ДІЯ КОМПОНЕНТІВ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА НА РЕГЕНЕРАЦІЙНУ ЗДАТНІСТЬ ТКАНИН РОСЛИН *METASEQUOIA GLYPTOSTROBOIDES* HU & CHENG IN VITRO

О. Ю. ЧОРНОБРОВ, кандидат сільськогосподарських наук,

О. Е. ШИТОВА, молодший науковий співробітник,

ВП НУБіП України «Боярська ЛДС»

С. Ю. БІЛОУС, кандидат сільськогосподарських наук, доцент,

orcid.org/0000-0002-1682-5352

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: oksana_chornobrov@ukr.net

Metasequoia glyptostroboides Hu & W. C. Cheng – реліктовий вид, занесений до Червоного списку Міжнародного союзу охорони природи у статусі такого, що зникає. Традиційні способи розмноження рослини достатньо трудомісткі та малоефективні. Мікроклональне розмноження дає змогу одержувати із мінімальної кількості донорного матеріалу оздоровлені рослини *in vitro*. Значна кількість біотехнологічних публікацій зосереджена на дослідженні морфогенетичного потенціалу тканин хвойних рослин і розробленні оптимальних протоколів їх розмноження. Разом із тим, автори зазначають, що немає стійкої системи регенерації деревних рослин, яка залежить від низки чинників. Мета дослідження – визначити дію компонентів живильного середовища на регенераційну здатність тканин рослин *M. glyptostroboides* для їх мікроклонального розмноження та збереження *in vitro*. Для досліджень використовували частини пагонів із 10-річних рослин-донорів *M. glyptostroboides* у березні 2019 р. Рослинний матеріал культивували за загальноприйнятою методикою у світловому приміщенні за температури $24 \pm 1^\circ\text{C}$ і освітлення 2,0–3,0 клк із 16-годинним фотоперіодом та відносною вологістю повітря 70–75 %. Застосовували біотехнологічні і статистичні методи досліджень. Дослідження проводили в науково-дослідній лабораторії біотехнології рослин ВП НУБіП України «Боярська ЛДС». Розроблено методику введення експлантатів рослин в умови *in vitro* у весняний період із застосуванням 2,5 % NaClO упродовж 10–11 хв із наступним перенесенням у 1,0 % AgNO³. Значну регенераційну здатність мали мікропагони, культивовані на живильному середовищі MS. Активний лінійний приріст мікропагонів фіксували на MS із додаванням 0,25 мг·л⁻¹ кінетину та 2,0 г·л⁻¹ активованого вугілля. Оптимальні умови ініціації ризогенезу в тканинах мікропагонів із частотою понад 60 % створено у

живильному середовищі із внесенням ІМК (3-індолілмасляна кислота). Одержано рослини-регенеранти та мультіпліковано їх шляхом активації росту наявних меристем експлантату. Подальші дослідження спрямовані на розроблення способу адаптації рослин-регенерантів *M. glyptostroboides* до умов закритого і відкритого ґрунтів для їх масового розмноження, збереження і відтворення.

Ключові слова: *Metasequoia glyptostroboides* Hu & W. C. Cheng, культура тканин рослин *in vitro*, експлантати, живильне середовище, регенераційна здатність, мікроклональне розмноження, мікропагони *in vitro*.

Актуальність. Збереження і відтворення цінних генотипів рослин, що зникають, – одне із актуальних завдань сьогодення. До таких відносять рослини монотипного роду *Metasequoia* Hu & W. C. Cheng, який представлений єдиним реліктовим видом – *Metasequoia glyptostroboides* Hu & W. C. Cheng. Вид занесений до Червоного списку Міжнародного союзу охорони природи у статусі такого, що зникає (Farjon, 2013). Природний ареал рослин обмежений територією Центрального Китаю (провінції Хубей і Сичуань) (Farjon, 2013). Спочатку рід *Metasequoia* було виявлено та описано за викопними рештками шишок і відбитків облистяних пагонів у 1941 р., знайдено в природі в 1944 р., в культурі – з 1948 р. (Karjun, 2010). Це хвойні однодомні дерева заввишки до 35 м із пірамідальною формою крони завширшки до 10 м, які на зиму скидають хвою та молоді гілки (Farjon, 2013). Традиційно рослина розмножується насінням і вегетативно. Однак насіння характеризується достатньо низьким (до 2,6 %) показником лабораторної схожості (Sliusar, 2005). Хвойні рослини, зокрема *M. glyptostroboides*, мають незначну різогенеративну здатність пагонів, яка значно знижується з віком і практично втрачається до 15–20 річного віку. Для успішного вегетативного розмноження рослин

