

Mehmed, A. and Uchkunov, V., 2016. Analysis of quantitative indicators with stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Rastenievadni nauki (Bulgarian Journal of Crop Science)*, 53(5-6), pp. 90–95 (Bg)

Анализ на количествени показатели при стевия (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Ахмед Мехмед*, Веселин Учкунув

Земеделски институт – Шумен

*E-mail: ahmed_dm82@abv.bg

Резюме

През 2013-2014 г. в Земеделски институт – Шумен е изследвана генетическата близост и отдалеченост на генотипове стевия с цел използването им в селекцията. Използваният селекционен материал е разсад с височина 10-12 cm, на възраст около 40-45 дни, получен и произведен чрез *in vitro* микроразмножаване в лабораторията по тъканни култури на института. Според резултатите от проведения кълъстерен анализ, изследваните образци 7E и 210/2 са подходящи за създаване на генотипове с високо съдържание на ребаудизид А. Генотиповете 1E и 10E могат да се включат в селекционно направление като носители на гени за високо съдържание на стевииозид. Генотиповете 4E и №1 съчетават в себе си високо съдържание на стевииозид и ребаудизид А.

Ключови думи: стевия, стевииозид, ребаудизид А, селекция

Analysis of quantitative indicators with stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Ahmed Mehmed*, Veselin Uchkunov

Agricultural Institute of Shumen, 9700 Shumen, Bulgaria

*E-mail: ahmed_dm82@abv.bg

Abstract

Genetic closeness and distance between genotypes stevia have been determined to be used in the breeding programmes of the Agricultural Institute of Shumen. The breeding materials were seedlings obtained by *in vitro* micropropagation. According to the results of the cluster analysis, the accessions 7E and 210/2 are suitable for inclusion in selection programs to create genotypes with high content of rebaudiside A. The 1E and 10E genotypes are carriers of genes for high content of stevioside. The 4E and №1 genotypes combine high content of stevioside and rebaudiside A.

Key words: stevia, stevioside, rebaudiside A, selection

Понастоящем стевията (*Stevia rebaudiana* B.) остава естествен заместител на захарта и много страни провеждат собствени изследвания и разработки с цел усъвършенстване на методиката за извличане на сладките вещества и технологията на отглеждане (Акатов, 2004; Божимиров и Славова, 2011; Voileau et al., 2012).

В световен мащаб съществуват над 300 разновидности на растението стевия. Това богатство от генетичен материал дава възможност по пътя на селекцията да се създават сортове, които са приспособими към различни агро-климатични условия, а също така и устойчиви на най-разпространените болести по стевията (Morita et al., 2009).

В селекционното отношение най-важната задача на първо време е стевията да се превърне от диво растение в култура, подходяща за агротехника. Селекционните програми имат за цел оптимизиране съдържанието на гликозиди, повишаване на добива суха листна маса и устойчивостта на болести (Танова, 2008; Ceunen and Geuns, 2013). Голямата генетична вариабилност на потомството от семена е основа за обогатяване на генофонда за избор на форми с висока продуктивност и съдържание на стевозириди (Kikindonov, 2013). Използването на семена за размножаване на стевията при наши условия е лимитиращ фактор за реалното навлизане на тази перспективна култура в практиката (Кикиндонов и Енчев, 2012). Във Воронежкия аграрен институт на Русия Верзилина и Филатов (2005) изучават морфологичните особености на диплоидни, триплоидни и тетраплоидни генотипове стевия. Авторите не намират статистически достоверна разлика при проучваните генотипове стевия.

Целта на изследването е да се установи генетическата близост и отдалеченост на изследваните генотипове стевия с цел използването им в селекцията.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследването е проведено през 2013-2014 г. в опитното поле на Земеделски институт – Шумен.

