E. R., Prysiazhniuk, O. I., & Shevchenko, I. L. (2007). *Statystychnyi analiz ahronomichnykh doslidnykh danykh v paketi Statistica 6.0* [Statistical analysis of agronomic research data in package Statistica 6.0]. Kyiv: PolihrafKonsal'tynh. [in Ukrainian]

UDC 574.91:582.688.32

Voitovska V. I.¹, Ukrainets, O. A.², Osipov, M. Yu.², & Maslovata, S. A.² (2020). Features of sterilization of various explants of rhododendrons (*Rhododendron* L.) and their introduction *in vitro*. *Novitni agrotehnologii* [Advanced agritechnologies], 8. doi: <https://doi.org/10.47414/na.8.2020.231231>. [in Ukrainian]

¹*Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet, NAAS of Ukraine, 25 Klinichna St., Kyiv, 03110, Ukraine, e-mail: vvoitovska6@gmail.com*

²*Uman National University of Horticulture, 1 Instytutska St., Uman, Cherkasy region, 20305, Ukraine*

Purpose. To establish the influence of sterilization conditions and the type of explants for obtaining aseptic culture of representatives of the genus *Rhododendron* (L.). **Methods.** Biotechnological, laboratory, analytical, statistical. **Results.** It was found that for 70 % of the concentration of the soap solution and exposure for 10–15 minutes with three washes, it is possible to obtain additional sterile seeds up to 33 %, and seedlings 29 %. The most effective treatment was with a concentration of primary sterilizer of 50 %, which provided additional sterile seeds of 37 % and seedlings – 31 %. The worst was a solution of primary sterilizer 20% for which sterile seeds amounted for 15 % and seedlings for 8 %. At a concentration of 35 %, and exposition for up to 10 minutes it is possible to reach seed sterility of 78 % and seedlings of 65 %, of which viable seeds 67 % and viable seedlings 57 %, which was one of the best results of the studied treatments. The lowest rates of sterile explants were observed in the treatments with hydrogen peroxide (H₂O₂). Seeds were only 23 % sterile and seedlings 12 %. Seed viability was up to 14 %, and seedlings up to 34 %. The results of the studies indicate that with the combined use of 35 % Bilyzna and 50 % Bradofen, it is possible to obtain sterile seeds from 83 to 95 % and seedlings from 83 to 91 %. In addition, viable explants in this combination were founding in seeds from 76 to 85 %, and in seedlings from 67 to 82 %. The most effective combination is 35 % Bilyzna and 50 % Bradofen for 10 minutes of exposure. Sterility was 94 % in seeds and 90 % in seedlings, viability: 83 and 80 %, respectively. It is worth noting the lack of necrotic tissue in seedlings. **Conclusions.** Regardless of the concentration, the most optimal exposure was 10–15 minutes. Depending on the type of explant and the use of the primary sterilizer, a higher percentage of sterile seeds was obtained compared to seedlings. The mercury dichloride concentration of 0.4 % and 0.2 % provided a low percentage of viable explants for both seeds and seedlings. In the latter, its use led to partial burns of the leaf surface. Therefore, the use of mercury dichloride 0.4 % and 0.2 % was not appropriate for sterilization of plant material of the genus *Rhododendron* (L.). The most effective way to sterilize the seeds of the genus *Rhododendron* (L.) is to use a 35% solution of Bilyzna for 10 minutes. Seedlings should be sterilized for 8 minutes, and the increase leads to a higher percentage of necrotic material.

Keywords: exposure; concentration; explant type; viability; sterility.

Надійшла / Received 05.11.2020

Погоджено до друку / Accepted 16.12.2020