необхідно використовувати живці з молодих рослин (до 10-річного віку), стимулятори росту (ауксини) та проводити укорінення у весняно-літній період (Sliusar, 2005). У цьому контексті значний інтерес становить метод культури ізольованих тканин та органів *in vitro*, який, на противагу традиційним способам розмноження, дає змогу одержувати оздоровлені генетично-однорідні рослини упродовж року з мінімальної кількості донорного матеріалу та значно збільшити коефіцієнт розмноження (Butenko, 1964).

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Значна кількість біотехнологічних досліджень хвойних рослин зосереджена на дослідженні морфогенетичного потенціалу тканин *in vitro*, їхньої регенераційної здатності й органогенезу, вивченні каріотипу за використання молекулярних і цитогенетичних методів, розробленні оптимальних протоколів розмноження *in vitro* для окремих генотипів та ефективного соматичного ембріогенезу на основі клітинної селекції, доборі генетичних маркерів тощо (Momot, 1988; Yushkova et al., 2001; Huz et al., 2014; Sultonova, 2016; Muratova et al., 2019; Tretyakova et al., 2019).

У науковій літературі є публікації з мікроклонального розмноження рослин *M. glyptostroboides*. Зокрема, С. І. Слюсар і С. І. Кузнецов (Національ-

ний ботанічний сад ім. М. М. Гришка НАН України) для регенерації рослин *M. glyptostroboides* із меристемних тканин використовували живильне середовище MS (Murashige & Skoog, 1962), яке оптимізували додаванням $0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ 6-бензиламінопурину (БАП) і β -індоліл-3-оцтовою кислотою (ІОК) / $0,3 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислотою (2,4-Д) (Sliusar, 2005). Установлено, що регенераційна здатність рослинного матеріалу із віком значно знижується. Зокрема, частка регенераційно здатного рослинного матеріалу, ізольованого із 2–3-річних сіянців, становила 17,7–61,2 %, а із 50-річних не одержали життєздатних експлантатів. Експлантати, ізольовані в кінці вегетації (жовтень–листопад), характеризувались уповільненим органогенезом, який проходив упродовж 3–4 місяців (Sliusar, 2005). М. М. Гузь та інші (2014 р.) встановили умови ефективною (80,4 %) стерилізації вегетативних бруньок, ізольованих у лютому–березні із живців 5–6 річних рослин *M. glyptostroboides*: використання 96 % етанолу (15 с), споліскування у протічній воді з детергентом (16 год), стерилізація у 50 % водному розчині NaClO (10 хв), занурення у 0,2 % AgNO_3 (10 хв) із наступним триразовим промиванням у стерильній дистильованій воді (Huz et al., 2014). М. М. Гузь, Р. М. Гречаник, М. М. Лісовий, Ю. Є. Сиявський (НЛТУ України, м. Львів) розглядали аспекти ініціації, мікроклонального розмноження, вкорінення та адаптації рослин досліджуваного роду (Huz et al., 2014). Вчені для ініціації органогенезу використовували тверде MS із додаванням $0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ α -нафтилоцтової кислоти (НОК), $0,3 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ 2,4-Д і $0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ БАП. Активне мікроклональне розмноження фіксували на живильному середовищі за прописом

LM (Litvay et al., 1981) із внесенням $0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ НОК і 2,4-Д і $1,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ БАП; для укорінення мікропагонів – $\frac{1}{2}$ LM з $0,25 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ 2,4-Д. Як експлантати використовували вегетативні бруньки із 5–6-річних рослин (Huz et al., 2014). На регенераційну здатність експлантатів деревних рослин в умовах *in vitro* діє низка чинників, що визначає необхідність ретельного підбору умов культивування для їхнього мікроклонального розмноження.

