

<https://doi.org/10.15407/frg2024.05.431>

УДК 577.1

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОГЕНЕЗУ IN VITRO РОСЛИН *SEDUM AIZOON* L., *S. KAMTSCHATICUM* FISCH. ТА *S. CERAEA* L.

Н. МАТВЄЄВА, В. ДУПЛІЙ, Я. РАТУШНЯК, В. БЕЛОКУРОВА, М. КУЧУК

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України

03143 Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

e-mail: dupliyv@icbge.org.ua

Рослини роду *Sedum* — це сукуленти зі специфічним процесом фотосинтезу. Вони є декоративними рослинами, використовуються в народній медицині, можуть вживатися в їжу. Рослини мають протизапальну, антимікробну, антиоксидантну, гепатопротекторну, протипухлинну й інші активності. Біохімічні дослідження показали наявність таких сполук як алкалоїди, кумарини, флавоноїди, фенольні кислоти та терпени. Водночас особливості мікроклонального розмноження цих рослин вивчені недостатньо, а стосовно деяких, зокрема *S. kamschaticum* і *S. ceraea*, публікації відсутні. Для визначення особливостей морфогенезу рослин in vitro листові експлантати *S. aizoon* L., *S. kamschaticum* Fisch. та *S. ceraea* L. культивували на агаризованому середовищі Мурасіге і Скуга (МС) з додаванням регуляторів росту: бензиламінопурину (БАП), кінетину (Кін), α -нафтилоцтової кислоти (НОК), 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти (2,4-Д) у різних комбінаціях. Вплив регуляторів росту визначали за відсотком експлантатів, що формували калюс, пагони та корені. Регенерація пагонів не відбувалася на безгормональному середовищі МС. Використання кінетину не дало змоги отримати регенеровані пагони в рослин жодного з видів. На цей результат не впливала наявність ауксинів (2,4-Д або НОК) у концентраціях 1,0 і 2,5 мг/л. Водночас додавання до середовища БАП ініціювало формування пагонів. Рослини трьох досліджених видів різнилися за здатністю до регенерації. Найкращим середовищем для регенерації пагонів (близько 100 %) рослин *S. aizoon* і *S. kamschaticum* було те, що містило 1,0 мг/л БАП та 0,5 мг/л НОК. Разом з тим для отримання пагонів рослин іншого виду, *S. ceraea*, доцільно використовувати середовища з 2,5 мг/л БАП й 1 мг/л 2,4-Д (відсоток регенерації — 87,5 %). Отже, для регенерації пагонів *S. aizoon*, *S. kamschaticum* і *S. ceraea* обов'язковою умовою є наявність БАП у середовищі.

Ключові слова: *Sedum aizoon* L., *Sedum kamschaticum* Fisch., *Sedum ceraea* L., морфогенез in vitro, регенерація пагонів, регулятори росту.

Мікроклональне розмноження є технікою, яка використовується для швидкого отримання великої кількості рослин у стерильних умовах. Цей метод є передумовою вирощування клітин, тканин або органів у штучному поживному середовищі, що містить регулятори росту та

Цитування: Матвєєва Н., Дуплій В., Ратушняк Я., Белокурова В., Кучук М. Особливості морфогенезу in vitro рослин *Sedum aizoon* L., *S. kamschaticum* Fisch. та *S. ceraea* L. *Фізіологія рослин і генетика*. 2024. 56, № 5. С. 431–440. <https://doi.org/10.15407/frg2024.05.431>

необхідні поживні речовини. Часто цей метод має переваги порівняно з традиційними методами, такими як розмноження насінням або вегетативне розмноження. Це особливо вигідно для лікарських рослин із повільними темпами росту або тих, які складно розмножувати звичайними способами. Крім того, важливим є з'ясування умов формування калюсної тканини, яку можна використовувати для продукування біологічно активних сполук.

Вплив регуляторів росту рослин на пряму регенерацію рослин *in vitro* або на дедиференціювання та формування калюсної тканини може змінюватися залежно від виду, генотипу й типу експлантата, що використовується в культурі тканин. Ці регулятори відіграють вирішальну роль у контролі етапів регенерації рослин, таких як початок органогенезу (утворення нових органів), проліферацію пагонів і коренів та подальший розвиток у цілі рослини або дедиференціювання. Цитокініни відомі своєю роллю у сприянні формуванню пагонів і проліферації. Їх часто використовують у поєднанні з ауксинами для індукції регенерації пагонів з експлантатів. Специфічна концентрація й комбінація регуляторів росту, що використовуються в протоколах культури тканин, можуть істотно впливати на ефективність та успіх прямої регенерації рослин. Оптимізація умов культивування, таких як склад культурального середовища, світловий режим та концентрації регуляторів росту, є ключовим етапом для розробки ефективних протоколів регенерації різних видів і генотипів рослин [1].

