

2-бөлім**Раздел 2****Section 2**

**Биотехнология,
биохимия,
өсімдіктер физиологиясы**

**Биотехнология,
биохимия,
физиология растений**

**Biotechnology,
biochemistry,
plant physiology**

ӨОЖ 581.1.035

С.Ш. Асрандина*, А. Алиева, А. Ташимбаева, А. Сүйдекенова, С.Д. Атабаева
Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.
*E-mail: Saltanat.Asrandina@kaznu.kz

**Табиғи қант алмастырғыштың қайнар көзі – стевия өсімдігін
in vitro жағдайында көбейту**

Қазақстан үшін стевия жаңа әрі құнды культура. Стевия жылу сүйгіш өсімдік болғандықтан, Қазақстанның қысқы суығына төзімсіз әрі дәні нашар жетіліп, өнуге бейімсіз келеді. Осы себептерге байланысты стевияны қысқа мерзім ішінде вегетативті жолмен көбейту әдістерін жасау өзекті мәселелердің бірі болып табылады. Мақалада стевия (*Stevia rebaudiana* Bertoni) өсімдігін *in vitro* жағдайында көбейту коэффициентін жоғарылатудың тиімді әдістері көрсетілген.

Түйін сөздер: стевия, қант диабеті, стевиозид, дитерпенді гликозидтер, *in vitro*, тұқым, микрокөбейту.

S.Sh. Asrandina, A. Alieva, A. Tashimbaeva, A. Syidekenova, S. Atabaeva
**Mass reproduction of a stevia – a source of natural substitute
of sugar *in vitro***

For Kazakhstan the stevia is new culture. Sexual reproduction of a stevia is complicated because of a bad and low viability of seeds in our ecological conditions. In this regard, research and development of ways of the accelerated reproduction of a stevia are an actual problem of today. It was shown the increase of factor of reproduction of a *Stevia rebaudiana* Bertoni *in vitro* by micropropagation method.

Keywords: stevia, diabetes, stevioside, diterpen glycoside, *in vitro*, seeds, micropropagation.

С.Ш. Асрандина, А. Алиева, А. Ташимбаева, А. Сүйдекенова, С.Д. Атабаева
**Размножение стевии – источника природного заметителя сахара
в *in vitro***

Для Казахстана стевия является новой культурой. Половое размножение стевии затруднено из-за плохой завязываемости и низкой жизнеспособности семян в наших экологических условиях. В связи с этим исследование и разработка способов ускоренного размножения стевии являются актуальной задачей сегодняшнего дня. В статье приведены результаты исследования по повышению коэффициента размножения стевии (*Stevia rebaudiana* Bertoni) в культуре *in vitro*.

Ключевые слова: стевия, сахарный диабет, стевиозид, дитерпеновые гликозиды, *in vitro*, семена, микроклональное размножение.

Қант диабеті – ХХІ ғасырдың ғаламдық медициналық әлеуметтік проблемасы болып табылады. Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының жүргізген соңғы санағы бойынша бүгінгі таңда қант диабетімен ауыратын адамдардың саны 270 миллионнан асқан, ал 2025 жылы

олардың саны 380 миллионға жетуі мүмкін деген болжам жасалған.

Қазақстанда денсаулық сақтау министрлігінің статистикалық мәліметтеріне сәйкес, 2011 жылы қант диабетіне шалдыққан 300 мың адам тіркеуге алынған. Дүние жүзінде қант диабетінің өршуі

мен қарқынды таралуының басты себептері адамдардың салауатты өмір салтын ұстанбауы, тамақтану мәдениетінің төмендігі, урбанизация және халықтың қартаюы болып табылады [1].

Соңғы жылдары бірқатар шетел және ТМД елдерінде қантты және оны алмастырғыш тәтті синтетикалық қосылыстарды табиғи тәтті және төмен калориялы заттармен алмастыру проблемасына аса назар аударылуда. Осының негізінде дитерпенді гликозидтерге өте бай стевия (*Stevia rebaudiana Bertoni*) өсімдігіне аса назар аударылып, бірқатар елдерде ауыл шаруашылық дақыл ретінде стевияны көп мөлшерде өсіріп, өндіру жұмыстары алға басты [2-7].