Мета дослідження: визначення дії компонентів живильного середовища на регенераційну здатність тканин рослин *M. glyptostroboides* для їх мікроклонального розмноження та збереження *in vitro*. Дослідженнями передбачалося вирішення таких завдань: 1) встановити спосіб ефективної стерилізації експлантатів; 2) визначити умови введення рослинного матеріалу в культуру *in vitro*; 3) дослідити дію ауксинів на ризогенез мікропагонів; 4) оптимізувати склад живильного середовища на етапі мікроклонального розмноження рослин.

Матеріали і методи дослідження. Для досліджень використовували частини пагонів завдовжки 15–20 см із 10-річних рослин-донорів *M. glyptostroboides* (рис. 1, а) у березні 2019 р. Як експлантати застосовували фрагменти здерев'янілих пагонів завдовжки 1,0–2,0 см із однією бічною брунькою (рис. 1, б). Стерилізація рослинного матеріалу полягала у витримуванні в мильному розчині і проточній воді (15–20 хв), споліскуванні дистильованою водою (1–2 хв), обробленні 70 % етиловим спиртом (1–2 хв), використанні стерилізуювальних речовин (2,5 % NaClO , 5,0 % NaClO , 1,0 % AgNO_3 , 2,0 % AgNO_3) та подальшому триразовому промиванні у стерильній дистильованій воді (по 5–6 хв у кожній порції). Ефективність

стерилізації (%) визначали як відношення асептичних життєздатних експлантатів до загальної кількості введених у культуру *in vitro* (Kataeva & Butenko, 1983). Асептичні умови створювали за методами, загальноприйнятими у біотехнології (Kataeva & Butenko, 1983).

На етапі введення в культуру *in vitro* використовували живильне середовище за прописом MS (Murashige & Skoog, 1962). До живильних середовищ вносили 100,0 мг·л⁻¹ мезоінозиту, 0,25 мг·л⁻¹ 6-фурфуриламінопурина (кінетин), 30,0 г·л⁻¹ сахарози, 2,0 г·л⁻¹ активованого вугілля та 7,0–7,3 г·л⁻¹ агару мікробіологічного. Мікропагони завдовжки 1,0–2,0 см, активовані із бруньок, відокремлювали від ініціального експлантату та субкультивували на модифіковані регуляторами росту живильні середовища. Для укорінення мікропагонів використовували 3-індолілмасляну кислоту (ІМК) та НОК. Показник кислотності середовища (рН) доводили до рівня 5,7–5,9. Рослинний матеріал культивували за загальноприйнятою методикою (Butenko, 1964; Kalinin et al., 1980; Kataeva & Butenko, 1983) у світловому приміщенні за температури 24±1°C і освітлення 2,0–3,0 клк із 16-годинним фотоперіодом і відносною вологістю повітря 70–75 %. Для досліджень використовували біотехнологічні методи (культура тканин рослин *in vitro*, мікроклональне розмноження) (Butenko, 1964; Kalinin et al., 1980; Kataeva & Butenko, 1983). Статистично експериментальні дані опрацьовували з використанням пакета аналізу MS Excel. Дослідження проведено в науково-дослідній лабораторії біотехнології рослин ВП НУБІП України «Боярська ЛДС».

Результати дослідження та їх обговорення. Стерилізацію рослинного матеріалу проводили із застосуван-

ням широкого спектра стерилізувальних речовин із різною експозицією. Варіанти стерилізації експлантатів рослин *M. glyptostroboides* та отримані результати наведено у табл. 1.

Аналіз експериментальних даних свідчить, що для експлантатів недоцільно використовувати 2,5 % NaClO / 1,0 % AgNO₃, оскільки у цих процедурах ефективність стерилізації була недостатньою для отримання оптимальних результатів. У разі збільшення концентрацій NaClO (варіант 5) та експозиції витримування експлантатів (варіант 3) досліджуваний показник не перевищував 25 %. За умови застосування 1,0 % AgNO₃ упродовж 10–11 хв фіксували значне інфікування експлантатів міцелієм грибів (рис. 1, в). Для збільшення відсотка асептичності здерев'янілого рослинного матеріалу в умовах *in vitro* рекомендують застосовувати декілька стерилізувальних агентів (Kataeva & Butenko, 1983; Huz et al., 2014). Доволі значний відсоток ефективності стерилізації експлантатів (75,0 %) отримали за використання 2,5 % NaClO упродовж 10–11 хв із наступним перенесенням у 1,0 % AgNO₃.

