

УДК 581.45:582.998

<https://doi.org/10.24959/ubphj.17.119>Н. А. Гудзь¹, С. М. МАРЧИШИН¹, Л. М. СИРА², О. Л. ДЕМИДЯК¹¹ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»²Національний фармацевтичний університет

МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛИСТКІВ СТЕВІЇ (*STEVIA REBAUDIANA* (BERTONI) HEMSLEY)

Актуальність. Стевія медоносна – *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley – багаторічна трав'яниста рослина, яка походить з Парагваю та Південної Бразилії. В Україні рослина культивується. Стевія – натуральний низькокалорійний заміник цукру з широким спектром лікувально-профілактичних властивостей. Її використовують як гіпоглікемічний, антиканцерогенний, антиоксидантний, бактерицидний, противірусний, протизапальний та антигіпертензивний засіб.

Мета роботи. Метою наших досліджень було проведення аналізу морфолого-анатомічної будови листків стевії медоносної.

Матеріали та методи. Листки стевії заготовляли на науково-дослідній ділянці відділу культурної флори Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України під час масового цвітіння рослини у 2016 році. Виготовлення мікропрепаратів проводили за загальноприйнятими методами. Використовували мікроскоп МС 10 (окуляри X5, X10, 15, об'єктиви X10, X40). Мікрофотографії зроблені фотокамерою Samsung PL50. Проаналізовані препарати епідерми з поверхні (край, середня частина верхніх і нижніх боків листкової пластинки, її поперечний зріз), поперечні зрізи черешка.

Результати та їх обговорення. Морфологічна будова. Листки супротивні, короткочерешкові без прилистків, ланцето- або яйцеподібні з пилчастим краєм, дещо загорнутим донизу. Жилкування перисто-сітчасте. Листок опушений, рясніше на нижньому боці, над жилками та по краю листкової пластинки. Більше опушені листки верхівкової формації рослини. Колір листкової пластинки зверху зелений, знизу – дещо світліший. Смак солодкий, пряний з дещо гіркуватим присмаком. Запах приємний, ароматний. **Мікроскопічний аналіз.** Епідерма листкової пластинки з багатоклітинними покривними волосками та залозками. Клітини верхньої епідерми з тонкими звивистими стінками, продихів небагато, анізоцитного типу. Багато простих волосків різної товщини і довжини. Клітини нижньої епідерми звивисті з штрихуватою кутикулою, багато продихів. Анатомічна будова пластинки амфістоматична, дорзовентральна. На поперечних зрізах черешок овальний з незначною виїмкою з адаксіального боку та з маленькими бічними крильцями. Основну площу черешка займає паренхіма. Провідну систему черешка складає 5 округлих провідних пучків: один центральний, 2 бічних приблизно такого ж розміру та 2 дрібних, розташованих ближче до крилець черешка. Пучки колатеральні з невеликою ділянкою дрібноклітинної флоєми без механічних елементів. Епідерма черешка з волосками і залозками.

Висновки. На основі макро- і мікроскопічного аналізу встановлені основні діагностичні морфологічні та анатомічні ознаки листків стевії медоносної, які використані при складанні проекту методик контролю якості (МКЯ) на нову лікарську рослину сировину «Стевія листки».

Ключові слова: стевія медоносна; морфолого-анатомічний аналіз; листки

N. Hudz, S. Marchyshyn, L. Sira, O. Demydiak

Morphological and anatomical study of stevia leaves (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley)

Topicality. *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley is a perennial plant that originates from Paraguay and southern Brazil. In Ukraine the plant is cultivated. Stevia is a natural low-calorie sweetener with a wide range of health care properties. It is used as a hypoglycemic, anticarcinogenic, antioxidant, bactericidal, antiviral, anti-inflammatory and antihypertensive agent.

Aim. The aim of our study was to analyse the morphological and anatomical structure of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley leaves.

Materials and methods. Stevia leaves were harvested on the research area of the cultural flora department of M. M. Gryshko National botanical garden NAS of Ukraine during the mass blossoming of plants in 2016. Specimens production was carried out by conventional methods. We used a microscope MC 10 (glasses X5, X10, 15, lenses X10, X40). Photomicrographs were made with a camera Samsung PL50. We analysed the agents of epidermis from the surface (edge, the middle of the upper and lower sides of the leaf blade, its cross cut), cross cuts of a petiole.