Рід *Sedum* (очиток), найчисленніший у родині Crassulaceae, налічує близько 500 видів, більшість з яких росте в помірних або субтропічних регіонах Північної півкулі. Зокрема *Sedum sepaea* L. має середземноморське походження та поширений в Центральній і Південній Європі [2]. *S. aizoon* L. і *S. kamtschaticum* Fischer походять зі Східної Азії [3–5]. Рослини роду *Sedum* є сукулентами зі специфічним процесом фотосинтезу за САМ-типом (Crassulacean acid metabolism), що дає їм змогу витратити значно менше води порівняно з іншими [6, 7]. Їхня висока толерантність до посухи, низьких температур і нестачі світла, а також здатність рости на бідних кам'янистих ґрунтах є ознакою високої адаптивності та полегшує маніпуляції з таким рослинним матеріалом [8, 9].

Представники роду *Sedum* мають декілька аспектів практичного використання. Рослини *S. alfredii* виявились гіперакумуляторами кадмію та цинку й використовуються для фітореMediaції забруднених цими металами ґрунтів [10–12]. У низці публікацій щодо фармакологічної цінності різних видів *Sedum* повідомляється про їхню протизапальну, антимікробну, антиоксидантну, гепатопротекторну, протипухлинну та інші активності. Біохімічні дослідження показали наявність таких сполук, як алкалоїди, кумарини, флавоноїди, фенольні кислоти та терпени [6, 13–15].

S. aizoon L. має тривалу історію використання як унікальна харчова й лікарська рослина, яка не уражується шкідниками та не потребує застосування пестицидів упродовж фенологічного циклу [16]. Екстракти *S. aizoon* застосовуються в медицині Східної Азії для зниження кров'яного тиску, подолання наслідків хронічної втоми, а та-

кож як антибактеріальний і протизапальний засіб [4, 5, 16]. Нині понад 230 метаболітів, зокрема флавоноїдів, фенольних кислот, три-терпенів, полістеролів, алкалоїдів тощо, були вперше ізольовані або ідентифіковані саме у *S. aizoon* [16].

Водні екстракти *S. kamtschaticum* Fischer використовуються для поліпшення циркуляції крові, лікування запальних процесів і як заспокійливий засіб [3]. Метанольні екстракти коренів і листків *S. kamtschaticum* показують антимікробну дію проти грам-позитивних та грам-негативних бактерій [17].

Представники роду *Sedum* успішно розмножуються вегетативно, але можливості їх практичного застосування для фармакології чи декоративного садівництва обмежені через низькі темпи проліферації та необхідність збереження природних популяцій [4, 8, 14, 15]. Подолати ці обмеження можливо із застосуванням сучасних біотехнологічних підходів, зокрема методів культури *in vitro* та мікроклонального розмноження [1]. Наявність розроблених протоколів регенерації рослин з різних типів експлантатів *in vitro* важлива для різних аспектів практичного використання біотехнологій від мікроклонального розмноження до маніпуляцій з геномами.

Для певних видів очитків вже розроблені методи культивування *in vitro* з метою включення цього роду до програм їх практичного використання й поліпшення характеристик: *S. acre*, *S. aizoon*, *S. clavatum*, *S. dasyphyllum*, *S. gracile*, *S. floriferum*, *S. alfredii*, *S. drymarioides*, *S. erythrostichum*, *S. plumbizinciola*, *S. praealtum*, *S. sarmentosum*, *S. sieboldii*, *S. spectabile* та *S. telephium*. У цих дослідженнях вивчали вплив на регенерацію пагонів низки природних і синтетичних регуляторів росту, таких як 2,4-Д, БАП, ІОК, НОК, ІБК, тидіазурону та гіберелової кислоти [8, 9, 13–15, 18–20].

