

УДК 574.91:582.688.32

## Життєздатність експлантів різних культиварів рододендрону залежно від виду агента стерилізації

В. І. Войтовська<sup>1</sup> , М. І. Парубок<sup>2</sup> , С. А. Масловата<sup>2</sup> , А. І. Бойко<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України, вул. Клінічна, 25, м. Київ, 03110, Україна, e-mail: vvojtovska6@gmail.com

<sup>2</sup> Уманський національний університет садівництва, вул. Інститутська, 1, м. Умань, 20305, Україна

<sup>3</sup> Український інститут експертизи сортів рослин, вул. Генерала Родимцева, 15, м. Київ, 03041, Україна

**Мета.** Встановити життєздатність експлантів різних культиварів рододендрону залежно від виду агента стерилізації. **Методи.** Біотехнологічні, лабораторні, аналітичні, статистичні. **Результати.** Встановлено, що вихід експлантів істотно змінювався залежно від культивару, агента стерилізації і джерела експланту. Так, найвищий вихід експлантів із насіння рододендрону забезпечувало використання агента стерилізації білизни і брадофену – 50–85 %. Слід відзначити, що вихід асептичних експлантів отримано з насіння культиварів ‘Cunningham’s White’, ‘Shamrock’ і ‘Якушиманский’ – 81–83 %. Достовірно нижчий їх вихід був за використання антисептика Аноліта – 5–15 % залежно від культивару. За використання решти антисептиків цей показник знаходився в межах 31–69 %. Вихід асептичних експлантів з проростків рододендрону був вищим порівняно з насінням, проте тенденція впливу агента антисептика була подібною. Слід відзначити, що за використання антисептиків Білизна і Брадофен забезпечувало вихід асептичних експлантів у межах від 72 до 96 %. За використання антисептика аноліта з насіння рододендрону отримано найвищий вміст інфікованих експлантів – 80–94 %, асептичних – 5–15 і пророслих – 1–5 % залежно від культивару. Вихід асептичних експлантів із проростків рододендрону був у 1,3–2,0 рази вищим порівняно з насінням. Вихід інфікованих проростків був нижчим, а пророслих – 15–30 %. **Висновки.** Встановлено, що застосування антисептиків Білизна та Брадофен забезпечують найвищий вихід асептичних експлантів з насіння і проростків. Вихід їх найвищий за використання проростків порівняно з насінням. За використання насіння найвищий вихід асептичних експлантів отримано з культиварів ‘Balalaika’, ‘Shamrock’ і ‘Якушиманский’ – 80–83 %. За використання проростків цей показник найвищий у культиварів ‘Grandiflorum’, ‘Cunningham’s White’, ‘Balalaika’, ‘Shamrock’ і ‘Якушиманский’ – 85–95 %.

**Ключові слова:** рододендрон; насіння; проростки; вегетативне розмноження; стерильний агент; асептична культура.

### Вступ

Нині відомо близько 1200 видів і 13 000 сортів й гібридів рододендрону, який застосовують для декоративного озеленення [1]. Рододендрон має вищу газостійкість, виділяє ефірні масла та фітонциди, завдяки цьому очищує повітря від хвороботворних мікроорганізмів і сприяє оздоровленню навколишнього природного середовища. У науково-дослідних установах проводять селекційну роботу з одержання нових сортів рододендронів, у процесі якої необхідно швидко розмножити перспективні зразки, що мають комплекс корисних ознак [2]. У зв'язку з цим актуальним є застосування біотехнологічних методів, що дозволяють в умовах *in vitro* у короткі терміни розмножити цінний селекційний матеріал у достатній кількості для подальшого вивчення.

Клональне розмноження – високоефективна екологічно чиста технологія в сільському господарстві, яка широко використовується на практиці та має багато переваг – отримання генетично однорідного посадкового матеріалу, оздоровлення рослин від різних інфекцій та створення депонованих колекцій *in vitro* [3, 4]. Проте під час введення в культуру *in vitro* нового

матеріалу і подальшому культивуванні дослідники часто стикалися з високою частотою контамінації експлантів [5, 6], великою кількістю потемнілих експлантів, що зумовлено високою концентрацією фенольних сполук, що гальмують їх розвиток *in vitro* [7, 8], низькою приживаністю та вітрифікацією пагонів [9, 10]. Крім цього, в межах одного виду рослин спостерігаються особливості формування асептичної культури залежно від сорту [11, 12]. Дослідженнями встановлено, що найефективнішим для стерилізації насіння представників роду *Rhododendron* (L.) є використання 35 % розчину Білизни за експозиції 10 хв. Проростки доцільно стерилізувати за експозиції 8 хв, а збільшення призводить до вищого відсотку некротичного матеріалу [13]. Аналіз літературних джерел показав, що відомості про прийоми мікророзмноження рододендрону в *in vitro* зумовлює проведення детальніших досліджень.