Results and discussion. Morphological structure: leaves are opposite, short, without stipules, lanceolate or ovoid, with a serrated edge, gently wrapped down. Reticulated nervation. The leaf is more pubescent on the lower side, over the nerves and along the edge of the leaf blade. The leaves are more pubescent on the top of the plant. The colour of the leaf blade on top is green and on bottom is a little lighter. The taste is sweet, spicy with a slightly bitter aftertaste. The smell is pleasant, fragrant. Microscopic analysis: epidermis of a leaf blade is covered with multicellular hairs and glands. The cells of the upper epidermis are with thin, sinuous walls, few stomata, anisocytic type. Many simple hairs of different thickness and length. The cells of the lower epidermis have sinuous walls and stroke cuticle, many stomata. The **anatomical structure** of the blade is amfistomatic, dorsiventral. On cross cuts the petiole is oval, with a small notch on the adaxial side and with small side wings. The main area of the petiole takes parenchyma. The leading system of the petiole consists of five rounded vascular bundles: one central, two lateral of about the same size and two small, located closer to the wings of the petiole. Bundles are collateral, with a small area of the phloem, small, without the mechanical elements. The epidermis of a petiole is with hairs and glands.

Conclusions. The main morphological and anatomical characteristics of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley leaves were found on the basis of macro and microscopic analysis, that were used during the drafting of the quality control methods project on a new herb "Stevia leaves".

Key words: *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley; morphological and anatomical analysis; leaves

Н. А. Гудзь, С. М. Марчишин, Л. М. Серая, О. Л. Демидяк
Морфолого-анатомическое исследование листьев стевии (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley)

Актуальность. Стевия медоносная – *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley – многолетнее травянистое растение, которое происходит из Парагвая и Южной Бразилии. В Украине растение культивируется. Стевия – натуральный низкокалорийный заменитель сахара с широким спектром лечебно-профилактических свойств. Ее используют как гипогликемическое, антиканцерогенное, антиоксидантное, бактерицидное, противовирусное, противовоспалительное и гипотензивное средство.

Цель работы. Целью наших исследований было проведение анализа морфолого-анатомического строения листьев стевии медоносной.

Материалы и методы. Листья стевии заготавливали на научно-опытном участке отдела культурной флоры Национального ботанического сада имени Н. Н. Гришко НАН Украины во время массового цветения растения в 2016 году. Изготовление микропрепаратов проводили по общепринятым методам. Использовали микроскоп МС 10 (очки X5, X10, 15, объективы X10, X40). Микрофотографии сделаны фотокамерой Samsung PL50. Проанализированы препараты эпидермиса с поверхности (край, средняя часть верхней и нижней сторон листовой пластинки, ее поперечный срез), поперечные срезы черешка.

Результаты и их обсуждение. Морфологическое строение. Листья супротивные короткочерешковые, без прилистников, ланцето- или яйцевидные с пильчатым, слегка завернутым вниз краем. Жилкование перисто-сетчатое. Лист опушенный, обильно на нижней стороне, над жилками и по краю листовой пластинки. Более опушены листья верховой формации растения. Цвет листовой пластинки сверху зеленый, снизу – несколько светлее. Вкус сладкий, пряный с несколько горьковатым привкусом. Запах приятный, ароматный. **Микроскопический анализ.** Эпидермис листовой пластинки с многоклеточными покровными волосками и железками. Клетки верхнего эпидермиса с тонкими, извилистыми стенками, устьиц немного анизоцитного типа. Много простых волосков разной толщины и длины. Клетки нижнего эпидермиса с извилистыми стенками и штриховатой кутикулой, устьиц много. Анатомическое строение пластинки амфистоматическое, дорзовентральное. На поперечных срезах черешок овальный, с незначительной выемкой с адаксиальной стороны и маленькими боковыми крылышками. Основную часть черешка занимает паренхима. Проводящую систему черешка составляет 5 округлых проводящих пучков: один центральный, 2 боковых примерно такого же размера и 2 мелких, расположенных ближе к крылышкам черешка. Пучки коллатеральные с небольшим участком мелкоклеточной флоэмы без механических элементов. Эпидермис черешка с волосками и железками.