Із застосуванням методів мікроклонального розмноження вивчали можливості використання вирощеної *in vitro* біомаси *S. alfredii* для фітореMediaції ґрунтів від цинку й кадмію [12], а також вплив кадмію та свинцю на ріст *in vitro* рослин *S. telephium* [21]. Генетична трансформація із використанням *Agrobacterium rhizogenes* була застосована для отримання швидкопроліферувальної кореневої системи *S. erythrostichum* і *S. alfredii* з метою оптимізації поглинання металів із забруднених ґрунтів [10–11].

Метою нашої роботи було дослідити вплив різних комбінацій регуляторів росту на формування пагонів і калюсних культур трьох видів роду *Sedum* — *S. aizoon* L., *S. kamtschaticum* Fisch. та *S. serapea* L. Якщо для *S. aizoon* аналогічні дослідження були проведені іншими авторами [4, 6], то відповідна інформація щодо *S. kamtschaticum* та *S. serapea* досі відсутня.

Методика

Як експлантати використовували листки вирощуваних *in vitro* рослин з «Колекції зародкової плазми рослин флори України та світової флори Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України», об'єкту національного наукового надбання. Експлантати культивували на агаризованому середовищі Мурасіге і Скуга (МС,

Duchefa) з додаванням регуляторів росту в різних комбінаціях: № 1 — 1,0 мг/л бензиламінопурину (БАП) та 0,5 мг/л α -нафтилоцтової кислоти (НОК); № 2 — 1,0 мг/л БАП та 2,5 мг/л 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти (2,4-Д); № 3 — без регуляторів; № 4 — 2,5 мг/л БАП та 1,0 мг/л 2,4-Д; № 5 — 1,0 мг/л кінетину (Кін) та 2,5 мг/л 2,4-Д; № 6 — 2,5 мг/л Кін та 1,0 мг/л 2,4-Д; № 7 — 1,0 мг/л Кін та 0,5 мг/л НОК (табл. 1). Експеримент був проведений тричі в різний час. Щоразу культивували по 8 експлантатів на кожному типі середовища. Вплив регуляторів росту на морфогенез оцінювали за такими параметрами: формування калюсної тканини, формування пагонів, формування коренів, вираховували відповідний відсоток регенеруючих експлантатів від їх загальної кількості. До значень, виражених у відсотках, застосовували арксинусне перетворення.

Результати та обговорення

Загалом було виявлено значні відмінності у відповіді експлантатів роду *Sedum* трьох досліджених видів на вміст регуляторів росту. Очікуваним виявився результат, отриманий при вирощуванні експлантатів на середовищі без регуляторів росту (середовище № 3) — будь-які процеси морфогенезу на експлантатах *S. aizoon* і *S. kamtschaticum* за таких умов були відсутні (рисунок, стовпчики 1 і 2). Однак на листках *S. serapea* часом спостерігали ріст коренів (див. рисунок, стовпчик 3). Відсутність морфогенезу на безгормональних середовищах була показана раніше й для інших видів *Sedum* [6].

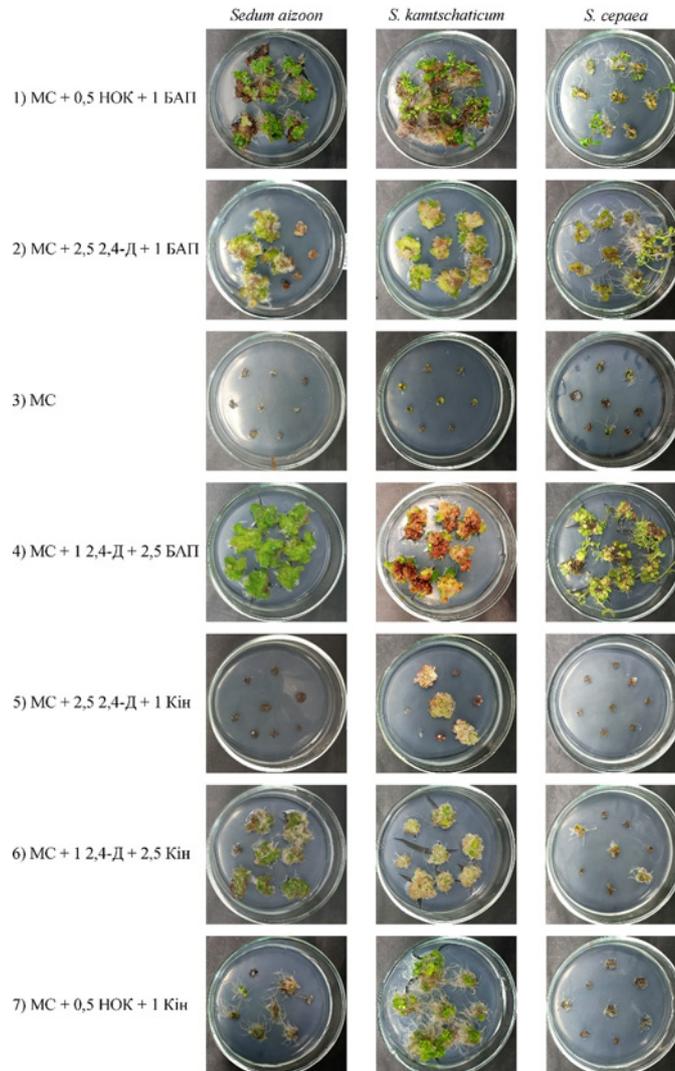
Експлантати листків усіх трьох досліджених видів мали здатність утворювати калюсну тканину, причому такий ефект спостерігали як при культивуванні на середовищах із більшою концентрацією ауксинів (наприклад, на середовищі № 2), так і на тих, що містили більше цитокінінів, ніж ауксинів (зокрема на середовищах № 1, 4, 6 і 7). Найчутливішими виявилися експлантати *S. kamtschaticum*, оскільки при використанні всіх вказаних середовищ, які містили регулятори росту, формувалася калюс, пагони або корені.