Після одержання асептичних життєздатних експлантатів визначали дію живильного середовища MS (0,25 мг·л⁻¹ кінетину та 2,0 г·л⁻¹ активованого вугілля) на регенерацію (табл. 2).

Результати дослідження регенераційної здатності експлантатів рослин показали доцільність використання твердого живильного середовища MS як базового, що узгоджується із даними інших авторів (Slisar, 2005; Huz et al., 2014). Установлено, що регенераційна здатність рослинного матеріалу із віком значно знижується (Kataeva & Butenko, 1983; Slisar, 2005). У разі застосування середови-

1. Ефективність стерилізації фрагментів пагонів рослин *M. glyptostroboides* в умовах *in vitro*

Варіант	Режим стерилізації експлантатів	Ефективність стерилізації експлантатів (середнє значення $\pm$ стандартна похибка) , %
1	2,5 % NaClO упродовж 10–11 хв	14,6 $\pm$ 1,7
2	2,5 % NaClO упродовж 10–11 хв із подальшим перенесенням у 1,0 % AgNO ₃	75,0 $\pm$ 1,7
3	2,5 % NaClO упродовж 20–21 хв	21,0 $\pm$ 2,5
4	1,0 % AgNO ₃ упродовж 10–11 хв	8,8 $\pm$ 1,3
5	5,0 % NaClO упродовж 10–11 хв	20,0 $\pm$ 1,7
6	2,0 % AgNO ₃ упродовж 10–11 хв	32,0 $\pm$ 2,5

ща з 0,25 мг·л⁻¹ кінетину та 2,0 г·л⁻¹ активованого вугілля частка регенераційно здатних експлантатів, ізольованих із 10-річних рослин-донорів, на 28 добу культивування становила понад 60,0 $\pm$ 3,5 % (рис. 1, г). За такого режиму культивування на 30 добу культивування отримали мікропаго-ни завдовжки 2,9 $\pm$ 0,3 см. У разі культивування мікропагонів упродовж 60 діб на вище зазначеному середовищі без активованого вугілля одержали рослини із такими характеристиками: довжина – 5,5 $\pm$ 0,2 см, коефіцієнт мультиплікації – 8,6 $\pm$ 0,5, кількість мікропагонів/експлантат – 3,5 $\pm$ 0,2 шт. Мікропагони рослин мали характерну пігментацією без ознак хлорозу та вітрифікації (рис. 1, д).

Інтенсивність ризогенезу мікропагонів рослин зумовлена низкою чинників, зокрема типом, концентрацією та співвідношенням ауксинів у живильному середовищі (табл. 3).

Тип ауксину та концентрація достовірно впливали на довжину кореня і мікропагону, кількість коренів/мікропагонів та частку укорінених експлантатів. Загалом коренеутворення у мікропагонів відбувалося на 25–48 добу культивування; кількість коренів/експлантатів становила 3,4 $\pm$ 0,5 шт., а довжина – 3,3 $\pm$ 0,4 см. Значну частку укорінених мікропагонів (65,6 $\pm$ 2,2 %) фіксували на середовищі MS із додаванням 7,5 мг·л⁻¹ ІМК.

За таких умов культивування оптимально формується мікропагін і коренева система (довжина мікропагона – 6,1 $\pm$ 0,4 см, головного кореня – 1,3 $\pm$ 0,1 см, рис. 1, е).

У разі застосування живильного середовища 8,0 мг·л⁻¹ ІМК і 9,0 мг·л⁻¹ ІМК частка укорінених експлантатів становила 50–60 і 40–50 %, відповідно. Для укорінення мікропагонів недоцільно використовувати 5,0–10,0 мг·л⁻¹ НОК.