Выводы. На основе макро- и микроскопического анализа установлены основные диагностические морфологические и анатомические признаки листьев стевии медоносной, которые использованы при составлении проекта методик контроля качества (МКЯ) на новое лекарственное растительное сырье «Стевии листья».

Ключевые слова: стевия медоносная; морфолого-анатомический анализ; листья

ВСТУП

Стевія – один з родів родини айстрових (*Asteraceae*), представлений у світовій флорі травами і чагарниками. Відомо близько 240 видів стевії. Походить рід Стевія з субтропічних та тропічних областей Північної та Південної Америки.

Стевія медоносна (с. медова, с. листовая) – *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley – багаторічна трав'яниста рослина у вигляді куща з високими опушеними стеблами (від 60 до 120 см). Листки парно розташовані, оберненоланцетоподібні. Квітки білі зібрані в суцвіття кошик, насіння дрібне. У країнах помірного клімату стевія вирощується як однорічник. Рослина-ендемик і в дикому вигляді зустрічається лише в Парагваї та Південній Бразилії. Культивується в Парагваї, Японії, США, Ізраїлі, Південній Кореї, Індонезії, Таїланді, Аргентині, на півдні України.

Стевія, особливо її листя, містить унікальні речовини – ребаудіозид і стевіозиди – дитерпенові глікозиди, що складаються з глюкози, гомодисахариду софорози і стевіолу. Завдяки цим речовинам листки у 300 разів солодші за цукор [1, 2]. Стевія – натураль-

ний низькокалорійний заміник цукру з широким спектром лікувально-профілактичних властивостей. Її використовують як гіпоглікемічний, антиканцерогенний, антиоксидантний, бактерицидний, протівірусний, протизапальний та антигіпертензивний засіб [3, 4].

У наукових джерелах літератури інформації про вивчення даного виду недостатньо, тому метою наших досліджень було проведення аналізу морфолого-анатомічної будови листків стевії медоносної.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для досліджень використовували свіжі, висушені та фіксовані у суміші гліцерин-спирт-вода (1 : 1 : 1) листки стевії, які заготовляли на науково-дослідній ділянці відділу культурної флори Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України під час масового цвітіння рослини у 2016 році. Виготовлення мікропрепаратів проводили за загальноприйнятими методами [5, 6]. Використовували микроскоп МС 10 (окуляри X5, X10, 15, об'єктиви X10, X40). Микрофотографії зроблені фотокамерою Samsung PL50. Про-

аналізовані препарати епідерми з поверхні (край, середня частина верхнього і нижнього боку листової пластинки, її поперечний зріз), поперечні зрізи черешка.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Морфологічний опис стевиї медоносної

Листки супротивні, короткочерешкові без прилистків, ланцето- або яйцеподібні з пилчастим краєм, дещо загорнутим донизу. Жилкування перисто-сітчасте, опушення не густе, рясніше на нижньому боці, над жилками та по краю листової пластинки. Більше опушені листки верхівкової формації рослини. Колір листової пластинки зверху зелений, знизу – дещо світліший. Смак солодкий, пряний з дещо гіркуватим присмаком. Запах прийнятний, ароматний (рис. 1).