**Мета дослідження** – встановити життєздатність експлантів різних культиварів рододендрону залежно від виду агента стерилізації.

### Матеріали та методика досліджень

Дослідження проводили в Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України. В якості експлантів для стерилізації та подальшого введення в культуру *in vitro* використовували проростки і непоросле насіння рододендронів різних культиварів: 'Summetglut', 'Cunningham's White', 'Grandiflorum', 'Libretto', 'Якушиманский', 'Shamrock', 'Balalaika' (рис. 1).

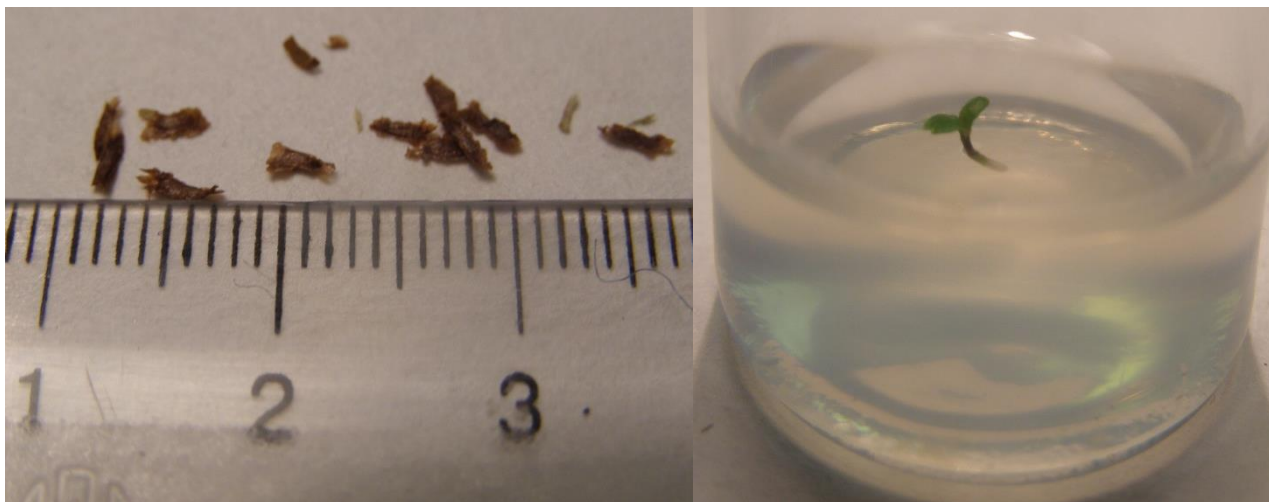


Рис. 1. Насіння і стерильний проросток

Використовували первинну і вторинну стерилізації. Насіння та проростки різних сортів рододендрону промивали у проточній воді з нейтральним миючим засобом (мило) – 50 % за експозиції 15 хв. Вторинну стерилізацію поводили за використання стерильних агентів: гіпохлорит натрію (Білизна 35 %, Доместос), перекис водню, хлорамін (натрієва сіль хлорамида монобензолсульфоїкислоти), етанол 70 %, Аноліта (гіпохлоритна кислота), Брадофен 50 % з експозицією 10 хв для насіння і 8 хв для проростків. Після цього проростки і насіння різних сортів рододендрону промивали у дистильованій воді впродовж 15 хв і в подальшому висаджували на модифіковане живильне середовище. Стерильність і життєздатність матеріалу визначали на 7 добу культивування. В термальних приміщеннях проводили культивування матеріалу за температури  $24 \pm 2$  °С, освітленні 3000–4000 лк, відносній вологості 65–70 % і фотоперіоду – 16/8 год. Матеріали та інструменти, посуд і живильні середовища готували згідно загальноприйнятих методик [14]. Цифровий матеріал оброблено згідно з загальноприйнятими методами [15].

### Результати досліджень

Встановлено, що вихід експлантів істотно змінювався залежно від культивару, агента стерилізації і джерела експланту (табл. 1). Так, найвищий вихід експлантів із насіння рододендрону забезпечувало використання агента стерилізації білизни і брадофену – 50–85 %. Слід відзначити, що вихід асептичних експлантів отримано з насіння культиварів 'Cunningham's White', 'Shamrock' і 'Якушиманский' – 81–83 %. Достовірно нижчий їх вихід був за використання

антисептика Аноліта – 5–15 % залежно від культивару. За використання решти антисептиків цей показник знаходився в межах 31–69 %. Вихід асептичних експлантів з проростків рододендрону був вищим порівняно з насінням, проте тенденція впливу агента антисептика була подібною. Слід відзначити, що за використання антисептиків Білизна і Брадофен забезпечувало вихід асептичних експлантів у межах від 72 до 96 %.