Қазақстан үшін стевия жаңа әрі құнды культура. Стевия жылу сүйгіш өсімдік болғандықтан, Қазақстанның қысқы суығына төзімсіз әрі дәні нашар жетіліп, өнуге бейімсіз келеді. Осы себептерге байланысты стевияны қысқа мерзім ішінде вегетативті жолмен көбейту әдістерін жасау және оларды өндіріс саласына өндіру өзекті мәселелердің бірі болып табылады.

Отандық ішкі саудада стевия және одан алынатын өнімдер жоқтың қасы, себебі Республика тұрғындарының табиғи қант алмастырғыштың қайнар көзі – стевия туралы толық мәліметтермен жеткілікті ақпараттанбауына байланысты. Халықаралық саудада стевияның құрғақ жапырағы 1 кг 340 доллар теңге, 1 кг сұйық концентрат – 306 доллар, 1 кг концентрлі экстракт таблетка түрінде – 4990 доллар тұрады [8]. Әрине, бұл баға Қазақстандағы науқастар үшін қалта көтермейді. Ал егер стевияны Отанымызда өсіріп, өнім алу дұрыс жолға қойылса, стевияның құны анағұрлым төмендейді, яғни оның құрғақ жапырағының 1 кг-ы 30 мың теңгені құрайды.

Зерттеу мақсаты: Қазақстан Республикасының өндіріс саласына табиғи қант алмастырғыш көзі – стевия өсімдігін өндіру үшін биотехнологиялық көбейту әдістерін жетілдіру.

Зерттеу материалдары және әдістері

Зерттеу объектілері: жергілікті экологиялық жағдайда (ҚазҰУ агробиологиялық станциясында) өсірілген стевия өсімдіктерінен жиналған тұқымдар және Ресейден әкелінген стевия тұқымдары.

Әдістеме. Стевияны *in vitro* жағдайында микроклондық жолмен көбейту Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкаяның әдістемелері негізінде жүргізілді.

Зерттеу материалдарын залалсыздандыру

тәртібі: сабынды сумен 30 минут жуу; ағынды сумен сабыны кеткенше шаю, KMnO_4 – әлсіз ерітіндісімен 15 минут өңдеу; дистильденген сумен 3 рет 5 минуттан шаю; 2,6 % – натрий гипохлорид ерітіндісімен 15 минут өңдеу, дистильденген сумен 4-5 рет шаю.

Тұқымдар гормонсыз 1/10 МС ортасына отырғызылды. Тұқымдарды өндіру температурасы – $25 \pm 2^\circ\text{C}$, қараңғы камерада жүргізілді. Өнген тұқымдар температурасы – $25 \pm 2^\circ\text{C}$, жарық фактостат бөлмеге ауыстырылды. Тұқымнан 3-4 апта бойы жақсы дамып өскен (10-15 см) стевия регенеранттарын қайтара қалемшелеп, 1/2 МС ортасына көшірдік. Микроқалемшелерді тамырландыру гормонсыз және 0,1 мг/л НСК қосылған МС қоректік орталарында жүргізілді.

In vitro жағдайында өсірілген зерттеу объектілері температурасы $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 16 сағаттық фотопериодтық жарық камерада өсірілді. Ауаның ылғалдылығы 55-60 % болды.

Зерттеу жұмысы нәтижесінде алынған мәліметтер Н.Л. Удольскаяның (176) [9], Г.Ф. Лакиннің (1990) [10] әдістемелері бойынша статистикалық өңдеуден өткізілді.

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Қазақстан үшін стевия (*Stevia rebaudiana Bertoni*) жаңа әрі құнды культура. Республикамыздың табиғи экологиялық жағдайында стевияны тұқыммен көбейту үлкен қиындықтар тудырады. Себебі стевия жылу сүйгіш өсімдік болғандықтан, Қазақстанның қысқы суығына төзімсіз әрі дәні нашар жетіліп, өнуге бейімсіз келеді. Бұл проблеманы шешудің бірден бір жолы *in vitro* жағдайында стевия тұқымдарынан регенерант өсімдіктер алу болып табылады.