Рис. 1. *Вегетативні пагони стевиї медоносної*

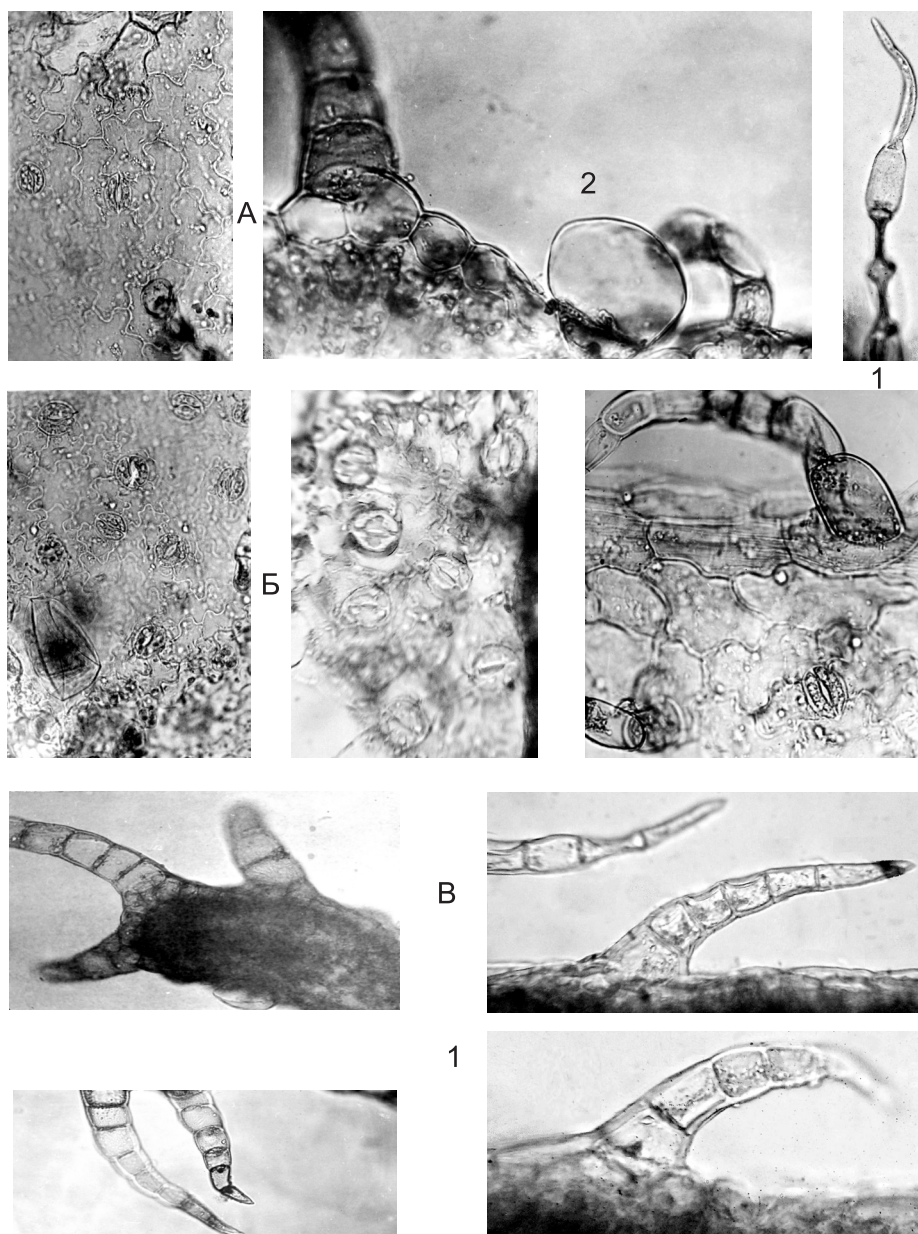


Рис. 2. *Епідерма листової пластинки. А – верхнього боку, Б – нижнього боку, В – по краю. 1 – прості покривні волоски, 2 – залозки*

