
ГЕНЕТИКА, БИОТЕХНОЛОГИЯ, СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО

**Влияние ауксинов на каллусогенез
микрклонов *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl.**

**Светлана Михайловна Зайцева[✉], Рима Нориковна Киракосян,
Елизавета Алексеевна Болотина**

Российский государственный аграрный университет –
МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

[✉]Автор, ответственный за переписку: smzaytseva@yandex.ru

Аннотация

Sequoia sempervirens (D. Don) Endl. – реликтовые гигантские растения, репродуктивная уязвимость которых не вызывает сомнения. В настоящее время остро стоит вопрос истощения природных популяций и исчезновения растений, поэтому особую актуальность приобретают методы биотехнологии для создания генетических банков и биоресурсных коллекций *in vitro*. К таким технологиям относится метод клонального микроразмножения, позволяющий получать генетически стабильный, «здоровый» посадочный материал с высоким коэффициентом размножения. Экстрактивные вещества из тканей *Sequoia sempervirens* обладают высокой биологической активностью. Асептические культуры *in vitro* секвойи также сохраняют способность к биосинтезу веществ с высокой биологической активностью. Известно, что культуры *in vitro* голосеменных растений отличаются сложностью при инициации и низким темпом роста, поэтому особую актуальность приобретают исследования, направленные на преодоление этих методических барьеров. В исследованиях представлен метод получения каллусной ткани из нижнего апекса микрклонов *S. Sempervirens*, культивируемых на питательной среде по прописи MS с добавлением различных ауксинов (2,4-D, ИУК, ИМК, НУК) в концентрации 3 мг/л. Наиболее ранней активацией процесса дедифференциации отличался вариант среды с НУК, в то время как каллус, культивируемый на питательной среде с ИУК, характеризовался низким темпом роста и приобретал темно-коричневое окрашивание.

Ключевые слова

Sequoia sempervirens, микрклоны, каллусная ткань, апекс, ауксины, 2,4-D, ИУК, ИМК, НУК

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 24–76–00070 «Получение клеточных культур *in vitro* реликтовых и находящихся под угрозой исчезновения голосеменных растений рода *Sequoia* и изучение биологической активности ее метаболитов» (Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева).

Для цитирования

Зайцева С.М., Киракосян Р.Н., Болотина Е.А. Влияние ауксинов на каллусогенез микрклонов *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl. // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2026. № 2. С. 45–56.

**Effect of auxins on the callusogenesis in microclones
of *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl.**

Svetlana M. Zaytseva[✉], Rima N. Kirakosyan, Elizaveta A. Bolotina

Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
Moscow, Russia

[✉]**Corresponding author:** smzaytseva@yandex.ru

Abstract

Sequoia sempervirens (D. Don) Endl. are relict giant plants whose reproductive vulnerability cannot be challenged. Currently, the depletion of natural populations and the risk of plant extinction are acute issues. Therefore, biotechnological methods for creating *in vitro* genetic banks and bioresource collections are becoming particularly relevant. Such technologies include clonal micropropagation, which allows obtaining genetically stable, “healthy” planting material with a high reproduction rate. Extractive substances from *Sequoia sempervirens* tissues exhibit high biological activity. Aseptic *in vitro* cultures also retain the ability to biosynthesize substances with high biological activity. It is known that *in vitro* gymnosperms cultures are challenging to initiate and exhibit slow growth rates. Therefore, the study aimed at overcoming these methodological barriers is of particular importance. This study presents a method for obtaining callus tissue from the lower apex of *S. sempervirens* microclones cultivated on Murashige and Skoog (MS) nutrient medium supplemented with various auxins (2,4-D, IAA, IBA, and NAA) at a concentration of 3 mg/L. The nutrient medium variant with NAA showed the earliest activation of the dedifferentiation process. In contrast, callus cultivated on the medium with IAA exhibited a low growth rate and developed a dark brown colouration.

Keywords

Sequoia sempervirens, microclones, callus tissue, apex, auxins, 2,4-D, IAA, IBA, NAA

Acknowledgments

The research was funded by the Russian Science Foundation within the framework of scientific project No. 24–76–00070 “Obtaining *in vitro* cell cultures of relict and endangered gymnosperms of the genus *Sequoia* and studying the biological activity of its metabolites” (Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy).

For citation

Zaytseva S.M., Kirakosyan R.N., Bolotina E.A. Effect of auxins on the callusogenesis in microclones of *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2026;(2):45–56.