2. Ініціація регенераційних процесів у експлантатів рослин *M. glyptostroboides in vitro* (травень)

Вид	Виявлення ознак життєздатності, доба	Регенерація бічних бруньок, доба	Коренеутворення, доба
<i>M. glyptostroboides</i>	7–10	15–20	немає

3. Дія регуляторів росту ауксинового типу на ризогенез мікропагонів рослин *M. glyptostroboides in vitro*, 55 доба культивування

Показники	Концентрація ауксинів, мг·л ⁻¹							
	НОК			ІМК				
	5,0	7,5	10,0	5,0	7,5	8,0	9,0	10,0
Початок ризогенезу, доба	48	–	42	–	35	32	28	25
Довжина головного кореня, см	1,7±0,1	–	2,6±0,2	–	1,3±0,1	1,4±0,1	1,6±0,1	3,0±0,4
Довжина мікропагона, см	5,0±0,4	3,4±0,6	3,8±0,3	5,3±0,5	6,1±0,4	2,5±0,2	3,5±0,5	7,3±0,9
Частка укорінених мікропагонів, %	12,5±1,0	–	25,8±2,2	–	65,6±2,2	58,2±3,1	44,5±2,1	34,5±2,1

Отже, у результаті проведених досліджень визначено дію компонентів живильного середовища на реге-

нераційну здатність тканин рослин *M. glyptostroboides in vitro* та одержано оздоровлені рослини-регенеранти.

Рис. 1. Етапи мікроклонального розмноження рослин *M. glyptostroboides in vitro*: а) рослина-донор; б) ініціальні експлантати після стерилізації; в) інфіковані експлантати рослин на 7 добу; г) життєздатні експлантати на 30 добу; д) активно проліферувальні мікропагони на 60 добу культивування *in vitro*; е) рослини-регенеранти зі сформованою кореневою системою на MS з додаванням 7,5 мг·л⁻¹ ІМК

Висновки і перспективи. Ефективної стерилізації (75 %) фрагментів пагонів рослин *M. glyptostroboides* досягнуто шляхом їх ізоляції у весняний період із застосуванням ступінчастого способу, який полягав у застосуванні 2,5 % NaClO упродовж 10–11 хв із наступним перенесенням у 1,0 % AgNO₃. Результати експериментів щодо дослідження регенераційної здатності експлантатів рослин показали доцільність використання живильного середовища MS як базового. Активний лінійний приріст мікропагонів фіксували на MS із додаванням 0,25 мг·л⁻¹ кінетину та 2,0 г·л⁻¹ активованого вугілля. Для укорінення мікропагонів рослин доцільно використовувати MS із внесенням 7,5 мг·л⁻¹ ІМК за циклу культивування 55 діб. Одержано рослини-регенеранти та мультіпліковано їх шляхом активації росту наявних меристем експлантату. Подальші дослідження спрямовані на розроблення методики адаптації рослин-регенерантів *M. glyptostroboides* до умов закритого і відкритого ґрунтів для їх масового розмноження, збереження і відтворення.

Список літератури

- Butenko, R. G. (1964). *Culture of Isolated Tissues and Physiology of Plant Morphogenesis*. Moscow: Nauka, 272 [in Russian].
- Farjon, A. (2013). *Metasequoia glyptostroboides*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013: e.T32317A2814244. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2013-1.RLTS.T32317A2814244.en>.
- Huz, M. M., Hrechanyk, R. M., & Lisovyi, M. M. (2014). The Reproduction of *Metasequoia Glyptostroboides* Hu & Cheng under *In Vitro* Conditions. *Scientific Bulletin of NLTU of Ukraine*, 24.6, 8–14 [in Ukrainian].
- Huz, M. M., Hrechanyk, R. M., Lisovyi, M. M., & Syniavskyi, Yu. Ye. (2014). Method of *in vitro* reproduction of *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng. Patent of Ukraine for useful model. A01H 4/00. № 90219; declared 30.01.2014; published 12.05.2014, № 9 [in Ukrainian].
- Kalinin, F. L., Sarnatskaya, V. V., Polishchuk, V. E. (1980). *Methods of Tissue Culture in Plant Physiology and Biochemistry*. Kyiv: Naukovadumka, 488 [in Ukrainian].
- Karpun, Yu. N. (2010). *Subtropical Ornamental Dendrology*. St. Petersburg: VVM, 399 [in Russian].
- Kataeva, N. V., & Butenko, R. H. (1983). *Clonal Micropropagation of Plants*. Moscow: Nauka, 96 [in Russian].
- Momot, T. S. (1988). Clonal micropropagation in various representatives of conifers. *Physiology and biochemistry of cultivated plants*, 2, 181–189 [in Russian].
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Plant Physiology*, 3, 473–497.
- Muratova, E. N., Sedelnikova, T. S., Goryachkina, O. V., & Pimenov, A. V. (2019). The study of coniferous karyotypes by classical and molecular cytogenetic methods. *Proceedings of 6th international conference-meeting. Conservation of forest genetic resources*. Shchuchynsk, 147–149 [in Russian].
- Sliusar, S. I. (2005). *Biological features of Taxodiaceae F.W. Neger family species in connection with the forest-steppe introduction of Ukraine*. National Botanical Garden M. M. Hryshko, National Academy of Sciences of Ukraine. Kyiv [in Ukrainian].
- Sultonova, M. S. (2016). *Features of microclonal propagation and organogenesis of some representatives of conifers*. St. Petersburg State Forestry University named after S. M. Kirova. St. Petersburg [in Russian].
- Tretyakova, I. N., Pak, M. E., Shuklyna, A. S., Pakhomova, A. P., Kulahyn, D. V., Konstan-

