

УДК 573.6:581.143.6:635

# ЗБЕРІГАННЯ КОЛЕКЦІЇ СТЕВІЇ В КУЛЬТУРІ IN VITRO

СТЕФАНЮК В. Й.,

д.с.-г.наук,с.н.с.;

ЛОСЄВА А.І.,

м.н.с.

Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН

**Вступ.** Стевія (*Stevia rebaudiana* Bertoni) — цінна лікарська рослина. Найбільша кількість речовин, що визначають лікувальні властивості цієї культури зосереджена в листках. Листя містить тетрациклічні дитерпенові глікозиди, клітковину, пектинові речовини, рослинні ліпіди, полісахариди, вітаміни (В, А, В, РР, Р), мікроелементи (кальцій, магній, цинк, залізо, калій та ін.) і ефірні масла, до складу яких входять ще 53 елементи [1].

Важливою особливістю цієї культури є висока антиоксидантна активність отриманих із неї препаратів. Це визначає перспективність використання стевіозиду у вигляді біологічно активних добавок у харчових продуктах профілактичного призначення [2].

Перші дослідження, проведені у ВНЦ, показали, що кожен гектар, зайнятий цією культурою, може дати 20 ц і більше маси сухих листків. За наявності в листках солодких глікозидів від 7 до 10% (залежно від сорту та форми стевії) можна одержати від 140 до 200 кг чистого продукту (стевіозиду) з одного гектара, що при його солодкості, яка в 200–300 разів перевищує солодкість цукру, становить 300–450 ц цукру з гектара. Це при тому, що найбільш цукристі сорти цукрових буряків дають максимально цукру 100–120 ц/га [3, 4].

Важливим не лише для України, а й для тих країн, що вирощують цю рослину, є вирішення проблеми отримання та вирощування стевії із насіння. В усьому світі її розмножують вегетативно кореневищами або зеленими живцями та біотехнологічними методами. Останні дозволяють прискорити отримання цінного селекційного матеріалу [5].

Однак в літературі відсутня інформація про зберігання та температурний режим при культивуванні матеріалу в культурі in vitro. Тому метою роботи є вивчення росту й розвитку,

зберігання колекції стевії, встановлення оптимального складу живильного середовища та температурного режиму при культивуванні матеріалу в культурі in vitro за низьких позитивних температур.

**Матеріали та методика досліджень.** Дослідження проводили в лабораторії природних цукрозамінників Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України впродовж 2015–2021 рр.

Культивування проводили в термальних приміщеннях та умовах холодної камери за різних позитивних температур і освітленні 500 лк.

Для клонального мікророзмноження використовували модифіковані агаризовані живильні середовища за прописом Гамборга і Евелега.

Матеріали, посуд та інструменти, живильні середовища готували згідно з загальноприйнятими методиками [6].

Експериментальний матеріал оброблено статистично з використанням дисперсійного аналізу [7].

**Результати та обговорення.** Зберігання колекції, уповільнення її росту й розвитку залежить від оптимального поєднання макро, мікро та органічних елементів у складі живильного середовища [8].

Дослідженнями виявлено відмінності у вмісті різних речовин у форм різної плоідності, за результатами аналізу відмічено більший їх вміст, порівняно з диплоїдними формами в тетраплоїдних [2]. Тому нами було взято матеріал різної плоідності — 2х та 4х.

Дослідженнями встановлено, що для тривалого зберігання матеріалу доцільно збільшити кількість цукрози до 60 г/л та додати 1,0 мг гіберелової кислоти. Додавання в середовище НОК (нафтилоцтової кислоти) забезпечує укорінення матеріалу, що дає можливість отримувати укорінений більш життєздатний матеріал, який в такому стані краще зберігається. Слід також відмітити, що необхідною умовою для зберігання є збільшення кількості макро- (60 мл) та мікроелементів (1,0 мл), які подовжують термін депонування рослинного матеріалу (табл. 1).

Дослідження з депонування матеріалу показують, що культивовані генетичний матеріал при тривалому зберіганні в культурі in vitro можна утримувати від 2 до 12 місяців без оновлення в умовах зниженої температури. Важливою особливістю є зберігання рослин в укоріненому стані. Це має велике значення, оскільки дозволяє затримувати розвиток рослин і таким чином зберігати їх довгий час без пересадок.

Для визначення оптимального температурного режиму зберігання стевії було взято різні температури від +4 до +16 °С. Встановлено, що найоптимальнішою низькою позитивною температурою для культуральних рослин 2х та 4х виявилась + 10 та +13 °С.

Слід відмітити, що середня висота рослин стевії 2х становила від 13 до 23 см, а у 4х цей показник становив від 15 до 25 см відповідно. Кіль-

Таблиця 1

Склад живильного середовища для депонування стевії

№ з/п	Назва	Одиниця виміру	Кількість
1.	Макроелементи	мл	60
2.	Мікроелементи	мл	1
3.	Fe-хелат	мл	5
4.	Мезоіозит	г	од
5.	Вітаміни	мл	1
6.	НОК	мл	0,5
7.	Цукроза	г	60
8.	Агар-агар	г	8,0
9.	Кінетин	мг	0,5
10.	Гіберелова кислота	мг	1

кість пагонів також значно не відрізнялася в різних форм і була в межах 1–3 штуки.