**Введение
Introduction**

Sequoia sempervirens (D. Don) – это эндемичные и самые высокорослые реликтовые растения [1] с ограниченным ареалом. Природным ареалом является узкая полоса вдоль тихоокеанского побережья Северной Америки от Калифорнии до Орегона. Секвойя имеет ценную плотную древесину, характеризующуюся долговечностью,

отличающуюся низкой усадкой при высыхании и структурной стабильностью [2]. Древесина секвойи обладает исключительной устойчивостью к огню, грибковому разложению [3], к атаке насекомых и патогенных микроорганизмов [4, 5], в ней накапливаются уникальные метаболиты, не имеющие синтетических аналогов. Экстракты из растений секвойи вечнозеленой привлекают внимание фармакологов благодаря антиоксидантным свойствам и широкому спектру биологической активности. Недавно была установлена способность экстрактов секвойи подавлять рост культуры раковых клеток человека [6]. По мнению ряда исследователей, вероятно, такие свойства обусловлены синтезом вторичных метаболитов. Биосинтез низкомолекулярных веществ вторичной природы характерен для определенных представителей голосеменных растений. Было показано, что *S. sempervirens* накапливает уникальные метаболиты, свойственные исключительно растениям секвойи, – секвосемпервирин А, обнаруженный в ветвях и листьях [7], и секвирин В и С – в древесине [8].

Дикорастущие растения, накапливающие особо важные метаболиты, под действием антропогенного давления сокращают природный ареал произрастания. Под угрозу истощения природных популяций и исчезновения попадают в первую очередь реликтовые и имеющие высокую народно-хозяйственную ценность растения. Для сохранения биоразнообразия широко применяются современные методы биотехнологии, позволяющие создавать коллекции с уникальными генотипами в условиях *in vitro* [9]. К таким технологиям относятся методы культуры тканей *in vitro*, среди которых наиболее результативным является метод клонального микроразмножения. С его помощью в круглогодичном режиме проводятся работы с ограниченным объемом исходного растительного материала. В лабораторных условиях получают генетически стабильный, «здоровый» посадочный материал с высоким коэффициентом размножения [10].

Одним из наиболее важных этапов микроразмножения является индукция ризогенеза. Образование развитой корневой системы стимулируется композицией минерального состава и фитогормонов. Согласно данным исследований по влиянию ауксинов на ризогенез *Sequoia sempervirens* (а-нафтилуксусная кислота (НУК), индол-3-масляная кислота (ИМК) 50 мкМ (~10 мг/л)) образование корней отмечено у 75% микроклонов, культивируемых на питательной среде, содержащей только НУК [5].

Когда анализировали в течение 90 дней влияние ИМК в различных концентрациях на способность к образованию корней микроклонами *Sequoia sempervirens*, было отмечено ингибирующее действие на корнеобразование ее высоких концентраций [11].

В более раннем эксперименте использовалась питательная среда Murashige & Skoog (MS), содержащая НУК, ИМК или 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-D) в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л. Результаты показали, что добавление ауксинов в питательную среду в указанных концентрациях не стимулирует процесс корнеобразования, однако стимулируется процесс каллусообразования [12].

Культивирование каллусной культуры *Sequoia sempervirens* на среде MS с добавлением 2,4-D, НУК, трихлорфеноксиуксусной кислоты и п-хлорфеноксиуксусной кислоты) в дозах 2, 4 и 6 мг/л способствовало увеличению биомассы [13].

Утверждается, что генотип является основным фактором, влияющим на процент укоренения, количество образовавшихся корней, длину главного корня и каллусогенез *Sequoia sempervirens* [14].

Следует отметить определенные трудности при культивировании древесных растений в условиях *in vitro*, особенно голосеменных, что обусловлено их

активным метаболизмом и образованием разнообразных веществ вторичной природы. Ранее нами было отмечено угнетение каллусогенеза на эксплантах реликтовых растений, богатых полифенолами, культивируемых в присутствии света. Каллусную ткань обычно культивируют на среде MS или на среде для древесных растений (WPM) с добавлением БАП и 2,4-D, которые способствуют делению и росту клеток [15, 16]. У голосеменных растений процесс инициации каллусных культур на экспланте и последующая их биосинтетическая активность по отношению к целевым веществам зависят от элиситоров как физической, так и химической природы. Известно, что асептические культуры голосеменных растений успешно используются в качестве источника уникальных вторичных метаболитов [17]. К наиболее доступным элиситерам можно отнести гормональный баланс питательной среды и применяемый фоторежим [18, 19]. Ранее в наших исследованиях было показано увеличение биосинтетической активности в культурах *in vitro* секвойи, инициированных при 16-часовом фотопериоде, однако эти варианты отмечались весьма низким каллусогенезом и слабой жизнеспособностью [15].