Използвани са генотипове стевия от генофонда на института, с източници от Япония и САЩ, както и генотипове от селекционната програма на ЗИ Шумен - продукти на соматично варирание в *in vitro* култура, индивидуален и клонов отбор. Използваният селекционен материал е разсад с височина 10-12 cm, на възраст около 40-45 дни. Разсадът е получен и произведен чрез *in vitro* микроразмножаване в лабораторията по тъканни култури на института.

Опитът е заложен по метода на латински правоъгълник в 4 повторения по 16 варианта, като за варианти са използвани различните клонове на наличния генофонд. Рандомизацията на опита е съгласно съществуващата литература (Шанин, 1977). От всеки вариант във всяко повторение са засадени по 10 растения.

Проучвани са признаците на всяко растение поотделно: общо тегло в g, тегло свежа листна маса в g, тегло суха листна маса в g, рандеман в %, височина на растенията в cm, съдържание на стевозирид в mg/100 g суха листна маса, съдържание на ребаудизид А в mg/100 g суха листна маса, съдържание на общо количество сладки вещества в mg/100 g суха листна маса и нападение от болестта *Alternaria alternata* ssp. *steviae* в брой растения за всеки вариант.

За оценка на генетичното разнообразие и сходство между генотиповете, които се основават на различни стопански количествени и качествени признаци, един от най-често прилаганите методи е клъстерният анализ. За диференциране и идентифициране на генотиповете е използван клъстерният анализ. Необходимо е да се отбележи, че при задаване на данните за анализ не се посочва в колко клъстера трябва да бъдат групирани.

Получените резултати от проведения опит са обработени статистически чрез програмен продукт STATSOFT Satistics. Клъстерният анализ за групиране на популациите по проучваните признаци е проведен чрез Multivariate exploratory techniques - Cluster analysis - Euclidean distances.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

На Таблица 1 са представени данните, получени от проведеното изпитване на генотиповете, участвали в изследването. Стойностите, дадени в таблицата, са осреднените резултати за едно растение за всеки генотип от четирите повторения, а в графата „Болни растения” е посочен общият брой на болните растения за четирите повторения на съответния генотип. Резултатите са показателни както за голямо варирание на изследваните показатели при отделните генотипове, така и за приблизителни стойности на някои генотипове. Получените стойности за отделните генотипове стевия са използвани за статистическо обработване на данните в клъстерния анализ за построяването на дендограмите.