Таблиця 1

**Вихід асептичних експлантів різних культиварів рододендрону  
залежно від агенту стерилізації, %**

Культивар	Вихід експлантів, отриманих із													
	насіння							проростків						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
'Libretto'	5	31	34	36	37	50	50	10	58	60	65	68	72	73
'Grandiflorum'	6	36	37	39	42	55	56	15	65	68	72	75	85	86
'Summetglut'	8	41	45	48	50	65	66	15	61	63	67	71	77	77
'Balalaika'	10	49	55	58	59	75	75	22	78	81	85	88	90	91
'Cunningham`s White'	12	62	67	68	71	80	81	20	76	79	83	84	88	88
'Shamrock'	12	59	70	72	73	83	83	25	80	83	84	85	90	91
'Якушиманский'	15	62	63	66	69	85	85	20	81	84	86	87	95	96
НІР <sub>0,05</sub>	1	2	3	3	3	4	4	2	3	4	4	4	5	5

**Примітка.** 1 – Аноліта, 2 – перекис водню, 3 – хлорамін, 4 – етанол, 5 – Доместос, 6 – Білизна, 7 – Брадофен.

У табл. 2 і табл. 3 наведено детальніший вихід експлантів різних культиварів рододендрону. За використання антисептика аноліта з насіння рододендрону отримано найвищий вміст інфікованих експлантів – 80–94 %, асептичних – 5–15 і пророслих – 1–5 % залежно від культивару. Вихід асептичних експлантів із проростків рододендрону був у 1,3–2,0 рази вищим порівняно з насінням. Вихід інфікованих проростків був нижчим, а пророслих – 15–30 %.

Таблиця 2

**Вихід експлантів різних культиварів рододендрону,  
отриманих з використанням антисептика Аноліта, %**

Культивар	Вихід експлантів, отриманих із					
	насіння			проростків		
	асептич- них	інфікова- них	пророслих	асептич- них	інфікова- них	пророслих
'Libretto'	5	94	1	10	70	20
'Grandiflorum'	6	92	2	15	60	25
'Summetglut'	8	91	1	15	70	15
'Balalaika'	10	87	3	22	53	25
'Cunningham`s White'	12	85	3	20	58	22
'Shamrock'	12	83	5	25	40	35
'Якушиманский'	15	80	5	20	50	30
НІР <sub>0,05</sub>	1	5	1	2	3	3

За використання антисептика Білизна тенденція виходу експлантів з насіння і проростків рододендрону була подібною до антисептику Аноліта. Проте вихід асептичних експлантів з насіння становив 50–85 % або більше в 5,6–10,0 рази порівняно з антисептиком Аноліта. Вихід асептичних експлантів з проростків був найвищим – 72–95 % залежно від культивару. Вихід інфікованих проростків був найменшим – 2–28 % залежно від варіанту досліду.

За використання насіння найвищий вихід асептичних експлантів отримано з культиварів 'Balalaika', 'Shamrock' і 'Якушиманский' – 80–83 %. За використання проростків цей показник найвищий був у культиварів 'Grandiflorum', 'Cunningham`s White', 'Balalaika', 'Shamrock' і 'Якушиманский' – 85–95 %.

**Вихід експлантів різних культиварів рододендрону,  
отриманих з використанням антисептика Білізна, %**

Культивар	Вихід експлантів, отриманих із					
	насіння			проростків		
	асептич- них	інфікова- них	пророслих	асептич- них	інфікова- них	пророслих
'Libretto'	50	8	42	72	28	5
'Grandiflorum'	55	5	40	85	15	–
'Summetglut'	65	5	30	77	23	–
'Balalaika'	75	2	23	90	10	–
'Cunningham's White'	80	5	15	88	12	–
'Shamrock'	83	5	13	90	7	3
'Якушиманский'	85	3	12	95	5	–
HP <sub>0,05</sub>	4	1	2	5	2	1

### Висновки

Застосування антисептиків Білізна та Брadoxен забезпечують найвищий вихід асептичних експлантів з насіння і проростків. Вихід їх найвищий за використання проростків порівняно з насінням. За використання насіння найвищий вихід асептичних експлантів отримано з культиварів 'Balalaika', 'Shamrock' і 'Якушиманский' – 80–83 %. За використання проростків цей показник найвищий у культиварів 'Grandiflorum', 'Cunningham's White', 'Balalaika', 'Shamrock' і 'Якушиманский' – 85–95 %.