Несмотря на многообещающий потенциал каллуса секвойи в биотехнологии, фармакогнозии и косметологии, остаются нерешенными задачи по оптимизации условий каллусогенеза, а также культивирования с сохранением высокой биосинтетической активности по отношению к вторичным метаболитам.

Цель исследований: разработка высокоэффективной методики массового получения в условиях *in vitro* микроклонов *S. sempervirens* с последующим их использованием в качестве экспланта для стабильного получения каллусных культур; изучение влияния ауксинов (2,4-D, ИУК, ИМК, НУК) на каллусогенез микроклонов *S. sempervirens* в условиях *in vitro*.

Методика исследований

Research method

Объектом исследований являлась стабильная культура микроклонов, полученная согласно ранее описанной методике патента [20] и культивируемая в условиях *in vitro* более 30 месяцев. Микрочеренки длиной 20 мм помещались в пробирки на питательную среду MS [18], модифицированную по вышеуказанной методике [20] и дополненную различными гормонами с ауксиновой активностью; 2,4-D, индол-3-уксусная кислота (ИУК), индол-3-масляная кислота (ИМК) или α -нафтилуксусная кислота (НУК) в концентрации 3 мг/л. В качестве контроля использовали вариант питательной среды без добавления гормонов (табл. 1). Культивирование осуществлялось при 16-часовом фотопериоде и температуре 21-22°C в течение 40 суток.

Оценку морфофизиологических характеристик асептической культуры клеток *S. sempervirens* выполняли с использованием методов световой микроскопии и витальных красителей (0,025% синего Эванса) на временных препаратах.

Исследования проводили в двух аналитических и двух биологических повторностях. Статистическая обработка данных произведена по общепринятым методикам [21]. Данные по эффективности вариантов эксперимента обрабатывали методом дисперсионного анализа при доверительном интервале 95%.

**Варианты питательных сред для индуцирования каллусогенеза
на микроклонах *S. sempervirens***

Table 1

**Variants of nutrient media for callusogenesis induction
in *S. sempervirens* microclones**

Вариант	Питательная среда и гормон
Контроль	MS
2,4-D3	MS + 2,4-D3 мг/л
ИУК 3	MS + ИУК 3 мг/л
ИМК 3	MS + ИМК 3 мг/л
НУК 3	MS + НУК 3 мг/л

Примечание. MS – Murashige & Skoog; 2,4-D – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота; ИМК – индол-3-масляная кислота; ИУК – индол-3-уксусная кислота; НУК – α -нафтилуксусная кислота.

Результаты и их обсуждение

Results and discussion

При использовании в качестве экспланта черенков микроклонов секвойи, помещенных в культуральные пробирки вертикально, уже через 15 суток культивирования наблюдалось набухание нижнего апекса у микроклонов, культивируемых на вариантах питательных сред с добавлением различных ауксинов в концентрации 3 мг/л (рис. 1). Наиболее активно процесс дедифференциации проходил на варианте с НУК в концентрации 3 мг/л.

Спустя 8-10 суток у микрорастений было отмечено активное образование каллусных клеток. Наиболее интенсивный каллусогенез был характерен для тех вариантов, где присутствовали ауксины ИУК и НУК в концентрации 3 мг/л. Кроме того, в этот период для каждого микрочеренка *S. sempervirens* наблюдалось и увеличение длины микропобега.

Таким образом, присутствие всех изучаемых ауксинов в питательной среде активировало не только процесс каллусогенеза, но и ростовые характеристики микрорастений.

Следует отметить, что каллусогенез был повсеместным (100%) на всех вариантах питательных сред с добавлением ауксинов, за исключением образцов контрольного варианта, культивируемого без добавления гормонов. На протяжении всего периода культивирования инициированный каллус отличался темпами роста в зависимости от типа присутствующих ауксинов в питательной среде. Например, через 40 суток культивирования каллус на вариантах питательной среды с использованием 3 мг/л ИУК характеризовался низким темпом роста и приобретал темно-коричневое окрашивание, в то время как на вариантах питательных сред с 2,4-D, НУК и ИМК в концентрации 3 мг/л каллус оставался светлоокрашенным (светло-коричневый, желто-зеленый) и сохранял высокие темпы роста (рис. 2).