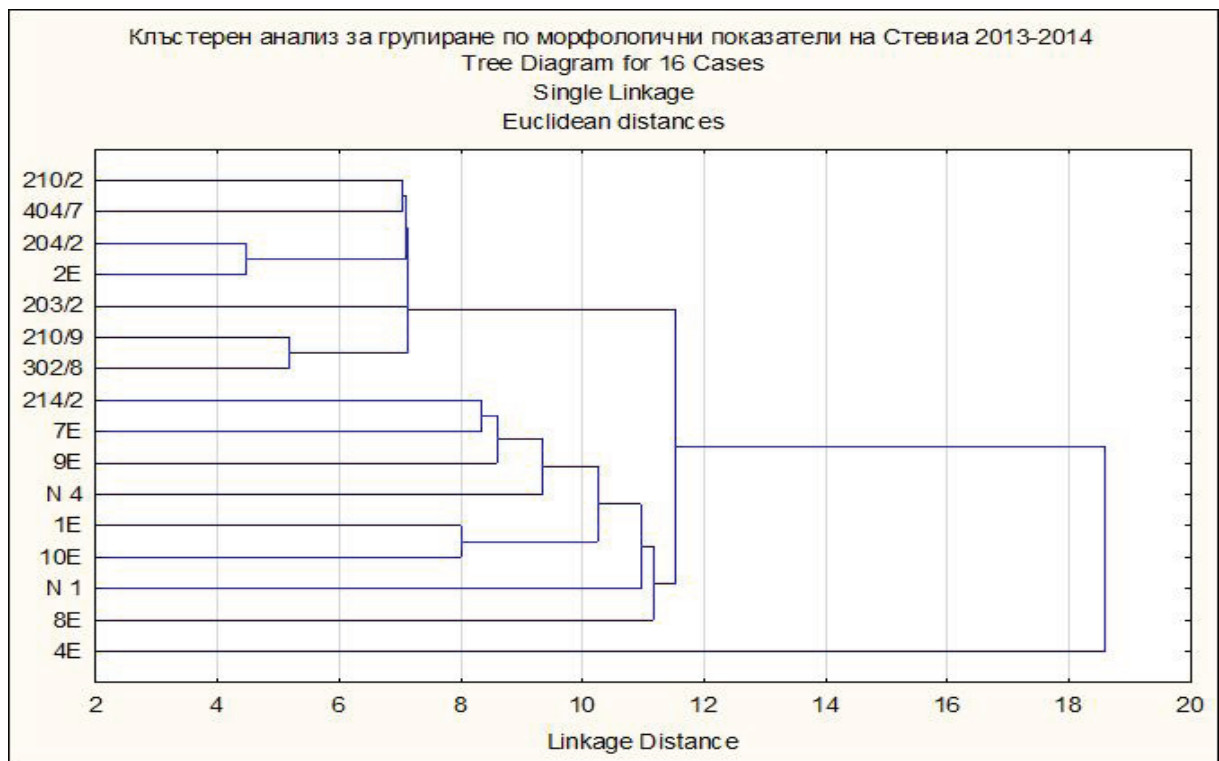
На Фигура 1 са представени резултатите от проведения клъстерен анализ на основните морфологични показатели, които включват: общо тегло в g, тегло свежа листна маса в g, тегло суха листна маса в g, рандеман в %, височина

Таблица 1. Морфолого-биологични показатели на изследваните генотипове стевия**Table 1.** Morphological and biological indicators of studied stevia genotypes