Повну відсутність калюсоутворення або інших типів морфогенезу спостерігали при культивуванні експлантатів *S. aizoon* на середо-

ТАБЛИЦЯ 1. Вміст регуляторів росту (мг/л) в поживних середовищах, які використовували для дослідження особливостей чутливості листових експлантатів рослин *Sedum aizoon* L., *S. kamtschaticum* Fisch. і *S. serapea* L.

№ середовища	2,4-Д	Кінетин	БАП	НОК
1	0	0	1,0	0,5
2	2,5	0	1,0	0
3	0	0	0	0
4	1,0	0	2,5	0
5	2,5	1	0	0
6	1,0	2,5	0	0
7	0	1,0	0	0,5

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОГЕНЕЗУ IN VITRO РОСЛИН



Калусоутворення, формування коренів та пагонів на листових експлантатах *Sedum aizoon* L., *S. kamschaticum* Fisch. і *S. serpaea* L. на середовищах з різним вмістом регуляторів росту

вищі, яке містило 2,5 мг/л 2,4-Д з додаванням кінетину (середовище № 5), однак експлантати *S. kamschaticum* та *S. serpaea*, хоча й не формували пагонів і коренів, були здатні до утворення калусної тканини в таких умовах.

У роботі [4] калусну тканину з експлантатів листків *S. aizoon* було отримано на середовищі МС з додаванням 2,0 мг/л 2,4-Д та 0,5 мг/л БАП. У цьому дослідженні метою була не регенерація рослин, а індукція формування з калусу адвентивних коренів, які були отримані з ефективністю 98 % при вирощуванні калусів на середовищі МС за наявності 4 мг/л ІБК, 1 мг/л кінетину, 1 мг/л НОК та співвідношенні NO_3^- до NH_4^+ як 5 : 1.

Рослини трьох досліджених видів різнились за здатністю до регенерації (табл. 2). Так, максимальна частота формування пагонів

ТАБЛИЦЯ 2. Особливості відповіді листкових експлантів рослин *Sedum aizoon* L., *S. kamtschaticum* Fisch. і *S. seraeae* L. на дію різних регуляторів росту

Вид	№ середовища	Калюсоутворення, %	Регенерація, %	Коренеутворення, %
<i>S. aizoon</i>	1	100	98,5 (94,3–100)	87,5
	2	62,5	0	16,3 (12,5–20,5)
	3	0	0	0
	4	98,5 (94,3–100)	0	0
	5	0	0	0
	6	94,3 (87,5–98,5)	0	33,2 (29–37,5)
	7	87,5	12,5	87,5
<i>S. kamtschaticum</i>	1	100	100	100
	2	98,5 (94,3–100)	0	75
	3	0	0	0
	4	98,5 (94,3–100)	20,5 (16,3–25)	1,5 (0–5,7)
	5	75	0	0
	6	100	0	87,5
	7	100	25	98,5 (94,3–100)
<i>S. seraeae</i>	1	100	50	98,5 (94,3–100)
	2	100	37,5	94,3 (87,5–98,5)
	3	0	0	37,5
	4	100	87,5	79,5 (75–83,5)
	5	16,3 (12,5–20,5)	0	0
	6	37,5	0	45,8 (41,6–50)
	7	0	0	45,8 (41,6–50)

S. aizoon і *S. kamtschaticum* становила, відповідно, 98,5 % (94,3–100 %) та 100 %, а *S. seraeae* — 87,5 %. Встановлено, що використання кінетину не дало змогу отримати регенеровані пагони в рослин жодного з видів. На цей результат не впливала наявність різних ауксинів (2,4-Д або НОК) у різних концентраціях (1,0 та 2,5 мг/л). Водночас додавання до середовища бензиламінопурину ініціювало формування пагонів.