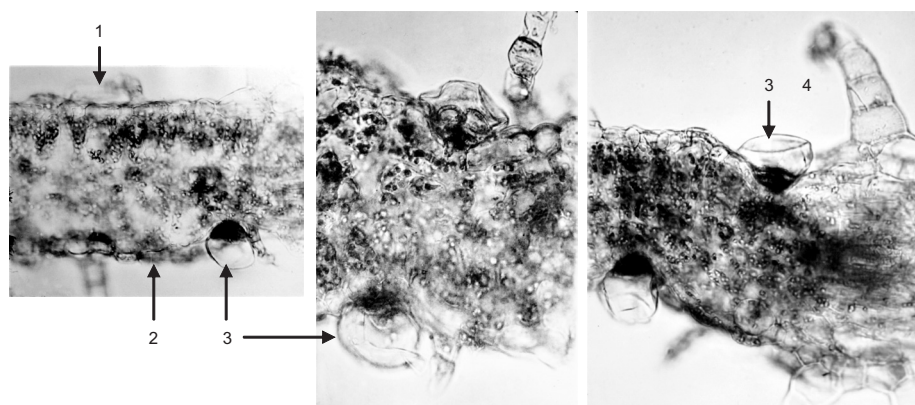


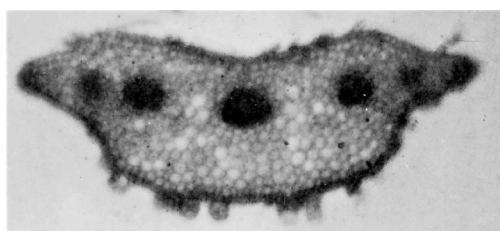
Рис. 3. Поперечні зрізи листової пластинки. 1 – дорзовентральний бік, 2 – вентральний бік, 3 – залозки, 4 – покривні волоски

Мікроскопічний аналіз

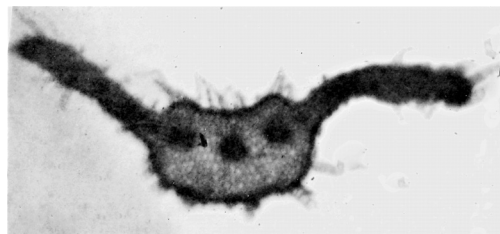
Листкова пластинка. Епідерма листової пластинки з багатоклітинними покривними волосками та залозками, що накопичують солодкі дитерпенові глікозиди. На розмір клітин епідерми та щільність залозок впливають зовнішні екологічні чинники.

Клітини верхньої епідерми (рис. 2А) з тонкими, звивистими стінками. Продихи нечасті, анізоцитного типу. Досить густо розташовані прості волоски різної товщини і довжини. Вони мають підведену багатоклітинну підставку, включають від 5-6 до 15-20 коротких бочкоподібних клітин-членків з тонкими оболонками, що часто спадаються. Дистальна клітина волосків вузька і довша за інші, з гострою верхівкою, потовщеною оболонкою і дрібнобородавчатою кутикулою.

Нижню епідерму (рис. 2Б) складають звивисті клітини зі штрихуватою кутикулою. Продихи розміщені щільніше. Залозки заглиблені ніжною у мезофіл. Голівка кругляста, секрет накопичується під піднесеною кутикулою.



А



Б

Рис. 4. Поперечні зрізи черешка (А) і основи листової пластинки (Б)

По краю пластинки (рис. 2В) епідермальна кутикула товстіша, покривні волоски з бородавчатою поверхнею – загнуті доверху пластинки, більш чи менш гачкуваті.

Анатомічна будова пластинки (рис. 3) амфістоматична, дорзовентральна, але слабо диференційована. На товщину листової пластинки, кількість шарів і розміри клітин мезофілу впливає дія світла та інших екологічних чинників. Найчастіше клітини одношарового палисадного мезофілу дрібні, тонкостінні, з крупними хлоропластами. Губчастий мезофіл 3-5 шаровий, клітини лопатеві.

Черешок. На поперечних зрізах черешок (рис. 4А) овальний з незначною виїмкою з адаксіального боку та маленькими бічними крильцями. Основну площу черешка займає паренхіма. Під епідермою з адаксіального боку 2 шари коленхіми, а з абаксіального – один шар. Провідну систему черешка складає 5 округлих провідних пучків: один центральний, 2 бічних приблизно такого ж розміру та 2 дрібних, розташованих ближче до крилець черешка. В основу листової пластинки (рис. 4Б) входить 3 пучки, які надалі зливаються у провідний пучок центральної жилки.

Пучки колатеральні з невеликою ділянкою дрібноклітинної флоєми без механічних елементів. Ксилема представлена 3-4 спіральними і кільчастими судинами. Епідерма черешка (рис. 5) з волосками і залозками. З адаксіального (черевного, дорзального) боку черешка, а також над центральною жилкою пластинки, переважають прості тонкостінні, вузькі багатоклітинні волоски з округлою верхівкою, та залозки. На нижньому (спинному, вентральному) боці і на крилах черешка опушення рясніше. Багатоклітинні покривні волоски з більш потовщеною оболонкою і 2-6-клітинною підставкою. Залозки з округлою дворядною 6-8-клітинною голівкою, що накопичує стевіол-глікозиди і виділяє їх під кутикулу. Окрім залозок з короткою ніжною зустрічаються видовжені, з 1-2-рядною багатоклітинною секретуючою ніжною. Вміст секрету змінюється у залежності від стадії розвитку залозок.