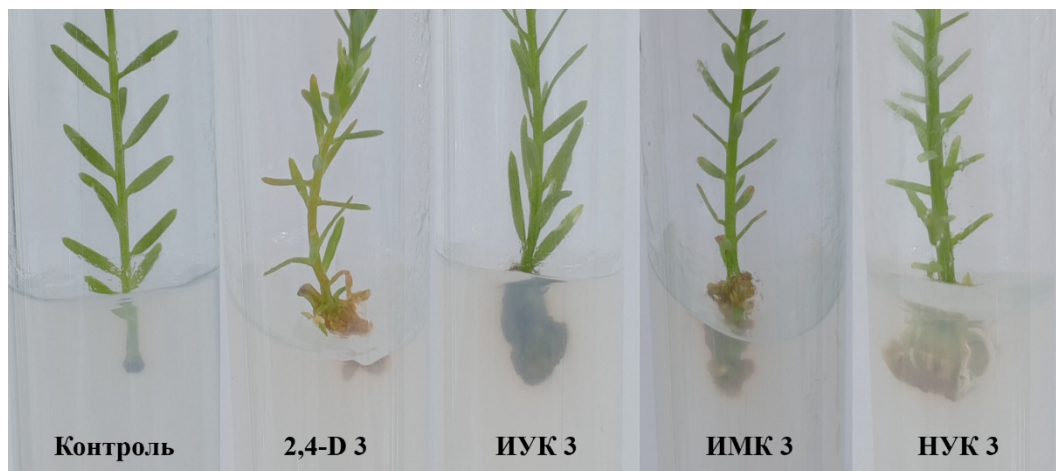


Рис. 1. Инициация каллуса из нижнего апекса микроклонов *Sequoia sempervirens*, культивируемых на питательных средах по прописи MS с добавлением (слева направо): Контроль, 2,4-D, ИУК, ИМК и НУК в концентрации 3 мг/л (15 суток)
(Контроль – без гормонов, 2,4-D – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, ИМК – индол-3-масляная кислота, ИУК – индол-3-уксусная кислота, НУК – α -нафтилуксусная кислота)

Figure 1. Callusogenesis from the lower apex of *Sequoia sempervirens* microclones on MS nutrient media supplemented with auxins (left to right): Control, 2,4-D, IAA, IBA and NAA) at a concentration of 3 mg/L (15 days)
(Control – hormone-free medium, 2,4-D – 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, IBA – indole-3-butyric acid, IAA – indole-3-acetic acid, NAA – α -naphthylacetic acid)

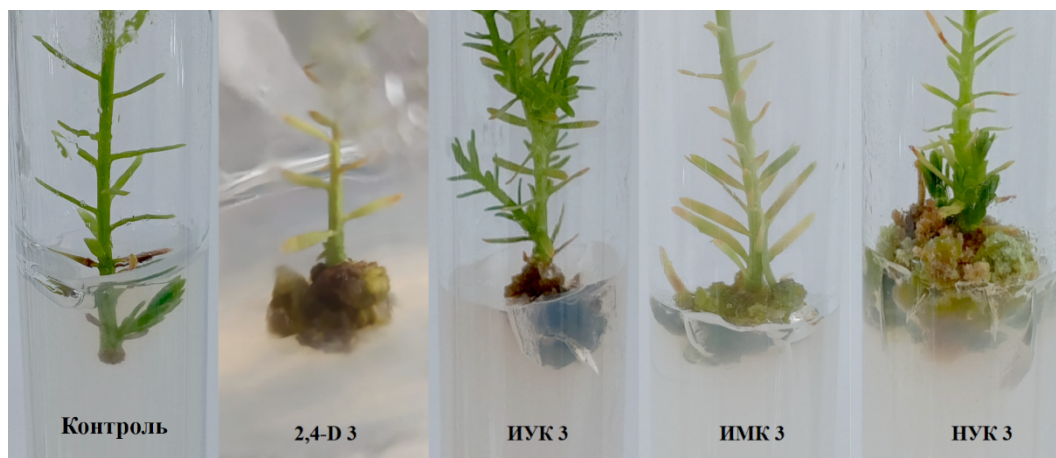


Рис. 2. Каллусогенез из нижнего апекса микроклонов *Sequoia sempervirens* на питательных средах MS с добавлением ауксинов (слева направо): Контроль, 2,4-D, ИУК, ИМК и НУК) в концентрации 3 мг/л (40 суток)
(Контроль – без гормонов, 2,4-D – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, ИМК – индол-3-масляная кислота, ИУК – индол-3-уксусная кислота, НУК – α -нафтилуксусная кислота)

Figure 2. Callusogenesis from the lower apex of *Sequoia sempervirens* microclones on MS nutrient media supplemented with auxins (left to right): Control, 2,4-D, IAA, IBA and NAA) at a concentration of 3 mg/L (40 days)
(Control – hormone-free medium, 2,4-D – 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, IBA – indole-3-butyric acid, IAA – indole-3-acetic acid, NAA – α -naphthylacetic acid)

На вариантах питательных сред с 2,4-D, НУК и ИМК в концентрации 3 мг/л светлоокрашенная каллусная ткань характеризовалась рыхлой структурой и отсутствием морфогенеза. Темноокрашенный каллус на вариантах питательной среды с использованием 3 мг/л ИУК характеризовался более плотной структурой и в 30% отмечался морфогенез (табл. 2). Однако за 40 суток культивирования ни в одном из изучаемых вариантов не индуцировался ризогенез.