За наявності в середовищі комбінації регуляторів росту 1,0 мг/л БАП + 0,5 НОК спостерігали формування пагонів з експлантів *S. aizoon*, *S. kamtschaticum* і *S. seraeae*, а частота регенерації становила від 50 до 100 %. Найменшою за таких умов вирощування була частота формування пагонів у *S. seraeae*. Збільшення концентрації БАП з 1,0 мг/л до 2,5 мг/л за умови зміни ауксину позитивно впливало на морфогенез рослин *S. seraeae*, оскільки частота регенерації пагонів збільшувалась до 87,5 %. Експлантати рослин цього виду, на відміну від інших, утворювали пагони на трьох різних середовищах (№ 1, 2, 4) з частотою, відповідно, 50 %, 37,5 і 87,5 %.

Отже, найкращим середовищем для отримання регенерованих пагонів рослин *S. aizoon* і *S. kamtschaticum* можна визнати те, яке

містило 1,0 мг/л БАП та 0,5 мг/л НОК, оскільки відсоток регенерації на експлантатах *S. aizoön* і *S. kamtschaticum* становив близько 100 %. Одночасно для отримання пагонів рослин іншого виду, *S. seraea*, доцільно використовувати середовище, яке містить 2,5 мг/л БАП та 1 мг/л 2,4-Д (відсоток регенерації — 87,5 %).

Формування коренів спостерігали за культивування експлантатів рослин усіх видів. Однак варто відзначити деякі відмінності їх росту на експлантатах рослин різних видів. Так, на листках *S. seraea* навіть на безгормональному середовищі відбувалось незначне формування коренів з частотою 37,5 %, а на експлантатах *S. aizoön* і *S. kamtschaticum* за таких умов ризогенез не спостерігався.

Вивчення особливостей відповіді рослин на дію регуляторів росту є важливим етапом культивування цінних видів, зважаючи як на можливість мультиплікації рослинного матеріалу, так і на отримання калюсних культур для продукування біоактивних сполук.

Варто відзначити, що з трьох видів, які використовувалися в нашій роботі (*S. aizoön*, *S. kamtschaticum* і *S. seraea*), є публікації тільки щодо *S. aizoön*. Так, в праці [6] максимальна частота регенерації пагонів *S. aizoön* (62,1 %) спостерігалася на середовищі МС з додаванням 3 мг/л БАП та 1,0 мг/л індолілмасляної кислоти. В праці [4] показано, що найкращим середовищем для калюсоутворення *S. aizoön* є таке, що містить 2,0 мг/л 2,4-Д та 0,5 мг/л БАП, а для формування адвентивних коренів — 3 мг/л БАП.

Варто згадати також дослідження стосовно мікроклонального розмноження та калюсоутворення рослин інших видів роду *Sedum* — *S. telephium*, *S. spectabile*, *S. dasyphyllum*, *S. sarmentosum*, *S. rupestre*, *S. reflexum*, *S. fosterianum*, *S. maximum* тощо. Зокрема, експлантати листків *S. telephium* формували компактний калюс на середовищах із НОК і БАП, а при субкультивуванні за співвідношення БАП/НОК 100 : 1 відбувалась індукція пагонів [18]. Для *S. spectabile* оптимальним експлантатом виявилась основа листка порівняно із його середньою і верхівковою частинами. Регенерація пагонів відбувалась як через стадію вітрифікованих соматичних зародків і далі рослин, так і через пряме формування нормальних пагонів на нижній поверхні листків. Максимальна регенерація (89 %) спостерігалась на середовищі МС + 0,6 мг/л тидіазурону та 0,1 мг/л НОК [8].