Біздің жүргізген бақылау жұмыстарында дала жағдайында өсірілген стевияның қарқынды гүлдеуі тамыздың соңғы күндерінен бастап қарашаның аяғына дейін жалғасты. Қыркүйек айының соңында кейбір гүл бүршіктерінде гүл күлтелері мен тостағаншалары сарғайып, біртіндеп қоңырқай рең тартатыны (1-сурет) және осындай гүл бүршіктерінде тұқымдардың іріленіп, кара-қоңыр түске боялатыны, тұқымның бетінде 5-6 вертикалды ашық-қоңыр жолақтардың айқын көрінуі, сондай-ақ тұқымдар ұшындағы түкті айдаршалары қатайып, гүл бүршігінен оңай ажырайтыны байқалды (2-сурет). Табиғатта түкті айдаршалар өсімдіктің желмен таралуын қамтамасыз ететіні белгілі.



1-сурет – Стевия өсімдігінің гүлдеуі



2-сурет – Стевия тұқымдары

Осындай тұқымдарды *in vitro* жағдайында өсіру арқылы толыққанды регенерант – өсімдік алу мүмкіндігін қарастыру мақсатында тәжірибе жұмыстарын жүргіздік.

Тәжірибеге жергілікті экологиялық жағдайда (ҚазҰУ агробиологиялық станциясында) 3-жыл бойы өсірілген стевия тұқымдары мен Ресейден әкелінген (плазмалық өңдеуден өткізілген ООО «Агроника» және өңдеуден өткізілмеген ООО «Семена НК») стевия тұқымдары қолданылды.

Зерттеу нәтижесінде, тұқымдардың өну белсенділігі олардың шығу тегі мен өсіру жағдайларына, өңдеуге байланысты ерекшеленді (1-кесте). Мәселен, жергілікті экологиялық жағдайға бейімделген стевия тұқымдарының өну белсенділігі Ресейден әкелінген тұқымдарға қарағанда едәуір жоғары көрсеткішке ие болды. Ал соңғыларын өзара салыстырғанда, плазмалық өңдеуден өткізілген тұқымдарға қарағанда өңделмеген тұқымдардың өну қарқыны анағұрлым жоғары болатыны байқалды.

1-кесте – Стевия тұқымдарының *in vitro* жағдайында өну белсенділігі

Вариант	өну белсенділігі, %	
	5-тәулік	10-тәулік
Жергілікті жағдайға бейімделген стевия тұқымдары (ҚазҰУ агробиологиялық станциясы)	68 ± 0,9 %	95 ± 1,5 %
Плазмалық өңдеуден өткізілген тұқымдар (Ресей)	0,9 ± 0,02 %	0,9 ± 0,02 %
Өңдеуден өткізілмеген тұқымдар (Ресей)	15 ± 0,3 %	30 ± 0,5 %

Тұқымдарды өсірудің 7-күні жергілікті климаттық жағдайға бейімделген өсімдік тұқымдарының жаппай өніп-өсуінің нәтижесінде тамырлары мен жапырақтары жақсы дамыған 2-3 буынды өскіндер қалыптасты.

Сондай-ақ алдыңғы қарастырылған вариантпен (жергілікті) салыстырғанда Ресейден әке-

лінген, өңделмеген (ООО «Семена НК») тұқымдардың өну белсенділігі бастапқыда едәуір төмен болғанымен, өсу қарқыны жағынан алғашқы варианттан қалыспады. Яғни өсірудің 14-күні соңғы екі вариантта тамырлары мен жапырақтары жақсы жетілген 4-5 буынды өскіндер қалыптасты (3-сурет).



3-сурет – Стевия регенеранттары, 14-тәулік

Өсірудің 4-апта соңында, барлық варианттарда стевия регенеранттары толығымен жетіліп өсті (2-кесте).

2-кесте – Стевия регенеранттарының өсіп-даму белсенділігі

Вариант	Өсімдік ұзындығы, см	Буын саны	Жапырақ ауданы, см ²	Тамыр ұзындығы, см
Жергілікті бейімделген стевия жағдайға тұқымдары (ҚазҰУ агробиологиялық станциясы)	14-15	6-7	0,8-1,5	1,6-4,5
Өңдеуден өткізілмеген тұқымдар (Ресей)	10-12	5-6	0,7-1,2	1,2-3,0

Стевияның көбейту коэффициентін жоғарылату мақсатында стевия регенеранттарын құрамында 0,01% НСҚ қосылған ½ МС ортасына қайтара қалемшеледік. Нәтижесінде 4-апта соңында 150 тұқымнан 1000-ға жуық регенерант – өсімдіктер қалыптасты.