Условия освещения существенно влияют на образование каллуса. В ранних исследованиях отмечалось, что 16-часовой фотопериод может привести к образованию более темного и менее жизнеспособного каллуса *Sequoia sempervirens*, в то время как отсутствие освещения способствует активному увеличению биомассы [6, 13]. Однако в данном случае полученный каллус в вариантах с 2,4-D, ИМК или НУК не темнел на всем этапе культивирования. Возможно, это связано с более низким содержанием полифенолов в интактных тканях микроклонов, произрастающих в условиях *in vitro* и являющихся эксплантом для каллусогенеза, по сравнению с интактными тканями материнского растения секвойи. Изменение биосинтетической активности в условиях *in vitro* характерно для растительных тканей, и особенно сильное влияние может оказать тип исходного экспланта [22].

Каллусная ткань, индуцированная из нижнего апекса микроклона, характеризовалась клетками округлой формы паренхимного типа, а окрашивание витальными реактивами выявило высокий процент жизнеспособных клеток – более 95% во всех вариантах (рис. 3а). В случае использования ауксинов (ИУК) наблюдались морфогенные очаги с формирующейся проводящей тканью (рис. 3б).

Таблица 2

Влияние ауксинов на каллусогенез микроклонов *S. sempervirens*

Table 2

Effect of auxins on callusogenesis in *S. sempervirens* microclones

Вариант питательной среды	Каллус	Цвет каллуса	Плотность каллуса	Морфогенность каллуса
MS	–	–	–	–
MS + 2,4-D3 мг/л	++	коричневый, желтый, зеленый	рыхлый	нет
MS + ИУК 3 мг/л	+	темно-коричневый, зеленый	плотный	да
MS + ИМК 3 мг/л	++	коричневый, желтый, зеленый	рыхлый	нет
MS + НУК 3 мг/л	++	коричневый, желтый, зеленый	рыхлый	нет

Примечание. – каллус отсутствует; + – умеренный рост каллуса; ++ – хороший рост каллуса.

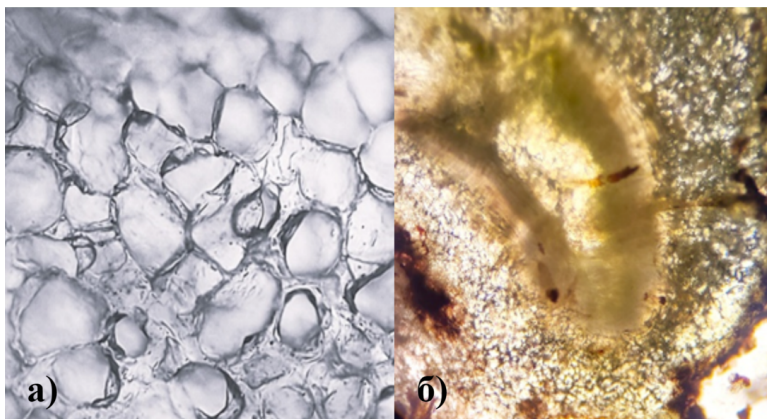


Рис. 3. Каллусные культуры, инициируемые из нижнего апекса микроклонов *Sequoia sempervirens* на питательных средах MS с добавлением ауксинов 2,4-D в концентрации 3 мг/л (а), и образование морфогенных очагов в каллусной ткани, культивируемой на питательной среде с ИУК 3 мг/л (б) (в течение 40 суток культивирования) (2,4-D – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, ИУК – индол-3-уксусная кислота)

Figure 3. Callus cultures initiated from the lower apex of *Sequoia sempervirens* microclones on MS nutrient media supplemented with 2,4-D auxins at a concentration of 3 mg/L (a) and the formation of morphogenic foci in callus tissue cultured on a nutrient medium with an IAA of 3 mg/L (b) during 40 days of cultivation (2,4-D – 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, IAA – indole-3-acetic acid)

Выводы Conclusions

В представленных исследованиях разработана методика *in vitro* быстрого и достоверного получения хорошо пролиферирующей каллусной ткани из нижнего апекса микроклонов *Sequoia sempervirens*, где наилучшие результаты показало использование α -нафтилуксусной и индол-3-масляной кислоты в концентрации 3 мг/л в питательной среде по прописи MS. При использовании в тождественных концентрациях 2,4-D и ИУК инициированный каллус характеризовался плотной консистенцией, более темным окрашиванием и низким темпом роста. По результатам наших наблюдений, из всех ауксинов применение 2,4-D в концентрации 3 мг/л является менее целесообразным.