Розроблено ефективний протокол мікроклонального розмноження *S. dasyphyllum* з верхівок пагонів на поживному середовищі МС із різними концентраціями БАП або тидіазурону в комбінації з НОК. Максимальну ефективність регенерації спостерігали на середовищах з 2 μ М БАП та 1 μ М НОК [15]. Фрагменти стебел *S. sarmentosum* культивували на МС із додаванням БАП або кінетину в концентраціях від 0,2 до 1 мг/л. Найбільшу ефективність формування пагонів спостерігали на 0,2 мг/л кінетину [19]. Вивчали також вплив тидіазурону та БАП на формування адвентивних пагонів на експлантатах листків і верхівок пагонів *S. sarmentosum*. З цих двох цитокінінів БАП виявився ефективнішим, ніж тидіазурон [14].

Розроблено методи розмноження in vitro декоративних очитків *S. rupestre*, *S. reflexum*, *S. fosterianum* і *S. maximum* з експлантатів лист-

ків на середовищі МС із додаванням різних комбінацій БАП та НОК [9]. Також розроблено систему ефективної непрямой регенерації *S. clavatum* із листкових експлантатів на середовищі МС із регуляторами росту БАП, кінетин, НОК. Ефективність калюсоутворення, індукції пагонів та їх укорінення становила, відповідно, 95,7 %, 80 % та 94,9 % [20]. Сегменти листків *S. praealtum* культивували на середовищі МС із різними концентраціями 2,4-Д та БАП. Найбільша кількість пагонів формувалась на 0,5 мг/л БАП без 2,4-Д [13]. Зважаючи на сказане, видоспецифічність дії регуляторів росту на морфогенез у рослин досліджених нами видів не є несподіваною та узгоджується з літературними даними.

Таким чином, у нашій роботі показана видоспецифічність дії регуляторів росту на морфогенез у рослин трьох видів роду *Sedum* — *S. aizoon*, *S. kamtschaticum* та *S. sepaea*. Стосовно рослин двох видів, *S. kamtschaticum* та *S. sepaea*, такі дослідження проведено вперше. Експлантати рослини *S. aizoon* та *S. kamtschaticum* були подібні за своєю реакцією на регулятори росту. Так, регенерація пагонів і формування коренів або калюсної тканини не відбувалися на безгормональному середовищі МС. Для регенерації пагонів рослин *S. aizoon*, *S. kamtschaticum* та *S. sepaea* обов'язковою умовою є наявність цитокініну БАП. Кінетин для цих видів рослин виявився неефективним, а його наявність у середовищі не стимулювала формування пагонів. Для отримання регенерованих пагонів необхідна наявність у поживному середовищі БАП у концентрації 1,0—2,5 мг/л. Зокрема, для отримання регенерованих пагонів рослин *S. aizoon* та *S. kamtschaticum* необхідно використовувати середовище з 1,0 мг/л БАП та 0,5 мг/л НОК (відсоток регенерації близько 100 %). Водночас для отримання пагонів рослин іншого виду, *S. sepaea*, доцільне використання середовища, яке містить 2,5 мг/л БАП та 1 мг/л 2,4-Д (відсоток регенерації — 87,5 %).

Робота виконана за фінансової підтримки гранту Національної академії наук України «Синтез рекомбінантних фармацевтичних білків та підвищення вмісту біологічно активних природних сполук у рослинах» (№ 0123U101081).

REFERENCES

- George, E.F. & Debergh, P.C. (2008). Micropropagation: Uses and Methods. In: George, E.F., Hall, M.A., Klerk, G.J.D. (Eds.). Plant Propagation by Tissue Culture (3rd Ed.), Vol. 1. The Background. Springer.
- Šapić, I., Šegota, V. & Alegro, A. (2012). Where does *Sedum sepaea* L. (Crassulaceae) — one of the rarest species of Croatian flora — really grow? *Acta Bot. Croat.*, 71, No. 1, pp. 177-185. <https://doi.org/10.2478/v10184-011-0063-4>
- Kim, D.W., Son, K.H., Chang, H.W., Bae, K.H., Kang, S.S. & Kim, H.P. (2004). Anti-inflammatory activity of *Sedum kamtschaticum*. *J. Ethnopharmacol.*, 90, No. 2-3, pp. 409-414. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.11.005>
- Liu, Z., Min, C., Dong, H. & Zhang, Z. (2021). Improvement of adventitious root formation in *Sedum aizoon* L. and the production of flavonoids. *South African J. Bot.*, 137, pp. 483-491. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.10.024>
- Liu, S., Wang, M., Xing, Y., Wang, X. & Cui, C. (2023). Anti-oxidation and anti-fatigue effects of the total flavonoids of *Sedum aizoon* L. *J. Agricult. Food Res.*, 12, p. 100560. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100560>