### Використана література

1. Баранова Т. В. Рододендроны. Особенности экологии, размножения, выращивания. Saarbrücken : LAP Lambert Academic Publishing, 2012. 69 с.
2. Robert N., Trigiano D. J. Gray plant tissue culture, development, and biotechnology. CRS Press. 2016. 608 p.
3. Филипеня В. Л., Горбацевич В. И., Антипова Т. В. Микрклональное размножение *Rhododendron × hybridumhort*. Физиология и биохимия культурных растений. 2009. Т. 41. С. 516–522.
4. Егорова Н. А. Некоторые аспекты биотехнологии эфиромасличных растений: индукция каллюсо- и морфогенеза, использование соматклональной вариабельности. Физиология растений и генетика. 2014. Т. 46. № 2. С. 108–120.
5. Marco-Medina A., Casas J. L. *In vitro* multiplication and essential oil composition of *Thymus moroderi* Pau ex Martinez, an endemic Spanish plant. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 2015. Vol. 120. P. 99–108.
6. Nordine A., Meskaoui A. Rapid *in vitro* regeneration and clonal multiplication of *Thymus bleicherianus* Pomel, a rare and threatened medicinal and aromatic plant in Morocco. *Med Aromat Plants*. 2014. Vol. 3, No. 1. P. 145.
7. Mendes M. L. Molecular and biotechnological approaches to essential oils production in *Thymus caespitius* especialmente elaborada para obtenção do grau de doutorem. *Biologia, naespecialidade de Biotecnologia*. 2014. 140 p.
8. Alcorni R., Solyman E., Qauod Abu H. Introducing some of threatened *Thymus* species to *in vitro* tissue culturing as an approach for their conservation. *Pak. J. Bot*. 2017. Vol. 49, No. 1. P. 259–264.
9. Bakhtiar Z., Mirjalili M. H., Sonboli A. *In vitro* callus induction and micropropagation of *Thymus persicus* (Lamiaceae), an endangered medicinal plant. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 2016. Vol. 16. P. 48–54.
10. 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.
11. Us-Camas R., Rivera-Solís G., Duarte-Aké F. *In vitro* culture: an epigenetic challenge for plants. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult*. 2014. Vol. 118. P. 187–201. doi: 10.1007/s11240-014-0482-8
12. Eeckhaut T., Janssens K., Keyser E., Riek J. Micropropagation of *Rhododendron*. *Protocols for in vitro propagation of ornamental plants: Methods in molecular biology*. New York, NY : Humana Press, 2010. P. 141–152. doi: 10.1007/978-1-60327-114-1\_14
13. 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:10.21498/na.8.2020.231231.

14. Методичні рекомендації зі створення, стабілізації і розмноження тетраплоїдних форм цукрових буряків з використанням методів біотехнології / Роїк М. В., Недяк Т. М., Войтовська В.І., Редько В.І., Присяжнюк О.І. ІБКіЦБ НААН. Київ: ТОВ «Поліграф-Консалтинг», 2012. 18 с.

15. Ермантраут Е. Р., Присяжнюк О. І., Шевченко І. Л. Статистичний аналіз агрономічних дослідних даних у пакеті STATISTICA 6.0. Київ: ТОВ «ПоліграфКонсалтинг», 2007. 55 с.