tynov, A. V., & Padutov, V. E. (2019). Development of biotechnology of somatic embryogenesis and genetic markers for plantation forest growing of forest tree species (*Pinaceae*) under *in vitro* culture conditions based on cell selection. *Proceedings of 6th international conference-meeting*.

Conservation of forest genetic resources. Shchuchynsk, 227–228 [in Russian].

Yushkova, E. V., Nykonorova, E. V., Velychko, N. A., Konev, Y. K., & Repiakh, S. M. (2001). In vitro micropropagation of conifers. *University News. Forest magazine*, 4, 129–131 [in Russian].

O. Yu. Chornobrov, O. E. Shytova, S. Yu. Bilous (2019). Effect of nutrient media components on regeneration ability of plant tissues culture *Metasequoia glyptostroboides* Hu & Cheng in vitro. UKRAINIAN JOURNAL OF FOREST AND WOOD SCIENCE, 10(4):73-80. <https://doi.org/10.31548/forest2019.04.073>.

Metasequoia glyptostroboides Hu & W. C. Cheng is a relict, endangered species included in the International Union for Conservation of Nature. Traditional methods of plant propagation often are time-consuming and inefficient. Micropropagation allows getting a big amount of healthy plants *in vitro* with a minimal quantity of donor material. A considerable number of biotechnological publications focus on the study of the morphogenetic potential of conifer tissues *in vitro*, the development of optimal protocols for their reproduction. However, most authors note the absence of a sustainable system of regeneration of woody plants *in vitro*, which depends on a number of factors. The purpose of the study is to determine the effect of nutrient media components on the regenerative capacity of tissues of *M. glyptostroboides* plants for their micropropagation and conservation *in vitro*. As donor plants we used a shoot parts of 10-year-old *M. glyptostroboides* in March 2019. All plant materials were cultured according to the conventional procedure in a light room at 24 ± 1 °C and illumination of 2 000–3 000 Lux with a 16-hour photoperiod and humidity of 70–75 %. Biotechnological and statistical methods of research were applied. The tissue, plant experiments *in vitro* were carried out in the research of Plant Biotechnology Laboratory of SU of NULES of Ukraine «Boiarka forest research station». A technique for introducing plant explants to *in vitro* conditions in spring period was developed with application of 2.5 % NaClO for 10–11 min and transfer into 1.0 % liquid of AgNO₃. The significant regenerative ability of vegetal regenerates was fixed on MS nutrient medium. Active linear growth of microshoots were matched on MS medium with the addition of 0.25 mg·L⁻¹ kinetin and 2.0 g·L⁻¹ activated carbon. Optimal conditions for the initiation of roots formation in tissues of microshoots with a frequency of more than 60 % were created in a nutrient medium supplemented with IBA. The plant regenerates were obtained and multiplied by activating the growth of the available meristem of the explant. Further studies are aimed to develop an adaptation method of regenerating plants of *M. glyptostroboides* to the *ex vitro* and *in vivo* conditions for mass propagation, conservation and reproduction.

Keywords: *Metasequoia glyptostroboides* Hu & W. C. Cheng, plant tissue culture *in vitro*, explants, culture medium, regenerative ability of microshoots *in vitro*, microclonal propagation, microshoots *in vitro*.

Отримано: 2019-11-20