6. Wojciechowicz, M.K. (2007). Comparison of regenerative potential of petals, stamens and pistils of five *Sedum* species in vitro. *Biodiversity: Res. Conserv.*, 5-8, pp. 87-94. <https://doi.org/10.14746/biorc.2007.5-8.11>
7. Dzijuba, O.I. & Yatsenko, M.V. (2014). Ecological and physiological as well as biochemical properties of representatives of the genus *Sedum* L. *Ecol. Noospherol.*, 25, No. 3-4, pp. 24-33. <https://doi.org/10.15421/031417>
8. Yang, C., Qin, Y., Sun, X., Yuan, S. & Lin, H. (2012). Propagation of *Sedum spectabile* Boreau in leaf culture in vitro. *Not Bot Hor. Agr.*, 40, No. 1, pp. 107-112. <https://doi.org/10.15835/nbha4016566>
9. Burbulis, N., Blinstrubiene, A. & Jonytiene, V. (2013). Organogenesis induction in leaf explants of *Sedum* L. *J. Food, Agricult. Env.*, 11, No. 3-4, pp. 2110-2112.
10. Chen, Y.M., Liu, J.Y., Teng, Z., Lu, Q.Y. & Qiong, Y. (2017). Induction of hairy roots in heavy metal hyperaccumulator *Sedum alfredii*. *J. Trop. Subtrop. Bot.*, 25, No. 2, pp. 136-140.
11. Sahito, Z.A., Zehra, A., Chen, S., Yu, S., Lin, T., Ali, Z., Hamza, S., Irfan, M., Abbas, T., He, Z. & Yang, X. (2022). *Rhizobium rhizogenes*-mediated root proliferation in Cd/Zn hyperaccumulator *Sedum alfredii* and its effects on plant growth promotion, root exudates and metal uptake efficiency. *J. Hazard. Mater.*, 424, 127442. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127442>
12. Shi, J., Long, X., Xu, Z., Cai, W. & Zuo, R. (2022). Remediation by tissue culture seedlings of *Sedum alfredii* Hance in Zn-, Cd- and combination-contaminated soils. *J. Beijing Normal Univer. Nat. Sci.*, 58, No. 1, pp. 70-76. <https://doi.org/10.12202/j.0476-0301.202107>
13. Bravo-Avila, F.M., Rodriguez-Sahagun, A., Castellanos-Hernandez, O. & Ruvalcaba-Ruiz, D. (2015). Regeneration of *Sedum praealtum* A.DC (siempreviva) via organogenesis. *Nova Scientia*, 8, No. 17, pp. 126-139. <https://doi.org/10.21640/ns.v8i17.637>
14. Kim, D.H. & Sivanessan, I. (2016). Influence of benzyladenine and thidiazuron on shoot regeneration from leaf and shoot tip explants of *Sedum sarmentosum* Bunge. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 59, e16150717. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016150717>
15. Park, H.Y., Saini, R.K., Gopal, J., Keum, Y.-S., Kim, D.H., Lee, O. & Sivanesan, I. (2017). Micropropagation and subsequent enrichment of carotenoids, fatty acids, and tocopherol contents in *Sedum dasyphyllum* L. *Front. Chem.*, 5, No. 77. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00077>
16. Wang, B.-L., Ge, Z.-K., Qiu, J.-R., Luan, S.-Q., Hao, X.-C. & Zha, Y.-H. (2024). *Sedum aizoon* L.: a review of its history, traditional uses, nutritional value, botany, phytochemistry, pharmacology, toxicology, and quality control. *Front. Pharmacol.*, 15, 1349032. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1349032>
17. Kang, C.-G., Hah, D.-S., Kim, C.-H., Kim, Y.-H., Kim, E., & Kim, J.-S. (2011). Evaluation of antimicrobial activity of the methanol extracts from 8 traditional medicinal plants. *Toxicol. Res.*, 27, No. 1, pp. 31-36. <https://doi.org/10.5487/TR.2011.27.1.031>
18. Brandt, I. & Salema, R. (1977). Callus and plantlets development from cultured leaf explants of *Sedum telephium* L. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 85, No. 1, pp. 1-8. [https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(77\)80259-6](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(77)80259-6)
19. Lee, S.-Y., An, J.-H., & Kim, H.-J. (2005). Factors affecting shoot multiplication and rooting from cutting and in vitro node culture of *Sedum sarmentosum*. *Korean J. Horticult. Sci. Technol.*, 24, No 1, pp. 43-47.
20. Liu, F., Tang, Y.H., Yuan, Y.M., Guo, Q.Q., Shen, F. & Chen, J.R. (2016). Tissue culture of the succulent plant *Sedum clavatum*. *Chinese Bull. Bot.*, 51, No. 2, pp. 251-256. <https://doi.org/10.11983/CBB15036>
21. Ardelean, M., Lobiuc, A., Burducea, M., Mihali, C. & Marti, D.-T. (2019). Study of heavy metals effects on in vitro cultures of *Sedum telephium* ssp. *maximum* L. *Food and Env. Safety. J. Facult. Food Eng., Stefan cel Mare University – Suceava*, XVIII, No. 1, pp. 18-26.
22. Yoon, E., Jeong, J. & Choi, Y. (2002). Recovery of Basta-resistant *Sedum erythrostichum* via *Agrobacterium*-mediated transformation. *Plant Cell Rep.*, 21, pp. 70-75. <https://doi.org/10.1007/s00299-002-0485-5>