Таким образом, при использовании данного метода *in vitro* можно успешно получать в короткие сроки (5-6 недель) большую биомассу каллусных культур у хвойных растений, введение в асептических условия которых сопровождается значительными трудностями. Полученные результаты могут быть адаптированы для других трудно возобновляемых реликтовых голосеменных растений рода *Taxus* и *Sequoia*.

Список источников

1. Disney M., Burt A., Wilkes P., Armston J. et al. New 3D measurements of large redwood trees for biomass and structure. *Scientific Reports*. 2020;10(1):16721. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73733-6>
2. Pereira M. de O., Angelo A.C., Navroski M.C., Dobner M. et al. Vegetative rescue and rooting of cuttings of different stock plants of *Sequoia sempervirens*. *Cerne*. 2017;23:435-444. <https://doi.org/10.1590/01047760201723042452>

3. Sillett S.C., Antoine M.E., Carroll A.L., Graham M.E. et al. Rangelwide climatic sensitivities and non-timber values of tall Sequoia sempervirens forests. *Forest Ecology and Management*. 2022;526:120573. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2022.120573>
4. Nydick K.R., Stephenson N.L., Ambrose A.R., Asner G.P. et al. Leaf to landscape responses of giant sequoia to hotter drought: An introduction and synthesis for the special section. *Forest Ecology and Management*. 2018;419:249-256. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.03.028>
5. Vargas A.R., Castander-Olarieta A., Moncalean P., Montalban I.A. Optimization of the micropropagation of elite adult trees of *Sequoia sempervirens*: forest species of interest in the Basque Country, Spain. *Revista Bionatura*. 2021;6(1):1511-1519. <https://doi.org/10.21931/RB/2021.06.01.11>
6. Kirakosyan R.N., Kalasnikova E.A., Bolotina E.A., Saleh A. et al. Localization of Secondary Metabolites in Relict Gymnosperms of the Genus Sequoia *In Vivo* and in Cell Cultures *In Vitro*, and the Biological Activity of Their Extracts. *Reproductive and Developmental Biology*. 2024;14(12):1694. <https://doi.org/10.3390/life14121694>
7. Zhang Y.M., Tan N.H., He M., Lu Y. et al. Sequosempervirin A, a novel spirocyclic compound from *Sequoia sempervirens*. *Tetrahedron Letters*. 2004;45(22):4319-4321. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.04.038>
8. Hatam N.A.R., Whiting D.A. The constituents of Californian redwood: the constitution, absolute stereochemistry, and chemistry of sequirin-B and sequirin-C. *Journal of the Chemical Society C: Organic*. 1969;14:1921-1932. <https://doi.org/10.1039/J39690001921>
9. Третьякова И.Н., Ворошилова Е.В., Шуваев Д.Н., Лукина А.С. Образование каллуса и индукция соматических зародышей в культуре *in vitro* у *Pinus sibirica* Du Tour // *Журнал Сибирского федерального университета. Биология*. 2013. Т. 6, № 1. С. 44–60. EDN: PYLGJJ
10. Ahmad M.A., Javed R., Adeel M., Rizwan M. et al. Engineered ZnO and CuO nanoparticles ameliorate morphological and biochemical response in tissue culture regenerants of candyleaf (*Stevia rebaudiana*). *Molecule*. 2020;(25)6:1356. <https://doi.org/10.3390/molecules25061356>
11. Pereira M.O., Angelo A.C., Navroski M.C., de Oliveira L.M. et al. Mini-cuttings rooting of *Sequoia sempervirens* at different IBA concentrations and clones. *FLORESTA, Curitiba, PR*. 2020;50(2):1279-1286. <https://doi.org/10.5380/rev.v50i2.62579>
12. Laslo V., Agud E.M., Vicas S. *In vitro* modeling of morfogenesys processes in *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl, via the use of phytohormones. *Natural Resources and Sustainable Development*. 2015:73-78. <https://doi.org/10.5555/20163167398>
13. El-Hawary S.S., Abd El-Kader E.M., Rabeh M.A., Abdel Jaleel G.A. et al. Eliciting callus culture for production of hepatoprotective flavonoids and phenolics from *Sequoia sempervirens* (D. Don Endl). *Natural Product Research*. 2020;34(21):3125-3129. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1607334>
14. Neale D.B., Marshall K.A., Sederoff R.R. Chloroplast and mitochondrial DNA are paternally inherited in *Sequoia sempervirens* D. Don Endl. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1989;86(23):9347-9349. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.23.934>
15. Zaitseva S.M., Kalashnikova E.A., Kirakosyan R.N. The influence of endogenous polyphenols, photoperiod and mineral composition of the nutrient medium on the formation of callus tissue of relic gymnosperms *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl. *Problems of Biological Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2023;26(3):46-57. <https://doi.org/10.29296/25877313-2023-03-06>
16. Bourgkard F., Favre J.M. Somatic Embryos from Callus of *Sequoia Sempervirens*. *Plant Cell Reports*. 1988;7(6):445-448. <https://doi.org/10.1007/BF00269534>