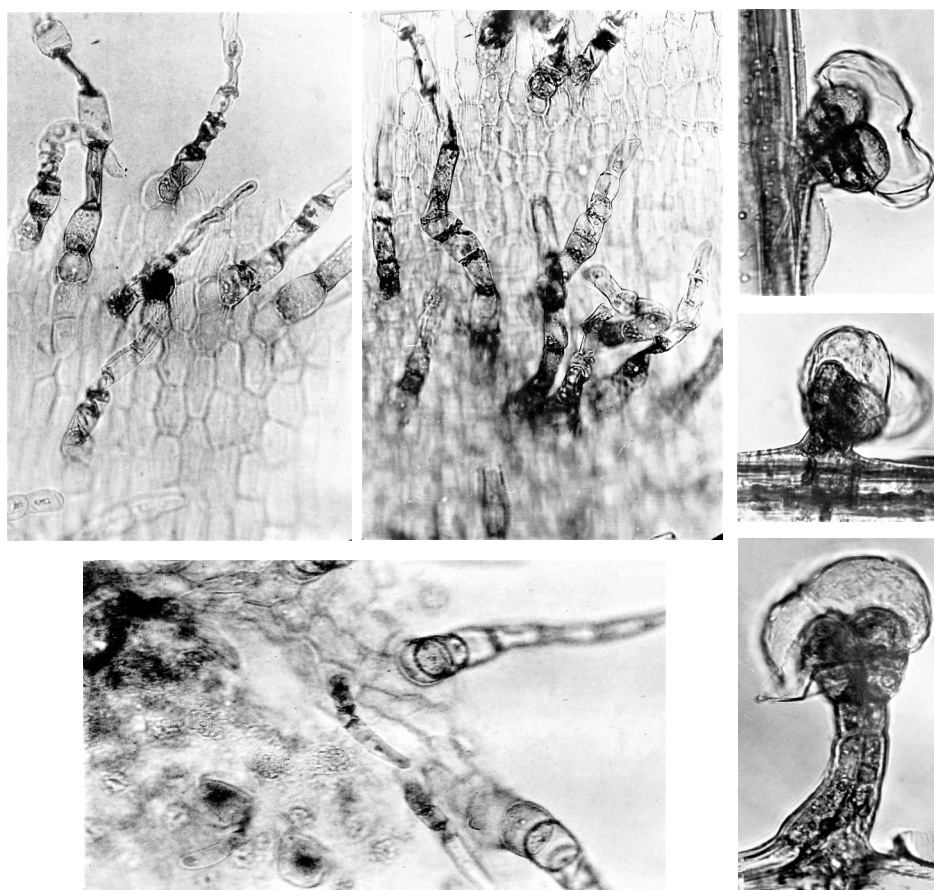


Рис. 5. Епідерма черешка з простими волосками і залозками

ВИСНОВКИ

1. На основі макро- і мікроскопічного аналізу встановлено основні діагностичні морфологічні та анатомічні ознаки листків стевиї медоносної, які використано при складанні проекту методик контролю якості (МКЯ) на нову лікарську рослину сировину «Стевиї листки».
2. Основними макроскопічними ознаками листка є: супротивне розміщення листкової пластинки, відсутність прилистків, ланцето- або яйцеподібна будова листкової пластинки, короткі черешки, опушення з обох боків, пилчастий край, злегка загорнутий донизу.
3. Основними мікроскопічними ознаками листка є: будова листкової пластинки дорсовентральна, амфістоматична; клітини одношарового палисадного мезофілу дрібні, тонкостінні, з крупними хлоропластами, губчастого – клітини лопатеві, розташовані у 3-5 шарів; верхня епідерма листкової пластинки з тонкими, звивистими клітинами, продихів мало, анізоцитного типу; багато простих волосків різної товщини і довжини; клітини нижньої епідерми звивистостінні зі штрихуватою кутикулою, продихів багато, містить залозки з круглястою голівкою.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Попова, Н. В. Лекарственные растения мировой флоры / Н. В. Попова, В. И. Литвиненко, А. С. Куцанян. – Х. : Діка плюс, 2016. – 405 с.
2. Фармацевтична енциклопедія / Голова ред. ради та автор передмови В. П. Черних. – 3-тє вид, перероб. і доп. – К. : МОРІОН, 2016. – 1595 с.
3. Стевия в лечении сахарного диабета [Электронный ресурс] // Когда ценишь здоровье. – Режим доступа : <http://www.steviasun.com.ua/stevia.html>
4. De, S. Stevioside : technology, applications and health / S. De, S. Mondal, S. Banerjee. – Wiley, 2013. – 242 p.
5. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы / Р. П. Барыкина, Т. Д. Веселова, А. Г. Девятюви и др. – М. : МГУ, 2004. – 312 с.
6. Фурст, Г. П. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей / Г. П. Фурст. – М. : Наука, 1979. – 154 с.

REFERENCES

1. Popova, N. V., Litvinenko, V. I., Kutcanian, A. S. (2016). *Lekarstvennye rasteniia mirovoi flory*. Kharkov: Dika plus, 405.
2. Chernykh, V. P. (2016). *Farmatsevtichna entsyklopediia*, 3rd edition. Kyiv: MORION, 1595.
3. *Kogda tsenish zdorove*. Available at: <http://www.steviasun.com.ua/stevia.html>
4. De, S., Mondal, S., Banerjee, S. (2013). *Stevioside: technology, applications and health*. Wiley, 242.