Результати проведених досліджень із виживання рослин стевії залежно від впливу низьких позитивних температур та тривалості зберігання показали, що доцільно зберігати стевію в продовж 4 місяців за температури 10 та 13 °С. Оскільки виживаність рослин стевії за даних умов є максимальною, відповідно, 91 та 93%, подовження терміну до 6 місяців є недоцільним, тому що рослинний матеріал у відсотковому відношенні становить від 51 до 77% у стевії форм 2х, а у 4х цей показник варіює від 26 до 48% (табл. 2).

Після культивування впродовж 4 місяців стан колекції стевії був таким: у форм 2х — відсоток здорових рослин становив — від 84,9 до 89,0%, а у 4х — від 73,9 до 78,6% відповідно. Незначним було інфікування матеріалу та некроз. Слід відмітити, що спостерігали вищий відсоток зберігання (до 10%) матеріалу стевії диплоїдних рослин (2х) порівняно із тетраплоїдними (4х) (табл. 3).

#### Висновки

1. Використовувати склад живильного середовища за прописом Гамборга і Евелєга з додаванням НОК — 0,5 мл, цукрози — 60 г, кінетин — 0,5 мл, макроелементи — 60 мл, мікроелементи — 1 мл.

2. Найоптимальнішою низькою позитивною температурою для стевії 2х та 4х виявилась + 10 та +13 °С.

3. Для зберігання колекції стевії, уповільнення росту й розвитку рослин доцільно проводити депонування впродовж 4 місяців.

#### ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

- Дзюба О. О. Стевия (*Stevia rebaudiana* Bertoni) Hemsley — інтродукція, морфологія, біологія, возделывание: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург, 1999. 15 с.
- Стефанюк В. Й. Стевия в Україні [2-е вид., доп.]. Київ: Труд-ГриПол, 2009. 128 с. (+8 стор. ілюстр).
- Андрійчук В. Г. Економіка аграрних підприємств. Київ: КНЕУ, 2002. 347 с.
- Березівський П. С. Організаційно-економічні параметри ресурсоощадних технологій виробництва продукції рослинництва і тваринництва. Львів: Українські технології, 2000. 223 с.
- Завгородній В. М. Оптимізація елементів технології вирощування стевії: Автореф. дис. ... канд. с.-г. наук. Київ, 2006. 15 с.
- Мусієнко М. М., Панюта О. О. Біотехнологія рослин. Навчальний посібник. Київ: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2005. 114 с.
- Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. Москва: Агропромиздат, 1985. 351 с.
- Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. Москва: Наука, 1964, 271 с.

Таблиця 2

Вживання рослин стевії залежно від впливу низьких позитивних температур та тривалості зберігання, % (2015-2021рр.)

№ з/п	Температурний режим °С	Середня висота рослин, см	Кількість пагонів, шт.	Період зберігання, місяців		
				2	4	6
2х						
1.	16	23	1-2	90	87	64
2.	13	20	1-2	95	91	77
3.	10	20	1-2	98	93	72
4.	7	15	1	91	75	57
5.	4	13	1	83	68	51
HIP05				0,3	0,4	0,2
4х						
1.	16	25	2-3	88	67	37
2.	13	23	2-3	95	82	48
3.	10	20	2	93	76	46
4.	7	17	1-2	86	55	35
5.	4	15	1-2	83	47	26
HIP05				0,6	0,8	0,4

Таблиця 3

Стан колекції стевії через 4 місяці культивування (2015-2021 рр.)

№ з/п	Генотип	Стан рослин, %		
		здорові	інфіковані	некроз
2х				
1.	Лінія 116	87,2	2,5	10,3
2.	Лінія 123	89,0	2,3	8,7
3.	Лінія 135	84,9	2,8	12,3
4х				
1.	Лінія 25	78,6	3,6	17,8
2.	Лінія 63	74,5	6,5	15,6
3.	Лінія 76	73,9	4,1	21,0
HIP05		0,7	0,3	0,8

#### АНОТАЦІЯ

УДК 573.6:581.143.6:635

#### Зберігання колекції стевії в культурі in vitro

Стефанюк В. Й., Лосєва А. І.

У статті наведено результати багаторічних досліджень вивчення росту, розвитку та зберігання колекції стевії. Встановлено оптимальний склад живильного середовища та температурного режиму при культивуванні матеріалу в культурі in vitro за низьких позитивних температур.

**Ключові слова:** стевія, колекція, культура in vitro, живильне середовище, температурний режим.

#### ABSTRACT

UDC573.6:581.143.6:635

#### Preservation of the stevia collection in vitro

Stefaniuk V. Y., Losieva A. I.

The article presents the results of long-term research on the growth, development and storage of stevia collection. The optimum composition of the culture medium and the temperature when cultured in vitro determined to be low above-zero temperatures.

**Key words:** stevia; collection; culture in vitro; nutrient medium; temperature regime.