Қорыта айтқанда, республикамыздың табиғи экологиялық жағдайларына бейімделген стевия тұқымдарының өну потенциалы Ресейден әкелінген тұқымдарға қарағанда едәуір жоғары болатыны байқалды. Тұқымдардың өну белсенділігіне тұқым ұшындағы түкті айдарша-

лардың да белгілі бір маңызды рөл атқаратындығы туралы болжам жасалды. Себебі Ресейден әкелінген тұқымдардың барлығында тұқым ұшындағы түкті айдаршалар мүлдем болмады. Бұл тұқымдарды саудаға дайындау барысында белгілі бір әдістермен (плазмалық өңдеу) өңделетіндіктен, түкті айдаршалардың зақымданып, қырқылғандығымен немесе мақсатты түрде түкті айдаршалардан тазартылғандығымен түсіндіруге болады. Осы жағдай тұқымдардың өну белсенділігін едәуір төмендетуі мүмкін деген болжам жасадық.

Тұқымдарды *in vitro* жағдайында өсіру арқылы 2 ай ішінде 150 тұқымнан шамамен 1000-нан астам стевия регенеранттарын өсіріп алуға болатыны тәжірибе жүзінде дәлелденді. Бұл Республикамыздың экологиялық жағдайында стевияны тұқыммен көбейтуде туындайтын бірқатар проблемаларды жеңіп, стевияны жап-

пай көбейтудің тиімді әдістерінің бірі екенін айқындайды. Сондай-ақ басқа мемлекеттерден стевия тұқымдарын сатып алудан гөрі (1-тұқым 27-35 тг), жергілікті жағдайға бейімделген стевия тұқымдарын кеңінен қолдануға болатындығын және экономикалық тұрғыдан әлде қайда ұтымды әрі тиімді болатындығын көрсетеді.

Әдебиеттер

- 1 Асрандина С.Ш., Самбетова А., Кенжебаева С.С. Қазақстанда стевия өсімдігін интродукциялау // ҚазҰУ хабаршысы. Биология сериясы. – 2010. – №3(4), – С. 106-110.
- 2 Brendle J.E., Rosa N. Heritability for yield, leaf: stem ratio and stevioside content estimated from a landrace cultivar of *Stevia rebaudiana* // Canadian Journal of Plant Science. – 1992. – Vol.72. – P.1263-1266.
- 3 Brendle J.E., Starrat A.N., Gijzen M.N. *Stevia rebaudiana*: It's agricultural, biological and chemical properties // Canadian journal of Plant Science. – 1998. – Vol.78. №4. – P. 527 – 536.
- 4 Smith S., Stabin V. Separation of natural product sweetening agents using overdressed layer chromatography // South African Journal of Science. – 1992. – Vol.88. – P. 206.
- 5 Wolwer-Riech U The leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni), their constituents and the analyses thereof: a review // J. Agric. Food Chem. – 2012 – Vol. 1. 60(4). – P. 886-95.
- 6 Hossain M.A., Shamim Kabir A.H.M., Jahan T.A., Hasan M.N. Micropropagation of stevia // Int. J. Sustain. Crop Prod. – 2008, – Vol. 3(4). – P. 1-9.
- 7 Mehta J., Sain M., Sharma D.R., Gehlot P., Sharma P., Dhaker J.K. Micropropagation of an Anti diabetic Plant – *Stevia rebaudiana* Bertoni, (Natural Sweetener) in Hadoti Region of South-East Rajasthan, India // Journal of Biological Sciences. – 2012, – Vol. 1(3). – P. 37-42.
- 8 Семенова Н.А. Растение XXI века. СПб.: Издательство «ДИЛЯ», 2004. – 160 с.
- 9 Удольская Н.Л. Введение в биометрию. – Алма-Ата: «Конжык». – 1976. – 72 с.
- 10 Лакин. Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.