## References

1. Baranova, T. V. (2012). *Rhododendrons. Features of ecology, reproduction, cultivation*. Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing. [in Russian]
2. Robert, N., & Trigiano, D. J. (2016). *Gray plant tissue culture, development, and biotechnology*. CRS Press.
3. Filipenya, V. L., Gorbatshevich, V. I., & Antipova, T. V. (2009). Microclonal reproduction of *Rhododendron × hybridumhort*. *Physiology and biochemistry of cultivated plants*, 41, 516–522. [in Russian]
4. Egorova, N. A. (2014). Some aspects of biotechnology of essential oil plants: induction of callus and morphogenesis, use of somaclonal variability. *Plant Physiology and Genetics*, 46(2), 108–120. [in Russian]
5. Marco-Medina, A., & Casas, J. L. (2015). *In vitro* multiplication and essential oil composition of *Thymus moroderi* Pau ex Martinez, an endemic Spanish plant. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 120, 99–108.
6. Nordine, A., & Meskaoui, A. (2014). Rapid *in vitro* regeneration and clonal multiplication of *Thymus bleicherianus* Pomel, a rare and threatened medicinal and aromatic plant in Morocco. *Med. Aromat. Plants*, 3(1), 145.
7. Mendes, M. L. (2014). Molecular and biotechnological approaches to essential oils production in *Thymus caespitosus* especialmente elaborada para a obtenção do grau de doutorem. *Biologia, na especialidade de Biotecnologia*, 140 p.
8. Alcowni, R., Solyman, E., & Qauod, Abu H. (2017). Introducing some of threatened *Thymus* species to *in vitro* tissue culturing as an approach for their conservation. *Pak. J. Bot.*, 49(1), 259–264.
9. Bakhtiar, Z., Mirjalili, M. H., Sonboli, A. (2016). *In vitro* callus induction and micropropagation of *Thymus persicus* (Lamiaceae), an endangered medicinal plant. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 16, 48–54.
10. 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.
11. 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
12. 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* (pp. 141–152). New York: Humana Press. doi: 10.1007/978-1-60327-114-1\_14.
13. Voitovska, V. I., Ukrainets, O. A., Osipov, M. Yu., & Maslovata, S. A. (2020). Features of sterilization of various explants of rhododendrons (*Rhododendron* L.) and their introduction *in vitro*. *Advanced Agritechnologies*, 8. doi: 10.21498/na.8.2020.231231 [in Ukrainian]
14. Roik, M. V., Nediak, T. M., Voitovska, V. I., Redko, V. I., & Prysiazniuk, O. I. (2012). *Methodical recommendations on creation, stabilization and reproduction of tetraploid forms of sugar beet with use of methods of biotechnology*. Kyiv: PolygraphConsulting LLC. [in Ukrainian]
15. Ermantraut, E. R., Prysiazniuk, O. I., & Shevchenko, I. L. (2007). *Statistical analysis of agronomic research data in the package Statistica 6.0*. Kyiv: PoligrafConsulting LLC. [in Ukrainian]

UDC 574.91:582.688.32

**Voitovska, V. I.<sup>1</sup>, Parubok, M. I.<sup>2</sup>, Maslovata, S. A.<sup>2</sup>, & Boiko, A. I.<sup>3</sup>** (2021). Viability of explants of different rhododendron cultivars as affected by the type of sterilizing agent. *Advanced Agritechnologies*, 9. <https://doi.org/10.47414/na.9.2021.256133> [in Ukrainian]

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

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

<sup>3</sup>*Ukrainian Institute for Plant Variety Examination, 15 Henerala Rodymtseva St., Kyiv, 03041, Ukraine*

**Purpose.** To investigate the viability of explants of different rhododendron cultivars as affected by the type of sterilizing agent. **Methods.** Biotechnological, laboratory, analytical, and statistical. **Results.** It was found that the yield of explants varied significantly over the cultivar, sterilization agent and the source of the explant. Thus, the highest yield of explants from rhododendron seeds (50–85%) was provided by the use of sterilizing agent Bilyzna and Bradofen. It should be noted that the yield of aseptic explants obtained from the seeds of cultivars ‘Cunningham’s White’, ‘Shamrock’ and ‘Yakushymanskyi’ ranged between 81 and 83%. Significantly lower yield was

obtained with the use of antiseptic Anolita. It ranged between 5 and 15% in the studied cultivars. With the use of other antiseptics, the yield was in the range from 31 to 69%. The yield of aseptic explants from rhododendron seedlings was higher compared to seeds, but the trend of the antiseptic agent was similar. It should be noted that the use of antiseptics Bilyzna and Bradofen provided aseptic explants in the range from 72 to 96%. By the use of the Anolita antiseptic for rhododendron seeds, the highest content of infected explants was obtained – 80–94%, aseptic – 5–15 and germinated – 1–5% depending on the cultivar. The yield of aseptic explants from rhododendron seedlings was 1.3–2.0 times higher compared to seeds. The yield of infected seedlings was lower, and germination was 15–30%. **Conclusions.** It was found that the use of antiseptics Bilyzna and Bradofen provide the highest yield of aseptic explants from seeds and seedlings. The yield is higher with the use of seedlings compared to seeds. For the use of seeds, the highest yield of aseptic explants was obtained from cultivars ‘Balalaika’, ‘Shamrock’ and ‘Yakushymanskyi’ – 80–83%. When using seedlings, ‘Grandiflorum’, ‘Cunningham’s White’, ‘Balalaika’, ‘Shamrock’ and ‘Yakushymanskyi’ provided the highest yield – 85–95%.

**Keywords:** *rhododendron; seeds; seedlings; vegetative propagation; sterile agent; aseptic culture.*

*Надійшла / Received 12.11.2021*  
*Погоджено до друку / Accepted 29.11.2021*