17. Cetin E.S. Induction of secondary metabolite production by UV-C radiation in *Vitis vinifera* L. Okuzgozu callus cultures. *Biological Research*. 2014;47(1):37. <https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-37>
18. Томилова С.В., Глоба Е.Б., Демидова Е.В., Носов А.М. Вторичный метаболизм в культуре клеток *in vitro* *Taxus* spp // *Физиология растений*. 2023. Т. 70, № 3. С. 227–240. <https://doi.org/10.31857/S0015330322600784>
19. Zaitseva S.M., Kalashnikova E.A., Kirakosyan R.N., Balakina A.A. *In vitro* cell cultures of *Ginkgo biloba* L., introduced in the Moscow region are promising sources of substances with high biological activity. *Problems of Biological Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2024;27(10):67-78. <https://doi: 10.29296/25877313-2024-10-10>
20. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*. 1962;15(3):473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
21. Способ клонального микроразмножения секвойи вечнозеленой (*Sequoia sempervirens* L.): Патент 2815450 Российская Федерация, МПК А01Н 4/00, СПК А01Н 4/00 / С.М. Зайцева, Е.А. Калашникова, Р.Н. Киракосян, Е.А. Болотина. 2023.
22. Урбах В.Ю. *Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях*. Москва: Медицина, 1975. 297 с.
23. Носов А.М. Использование клеточных технологий для промышленного получения биологически активных веществ растительного происхождения // *Биотехнология*. 2010. № 5. С. 8–28.

References

1. Disney M., Burt A., Wilkes P., Armston J. et al. New 3D measurements of large redwood trees for biomass and structure. *Scientific Reports*. 2020;10(1):16721. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73733-6>
2. Pereira M. de O., Angelo A.C., Navroski M.C., Dobner M. et al. Vegetative rescue and rooting of cuttings of different stock plants of *Sequoia sempervirens*. *Cerne*. 2017;23:435-444. <https://doi.org/10.1590/01047760201723042452>
3. Sillett S.C., Antoine M.E., Carroll A.L., Graham M.E. et al. Rangewide climatic sensitivities and non-timber values of tall *Sequoia sempervirens* forests. *Forest Ecology and Management*. 2022;526:120573. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2022.120573>
4. Nydick K.R., Stephenson N.L., Ambrose A.R., Asner G.P. et al. Leaf to landscape responses of giant sequoia to hotter drought: An introduction and synthesis for the special section. *Forest Ecology and Management*. 2018;419:249-256. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.03.028>
5. Vargas A.R., Castander-Olarieta A., Moncalean P., Montalban I.A. Optimization of the micropropagation of elite adult trees of *Sequoia sempervirens*: forest species of interest in the Basque Country, Spain. *Revista Bionatura*. 2021;6(1):1511-1519. <https://doi.org/10.21931/RB/2021.06.01.11>
6. Kirakosyan R.N., Kalasnikova E.A., Bolotina E.A., Saleh A. et al. Localization of Secondary Metabolites in Relict Gymnosperms of the Genus *Sequoia* *In Vivo* and in Cell Cultures *In Vitro*, and the Biological Activity of Their Extracts. *Reproductive and Developmental Biology*. 2024;14(12):1694. <https://doi.org/10.3390/life14121694>
7. Zhang Y.M., Tan N.H., He M., Lu Y. et al. Sequosempervirin A, a novel spirocyclic compound from *Sequoia sempervirens*. *Tetrahedron Letters*. 2004;45(22):4319-4321. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.04.038>
8. Hatam N.A.R., Whiting D.A. The constituents of Californian redwood: the constitution, absolute stereochemistry, and chemistry of sequirin-B and