5. Barykina, R. P., Veselova, T. D., Deviatovi, A. G. et al. (2004). *Spravochnik po botanicheskoi mikrotekhnike. Osnovy i metody*. Moscow: MGU, 312.
6. Furst, G. P. (1979). *Metody anatomo-gistokhimicheskogo issledovaniia rastitelnykh tkanei*. Moscow: Nauka, 154.

Відомості про авторів:

Марчишин С. М., д-р фарм. наук, професор, завідувач кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою,

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». E-mail: svitlanafarm@ukr.net

Гудзь Н. А., здобувач кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет

імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». E-mail: nadin23.84@gmail.com

Сіра Л. М., канд. фарм. наук, доцент кафедри ботаніки, Національний фармацевтичний університет. E-mail: lyudmilaserya@yandex.ru

Демидяк О. Л., канд. фарм. наук, доцент кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». E-mail: demydyakolya@ukr.net

Information about authors:

Marchyshyn S., Doctor of Pharmacy, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy and Medical Botany, I. Horbachevsky Ternopil State Medical University. E-mail: svitlanafarm@ukr.net

Hudz N., Researcher of the Department of Pharmacognosy and Medical Botany, I. Horbachevsky Ternopil State Medical University.

E-mail: nadin23.84@gmail.com

Sira L., Candidate of Pharmacy, Assistant professor of the Department of Botany, National University of Pharmacy. E-mail: lyudmilaserya@yandex.ru

Demydyak O., Candidate of Pharmacy, Assistant professor of the Department of Pharmacognosy and Medical Botany, I. Horbachevsky Ternopil State Medical University. E-mail: demydyakolya@ukr.net

Сведения об авторах:

Марчишин С. М., д-р фарм. наук, профессор, заведующая кафедрой фармакогнозии с медицинской ботаникой,

ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины». E-mail: svitlanafarm@ukr.net

Гудзь Н. А., соискатель кафедры фармакогнозии с медицинской ботаникой, ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский

университет имени И. Я. Горбачевского МОЗ Украины». E-mail: nadin23.84@gmail.com

Серая Л. М., канд. фарм. наук, доцент кафедры ботаники, Национальный фармацевтический университет. E-mail: lyudmilaserya@yandex.ru

Демидяк О. Л., канд. фарм. наук, доцент фармакогнозии с медицинской ботаникой, ДВНЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МОЗ Украины». E-mail: demydyakolya@ukr.net

Рекомендовано д. фарм. н., доцентом О. М. Кошовим

Надійшла до редакції 12.06.2017 р.