Received 19.09.2024

PECULIARITIES OF IN VITRO MORPHOGENESIS OF *SEDUM AIZOON* L.,
S. KAMTSCHATICUM FISCH. AND *S. CEPAEA* L.

N. Matvieieva, V. Duplij, Ya. Ratushniak, V. Belokurova, M. Kuchuk

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of
Ukraine

148 Akademika Zabolotnoho St., Kyiv, 03143, Ukraine

e-mail: duplijv@icbge.org.ua

Plants of the *Sedum* genus are succulents with a specific process of photosynthesis. They are decorative, edible, and used in traditional medicine. Plants have anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, hepatoprotective, antitumor, and other activities. Biochemical studies have shown the presence of compounds such as alkaloids, coumarins, flavonoids, phenolic acids, and terpenes. At the same time, the peculiarities of microclonal propagation of these plants have not been sufficiently studied, and there are no publications regarding some of them, in particular *S. kamtschaticum* and *S. cepaea*. To determine the peculiarities of in vitro morphogenesis of plants, leaf explants of *S. aizoon* L., *S. kamtschaticum* Fisch., and *S. cepaea* L. were cultivated on Murashige and Skoog (MS) solidified medium with the addition of growth regulators: benzylaminopurine (BAP), kinetin (Kin), α -naphthylacetic acid (NAA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in various combinations. The effect of growth regulators was evaluated as the percentage of explants that formed callus, shoots, and roots. Shoot regeneration did not occur on an MS hormone-free medium. It was established that using kinetin did not allow obtaining regenerated shoots in plants of any studied species. The presence of auxins (2,4-D or NAA) in concentrations of 1,0 and 2.5 mg/L did not affect this result. At the same time, adding BAP to the medium led to the initiation of shoot formation. Plants of the three studied species differed in their ability to regenerate. The best medium for obtaining regenerated shoots (near 100 %) of *S. aizoon* and *S. kamtschaticum* plants was one that contained 1.0 mg/L BAP and 0.5 mg/L NAA. At the same time, to obtain plant shoots of another species, *S. cepaea*, it is advisable to use a medium containing 2.5 mg/l of BAP and 1 mg/l of 2,4-D (the percentage of regeneration is 87.5 %). Thus, for the regeneration of *S. aizoon*, *S. kamtschaticum*, and *S. cepaea* shoots, the presence of benzylaminopurine in the medium is a prerequisite.

Key words: *Sedum aizoon* L., *Sedum kamtschaticum* Fisch., *Sedum cepaea* L., morphogenesis in vitro, shoot regeneration, growth regulators.

ORCID

Н. МАТВЄЄВА — Nadiia Matvieieva <https://orcid.org/0000-0002-4877-5222>

В. ДУПЛІЙ — Volodymyr Duplij <https://orcid.org/0000-0002-7479-7257>

Я. РАТУШНЯК — Yakiv Ratushniak <https://orcid.org/0000-0003-3708-1898>

В. БЕЛОКУРОВА — Valeriia Belokurova <https://orcid.org/0000-0002-9872-9136>

М. КУЧУК — Mykola Kuchuk <https://orcid.org/0000-0001-7365-7474>