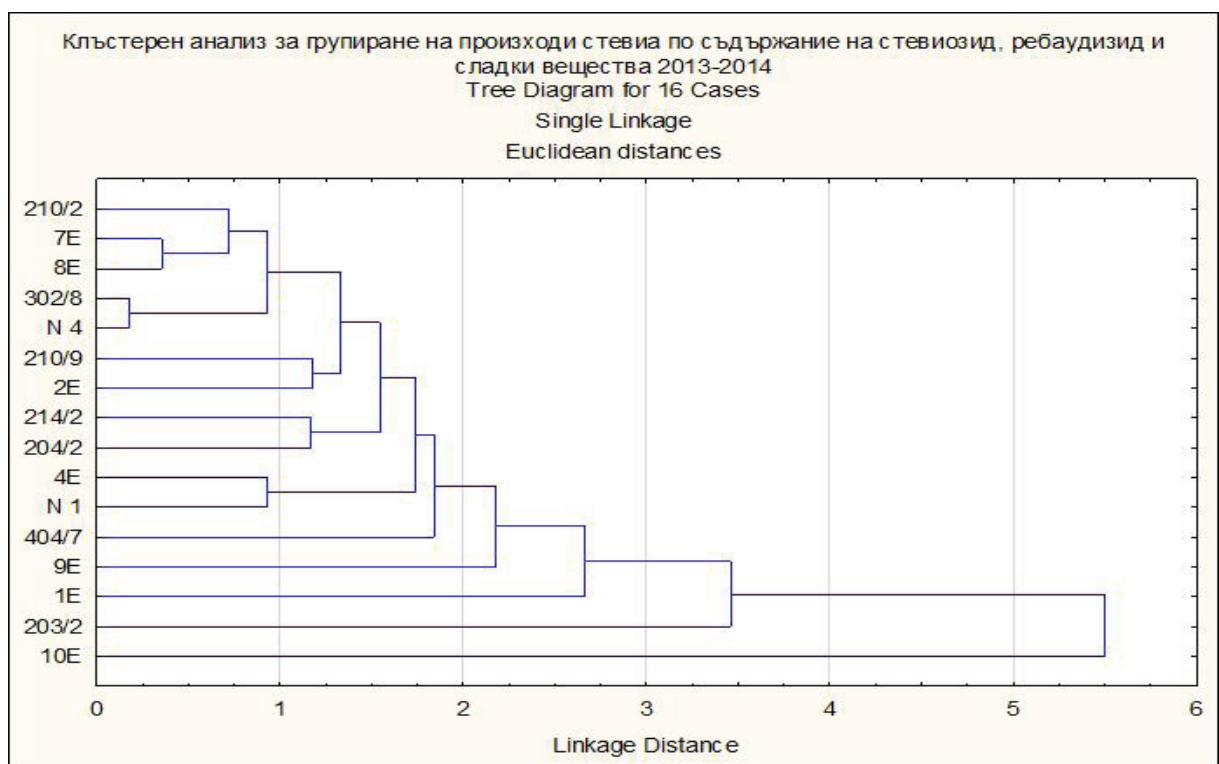
Генотип Genotype	Общо тегло/ Overall weight	Свежи листа / Fresh leaves	Суши листа / Dry leaves	Рандеман / Yield	Височина на растенията / Plant height	Съдържание на стевиозид / Content of stevioside	Съдържание на ребауди- зид А / Content of rebaudiside A	Болни растения / Diseased plants
	<i>g</i>	<i>g</i>	<i>g</i>	%	<i>cm</i>	<i>mg/g</i>	<i>mg/g</i>	<i>бр.</i>
210/2	187,1	97,7	30,7	16,4	51,0	8,6	6,8	10,0
210/9	184,3	102,1	32,2	17,5	55,3	7,6	5,3	3,0
203/2	195,8	98,9	32,3	16,5	61,0	8,2	2,0	5,0
404/7	192,6	97,2	30,4	15,8	54,8	10,5	3,8	15,5
214/2	214,6	111,7	35,0	16,3	65,1	9,9	5,7	3,5
302/8	180,4	100,2	31,4	17,4	53,5	8,6	5,2	7,5
204/2	190,0	97,2	32,2	17,0	59,6	9,9	5,5	7,5
1E	208,6	102,6	33,3	16,0	55,7	11,5	1,6	11,0
3E	189,5	95,2	30,8	16,3	61,7	8,4	4,8	5,0
4E	244,5	111,6	35,7	14,6	61,3	10,4	6,6	15,0
7E	221,6	109,3	34,0	15,3	62,0	8,2	6,1	2,5
8E	200,4	107,9	35,9	17,9	62,0	8,0	6,4	3,5
9E	223,8	116,9	36,2	16,2	64,0	9,7	9,1	1,5
10E	209,4	105,0	35,3	16,9	60,1	14,7	3,1	4,5
№1	211,9	117,9	37,3	17,6	58,7	10,2	7,3	5,0
№4	228,2	116,2	37,1	16,2	68,1	8,5	5,3	5,0
Средно Mean	205,2	105,5	33,7	16,5	59,6	9,5	5,3	6,6

на на растенията в см. От дендограмата е видно, че са формирани общо три клъстера. В 1-вата група са генотиповете, които притежават относително изравнена продуктивност и по-ниска височина на растенията. Във 2-та група водещи са генотиповете 7E, 9E и 214/2, които се характеризират с добра продуктивност по отношение на показателите тегло на свежи и тегло на сухи листа. Характерно за групата е, че евклидовото разстояние е много малко. В третия клъстер попадат генотип 4E с най-високо общо тегло, генотип 8E с най-висок рандеман и генотип №1, които съчетават високо общо тегло и много добър добив от свежи и сухи листа. Това са генотиповете, притежаващи много добри стопански качества и експресия на гени за проявление на тези показатели.