- sequirin-C. *Journal of the Chemical Society C: Organic*. 1969;14:1921-1932. <https://doi.org/10.1039/J39690001921>
9. Tretyakova I.N., Voroshilova E.V., Shuvaev D.N., Lukina A.S. Formation of callus and induction of somatic embryos *in vitro* culture in *Pinus sibirica* Du Tour. *Journal of Siberian Federal University. Biology*. 2013;6(1):44-60. (In Russ.)
10. Ahmad M.A., Javed R., Adeel M., Rizwan M. et al. Engineered ZnO and CuO nanoparticles ameliorate morphological and biochemical response in tissue culture regenerants of candyleaf (*Stevia rebaudiana*). *Molecule*. 2020;25(6):1356. <https://doi.org/10.3390/molecules25061356>
11. Pereira M.O., Angelo A.C., Navroski M.C., de Oliveira L.M. et al. Mini-cuttings rooting of *Sequoia sempervirens* at different IBA concentrations and clones. *FLORESTA, Curitiba, PR*. 2020;50(2):1279-1286. <https://doi.org/10.5380/rev.v50i2.62579>
12. Laslo V., Agud E.M., Vicas S. *In vitro* modeling of morfogenesis processes in *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl, via the use of phytohormones. *Natural Resources and Sustainable Development*. 2015:73-78. <https://doi.org/10.5555/20163167398>
13. El-Hawary S.S., Abd El-Kader E.M., Rabeh M.A., Abdel Jaleel G.A. et al. Eliciting callus culture for production of hepatoprotective flavonoids and phenolics from *Sequoia sempervirens* (D. Don Endl). *Natural Product Research*. 2020;34(21):3125-3129. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1607334>
14. Neale D.B., Marshall K.A., Sederoff R.R. Chloroplast and mitochondrial DNA are paternally inherited in *Sequoia sempervirens* D. Don Endl. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1989;86(23):9347-9349. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.23.934>
15. Zaitseva S.M., Kalashnikova E.A., Kirakosyan R.N. The influence of endogenous polyphenols, photoperiod and mineral composition of the nutrient medium on the formation of callus tissue of relic gymnosperms *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl. *Problems of Biological Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2023;26(3):46-57. <https://doi.org/10.29296/25877313-2023-03-06>
16. Bourgkard F., Favre J.M. Somatic Embryos from Callus of *Sequoia Sempervirens*. *Plant Cell Reports*. 1988;7(6):445-48. <https://doi.org/10.1007/BF00269534>
17. Cetin E.S. Induction of secondary metabolite production by UV-C radiation in *Vitis vinifera* L. Okuzgozu callus cultures. *Biological Research*. 2014;47(1):37. <https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-37>
18. Tomilova S.V., Globa E.B., Demidova E.V., Nosov A.M. Secondary metabolism in *Taxus spp.* plant cell culture *in vitro*. *Fiziologiya rastenij*. 2023;70(3):227-240. (In Russ.) <https://doi.org/10.31857/S0015330322600784>
19. Zaitseva S.M., Kalashnikova E.A., Kirakosyan R.N., Balakina A.A. *In vitro* cell cultures of *Ginkgo biloba* L., introduced in the Moscow region are promising sources of substances with high biological activity. *Problems of Biological Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2024;27(10):67-78. <https://doi.org/10.29296/25877313-2024-10-10>
20. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*. 1962;15(3):473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
21. Patent 2815450 (Russian Federation): IPC A01H 4/00, SPC A01H 4/00. Method for clonal micropropagation of evergreen sequoia (*Sequoia sempervirens* L.). Zaitseva S.M., Kalashnikova E.A., Kirakosyan R.N., Bolotina E.A., 2023. (In Russ.)
22. Urbach V.Yu. *Statistical analysis in biological and medical research*. Moscow, USSR: Meditsina, 1975:297. (In Russ.)
23. Nosov A.M. Application of cell technologies for production of plant-derived bioactive substances of plant origin. *Biotekhnologiya*. 2010;(5):8-28. (In Russ.)

Сведения об авторах

Зайцева Светлана Михайловна, канд. биол. наук, доцент, доцент кафедры биотехнологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: smzaytseva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9137-3774>

Рима Нориковна Киракосян, канд. биол. наук, доцент, доцент кафедры биотехнологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: mia41291@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5244-4311>

Елизавета Алексеевна Болотина, аспирант кафедры биотехнологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: LizavetaRodBol@yandex.ru; <https://orcid.org/0009-0007-9006-6044>

Information about the authors

Svetlana M. Zaytseva, CSc (Bio), Associate Professor, Associate Professor at the Department of Biotechnology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy; 49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127434, Russian Federation; e-mail: smzaytseva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9137-3774>

Rima N. Kirakosyan, CSc (Bio), Associate Professor, Associate Professor at the Department of Biotechnology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy; 49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127434, Russian Federation; e-mail: mia41291@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5244-4311>

Elizaveta A. Bolotina, postgraduate student of the Department of Biotechnology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy; 49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127434, Russian Federation; e-mail: LizavetaRodBol@yandex.ru; <https://orcid.org/0009-0007-9006-6044>