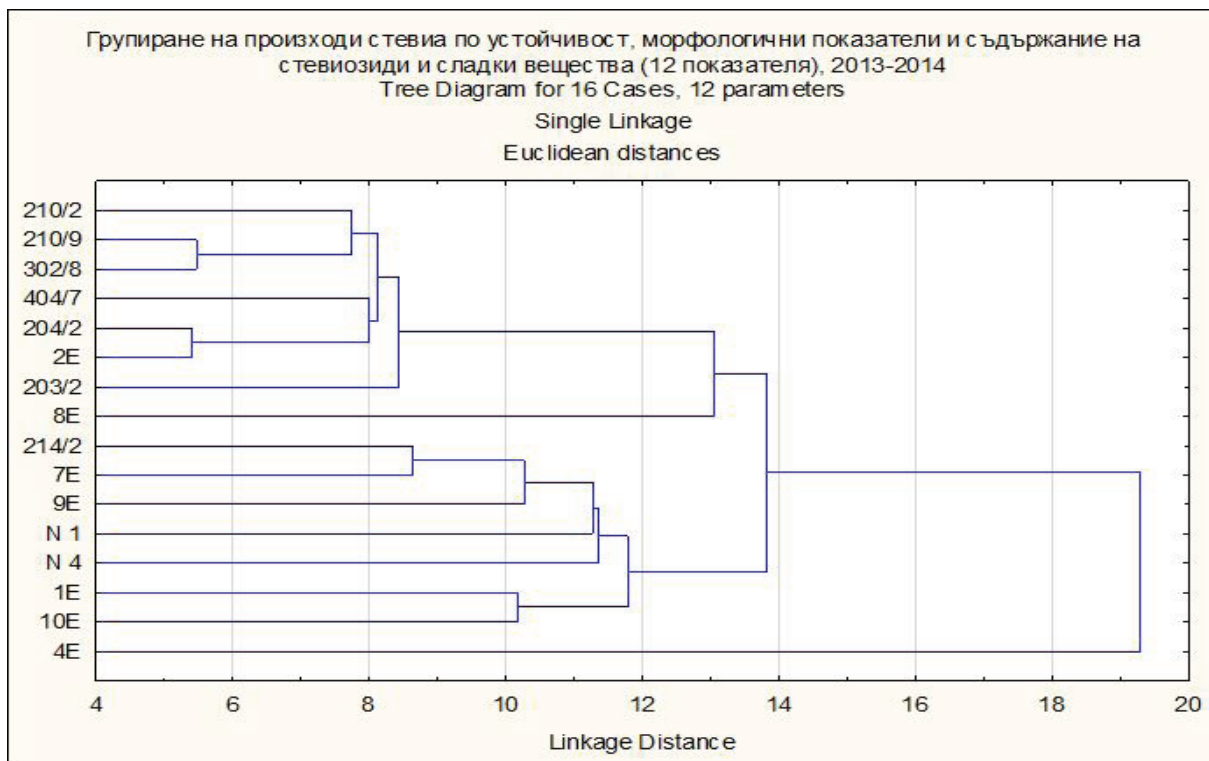
На Фигура 2 е показан клъстерният анализ за групиране на генотиповете по съдържание на сладки вещества (стевиозид, ребаудизид А и общо количество сладки вещества в mg/100 g суха листна маса). От прегледа на данните се вижда, че групирането е на различно ниво. Получените резултати от този клъстерен анализ дават основание да се направи предварителния извод, че различните генотипове могат да се включат в различни селекционни програми. Така например 7E и 210/2 могат да се включат в програми за създаване на генотипове с високо съдържание на ребаудизид А. Генотиповете 1E и 10E могат да се използват за създаването на генотипове с много високо съдържание на стевиозид. Тези генотипове са на достатъчно евклидово разстояние от генотиповете 4E и №1,



Фигура 1. Клъстерен анализ за групиране на генотиповете стевия по морфологични показатели
Figure 1. Cluster analysis for grouping stevia genotypes by morphological indicators



Фигура 2. Клъстерен анализ за групиране на генотипове стевия по съдържание на стевизиод, ребаудизиод А и общо количество сладки вещества
Figure 2. Cluster analysis for grouping stevia genotypes by contents of stevioside, rebaudioside A and total quantity sweet substances



Фигура 3. Клъстерен анализ за групиране на генотиповете стевия по устойчивост, тегловни и морфологични показатели и съдържание на сладки вещества

Figure 3. Cluster analysis for grouping stevia genotypes by sustainability, weight morphological indicators and contents of sweet substances

които съчетават в себе си високо съдържание на стевииозид, ребаудизид А и общо количество сладки вещества.

На Фигура 3 са посочени данните от клъстерния анализ за групиране на генотиповете стевия по морфологични показатели, съдържание на сладки вещества и устойчивост към болестта *Alternaria alternata*. От данните е видно, че генотиповете 210/2, 210/9 и 302/8 имат сходство по изучаваните показатели. На най-голямо евклидово разстояние са генотиповете 1E, 10E и 4E. Същественото за тези генотипове е, че притежават гени за относително висок добив и добро съдържание на сладки вещества. Генотипът 4E в селекционно отношение е значим основно по това, че притежава свойства за високо общо тегло, високо съдържание на стевииозид, ребаудизид А и общо количество сладки вещества.

ИЗВОДИ

➤ Селекционните материали 7E и 210/2 са подходящи за включване в програми за създаване на генотипове с високо съдържание на ребаудизид А.

➤ Генотиповете 1E и 10E могат да се включат в селекционно направление като носители на гени за високо съдържание на стевииозид.

➤ Генотиповете 4E и №1 съчетават в себе си високо съдържание на стевииозид, ребаудизид А и общо количество сладки вещества, което дава възможност за успешното им използване в селекцията.

➤ В селекционното направление за устойчивост към *Alternaria alternata* ssp. *steviae* могат да се включат генотиповете 210/9, 3E и №1, които са на най-голямо евклидово разстояние от останалите генотипове.

ЛИТЕРАТУРА

- Акатов, П.М.**, 2004. Перспективы внедрения сахароносной культуры – стевии. *Растениеводство (биологические основы)*, 2004, N 2.
- Божимиров, С., Славова, Й.**, 2011. Изследвания върху получаването и прорастването на семена от *Stevia rebaudiana* B. в условията на България. *Растениевъдни науки*, 48(4), с. 330-333.
- Верзилина, Н.Д., Филатов, Г.В.**, 2005. Особенности ростовых процессов стевии, обусловленные пloidностью. *Докл. Рос. акад. с.-х. наук*, 3, с. 44-46.
- Кикиндонов, Ц., Енчев, С.**, 2012. Оценка за кълняемост на семената от произходи стевия. *Селскостопанска наука*, 45(3), с. 18-23.
- Танова, К.**, 2008. Вредност на някоя болести по листа на захарното цвекло. *Растениевъдни науки*, 45(3), с. 195-198.
- Шанин, Й.**, 1977. Методика на полския опит. Земиздат, София.
- Boileau, A., Fry, J.C. and Murray, R.**, 2012. A new calorie-free sugar substitute from the leaf of the stevia plant arrives in the UK. *Nutrition Bulletin*, 37(1), pp. 47-50.
- Ceunen, S. and Geuns, J.M.**, 2013. Spatio-temporal variation of the diterpene steviol in *Stevia rebaudiana* grown under different photoperiods. *Phytochemistry*, 89, pp. 32-38.
- Kikindonov, Tz.**, 2013. Assessment of initial material for stevia (*Stevia rebaudiana* B.) breeding. *Agricultural Science and Technology*, 5(1), pp. 22-24.
- Morita, T., Morita, K. and Koichiro, K.**, 2009. Variety of *Stevia rebaudiana* Bertoni with a high content of Rebaudioside A plant. *Publication No: US, 214753*, A1. United States patent application publication.